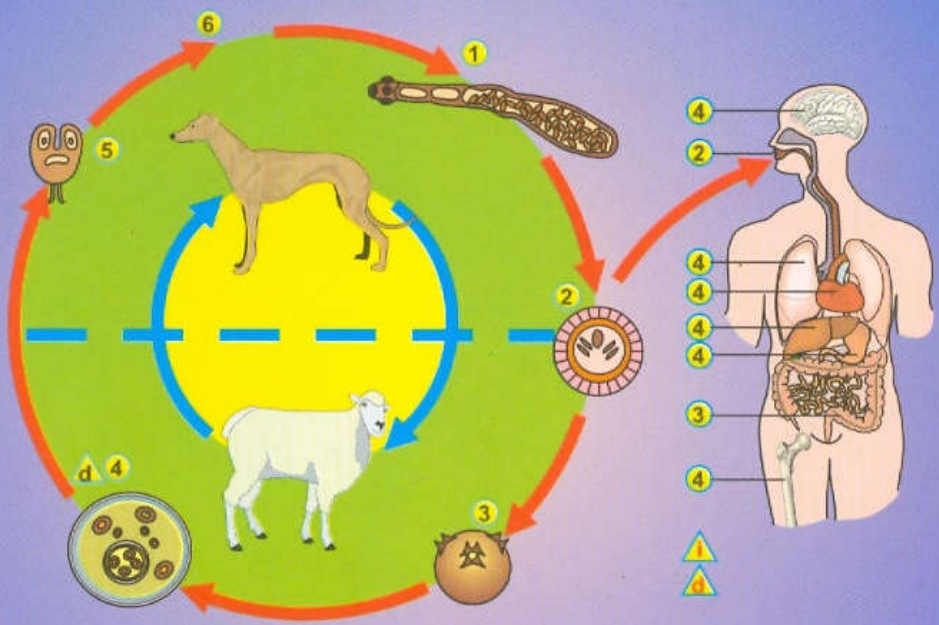
DH2.71

BỘ Y TẾ

KÝ SINH TRÙNG

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SĨ ĐẠI HỌC)

Chủ biên: ThS. LÊ THỊ THU HƯƠNG



NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC VIỆT NAM

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chỉ đạo biên soạn:

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

Chủ biên:

PGS.TS. LÊ VĂN PHỦNG

Tham gia biên soạn:

GS. TS. LÊ HUY CHÍNH
PGS. TS. ĐINH HỮU DỰNG
PGS. TS. BÙI KHẮC HẬU
PGS. TS. LÊ HỒNG HINH
PGS. TS. NGUYỄN BÌNH MINH
TS. PHẠM HỒNG NHUNG
PGS. TS. LÊ VĂN PHỦNG
PGS. TS. NGUYỄN VŨ TRUNG
PGS. TS. NGUYỄN THỊ TUYẾN
PGS. TS. NGUYỄN THỊ VINH

Thư ký biên soạn:

TS. PHẠM HỒNG NHUNG

Tham gia tổ chức bản thảo:

ThS. PHÍ VĂN THÂM
TS. NGUYỄN MẠNH PHA

© Bản quyền thuộc Bộ Y tế (Vụ Khoa học và Đào tạo)

1040 – 2009/CXB/3 – 1960/GD

Mã số : 7K827Y9 – DAI

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

LỜI GIỚI THIỆU

Nhằm từng bước nâng cao chất lượng đào tạo nhân lực y tế, tạo điều kiện thuận lợi cho việc học tập của học viên, sinh viên ngành Y, Bộ Y tế đã tổ chức biên soạn và cho xuất bản các tài liệu dạy – học chuyên môn phục vụ cho công tác đào tạo đại học, cao đẳng, trung cấp và dạy nghề của ngành Y tế. Nay Bộ Y tế tiếp tục cho biên soạn các tài liệu dạy – học chuyên đề và text book để kịp thời phục vụ cho công tác đào tạo sau đại học và đào tạo liên tục cho cán bộ ngành Y tế.

Cuốn sách **Vi khuẩn y học** được biên soạn dựa vào chương trình đào tạo bác sĩ chuyên khoa 1 và thạc sĩ của trường Đại học Y Hà Nội với phương châm: kiến thức cơ bản, hệ thống; nội dung chính xác, khoa học, cập nhật các tiến bộ khoa học – kỹ thuật hiện đại và thực tiễn Việt Nam.

Cuốn sách **Vi khuẩn y học** đã được biên soạn bởi các giáo sư, tiến sĩ, các nhà giáo giàu kinh nghiệm của chuyên ngành Vi sinh y học. Sách đã được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy – học chuyên ngành Vi sinh y học của Bộ Y tế thẩm định năm 2009. Bộ Y tế quyết định ban hành là tài liệu dạy – học đạt chuẩn chuyên môn của ngành trong giai đoạn hiện nay. Trong quá trình sử dụng, sách sẽ được chỉnh lý, bổ sung và cập nhật.

Bộ Y tế xin chân thành cảm ơn các nhà giáo, các chuyên gia của Bộ môn Vi sinh y học, trường Đại học Y Hà Nội đã dành nhiều công sức hoàn thành cuốn sách. Bộ Y tế xin cảm ơn GS.TS. Hoàng Thủy Long, Chủ tịch Hội đồng; GS.TSKH. Nguyễn Văn Dịp, PGS.TS. Nguyễn Thanh Bảo phản biện và các ủy viên Hội đồng đã đọc, đóng góp nhiều ý kiến quý báu để cuốn sách được hoàn thiện.

Vì lần đầu xuất bản, chúng tôi mong nhận được ý kiến đóng góp của đồng nghiệp, các bạn sinh viên và các độc giả để sách được hoàn chỉnh hơn cho lần xuất bản sau.

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

LỜI NÓI ĐẦU

Ở nước ta, bệnh nhiễm trùng vẫn là bệnh có tỷ lệ mắc và tử vong cao nhất trong mô hình bệnh tật hiện nay và trong tương lai gần. Trong số các căn nguyên gây bệnh nhiễm trùng, vi khuẩn đóng vai trò quan trọng về tỷ lệ gây bệnh và mức độ trầm trọng của các bệnh do chúng gây ra. Vì vậy, hiểu biết về các vi khuẩn có tầm quan trọng trong y học (gọi tắt là *Vi khuẩn y học*) là nhu cầu cần thiết để có cơ sở khoa học cho chẩn đoán, điều trị và dự phòng các bệnh nói trên, góp phần xứng đáng vào việc bảo vệ sức khoẻ nhân dân.

Để đáp ứng một phần nhu cầu đó, Bộ môn Vi sinh y học, Trường đại học Y Hà Nội đã biên soạn cuốn **Vi khuẩn y học**, dùng cho học viên sau đại học và các cán bộ làm việc trong các ngành có liên quan đến vi khuẩn gây bệnh.

Mục tiêu chính của cuốn **Vi khuẩn y học** là phục vụ cho các đối tượng sau đại học, chuyên ngành Vi sinh y học, những người đã học qua môn Vi sinh bậc đại học. Vì vậy, ở mỗi vi khuẩn, các tác giả đều trình bày dưới dạng mô tả tỉ mỉ những tính chất sinh học quan trọng của chúng; đó là cơ sở để định danh dựa trên các tính chất về hình thể, nuôi cấy, sinh vật–hoá học, kháng nguyên, gen đặc hiệu... và cũng là cơ sở để nghiên cứu độc lực; khả năng, cơ chế gây bệnh và kháng thuốc; sản xuất vắc xin, huyết thanh và các chế phẩm sinh học đặc hiệu. Cơ chế gây bệnh, dây chuyền dịch tễ học, độc tính được đặc biệt chú ý mô tả để làm cơ sở khoa học cho các biện pháp phòng và điều trị đặc hiệu những bệnh do chúng gây ra.

Cuốn **Vi khuẩn y học** đề cập đến hầu hết những vi khuẩn gây bệnh chủ yếu ở nước ta hiện nay. Trong mỗi vi khuẩn, chúng tôi đã cố gắng trình bày những kiến thức đã trở thành kinh điển trong thời gian gần đây nhất (không phải là các kết quả nghiên cứu mới nhất về chúng). Vì vậy, sách mang tính chất giáo khoa chặt chẽ nhưng cũng có thể là tài liệu tham khảo có giá trị trong công tác hằng ngày của các đối tượng có liên quan.

Vi khuẩn y học là một tập trong bộ sách giáo khoa hoàn chỉnh, gồm 3 tập, về Vi sinh y học: **Đại cương Vi sinh y học, Vi khuẩn y học** và **Virus y học.** Vì vậy, những kiến thức chung về vi khuẩn có thể tìm hiểu ở các tập có liên quan này mà không được trình bày lại trong **Vi khuẩn y học**.

Sách **Vi khuẩn y học** có 8 phần, được phân một cách tương đối theo hình thể, tính chất bắt màu của vi khuẩn khi nhuộm Gram và một số đặc điểm sinh học đặc trưng:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 1: Đại cương vi khuẩn

Phần 2: Cầu khuẩn Gram dương

Phần 3: Cầu khuẩn Gram âm

Phần 4: Trực khuẩn Gram dương

Phần 5: Vi khuẩn Gram âm

Phần 6: Xoắn khuẩn

Phần 7: Vi khuẩn kỵ khí

Phần 8: Vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc

Sách **Vi khuẩn y học** đã được Trường đại học Y Hà Nội và Bộ Y tế phê duyệt, cho phép dùng làm tài liệu giảng dạy cho các đối tượng sau đại học, chuyên ngành Vi sinh y học.

Mặc dù rất cố gắng khi biên soạn, nhưng do xuất bản lần đầu và những hạn chế về kiến thức, chắc chắn sách còn nhiều thiếu sót. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn những góp ý quý báu của bạn đọc, để những lần xuất bản sau, sách được hoàn thiện hơn.

Xin chân thành cảm ơn Bộ Y tế (Vụ Khoa học – Đào tạo), Hội đồng thẩm định sách của Bộ và một số đơn vị đã giúp đỡ để cuốn sách có thể ra mắt bạn đọc, phục vụ đào tạo và nhu cầu tham khảo của chuyên ngành Vi sinh y học.

Chủ biên

PGS. TS. LÊ VĂN PHỦNG

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

MỤC LỤC

Lời giới thiệu		3
Lời nói đầu		5
Phần 1. **Đại cương vi khuẩn**	*Lê Văn Phủng*	9
Phần 2. **Cầu khuẩn Gram dương**		23
Streptococci	*Nguyễn Thị Tuyến*	23
Streptococcus pneumoniae	*Lê Huy Chính*	27
Staphylococci	*Lê Huy Chính*	45
Phần 3. **Cầu khuẩn Gram âm**		63
Moraxella catarrhalis	*Nguyễn Vũ Trung*	63
Neisseria meningitidis	*Lê Văn Phủng*	79
Neisseria gonorrhoeae	*Lê Hồng Hinh*	98
Phần 4. **Trực khuẩn Gram dương**		106
Corynebacterium diphtheriae	*Lê Huy Chính*	106
Bacillus subtilis	*Bùi Khắc Hậu*	136
Bacillus cereus	*Bùi Khắc Hậu*	139
Bacillus anthracis	*Bùi Khắc Hậu*	141
Listeria	*Lê Văn Phủng*	148
Mycobacterium tuberculosis	*Lê Huy Chính*	164
Mycobacterium leprae	*Lê Huy Chính*	177
Mycobacterium không điển hình	*Lê Huy Chính*	178
Actinomycetes hiếu khí	*Phạm Hồng Nhung*	180
Nocardia spp.	*Phạm Hồng Nhung*	180
Actinomycetes khác	*Phạm Hồng Nhung*	193
Phần 5. **Vi khuẩn Gram âm**		198
Enterobacteriaceae	*Đinh Hữu Dung*	198
Escherichia coli	*Đinh Hữu Dung*	211
Salmonella	*Đinh Hữu Dung*	220
Shigella	*Đinh Hữu Dung*	232
Yersinia	*Đinh Hữu Dung*	241
Một số vi khuẩn đường ruột gây nhiễm trùng cơ hội thường gặp	*Đinh Hữu Dung*	247

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Vibrionaceae	*Nguyễn Bình Minh*	260
Aeromonas và *Plesiomonas* spp.	*Nguyễn Bình Minh*	277
Pseudomonas aeruginosa	*Lê Văn Phủng*	290
Burkholderia	*Lê Văn Phủng*	
Acinetobacter	*Nguyễn Vũ Trung*	319
Haemophilus influenzae	*Đinh Hữu Dung*	336
Bordetella	*Lê Văn Phủng*	345
Brucella	*Bùi Khắc Hậu*	365
Actinobacillus actinomycetemcomitans	*Nguyễn Vũ Trung*	371
Bartonella	*Phạm Hồng Nhung*	382
Mycoplasma	*Nguyễn Thị Vinh*	394
Legionella	*Nguyễn Thị Tuyến*	414
Helicobacter pylori	*Bùi Khắc Hậu*	417
Campylobacter	*Bùi Khắc Hậu*	428
Phần 6. **Xoắn khuẩn**		432
Leptospira	*Nguyễn Thị Vinh*	432
Treponema	*Nguyễn Thị Vinh*	443
Borrelia	*Nguyễn Thị Vinh*	456
Phần 7. **Vi khuẩn kỵ khí bắt buộc**		468
Cầu khuẩn Gram dương, kỵ khí	*Nguyễn Thị Vinh*	469
Clostridium	*Nguyễn Thị Vinh*	470
Clostridium tetani	*Nguyễn Thị Vinh*	475
Phần 8. **Vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc**		481
Rickettsia	*Bùi Khắc Hậu*	482
Một số *Rickettsia* thường gặp	*Bùi Khắc Hậu*	491
Chlamydia	*Nguyễn Thị Vinh*	494
Coxiella burnetii	*Lê Văn Phủng*	511
Phụ bản		517
Tra cứu (index)		529

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 1

ĐẠI CƯƠNG VI KHUẨN

PHÂN LOẠI VI KHUẨN

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Lịch sử phân loại vi khuẩn được bắt đầu với sự ra đời của kính hiển vi, do Antony van Leeuwenhoek phát minh, vào năm 1653 ở Hà Lan.

Ngày 7/9/1674, bằng chiếc kính hiển vi rất đơn giản (so với ngày nay), Leeuwenhoek đã *nhìn thấy* và *mô tả* những sinh vật rất nhỏ bé ("*wee animalcules*", ngày nay gọi là *vi khuẩn*), sống trong nước hồ, mà mắt thường không thấy được. Đó là thời điểm đánh dấu sự phát hiện của loài người về thế giới vi sinh vật.

Ngay sau khi nhìn thấy vi khuẩn, Leeuwenhoek đã mô tả và vẽ các loại hình thể phổ biến của chúng mà ông đã quan sát được và xếp thành các nhóm mà ngày nay chúng ta gọi là *cầu khuẩn, trực khuẩn* và *xoắn khuẩn*. Có thể coi đó là bản phân loại vi khuẩn đầu tiên của loài người, sự phân loại dựa trên các đặc điểm về hình thể bên ngoài của chúng.

Tuy vậy, phải sau một thế kỷ, năm 1773, Müller mới là người có cái nhìn có ý thức thực sự đầu tiên về phân loại vi khuẩn. Sau đó, phải mất thêm một thế kỷ nữa, nhờ phát triển của khoa học và công nghệ, vi khuẩn được hiểu biết sâu sắc hơn, nên phân loại vi khuẩn mới đạt được trình độ có ý nghĩa.

Hệ thống phân loại cổ điển có hai rào cản chính:

1) Dựa chủ yếu vào hình thể vi khuẩn. Đương thời, người ta tin rằng, hình thể vi khuẩn là tiêu chuẩn cực kỳ quan trọng để phân loại chúng, ví dụ tất cả các cầu khuẩn đều được xếp chung vào một nhóm (họ hoặc bộ), trực khuẩn mủ xanh xếp vào họ vi khuẩn đường ruột hay bạch hầu cùng chi với *P. acnes*!. Tuy vậy, cũng có xu hướng ngược lại, dựa quá nhiều vào các tính chất sinh lý của vi khuẩn, ví dụ các cầu khuẩn lên men được tách khỏi loại quang hợp (photosynthetic), sinh methane, khử nitơ.

2) Chưa có kỹ thuật nuôi cấy thuần. Kỹ thuật này chỉ được phát triển từ cuối thế kỷ XIX bởi Robert Kock. Tiến bộ kỹ thuật này đã đóng vai trò quan

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trọng để phát triển các quy trình hiện đại trong việc hệ thống hoá vi khuẩn. Nuôi cấy thuần giống như các mẫu (sample) cây riêng rẽ trong thực vật học, nhưng nó còn có nhiều công dụng hơn nữa vì nó có thể được giữ ở tình trạng sống (viable state), có thể cấy chuyển, là đối tượng không hạn chế về số lượng cho các thực nghiệm, và có thể chuyển từ nơi này đến nơi khác một cách dễ dàng. Tất cả những điều đó đã tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển không ngừng của phân loại học.

Trước khi có sự trợ giúp của máy tính (phân loại số) và sau này là sinh học phân tử, các phương pháp phân loại vi khuẩn truyền thống đều theo cùng một công thức: tìm, càng nhiều càng tốt, các đặc điểm của chúng, sau đó sắp xếp chúng dựa vào điều chỉnh trực giác của các nhà hệ thống học (systematist). Vì vậy, tồn tại rất nhiều sơ đồ phân loại khác nhau dựa trên những trực giác khác nhau của các nhà phân loại khác nhau mà đến ngày nay, khoa học hiện đại vẫn cần phải xem xét lại một cách kỹ lưỡng. Các nhà hệ thống học thường đã biết rất rõ về đối tượng (vi khuẩn) của mình và sắp xếp chúng bằng trực giác dựa trên sự phong phú của các thông tin mà cá nhân đã thu thập được. Những số liệu của họ, khi chưa được xử lý bằng máy tính thì ít nhất cũng được xử lý bằng những bộ óc "lớn" và họ đã nêu ra được tương đối chính xác các mối quan hệ đang tồn tại giữa các vi khuẩn.

Phân loại phải dựa vào tập hợp các tính chất, không một tính chất nào, dù "điển hình" hay "đặc trưng" đến mấy cũng không có giá trị phân loại tuyệt đối. Ví dụ, từ năm 1944, người ta đã nhận thấy tầm quan trọng của một số vi khuẩn thuộc họ vi khuẩn đường ruột (*Enterobacteriaceae*) không lên men lactose, giống như *Salmonella* hay *Shigella*, nhưng chắc chắn không phải là *Salmonella* và *Shigella*; vì vậy, đã có một chi mới "*Paracolobactrum*", được đề xuất (sau đó được xuất bản trong Bergey's Manual 7th, 1957) dựa trên đặc điểm *"không lên men đường lactose"*. Tuy vậy, sau này người ta đã chứng minh, đó chỉ là *biến thể* (variant) của *E. coli* thông thường mà thôi, chứ không phải là một chi mới.

Vào cuối những năm 50 của thế kỷ XX, khái niệm *"Phân loại số"* (Numerical taxonomy) được hình thành cùng với sự ra đời và phát triển nhanh chóng của máy tính điện tử (computer). Phân loại trước đây dựa trên các tính chất về hình thể, sinh lý, sinh hoá ... của vi khuẩn rồi nhờ các bộ óc "lớn" sắp xếp chúng một cách chủ quan, đã dẫn đến tình trạng phức tạp, lộn xộn như đã kể trên; vì vậy, *phân loại số* đã được phát triển nhằm cung cấp các phương pháp đánh giá khách quan các đặc tính của vi khuẩn để có thể phân loại chính xác hơn, khách quan hơn so với các phương pháp kinh điển. Ví dụ, nếu một vi khuẩn đường ruột có 21 tính chất như sau:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ONPG	+
Arginine	–
Lysine	+
Ornithine	–
Citrate	+
Hydrogen sulfide	–
Urease	–
Tryptophan deaminase	–
Indole	–
Voges–Proskauer	+
Gelatin	+
Glucose	+
Mannitol	+
Inositol	+
Sorbitol	+
Rhamnose	–
Sucrose	+
Melibiose	+
Amygdalin	+
Arabinose	–
Oxidase	–

Nhận định (dạng) qua tập hợp các tính chất này, với đa số mọi người, cũng đã khó khăn, chưa kể người ta còn tìm thêm được hàng trăm tính chất và thông tin khác về vi khuẩn này. Ngày nay, nhận dạng theo kiểu kinh điển, nhiều khi là không thể làm được đối với con người.

Tuy vậy, với máy tính điện tử, các thông tin chỉ được ghi nhận dưới một trong hai dạng (nhị phân) số: "0" = "âm tính" (*off*, tắt) và "1" = "dương tính" (*on*, bật) thì nó có thể xử lý hàng tỷ phép tính trong 1 giây, hầu như không phụ thuộc vào số lượng các con số "1" và "0" và kết quả cho ra không phụ thuộc vào ý chủ quan của con người. Trong ví dụ trên, bảng số liệu sẽ được máy tính hiểu là: 10101000011111011100, và kết quả là *Serratia marcescens*.

Ngày nay, kế thừa tất cả những thành tựu của phân loại học từ nhiều thế kỷ qua để lại, phân loại học đã sử dụng thêm nhiều phương tiện mới với sức mạnh "phân loại" rất lớn. Những thành phần hoá học của vi khuẩn (protein, lipid,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

polysaccharide...) được nghiên cứu ngày càng chi tiết và đã phục vụ đắc lực cho phân loại dựa vào đặc điểm, cấu trúc phân tử và sự phân bố của chúng (chemotaxonomy), trong đó acid nucleic được sử dụng như một tiêu chí quan trọng bậc nhất trong phân loại vi khuẩn với các kỹ thuật hiện đại dựa trên sự bùng nổ về khoa học và công nghệ trong thế kỷ qua.

Để có thể hiểu về phân loại vi khuẩn, cần phân biệt rõ ba khái niệm quan trọng, nhưng không phải lúc nào cũng dễ hiểu:

Phân loại (classification) là sắp xếp sinh vật vào các nhóm (taxonomic groups) một cách có hệ thống, dựa vào sự tương đồng và các mối quan hệ gần gũi giữa chúng.

Danh pháp (nomenclature) là thiết kế *tên* cho các nhóm phân loại theo những thông lệ quốc tế (international rules).

Định danh (identification) là một quá trình xác định xem, một chủng mới được phân lập thuộc vào nhóm phân loại (đã được thiết lập, đặt tên) nào.

Phân loại, Danh pháp và Định danh là ba lĩnh vực riêng rẽ của *Phân loại học* (Taxonomy) nhưng có liên quan chặt chẽ với nhau.

Vào những năm 70, ủy ban quốc tế về *Vi khuẩn học hệ thống* (International Committee on Systematic Bacteriology) đã công bố, thời điểm 01/01/1980 là thời điểm công nhận danh pháp bắt đầu có giá trị (valid), những danh pháp trước đó đều không còn chỗ đứng trong danh pháp chính thức. Danh sách tên vi khuẩn được xuất bản lần đầu tiên trên tạp chí quốc tế về Vi khuẩn học hệ thống (International Journal of Systematic Bacteriology, IJSB; nay là International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, IJSEM) ngày 01/01/1980 dưới tiêu đề "Danh sách được chuẩn y về tên các vi khuẩn" (Approved Lists of Bacterial Names, Skerman et al., 1980; revised 1989). Cần lưu ý rằng, đây là *danh sách* được chuẩn y chứ không phải *tên vi khuẩn* được chuẩn y. Tất cả các chi (genus) và loài (species) đã rõ các đặc tính, đều được đưa vào danh sách này, nhưng cũng có tới hơn 30.000 tên phải loại ra.

Một thông tin cần phải biết là *quy trình công bố tên* một vi khuẩn. Theo đó, để một *tên* mới được công nhận (có chân trong Danh pháp), nó phải được công bố trên một tạp chí chuyên nghiệp nào đó, thông thường là IJSEM. Nếu công bố trên các tạp chí khác, ngoài IJSEM, thì phải thông báo cho IJSEM để xem xét; và tên đó, nếu được chấp nhận, sẽ được IJSEM thông báo trên số kế tiếp. Ngày tính "tuổi" của *tên* mới là ngày xuất bản của số (issue) IJSEM mà *tên* mới được công bố trên đó. Ngày nay, có hơn 800 tạp chí có liên quan đến Danh pháp, vì vậy không một cá nhân hay tổ chức nào có thể nắm bắt kịp thời các thay đổi về Danh pháp đã được công bố. Vì thế, quy định là tất cả các *tên* mới hoặc sự kết hợp mới của *tên* một vi khuẩn chỉ công bố trên một (1) tạp chí duy nhất (IJSEM) đã được chấp nhận rộng rãi. Điều này tạo điều kiện thuận lợi cho việc chuẩn hoá, nghiên cứu, giảng dạy, biên tập và các vấn đề khác có liên quan đến Danh pháp trên toàn thế giới.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2. PHÂN LOẠI VI KHUẨN (Bacterial Classification)

Không có phân loại chính thống cho vi khuẩn (kể cả Bergey's Manuals), khác với Danh pháp, có danh pháp chính thống.

Để có thể phân loại vi khuẩn, phải tìm được các đặc tính của chúng. Những tính chất này gồm: hình thể tế bào và khuẩn lạc; tính chất sinh vật–hoá học; tính chất sinh lý; thành phần hoá học trong cấu trúc vi khuẩn; tính chất kháng nguyên; vật liệu di truyền.

Để đánh giá tính tương đồng của hai vi khuẩn, người ta thường lượng hoá bằng cách dùng công thức để tính *hệ số phù hợp:*

Hệ số phù hợp (Matching coefficient, S_{SM}) = (a + d)/ (a + b + c + d)

a: số lượng các tính chất dương tính ở cả hai chủng

b: số lượng các tính chất dương tính ở chủng 1 và âm tính ở chủng 2

c: số lượng các tính chất âm tính ở chủng 1 và dương tính ở chủng 2

d: số lượng các tính chất âm tính ở cả hai chủng.

Tiêu chuẩn đánh giá:

≥ 0,9 – 1,0	Hai chủng cùng loài
≥ 0,7 – < 0,9	Hai chủng cùng chi
0,5 – 0,7	Hai chủng có thể cùng chi
< 0,5	Hai chủng khác chi

Thang phân loại (Taxonomic ranks)

Thế giới vi khuẩn vô cùng phong phú và phức tạp, người ta đã và đang cố gắng tiếp cận chúng bằng cách làm sao sắp xếp chúng thành các bậc thang (mức độ) một cách hợp lý nhất nhằm làm cho những hiểu biết của con người về chúng ngày càng gần hơn những gì mà vốn dĩ chúng có. Những bậc thang phân loại chính thống vi khuẩn hiện nay là:

Tên bậc	Tiếng Anh	Ví dụ
Giới	Kingdom	*Prokaryotae*
Ngành	Division	*Gracilicutes*
Lớp	Class	*Scotobacteria*
Bộ	Order	*Spirochaetales*
Họ	Family	*Leptospiraceae*
Chi	Genus	*Leptospira*
Loài	Species	*Leptospira interrogans*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các bậc dưới loài:

Tên gọi	Từ đồng nghĩa	Được áp dụng cho các chủng có:
Biovar	Biotype	Các đặc tính sinh hoá hoặc sinh lý đặc biệt
Serovar	Serotype	Các đặc điểm kháng nguyên riêng biệt
Pathovar	Pathotype	Các đặc điểm gây bệnh cho vật chủ riêng
Phagovar	Phagotype	Khả năng ly giải đặc hiệu của bacteriophage
Morphovar	Morphotype	Đặc điểm hình thể đặc trưng

Ngoài những bậc thang chính thức, còn có những nhóm không chính thức hoặc mang tính chất địa phương vẫn thường được dùng. Những tên như thế không có chân trong Danh pháp chính thống, ví dụ như procaryotes, spirochetes, các vi khuẩn dị hoá sulfite, khử sulfur, oxy hoá methane...

Chi (genus): Tất cả các loài có một số đặc điểm giống nhau được xếp vào một nhóm gọi là *chi* (hoặc *giống*). Mặc dù vậy, xếp một loài vào chi nào là hợp lý nhất vẫn luôn luôn là câu hỏi thường trực cho các nhà vi sinh vật học ở mọi thời điểm. Một *chi* vi khuẩn thường là một nhóm có những tính chất giống nhau và khác biệt với các chi khác, nhưng nhiều khi không dễ xếp loại như vậy. Ngày nay, người ta dựa vào sự tương đồng về ARN ribosome (rRNA) để khắc phục khó khăn này.

Khi định danh một vi khuẩn nào đó chỉ được đến mức "*chi*" thì phần tên loài được viết tắt là *"sp"* nếu định ám chỉ 1 loài hoặc *"spp"* nếu định ám chỉ nhiều loài; loài phụ được ghi bằng *"ssp"* hoặc *"subsp"* (subspecies).

Loài (species) là đơn vị cơ bản trong phân loại vi khuẩn. Khái niệm *"loài"* trong vi khuẩn không được xác định rõ (less definitive) như trong sinh vật bậc cao. Điều này cũng dễ hiểu, bởi vì vi khuẩn là các sinh vật nhân giả (nhân sơ) (procaryotes), khác hẳn các sinh vật nhân thật (eucaryotes). Ví dụ, "giới tính" không được dùng trong định nghĩa *loài* vi khuẩn vì khá ít vi khuẩn có khả năng tiếp hợp; hoặc "hình thể" vi khuẩn thường rất ít ý nghĩa trong phân loại do đa số các procaryotes có hình thể rất đơn giản, chỉ là một tế bào duy nhất, rất ít thông tin có thể sử dụng để phân biệt chúng với nhau; trong khi đó, ở các sinh vật bậc cao, "hình thể" có giá trị rất lớn trong phân loại, ví dụ như nhìn con trâu rất dễ phân biệt với con lợn, chó khác hẳn với mèo...

Một *loài* vi khuẩn được hiểu là một tập hợp các chủng có nhiều đặc điểm giống nhau và khác biệt so với các chủng khác. *Chủng* (strain) được hiểu là một nuôi cấy thuần nhất, được lấy ra từ một khuẩn lạc duy nhất (không lẫn với một khuẩn lạc nào khác). Một chủng trong loài được đề xuất làm *chủng chuẩn* (type strain). Chủng chuẩn là chủng mang tên loài và là chuẩn vĩnh viễn cho loài này. Chủng chuẩn rất quan trọng vì một loài bao gồm chủng này và tất cả các chủng nào tương tự như nó. Khái niệm "tương tự" cũng rất thay đổi, tương tự về hình thể, kích thước, tính chất sinh hoá, sinh lý hay những tính chất nào nữa và mức

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

độ tương tự cũng khó mà đo đếm chính xác, khách quan được. Chính vì vậy mà càng ngày người ta càng đưa ra những tiêu chí chặt chẽ hơn để đánh giá sát hơn với thực tế. Ví dụ như, ngày nay, hay dùng nhất là mức độ tương đồng về ADN.

Về khía cạnh thực tế, phân loại và danh pháp nên ổn định để tránh nhầm lẫn (đặc biệt ở mức độ chi và loài), gây ra khó khăn, tốn kém trong công việc định danh hằng ngày. Tuy vậy, phân loại không bao giờ "đứng yên" (static) bởi vì những hiểu biết của con người về vi khuẩn luôn luôn là hữu hạn so với những bí ẩn vô hạn của chúng.

Loài phụ (subspecies): Một loài có thể được chia ra hai hoặc nhiều loài phụ dựa trên những khác biệt nhỏ nhưng ổn định về một số đặc điểm trong phạm vi loài, hoặc có những cụm (cluster) di truyền nhất định giữa các chủng khác nhau trong phạm vi một loài. *Loài phụ* là bậc thang phân loại thấp nhất trong danh pháp chính thống.

Các bậc dưới loài phụ (infrasubspecific ranks): Tất cả các bậc này không có tên trong Danh pháp chính thống. Các thuật ngữ như biovar, serovar, pathovar, phagovar ... được dùng để chỉ một nhóm các chủng (trong phạm vi một loài) có thể phân biệt với nhau bằng các đặc điểm đặc biệt, ví dụ như cấu tạo kháng nguyên, phản ứng với bacteriophage...

Tuy không có chân trong Danh pháp, nhưng chúng vẫn được dùng thường xuyên do tính tiện dụng và quen thuộc trong thực hành.

Các bậc phân loại cao hơn (higher taxa):

Tất cả các vi khuẩn đều thuộc *Giới Procaryotae*, *Giới* này được phân chia như sau:

Giới *Procaryotae* Murray 1968

Ngành I *Gracilicute* Gibbons and Murray 1978

- Lớp I *Scotobacteria* Gibbons and Murray 1978
- Lớp II *Anoxyphotobacterria* (Gibbons and Murray) classis nov. (subclassis *Anoxyphotobacterria*) Gibbons and Murray 1978
- Lớp III *Oxyphotobacterria* (Gibbons and Murray) classis nov. (subclassis *Oxyphotobacterria*) Gibbons and Murray 1978

Ngành II *Firmicutes* Gibbons and Murray 1978

- Lớp I *Firmibacteria* classis nov.
- Lớp II *Thallobacteria* classis nov.

Ngành III *Tenericutes* div. nov.

- Lớp I *Mollicutes* Edward and Freundt 1967

Ngành IV *Mendosicutes* Gibbons and Murray 1978

- Lớp I *Archaeobacteria* (Woese and Fox) classis nov. (Woese and Fox) 1977

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phân loại này sẽ còn tiếp tục thay đổi và bổ sung thêm vì thế giới vi sinh vật là vô tận.

Acid nucleic trong phân loại vi khuẩn

Về mặt lịch sử, phân loại vi khuẩn chủ yếu dựa trên sự tương đồng về kiểu hình (phenotype) giữa chúng. Phương pháp này đã đạt được nhiều thành tựu đáng kể trong nhiều thế kỷ. Tuy vậy, khoảng 40 năm gần đây, người ta thấy chúng không đủ độ tin cậy để phân biệt các vi khuẩn gần như giống nhau hoặc là không thể xác định được mối liên quan phả hệ giữa các nhóm vi khuẩn. Vì vậy, cùng với sự tiến bộ của khoa học và công nghệ, acid nucleic ngày càng đóng vai trò quan trọng trong phân loại vi khuẩn. Những đặc điểm về kiểu gen (genotype) mang lại nhiều thông tin có giá trị cao trong phân loại. Lợi thế của mối quan hệ di truyền là:

1. Khái niệm *loài* vi khuẩn đồng nhất hơn
2. Phân loại dựa trên ADN ít bị biến động hơn
3. Kết quả định danh tin tưởng hơn
4. Sự tiến hoá và mối liên quan phả hệ giữa chúng được hiểu rõ hơn

Những đặc điểm có ích khi khai thác acid nucleic:

Thành phần base nitơ: tỷ lệ mol% guanine và cytosine (mol% G+C) có giá trị lớn trong phân loại vi khuẩn. Tỷ lệ này hằng định đối với một vi khuẩn nhất định, những vi khuẩn gần nhau thì tỷ lệ này gần giống nhau.

Người ta có thể xác định tỷ lệ này bằng thuỷ phân ADN trong acid rồi tách các nucleotide bằng sắc ký và định lượng từng loại base riêng biệt. Ngày nay, tỷ lệ này được xác định nhanh chóng bằng giải trình tự gen hoặc ly tâm phân đoạn (gradient) trong cesium chloride.

Lai ADN: xử lý thích hợp để tách rời hai sợi của phân tử ADN thành các sợi đơn riêng biệt, sau đó cho tiếp xúc với sợi đơn tách từ một vi khuẩn khác. Nếu sợi kép hình thành thì hai vi khuẩn này giống nhau. Tỷ lệ bắt cặp các nucleotide bổ sung nói lên độ tương đồng giữa chúng.

Lai ARN/ADN: vì chỉ có một sợi ADN được dùng làm khuôn mẫu để tổng hợp ARN nên ARN chỉ bổ sung với sợi đó. ARN là sợi đơn và chúng không bắt cặp với các ARN khác nhưng khi trộn với ADN, chúng có thể bắt cặp nhau nếu có trình tự bổ sung. Tỷ lệ bắt cặp này cũng nói lên độ tương đồng giữa hai vi khuẩn nghiên cứu.

Tính đa hình của các mảnh ADN (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP): Khi cắt ADN bằng enzym hạn chế (restriction enzyme) rồi điện di xung trường (Pulse–Field Gel Electrophoresis, PFGE), các mảnh cắt ngẫu nhiên sẽ được biểu hiện. Mức độ tương đồng về các mảnh cắt này cho biết mức độ tương đồng giữa các vi khuẩn nghiên cứu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Giải trình tự ADN: ngày nay, ADN có thể được giải trình tự khá dễ dàng bằng các máy giải trình tự (sequencer) gen tự động. Nhờ trợ giúp của máy tính với các phần mềm mạnh và thông minh, các trình tự chung và đặc hiệu có thể được tìm ra và so sánh nhanh chóng, giúp cho phân loại chính xác hơn. Nhờ biết trình tự, mối quan hệ "huyết thống" giữa chúng cũng được xác định nhanh chóng và chính xác hơn trước. Những trình tự đặc hiệu còn được dùng để định danh vi khuẩn.

3. DANH PHÁP VI KHUẨN (Bacterial Nomenclature)

Từ hàng thế kỷ nay, người ta đã nhận thấy, cần phải có một bộ tên vi khuẩn ổn định và những quy tắc chung để điều chỉnh nó. Những quy tắc này đã được bao hàm trong *Mã danh pháp quốc tế* (International Codes of Nomenclature). Có những mã riêng cho động vật, thực vật, vi khuẩn và virus. Tuy vậy, do phải tuân thủ những quy tắc về ngôn ngữ, chúng thường khó hiểu (Sneath 1962, Cowan 1978, Jeffrey 1977).

Danh pháp của sinh vật nói chung, của vi khuẩn nói riêng đều chia làm hai loại: 1) tên không chính thống hoặc tên địa phương và 2) tên khoa học (chính thống), theo các nhóm phân loại.

Loại 1: tất cả các tên gọi vi khuẩn theo tên địa phương, theo tên bệnh, theo số chủng, theo ký hiệu kháng nguyên hay theo biến thể di truyền, ví dụ như "trực khuẩn lao", "trực khuẩn dịch hạch", "trực khuẩn mủ xanh", "phảy khuẩn tả", "trực khuẩn Whitmore", "K12", "kháng nguyên Ia", "biến thể valine", "tụ cầu vàng"... là những tên không chính thống. Tất cả các kiểu tên này đều không bị khống chế bởi mã danh pháp quốc tế mặc dù "mã" có thể có khuyến cáo về tính tiện dụng của một số tên đã được dùng quá phổ biến.

Loại 2: là tên chính thống của các loài, chi, và các bậc phân loại cao hơn. Như thế, *Mycobacterium tuberculosis* là tên khoa học của "trực khuẩn lao", một loài vi khuẩn. Tất cả tên loại này được điều chỉnh bởi mã quốc tế và đều có chung hai điểm: Latin hoá để dễ nhận biết và có vị trí xác định trong thang phân loại. Loại tên này được quốc tế hoá. Ví dụ, tất cả mọi người làm vi sinh trên thế giới đều hiểu *Bacillus anthracis* là gì, nhưng rất ít người hiểu nó dưới cái tên địa phương, *Milzbrandbacillus* hoặc *Bactéricide de charbon*!

Dùng đúng tên khoa học của một vi khuẩn trong các hoạt động khoa học luôn luôn là một thách thức đối với các nhà nghiên cứu, giảng viên và biên tập viên. Để dùng chính xác, cần lưu ý sáu điểm dưới đây:

1. Tên khoa học của vi khuẩn được viết dưới dạng Latin và tuân theo ngữ pháp của tiếng Latin. Điều đó có nghĩa là, tính từ (tên loài) phải phù hợp với danh từ mà nó bổ nghĩa (tên chi). Vì Latin là tiếng ngoại quốc, nên một *tên* khoa

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

học phải in nghiêng (đặc biệt là *tên* chi, loài và dưới loài – subspecies) hoặc đánh dấu bằng cách nào đó để phân biệt rõ với những từ bình thường khác trong bài (gạch chân chẳng hạn).

2. Có hai từ trong *tên* một loài: Ví dụ như *Escherichia coli* thì từ đầu, *Escherichia,* một danh từ, là tên chi; từ này luôn luôn phải viết hoa. Từ thứ 2, *coli*, tính từ đặc hiệu (specific epithet), là tên loài (species); từ này không viết hoa.

3. Những *tên* không còn giá trị (invalid) phải đặt trong ngoặc kép, ví dụ, "*Paracolobactrum arizonae*".

4. Những *tên* chi là một thuật ngữ khoa học Latin ở dạng số ít, mà có khả năng chuyển sang tiếng Anh hoặc tiếng địa phương, thì có thể chuyển dưới hai dạng: ví dụ, *Pseudomonas* có thể chuyển thành pseudomonas hoặc pseudomonad; *Bacillus* thành bacilli; *Streptomyces* thành streptomyces hoặc streptomycete (đều không viết hoa và in nghiêng). Ví dụ, "nhiễm khuẩn huyết pseudomonad" (pseudomonad septicemia), chứ không phải "nhiễm khuẩn huyết *Pseudomonas*" (*Pseudomonas* septicemia).

5. Thuật ngữ tiếng Anh "bacterium" là số ít, "bacteria" là số nhiều. Ví dụ, "Robert Koch đã phân lập được vi khuẩn *(bacterium)* gây bệnh than", nhưng "Khử trùng nghĩa là tiêu diệt các vi khuẩn *(bacteria)* có hại trên vật phẩm".

6. Tên các chi có thể dùng như danh từ Latin số ít với tận cùng kiểu Latin, ví dụ như *Salmonellae*, *Bacilli*; hoặc kiểu tận cùng Latin (hoặc tiếng Anh) số nhiều, thành "salmonelae" hoặc "salmonellas", "bacilli" (không bao giờ dùng "bacilluses").

Cần thận trọng với các danh từ Latin giống trung (neuter) tận cùng bằng *"um"* thì số nhiều của chúng là *"a"*, ví dụ, *Corynebacterium* có số nhiều là *Corynebacteria*. Những từ chỉ số nhiều như thế thường được xử lý như số ít, nên đôi khi, nhiều tác giả nhầm khi thêm *"e"* vào sau *"a"* để tạo số nhiều; ví dụ như, flagella, chứ không phải flagellae, là số nhiều của flagellum.

Trích dẫn tên khoa học của vi khuẩn: thông qua trích dẫn đúng cách, tên khoa học có tác dụng khuếch đại thông tin nhờ thêm tên tác giả đề xuất ra nó. Ví dụ, *Burkholderia pseudomallei* (Whitmore 1913) Yabuuchi 1993, được hiểu là Whitmore là người đầu tiên đề xuất tên vi khuẩn này vào năm 1913 và đến năm 1993, Yabuuchi đã đề xuất đổi tên chúng như tên hiện tại.

Tuy chính xác hơn tên cũ, nhưng tên khoa học nhiều khi phức tạp nên trong thực tế, nhiều tên cũ vẫn được dùng, mặc dù đã có tên khoa học, do tính tiện dụng và phổ biến của nó; ví dụ như người ta vẫn thường dùng *Salmonella typhi* thay cho tên khoa học: *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhi (Typhi phải viết hoa và không in nghiêng)!

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. ĐỊNH DANH VI KHUẨN (Identification of Bacteria)

4.1. Bản chất của định danh

Như định nghĩa ở trên, *định danh* (định loại, nhận dạng) là một quá trình nhằm xác định xem một chủng mới được phân lập thuộc vào nhóm phân loại (đã được thiết lập, đặt tên) nào. Như vậy, định danh không phải là *phân loại* mặc dù có nhiều điểm, bên ngoài, tưởng như giống nhau.

Định danh một nhóm vi khuẩn chỉ có thể làm được *sau khi* nhóm đó đã được phân loại, nghĩa là đã được nhận dạng là nhóm này khác với các nhóm khác một cách rõ rệt dựa trên một hoặc nhiều tính chất mà tất cả các thành viên của nhóm này *có* mà nhóm khác *không có*. Những đặc tính dùng cho định danh thường không phải là những tính chất dùng trong phân loại, ví dụ như phân loại có thể dựa trên lai ADN/ADN trong khi đó, định danh có thể chỉ dựa trên những đặc tính bên ngoài (hình thể, tính chất bắt màu, tính chất khuẩn lạc ...) có liên quan chặt chẽ với các thông tin di truyền của nó. Nói chung, những tính chất dùng cho định danh phải là những tính chất có thể dễ xác định, trong khi đó, đối với phân loại lại là những tính chất khó xác định, ví dụ như liên quan đến từng nucleotide trong ADN.

Định danh dùng ít tính chất còn phân loại lại dùng rất nhiều tính chất khác nhau. Tuy vậy, không phải lúc nào cũng định danh được với một số ít các tính chất, đặc biệt là đối với những chi hoặc loài không cho phép dùng các test sinh hoá hoặc sinh lý truyền thống. Trong những trường hợp này, phải tìm đến các kỹ thuật khác, phức tạp hơn để có thể định danh chính xác hơn, ví dụ như điện di protein vi khuẩn trên gel polyacrylamide (PAGE), phân tích lipid tế bào, biến nạp hoặc thậm chí đến lai ADN/ADN, giải trình tự gen.

Các phản ứng huyết thanh học thường chỉ dùng trong phân loại thì lại có giá trị to lớn trong thực tế định danh. Ngưng kết trực tiếp trên phiến kính, các kỹ thuật kháng thể huỳnh quang và nhiều kỹ thuật miễn dịch khác có thể thực hiện dễ dàng, nhanh chóng và có độ đặc hiệu cao nên chúng được dùng rất rộng rãi trong định danh sơ bộ. Tuy vậy, độ đặc hiệu của tất cả các test nhanh thường không tuyệt đối, vì thế, để khẳng định định danh chính xác, thông thường phải dùng thêm các test khác như các đặc điểm sinh lý và hoá sinh.

Các kỹ thuật kinh điển trước đây làm trong ống nghiệm thì ngày nay đã dùng dạng giếng nhỏ, que thử hoặc dưới dạng các KIT, rất thuận tiện và cho phép làm nhiều test trong một thời gian ngắn, không gian hẹp. Việc đọc và phân tích kết quả các thử nghiệm dùng trong định danh được trợ giúp đắc lực bởi máy tính với các phần mềm tiện ích cao và thông minh. Tất cả những tiến bộ đó đã cho phép công việc định danh ngày càng thuận lợi và kết quả định danh ngày càng đáng tin cậy hơn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.2. Sự cần thiết của phương pháp chuẩn

Khó khăn trong định danh là kết quả của một thử nghiệm có thể thay đổi tuỳ theo liều lượng vi khuẩn (ví dụ, vòng vô khuẩn), nhiệt độ và thời gian ủ (ví dụ, lên men đường glucose và lactose trong môi trường KIA), thành phần môi trường, tỷ lệ bề mặt và thể tích môi trường (ví dụ, bề mặt và chiều cao của ống thạch mềm), và đặc biệt là tiêu chuẩn xác định "âm tính" và "dương tính" nhiều khi không rõ ràng mà phụ thuộc nhiều vào cảm nhận chủ quan của người làm. Cho nên, kết quả của một test thường khác nhau giữa Labo này với Labo khác; mặc dù trong một Labo, kết quả đó luôn luôn ổn định. Vì vậy, mặc nhiên công nhận kết quả định danh của một cơ sở nào đó mà không có những chuẩn mực để khống chế thì rất dễ dẫn đến những sai lầm đáng tiếc.

Vì những lý do trên, những tiêu chuẩn cụ thể để chuẩn hoá từng kỹ thuật có ý nghĩa hết sức to lớn trong việc định danh chính xác vi khuẩn. Việc dùng các KIT thương mại hiện nay đã làm tăng đáng kể tính tiêu chuẩn của thử nghiệm, giảm sự khác biệt giữa các Labo; tuy vậy, cho đến nay, chưa có một KIT nào thoả mãn được yêu cầu chuẩn hoá cao trong định danh. Vì vậy, luôn luôn ghi nhớ rằng, ở mỗi test, phải có chủng chuẩn để so sánh và đánh giá.

4.3. Sự cần thiết của đánh giá "dương tính" và "âm tính" chính xác

Một số test dựa vào các đặc tính được mã hoá trên plasmid hoặc phage, ví dụ kháng thuốc hay độc tố bạch hầu, thường hay thay đổi kết quả với mục đích định danh vì plasmid trong một vi khuẩn có thể mất đi trong quá trình nhân lên hoặc vi khuẩn có thể nhận plasmid khác từ một vi khuẩn cùng loài, thậm chí khác loài. Một số đặc tính không bị thay đổi bởi không có đột biến gen mã hoá nó, nhưng một số test thường không thích hợp cho định danh vì chúng không cho kết quả ổn định, ví dụ như catalase, oxidase, Voges–Prokauer, lỏng gelatin.

Lý tưởng mà nói, phải dùng những test cho kết quả ổn định và có thể đọc được kết quả đó một cách rõ ràng là "dương tính" hoặc "âm tính", không mập mờ (equivocal) giữa "dương" và "âm", thì mới hy vọng có kết quả định danh đúng. Trên thực tế, không test nào đáp ứng được yêu cầu đó. Một trực khuẩn đường ruột, có các tính chất của *Klebsiella* hay *Enterobacter*; nếu người đọc tính chất di động cho rằng "di động +" thì nó sẽ được định danh là *Enterobacter*, nhưng nếu tính chất này không cho kết quả rõ ràng, người khác nhìn vào lại nhận thức là "di động –" thì định danh sẽ chuyển ngay sang là *Klebsiella*. Như vậy, thực chất vi khuẩn này là *Enterobacter* hay *Klebsiella*? Chỉ làm lại thử nghiệm hoặc bổ sung các phương pháp xác định tính chất di động khác để khẳng định kết quả thì mới có thể định danh chính xác được. Tương tự như vậy, kết quả nhuộm Gram cũng khó xác định đúng, có nha bào hay không có nha bào cũng khó xác định chân thực bằng test chịu nhiệt; sinh acid nhiều khi rất khó phân biệt với không

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

sinh acid nếu vi khuẩn đó sinh acid rất yếu; hoặc "mọc yếu" khó phân biệt với "không mọc"... Vì vậy, định nghĩa "dương tính" hay "âm tính" luôn luôn là công việc rất quan trọng để test đó thực sự có giá trị trong định danh.

4.4. Nuôi cấy thuần

Mặc dù có một số vi khuẩn có hình ảnh đặc trưng để có thể định danh mà không cần phân lập, nhưng gần như tuyệt đối, cần có nuôi cấy thuần mới định danh được vi khuẩn. Cần phải nhận thức rõ rằng, một khuẩn lạc riêng rẽ trên dĩa thạch nuôi cấy không đảm bảo được đó đã thực sự là nuôi cấy thuần vì có thể có vi khuẩn khác nằm dưới nó, đặc biệt là trên các môi trường có chất ức chế. Vi khuẩn đó vẫn sống nhưng không phát triển, nằm bên trong hoặc bên cạnh khuẩn lạc quan tâm và có thể được cấy chuyển một cách tình cờ cùng với các thao tác trên khuẩn lạc đó. Vì thế, để có một nuôi cấy thuần, phải dùng môi trường không có chất ức chế cho giai đoạn phân lập cuối cùng. Thậm chí trên môi trường không có chất ức chế cũng không nên cấy chuyển quá sớm khi mà khuẩn lạc chưa đủ lớn, chưa đủ điều kiện bộc lộ những khuẩn lạc khác có thể kèm theo.

Về nguyên tắc chung, các khuẩn lạc được hình thành từ một nuôi cấy thuần thì giống nhau và được dùng làm một trong những chứng cứ quan trọng nói lên sự thuần khiết của một nuôi cấy. Tuy vậy, cũng có những ngoại trừ các biến thể, ví dụ S→R, hình thành vỏ, sắc tố–không sắc tố do các điều kiện nuôi cấy khác nhau tạo ra như môi trường nuôi cấy, nhiệt độ hay các điều kiện phát triển khác; ví dụ, *Mycobacterium kansasii* không có sắc tố khi nuôi cấy trong điều kiện không có ánh sáng, nhưng lại có sắc tố khi để trong điều kiện có ánh sáng.

Trái lại, với nhiều vi khuẩn, bản thân các tế bào khác nhau lại hình thành các dạng khuẩn lạc khác nhau trong cùng điều kiện nuôi cấy, làm cho những người mới vào nghề, thiếu kinh nghiệm thực tế và lý thuyết có thể ngộ nhận rằng, đó là nuôi cấy không thuần; điển hình là *Burkholderia pseudomallei* (trực khuẩn Whitmore).

4.5. Sáu bước tiếp cận để định danh vi khuẩn thành công (S.T. Cowan and J. Liston)

a. Hãy đảm bảo rằng, bạn đã có một nuôi cấy thuần.

b. Hãy làm việc từ các tiêu chí lớn xuống các tiêu chí nhỏ hơn rồi đến tiêu chí đặc hiệu cho một vi khuẩn.

c. Hãy dùng tất cả các thông tin mà bạn đã thu thập được để hạn chế (to narrow) các khả năng có thể hoặc không thể một cách logic, khoa học.

d. Hãy dùng các cảm nhận thông thường ở mỗi bước, không nên nghĩ ngay tới những điều cao xa.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

e. Hãy dùng tối thiểu số lượng các test dùng cho định danh.

f. Hãy thường xuyên so sánh với chủng chuẩn.

Khi không định danh được, bạn hãy kiểm tra:

a. Nuôi cấy thuần ?

b. Dùng test phù hợp ?

c. Dùng phương pháp đáng tin cậy ?

d. Dùng đúng khoá và bảng tính chất cho các test của mình ?

Những trường hợp không định danh được, nếu thực sự không có nghi ngờ gì về các thử nghiệm của mình và không tìm ra được bất cứ lời lý giải hợp lý nào thì nên nghĩ đến một chủng mới, chưa được phân loại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Văn Phủng. Tên vi khuẩn. Nhà xuất bản Y học. 2000.
2. John G. Holt et al. Bergey's Bacteria Words. Williams & Wilkins. 1992.
3. John G Holt, et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams & Wilkins; 9th ed, 1994.
4. Noel R. Krieg et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Volume 1. 1984.
5. Peter H. A. Sneath et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Volume 2. 1986.
6. Skerman VBD, et al. Approved Lists of Bacterial Names (IJSB, 30: 225–420, 1980). American Society for Microbiology. 1989.
7. http://ijs.sgmjournals.org/
8. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&name=Bacteria&lvl=3&srchmode=1&keep=1&unlock

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 2

CẦU KHUẨN GRAM DƯƠNG

LIÊN CẦU

Streptococcus

Rosenbach 1884

Loài mẫu: *Streptococcus pyogenes* Rosenbach 1884

Lịch sử và xếp loại

Liên cầu được Billroth mô tả lần đầu tiên vào năm 1874 từ mủ của các tổn thương viêm quầng và các vết thương bị nhiễm trùng. Năm 1880, Pasteur phân lập được liên cầu từ bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết. Sau đó Ogston (1881), Rosenbach (1884) đã nghiên cứu kỹ về bệnh lý do liên cầu gây ra.

Năm 1919, Brown đã xếp loại liên cầu theo những hình thái tan máu khác nhau, khi chúng phát triển trên môi trường thạch máu:

- Liên cầu tan máu β (β–haemolytic Streptococci): tan máu hoàn toàn, xung quanh khuẩn lạc vòng tan máu trong suốt, hồng cầu bị phá huỷ hoàn toàn.
- Liên cầu tan máu α (α–haemolytic Streptococci): tan máu không hoàn toàn, xung quanh khuẩn lạc có vòng tan máu màu xanh.
- Liên cầu tan máu γ (γ–haemolytic Streptococci): xung quanh khuẩn lạc không nhìn thấy vòng tan máu. Hồng cầu trong thạch vẫn giữ màu hồng nhạt.

Năm 1930, Lancefield dựa vào kháng nguyên carbohydrate (kháng nguyên đặc hiệu nhóm) của vách tế bào vi khuẩn để xếp liên cầu thành các nhóm, theo bảng chữ cái tiếng Anh, từ A đến R: A, B, C,..., R.

Năm 1937, Sherman dựa vào các tính chất hoá sinh và nhiều tính chất khác để xếp liên cầu thành các loài *Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae, ...*

LIÊN CẦU TAN MÁU β

β–haemolytic Streptococci

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Liên cầu tan máu β có khả năng gây ra nhiều bệnh cho người ở tất cả các vùng địa lý khác nhau trên toàn thế giới, trong đó quan trọng nhất là loài

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Streptoccocus pyogenes, thuộc nhóm A (theo phân loại của Lancefield – group A streptococci). Những hậu quả sau nhiễm liên cầu nhóm A ở đường hô hấp trên, đặc biệt ở trẻ em như: thấp tim, viêm cầu thận cấp ..., đã để lại hậu quả nặng nề không chỉ bệnh nhân phải gánh chịu mà còn là gánh nặng đối với xã hội. Ngoài liên cầu nhóm A là tác nhân gây bệnh chính ở người, còn có một số liên cầu nhóm khác cũng có thể gặp gây bệnh ở người như trong bảng sau:

Bảng 2.1. Một số loài chính của liên cầu tan máu β (Facklam 2002)

Loài	Nhóm (Lancefield)	Vật chủ chính
S. pyogenes	A	Người
S. agalactiae	B	Người, bò
S. dysgalactiae subsp.*equisimilis*	C, G	Người, động vật
S. equi subsp. *equi*	C	Động vật
S. equi subsp. *zooepidemicus*	C	Động vật (người*)
S. canis	G	Chó (người*)
S. phoacae	C và F	Hải cẩu

* Hiếm

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Liên cầu tan máu β là những cầu khuẩn bắt màu Gram dương, thường xếp thành những chuỗi dài ngắn khác nhau, không di động, đôi khi có vỏ, đường kính 0,6–1 μm *(Xem hình P1 ở Phụ bản).*

2.2. Tính chất nuôi cấy

Liên cầu là những vi khuẩn hiếu kỵ khí tuỳ tiện. Môi trường nuôi cấy cần nhiều chất dinh dưỡng như: máu, huyết thanh, đường,... Liên cầu phát triển thuận lợi trong khí trường có oxy hoặc có một phần CO_2, nhiệt độ thích hợp là 37°C. Trên môi trường lỏng, liên cầu phát triển hình thành các chuỗi đến khi đủ lớn tạo thành những hạt nhỏ lắng xuống đáy ống. Vì vậy, sau 24 giờ nuôi cấy, môi trường phía trên trong suốt, đáy ống có nhiều hạt lắng cặn.

Trên môi trường thạch máu, vi khuẩn phát triển thành những khuẩn lạc nhỏ, tròn lồi, bóng, màu hơi xám, tan máu β *(Xem hình P2 ở Phụ bản).*

2.3. Tính chất hoá sinh

Liên cầu không có enzym catalase. Liên cầu có khả năng phát triển trong môi trường có mật, muối mật hoặc ethylhydrocuprein. Liên cầu nhóm A đặc biệt nhạy cảm với bacitracin *(Xem hình P3 ở Phụ bản).*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.4. Cấu trúc kháng nguyên

Liên cầu có cấu trúc kháng nguyên phức tạp. Vì vậy, ở dây chỉ đề cập đến những kháng nguyên quan trọng liên quan nhiều đến độc lực, cơ chế gây bệnh của liên cầu.

– Kháng nguyên carbohydrate đặc hiệu nhóm: Đây là kháng nguyên nằm ở vách tế bào vi khuẩn. Dựa vào kháng nguyên này, Lancefield xếp liên cầu thành các nhóm từ A đến R (Theo bảng chữ cái tiếng Anh).

– Kháng nguyên M đặc hiệu type: kháng nguyên M cũng nằm ở vách tế bào vi khuẩn. Dựa vào kháng nguyên M, Lancefield xếp liên cầu nhóm A thành 130 type huyết thanh khác nhau. Protein M nằm rải đều trên bề mặt của tế bào, nên dễ dàng kết hợp với kháng thể M thậm chí ngay cả khi có mặt của acid hyaluronic. Ngoài ra, protein M có khả năng chống đại thực bào, vì vậy nó có liên quan trực tiếp tới độc lực của liên cầu. Kháng nguyên protein M bị phân huỷ bởi men trypsin hoặc pepsin.

Những kháng nguyên khác của liên cầu:

– Kháng nguyên T: bản chất là protein, nằm ở vách tế bào vi khuẩn, bị phá huỷ bởi nhiệt độ ở pH acid.

– Kháng nguyên P: bản chất là nucleoprotein. Kháng nguyên này có phản ứng chéo với nucleoprotein của tụ cầu.

– Kháng nguyên R: bản chất là protein, nằm ở vách tế bào vi khuẩn, chúng có thể phản ứng chéo giữa các type huyết thanh hoặc giữa các nhóm.

2.5. Các enzym và độc tố

– Streptokinase: Năm 1939, Tillett và Garner đã mô tả streptokinase gồm hai phân tử nhỏ A và B. Kháng nguyên này tìm thấy ở liên cầu nhóm A và một số liên cầu nhóm khác. Streptokinase là kháng nguyên có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể antistreptokinase. Streptokinase có khả năng làm tan tơ huyết, hoạt hoá xung quanh vùng tổn thương, vì thế tạo điều kiện liên cầu lan tràn nhanh.

– Streptodornase (Deoxyribonuclease hoặc DNase): Tillett đã mô tả enzym streptodornase có bốn loại: A, B, C, D và bốn loại này là những kháng nguyên khác nhau, có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể đặc hiệu. Streptodornase có khả năng thuỷ phân ADN, do đó làm lỏng mủ, nhưng nó chỉ có tác dụng khi có mặt của ion Mg^{++}.

-- Hyaluronidase: enzym thuỷ phân acid hyaluronic của tổ chức, tạo điều kiện cho vi khuẩn lan tràn sâu rộng vào các mô. Enzym này là một kháng nguyên có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

– DPNase (diphospho pyridine nucleotidase): được tìm thấy ở liên cầu nhóm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

A, C, G, là enzym có khả năng diệt bạch cầu. Enzym này có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

– Proteinase: có khả năng thuỷ phân protein và có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

– Dung huyết tố: các liên cầu tan máu β có khả năng hình thành hai loại dung huyết tố:

Streptolysin O: dễ bị mất hoạt tính bởi oxy, vì thế trên môi trường nuôi cấy, chúng gây tan máu ở phía sâu trong thạch. Độc tố này mang tất cả các tính chất của một ngoại độc tố, đặc biệt có tính kháng nguyên mạnh, vì thế có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể (antistreptolysin O). Trong chẩn đoán thấp tim và viêm cầu thận cấp việc định lượng kháng thể kháng streptolysin O là rất có giá trị.

Streptolysin S: có vai trò gây tan máu ở bề mặt của môi trường nuôi cấy. Độc tố này không bị mất hoạt tính bởi oxy, tính kháng nguyên kém vì vậy không kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

– Độc tố hồng cầu (erythrogenic toxin): bản chất là protein gây phát ban trong bệnh tinh hồng nhiệt.

Cơ chế hoạt động của độc tố chưa rõ ràng, nhưng khi tiêm vào trong da của trẻ em dễ mẫn cảm, có thể gây nên phản ứng ban đỏ tại chỗ, phản ứng đạt cao nhất 24 giờ sau khi tiêm. Khi bệnh nhân có kháng độc tố thì phản ứng ở da âm tính.

Phản ứng Schultz–Charton: tiêm trong da một lượng kháng độc tố tương ứng lúc cao điểm của bệnh tinh hồng nhiệt thì chỗ tiêm mất ban đỏ.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Khả năng gây bệnh của liên cầu nhóm A

Liên cầu nhóm A là nhóm liên cầu gây bệnh quan trọng nhất ở người. Tùy từng type huyết thanh mà chúng gây nên các thể lâm sàng sau:

– Nhiễm khuẩn tại chỗ: do liên cầu nhóm A chiếm 15–30% các căn nguyên gây viêm họng, viêm thanh quản, eczema, chốc lở viêm da, viêm quầng ở người lớn, nhiễm khuẩn các vết thương, viêm tai giữa, viêm hạch, viêm phổi, viêm âm dạo, nhiễm khuẩn tử cung sau đẻ... Cơ chế gây bệnh của các thể này đã được hiểu một cách rõ ràng. Những yếu tố giúp cho quá trình lan toả của liên cầu và yếu tố kháng đại thực bào giữ vai trò quan trọng trong bệnh lý. Một trong các yếu tố chủ yếu đó là acid hyaluronic của vỏ và protein M.

– Nhiễm khuẩn thứ phát: từ những ổ nhiễm khuẩn tại chỗ, bệnh nhân có thể nhiễm khuẩn huyết, viêm màng trong tim cấp.

– Bệnh tinh hồng nhiệt: thường gặp ở trẻ em trên hai tuổi, ở các nước ôn đới. Liên cầu nhóm A sản xuất ra độc tố hồng cầu và xảy ra ở trẻ em nhạy cảm với độc tố.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Các bệnh khác

Bệnh viêm cầu thận cấp ở trẻ em: thường gặp type 12, một số trường hợp do type 4, 18, 25, 49, 52 và 55. Bệnh thường xuất hiện sau nhiễm liên cầu nhóm A ở họng hoặc ở da. Các giả thuyết cho rằng do có sự tác động của kháng thể chống lại kháng nguyên vách của liên cầu nhóm A, phản ứng chéo với màng đáy của cầu thận.

Bệnh thấp tim: bệnh thường xảy ra sau nhiễm liên cầu nhóm A ở họng hai đến ba tuần và tương đương với giai đoạn tìm thấy kháng thể chống liên cầu tăng cao trong máu. Thường gặp một số type huyết thanh: 1, 3, 5, 6, 14, 18, 19, 24, 27, 29. Người ta đã chứng minh được có sự phản ứng chéo giữa kháng thể chống kháng nguyên của liên cầu, với kháng nguyên tổ chức của cơ tim và thành phần glycoprotein của van tim. Tuy nhiên, cho tới nay cơ chế gây bệnh thấp tim và viêm cầu thận cấp vẫn còn chưa được chứng minh một cách đầy đủ. Ngoài ra, người ta đã xác định được phức hợp miễn dịch: globulin miễn dịch – bổ thể C3 – kháng nguyên liên cầu ở thương tổn của tiểu cầu thận và cơ tim. Từ năm 1980 trở lại đây, cơ chế nhiễm độc cũng được nhiều tác giả thừa nhận. Helber cho rằng Streptolysin O gây độc trực tiếp cho cơ tim. Kháng nguyên protein của liên cầu khi tiêm trực tiếp vào tĩnh mạch của động vật thực nghiệm đã xác định được sự lắng đọng dưới nội tâm mạc.

Bảng 2.2. Phản ứng chéo giữa các kháng thể chống các kháng nguyên của liên cầu nhóm A với các tổ chức của người

Kháng thể chống các kháng nguyên của liên cầu nhóm A	Tổ chức của người	Tác giả và năm báo cáo
Kháng thể chống kháng nguyên protein M	Cơ tim	Kaplan và Meysein (1962)
Kháng thể chống glycoprotein của màng tế bào	Glycoprotein của màng đáy cầu thận	Markowitz và Lange (1964)
Kháng thể chống kháng nguyên polysaccharide	Kháng nguyên tổ chức	Rappaport và cộng sự (1966)
Kháng thể chống kháng nguyên hyaluronic	Acid hyaluronic của động vật có vú và protein, polysaccharide	Sandon (1968)

3.2. Khả năng gây bệnh của các liên cầu nhóm khác (nhóm B, C và G)

– Liên cầu nhóm B (*S. agalactiae*): có thể gây nhiễm khuẩn huyết và viêm màng não ở trẻ sơ sinh. Ngoài ra có thể gây chốc lở ngoài da nhưng rất hiếm gặp.

– Liên cầu nhóm C (*S. equisimilis, S. zooepidermicus, S. equi*): có thể gặp viêm họng, viêm thanh quản, viêm da, viêm màng trong tim.

– Liên cầu nhóm G: có thể gây viêm họng hoặc viêm da nhưng rất hiếm gặp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.3. Gây bệnh thực nghiệm

Thỏ là động vật nhạy cảm đối với liên cầu. Khi thỏ bị gây nhiễm, có thể biểu hiện các bệnh cảnh khác nhau như: áp xe, viêm khớp, nhiễm khuẩn huyết.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Bệnh phẩm

Tuỳ từng thể bệnh mà lấy các bệnh phẩm ở từng vị trí khác nhau. Ví dụ: bệnh phẩm họng, máu, dịch não tuỷ, dịch ổ áp xe hoặc mủ...

Tất cả các bệnh phẩm đều phải cấy ngay vào môi trường nuôi cấy thích hợp, chậm nhất cũng không được quá 3 giờ.

4.1.2. Phân lập và xác định liên cầu tan máu β

Nhuộm Gram: trên tiêu bản nhuộm Gram, vi khuẩn có hình cầu, bắt màu Gram dương, thường xếp thành chuỗi.

Nuôi cấy phân lập: Bệnh phẩm máu và dịch não tuỷ được cấy vào môi trường canh thang glucose ủ ở nhiệt độ 37°C, theo dõi và đọc kết quả hằng ngày, nếu tới ngày thứ 15 vẫn không thấy vi khuẩn mọc, thì kết luận mẫu bệnh phẩm âm tính.

Các bệnh phẩm khác được cấy vào môi trường thạch máu 5%.

Để xác định vi khuẩn dựa vào các tính chất sinh vật hoá học như sau:

Bảng 2.3. Tính chất sinh vật hoá học của liên cầu tan máu β
(nhóm A, B, C và G theo phân loại của Lancefield)

Loài	Nhóm	Barcitracin	Pyrrolidonylaryl amidase	CAMP	Arginine	VP	β-galactosidase	Hippurate	Glucogen	Ribose	Sorbitol	Trehalose
S. pyogenes	A	+	+	–	+	–	–	–	V	–	–	+
S. agalactiae	B	–	–	+	+	–	–	+	–	+	–	+
S. dysgalactiae subsp *equisimilis*	C	–	V	–	+	–	–	–	V	+	–	+
S. equi subsp *equi*	C	–	–	–	+	–	V	–	+	–	–	V
S. equi subsp *zooepidemicus*	C	–	–	–	+	–	–	–	+	+	+	–
S. canis	G	–	–	–	+	–	+	–	–	+	–	–

V: có thể (+), có thể (–); CAMP: Christie, Atkins, và Munch–Petersen: thử nghiệm phân biệt liên cầu nhóm B với các nhóm khác; VP: Voges–Proskauer; Bacitracin (+): nhạy cảm với 0,1 U bacitracin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ngoài ra, hiện nay còn có phương pháp chẩn đoán nhanh liên cầu nhóm A từ tăm bông ngoáy họng bằng phản ứng ngưng kết hạt latex. Phương pháp này có độ đặc hiệu cao, nhưng độ nhạy kém, song cho kết quả nhanh, chỉ sau 10 phút.

PCR (Polymerase chain reaction) thường được sử dụng chẩn đoán liên cầu nhóm B trong viêm não ở trẻ sơ sinh.

4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Các nghiên cứu xác định kháng thể chống lại kháng nguyên ngoài tế bào được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán phát hiện nhiễm liên cầu nhóm A trước đó. Đặc biệt, xét nghiệm ASLO (ASO): antistreptolysin O, là xét nghiệm được sử dụng rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới để khẳng định bằng chứng nhiễm liên cầu nhóm A trước đó trong chẩn đoán thấp tim và viêm cầu thận cấp ở trẻ em. Giới hạn bất thường của kháng thể kháng streptolysin O ở từng nước có thể khác nhau: ở Mỹ, trẻ em trên 5 tuổi từ 333 đơn vị Todd; ở Pháp, trẻ em lứa tuổi học đường, từ 240 đơn vị Todd trở lên là bất thường; ở Việt Nam kết quả điều tra tại Hà Nội (năm 2000), giới hạn bất thường ở trẻ em học đường từ 240 đơn vị Todd trở lên.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

Hiện nay, chưa có vắc xin phòng bệnh hữu hiệu, vì vậy chủ yếu vẫn là phòng bệnh chung. Cần phát hiện sớm những ổ nhiễm khuẩn ngoài da, viêm họng do liên cầu nhóm A gây nên để điều trị kịp thời, tránh những nhiễm khuẩn thứ phát.

Cho đến nay, penicillin vẫn là kháng sinh lựa chọn hàng đầu để điều trị liên cầu nhóm A cũng như sử dụng trong phòng thấp cấp I và cấp II. Đối với những trường hợp có phản ứng với penicillin, erythromycin là kháng sinh được khuyến cáo thay thế trong điều trị.

LIÊN CẦU TAN MÁU α VÀ γ

α, γ–haemolytic Streptococci

1. GIỚI THIỆU

Các liên cầu tan máu α và γ hay còn gọi là các liên cầu không tan máu β, gồm nhiều loài khác nhau, thường cư trú ở miệng. Mặc dù, các loài liên cầu này không giữ vai trò gây bệnh quan trọng như liên cầu nhóm A, phần lớn là vi hệ ở khoang

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

miệng, đường hô hấp, đường tiêu hoá, nhưng đôi khi chúng cũng là tác nhân gây nên một số bệnh cho người và động vật như: viêm họng, viêm phổi, viêm màng trong tim, nhiễm trùng huyết v.v...

Bảng 2.4. Một số loài liên cầu ở khoang miệng

Nhóm và loài	Vật chủ
Nhóm anginosus	
S. anginosus	Người
S. constellatus	Người
S. intermedius	Người
Nhóm mitis	
S. mitis	Người
S. oralis	Người
S. crista	Người
S. infantis	Người
S. perosis	Người
S. orisratti	Chuột
Nhóm sanguis	
S. sanguis	Người
S. vestibularis	Người
Nhóm mutans	
S. mutans	Người
S. sobrinus	Người, chuột
S. ratus	Chuột (rất hiếm ở người)
S. macacae	Khỉ

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể, tính chất bắt màu

Giống như liên cầu tan máu β

2.2. Tính chất nuôi cấy

Các liên cầu không tan máu β, phát triển được trên môi trường giàu chất dinh dưỡng như môi trường có máu và huyết thanh. Khi phát triển trên môi trường thạch máu, liên cầu có thể gây tan máu α (tan máu không hoàn toàn, xung quanh khuẩn lạc có vòng tan máu màu xanh) hoặc tan máu γ (xung quanh khuẩn lạc không nhìn thấy vòng tan máu, hồng cầu trong thạch vẫn giữ màu hồng nhạt) tuỳ từng nhóm liên cầu *(Xem hình P4 ở Phụ bản)*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.3. Tính chất hoá sinh học

Bảng 2.5. Một số tính chất hoá sinh của nhóm anginosus

Tính chất	*S. anginosus*	*S. constellatus*	*S. intermedius*
Lactose	+	+/–	+
Mannitol	–/+	–	–
Raffinose	–/+	–	–
β–D–galactosidase	–	–	+
α–D–glucosidase	–/+	–	+
β–D–glucosidase	+	–	–/+
Esculin	+	+*	+

+, ≥ 90% dương tính; +/–, 50–89% các chủng dương tính; –/+, 11–49% các chủng dương tính; –, ≤ 10% các chủng dương tính; *, một vài chủng dương tính muộn.

Bảng 2.6. Một số tính chất hoá sinh của nhóm mitis

Tính chất	*S. sanguis*	*S. gordoni*	*S. mitis*	*S. oralis*	*S. parasanguis*	*S. crista*	*S. pneumoniae*
Lactose	+	+	+/–	+	+	+/–	+
Melibiose	+/–	–/+	+/–	+/–	+/–	–	–
Rafinose	+/–	–/+	+/–	+/–	+/–	–	+
Sorbitol	–/+	–	–/+	–	–/+	–	–
Arginine	+	+	–	–	+	+/–	–
Esculin	+/–	+	–	–/+	–/+	–	–/+

Bảng 2.7. Một số tính chất hoá sinh của nhóm salivarius

Tính chất	*S. salivarius*	*S. vestibularis*	*S. thermophilus*
Lactose	+	+/–	+
Melibiose	–/+	–	+
Raffinose	+/–	–	V
Esculin	+	+/–	–
Urea	+/–	+	–
VP	+/–	+	–

V, có thể (+), có thể (–)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 2.8. Một số tính chất hoá sinh của nhóm mutans

Tính chất	*S. mutans*	*S. sobrinus*	*S. cricetus*	*S. rattus*	*S. macacae*
Lactose	+	+/–	+/–	+/–	–
Mannitol	+	+/–	+	+	+
Raffinose	+	–	+	+	+
Sorbitol	+	–/+	+	+	+
Arginine	–	–	–	+	–
Esculin	+	+/–	+/–	+	+
VP	+	+	+	+	+

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Các liên cầu không tan máu β phần lớn là vi hệ ở khoang miệng, họng và đường tiêu hoá ở người. Tuy nhiên, một số loài cũng có thể gây bệnh cơ hội khi gặp điều kiện thuận lợi như trong bảng sau:

Bảng 2.9. Khả năng gây bệnh của các nhóm liên cầu

Nhóm liên cầu	Khả năng gây bệnh ở người
Mitis	Viêm màng trong tim, viêm lợi
Salivarius	Viêm lợi, viêm màng trong tim
Mutans	Viêm lợi, viêm màng trong tim
Bovis	Viêm màng trong tim, viêm ruột
Variant	Viêm màng trong tim, viêm tai, viêm não, viêm tuỷ, viêm phổi, viêm tuỷ xương.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Tuỳ từng thể bệnh, mà chúng ta lấy bệnh phẩm ở từng vị trí khác nhau: ví dụ: viêm màng trong tim: bệnh phẩm là máu; viêm màng não: bệnh phẩm là dịch não tuỷ; viêm tai: bệnh phẩm là dịch mủ tai; viêm họng: bệnh phẩm là dịch nhày họng ...

– Viêm màng trong tim: sử dụng phương pháp cấy máu, nên cấy vài ngày liên tiếp, tỷ lệ dương tính sẽ cao hơn. Nếu bình cấy máu âm tính sau 48 giờ, nên theo dõi tiếp và kiểm tra vào này thứ 7 và ngày thứ 14; nếu vẫn âm tính mới kết luận mẫu máu âm tính.

– Các bệnh phẩm khác: nhuộm Gram, cấy vào môi trường thạch máu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Dựa vào tính chất sinh vật hoá học để xác định các nhóm liên cầu.

– Ngoài các phương pháp trên, hiện nay các kỹ thuật sinh học phân tử như PCR, giải trình tự ADN, cũng được sử dụng trong chẩn đoán liên cầu.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

Hiện nay vẫn chưa có vắc xin phòng bệnh cho các nhóm liên cầu không tan máu β, vì vậy, phòng bệnh chủ yếu vẫn là phòng bệnh chung.

Tuỳ từng nhóm liên cầu, sự nhạy cảm với kháng sinh là khác nhau. Vì vậy, để điều trị có hiệu quả cao nhất, phải dựa vào kết quả kháng sinh đồ để chọn lựa kháng sinh, liều lượng và thời gian sử dụng thích hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001.
2. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. John C. Sherris, Jam J. Champoux, Lawrence Corey Frederick C. Neidhardt, James J. Plorde C. George Ray, Kenneth J. Ryan. Medical Microbiology. 1991.
4. Fritz H. Kayser, Kurt A. Bienz, Johannes Eckert, Rolf M. Zinkernagel. Medical Microbiology. 2005
5. Gillespie S.H. and Hawkey P.M., Principles and Practice of Clinical Bacteriology, John Wiley & Sons, Ltd.; 2nd ed, 2006.
6. WHO. Manual of microbiological diagnostic methods for streptococcal infections and their sequelae. 1983.
7. WHO. Laboratory diagnosis of group A streptococcal infections. 1996.

PHẾ CẦU

Streptococcus pneumoniae

(Klein 1884) Cherter 1901

Chủng mẫu: NCTC 7465

1. GIỚI THIỆU

Phế cầu được phân lập lần đầu bởi L. Pasteur ở Pháp năm 1881, đồng thời với Stenberg, Hoa Kỳ; vì vậy, vi khuẩn mang tên *Micrococcus pasteuri*. Mười năm sau đó, người ta thấy nó có liên quan đến những nhiễm trùng nặng: viêm phổi thuỳ, viêm màng não, nhiễm khuẩn huyết, viêm xoang...

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Vi khuẩn này là tác nhân quan trọng gây viêm phổi nên người ta gọi nó là *Pneumococus* và vì vậy mang tên Việt Nam là phế cầu. Nó có hình song cầu, Gram dương, thường được quan sát thấy đứng từng đôi trong đờm, nên còn có tên *Diplococcus pneumoniae* (1926). Trong môi trường lỏng, nó thường xếp thành chuỗi ngắn, vì thế mà được phân loại vào chi (genus) *Streptococcus* và tên của phế cầu đổi thành *Streptococcus pneumoniae* (1974).

Nửa đầu của thế kỷ XX, người ta đã định type phế cầu được bằng huyết thanh kháng vỏ và huyết thanh này cũng đã được sử dụng như là một kháng huyết thanh để điều trị.

Ý nghĩa khoa học quan trong của phế cầu liên quan đến sự vận chuyển di truyền là biến nạp (transformation). Vi khuẩn này có thể vận chuyển khả năng tạo vỏ từ phế cầu có vỏ (capsular) sang phế cầu không có vỏ nhờ sự tiếp nhận và tích hợp một gen tao vỏ, tạo nên khả năng gây bệnh của phế cầu. Phát hiện nổi tiếng này là của Griffith (1928) và được chứng minh bằng sự vận chuyển ADN của Avery, MacLeod và McCarty (1944). Họ đã nhận được giải thưởng Nobel, nhờ vào công trình này (Xem sơ đồ thí nghiệm ở phần sau).

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Phế cầu là những cầu khuẩn dạng ngọn nến, thường xếp thành đôi, ít khi đứng riêng lẻ, đường kính khoảng 0,5–1,25 µm. Trong môi trường nuôi cấy lỏng, chúng thường xếp thành chuỗi ngắn (dễ nhầm với liên cầu). Gram dương, không di động, không sinh nha bào, trong bệnh phẩm hay trong môi trường nhiều albumin thì có vỏ *(Xem hình P5 và P6 ở Phụ bản).*

2.2. Tính chất nuôi cấy

Phế cầu thích hợp ở 37°C, hiếu khí và kỵ khí tuỳ tiện, với khí trường có 5% – 10% CO_2. Vi khuẩn mọc dễ dàng trong các môi trường có nhiều chất dinh dưỡng. Trên thạch máu, khuẩn lạc tròn, lồi, bóng, trong, xung quanh có vòng tan máu type α. Trên môi trường nghèo, phế cầu kém phát triển; khuẩn lạc khô, nhỏ, xù xì. Những khuẩn lạc có vỏ thường lớn, hơi nhày và có màu xám nhẹ. Có thể có dạng khuẩn lạc trung gian M.

2.3. Tính chất hóa sinh học

Phế cầu bị ly giải bởi mật hoặc muối mật (thử nghiệm Neufeld), không có catalase. Vi khuẩn không phát triển được trong môi trường có ethylhydrocuprein (test optochin dương tính).

Bốn tính chất quan trọng để xác định phế cầu là:

– Catalase (–)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Optochin (+), không phát triển được trong môi trường có ethyl hydrocuprein.

– Bị ly giải trong muối mật.

– Tan máu α.

2.4. Sức đề kháng

Dễ bị tiêu diệt bởi hoá chất sát khuẩn thông thường và nhiệt độ (60°C trong 30 phút). Trong quá trình giữ giống, vi khuẩn dễ bị giảm độc lực hoặc biến đổi từ dạng khuẩn lạc S sang dạng R (không có vỏ). Phế cầu không chịu được nhiệt độ quá lạnh và quá nóng. Nhiệt độ giữ chủng thích hợp là 18°C – 30°C.

2.5. Kháng nguyên

Trên 90 type huyết thanh của phế cầu đã được ghi nhận bởi kháng nguyên polysaccharide vỏ.

Phế cầu có ba loại kháng nguyên thân: kháng nguyên R hiểu biết còn ít, polysaccharide C là kháng nguyên đặc hiệu loài (như với liên cầu) và kháng nguyên M là những protein đặc hiệu type. Nhưng kháng nguyên quan trọng, độc lập về miễn dịch và đặc hiệu type là polysaccharide vỏ.

Kháng nguyên vỏ:

– Cấu trúc: Vỏ phế cầu bao gồm các polymer polysaccharide, chúng tạo thành các gel và nước trên mặt các tế bào vi khuẩn. Mặc dù người ta đã biết rõ thành phần cấu tạo, nhưng cấu trúc của nó chỉ được xác định trong các type 3, 6 và 8. Ví dụ type 3 là sự trùng hợp của các đơn vị acid cellobiuronic (D–acid glucoronic nối với D –glucose) gắn bởi 1–3 glucosidic. Kháng nguyên vỏ có vai trò quan trọng trong khả năng gây bệnh của phế cầu, những chủng không vỏ không có khả năng gây bệnh. Khi hình thành vỏ, chúng trở nên gây bệnh. Hiện tượng này đã được Griffith chứng minh năm 1928 là do hiện tượng biến nạp (Transformation) *(Xem hình P6 và P7 ở Phụ bản).*

– Phản ứng chéo: mặc dù kháng nguyên vỏ polysaccharide là khá đặc hiệu type, nhưng một số có phản ứng chéo giữa các type phế cầu và với một số loại vi khuẩn khác (như với liên cầu tan máu α và không tan máu, *Klebsiella* và *Salmonella*).

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Các yếu tố độc lực

3.1.1. Vỏ

Phế cầu gây bệnh chủ yếu do vỏ của nó. Vỏ của phế cầu có tác dụng bão hoà opsonin hoá, làm vô hiệu hóa tác dụng của IgG và bổ thể. Do vậy khả năng thực bào vi khuẩn bị giảm xuống và phế cầu vẫn tồn tại để gây bệnh.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chúng ta biết rằng trên bề mặt của các tế bào thực bào có receptor cho Fc của IgG và C3b của bổ thể. Do vậy, khi IgG và bổ thể C (yếu tố opsonin) kết hợp với kháng nguyên vi sinh vật, các vi sinh vật bị kéo vào tế bào thực bào, làm tăng chỉ số thực bào. Nhưng vỏ của phế cầu đã vô hiệu hoá tác dụng này, do IgG và bổ thể gắn với vỏ của vi khuẩn. Vỏ là một thành phần cấu trúc không gắn vững chắc với tế bào vi khuẩn nên đã không kéo được vi khuẩn về phía tế bào thực bào. IgG và bổ thể kết hợp hết với vỏ của phế cầu (bão hoà opsonin) và đã bị vô hiệu hoá. Do vậy phế cầu ngăn cản được thực bào.

Vai trò gây bệnh quan trọng của vỏ phế cầu có thể xác định được bằng một số cách. Chỉ có những chủng có vỏ là gây bệnh cho người và các động vật thí nghiệm. Gây miễn dịch chủ động hoặc thụ động chống lại kháng nguyên vỏ, sẽ làm giảm nhiễm phế cầu ở mức đáng kể. Biến chủng trung gian của type 3 (chỉ có lớp vỏ mỏng) nó bị giảm độc lực so với chủng có lớp vỏ dày hơn, nhưng độc lực vẫn cao hơn chủng không có vỏ (chủng R). Tuy vậy, các type khác nhau của phế cầu có kích cỡ vỏ giống nhau nhưng độc lực khác nhau (ví dụ các type 3 và 37).

3.1.2. Protease

Phế cầu còn tiết ra protease thuỷ phân IgA, chủ yếu là IgAs. Do vậy đã làm mất đi tác dụng ngăn cản sự xâm nhập của phế cầu vào niêm mạc đường hô hấp.

3.1.3. Các yếu tố bám và xâm nhập

– Tác dụng bám của phế cầu là do polysaccharide C, phosphorylcholin, protein gắn cholin (CbpA). Nhờ polysaccharide C, các phế cầu có thể bám trên niêm mạc họng để trao đổi chéo cho nhau các yếu tố gây bệnh và di truyền. Tác dụng bám này được tăng cường bởi xử lý tế bào niêm mạc với interleukin (IL–1, TNF–α). Các interleukin này đã làm bộc lộ receptor trên bề mặt tế bào niêm mạc (PAF) và phosphorylcholin trên vách phế cầu đã bám (adherin) được. CbpA cũng có tác dụng như phosphorylcholin.

PAF receptor xuất hiện tạo điều kiện cho phế cầu có thể vượt qua được các rào cản để vào máu và dịch não tuỷ. Sự nhiễm virus hoặc sự ly giải của phế cầu đã giải phóng các yếu tố kích hoạt sản xuất interleukin.

– *Adherin trên bề mặt phế cầu* (Pneumococcal Surface Adherin A = PsaA), một lipoprotein bề mặt 37–kDa, là yếu tố độc lực của phế cầu. Nó được mã hoá bằng ổ gen *Psa*, khi ổ gen này bị đột biến làm cho phế cầu có khả năng kháng penicillin cao gấp 10 MIC.

– *Protein gắn penicillin* (PBP): phế cầu có nhiều PBP gắn lên bề mặt tế bào vi khuẩn, gây hiện tượng kháng lại kháng sinh này.

– *Protein A gắn cholin* (CbpA, SspC và PbcA) là yếu tố bám đầu tiên được phát hiện trên bề mặt phế cầu. Nó bao gồm 663 acid amin, trọng lượng phân tử

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

75 kDa. Người ta nghĩ rằng nó là một adherin quan trọng của phế cầu và cần thiết cho vi khuẩn này vượt qua các rào cản để vào máu.

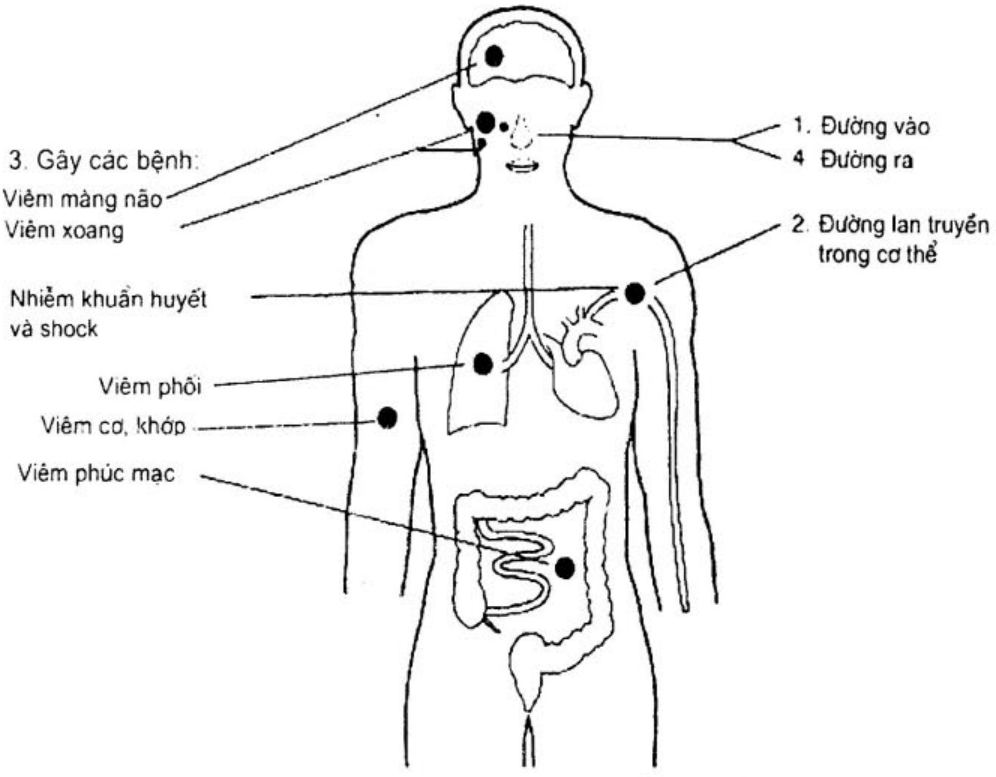
– *Hyaluronidase* làm cho phế cầu xâm nhập vào tổ chức, vào máu và di chuyển trong hệ tuần hoàn dễ dàng.

– *Neuraminidase* có tác dụng tách acid cialic và gây tổn thương tổ chức, giúp cho vi khuẩn xâm nhập.

– *Pneumolysin* là một polypeptide có 470 acid amin, trọng lượng phân tử 58,2 kDa. Nó có tác dụng làm tổn thương mô phổi và kích thích phản ứng viêm. Nó còn kích hoạt hệ bổ thể hoạt hoá theo con đường thay đổi (không cần kháng thể).

– *Autolysin* là N–acetyl muramol–L alanin amidase. Nó có tác dụng tự tiêu phế cầu ở cuối giai đoạn phát triển tăng theo hàm số mũ. Nó cũng giống nhiều protein bề mặt của phế cầu, đã gắn với cholin bởi liên kết không đồng hoá trị. Tác dụng của nó là làm vỡ tế bào phế cầu, kích thích phản ứng viêm và giải phóng các độc tố từ trong tế bào vi khuẩn như pneumolysin.

3.2. Khả năng gây bệnh cho người



Hình 2.1. Khả năng gây bệnh của phế cầu

– Thường gặp phế cầu ở vùng tỵ hầu của người lành với tỷ lệ khá cao (khoảng 40–70%). Phế cầu có thể gây nên bệnh viêm đường hô hấp, điển hình là viêm phổi. Viêm phổi do phế cầu thường xảy ra sau khi đường hô hấp bị tổn thương do nhiễm virus (như virus cúm) hoặc do hoá chất. Các type thường gây bệnh là 1, 2 và 3 (đối với người lớn) và 1, 6, 14 (với trẻ em). Tuy vậy, ở các vùng khác nhau

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các type có thể thay đổi. Ngoài ra, phế cầu còn gây viêm tai, viêm xoang, viêm họng, viêm màng não (đặc biệt ở trẻ dưới 5 tuổi), viêm màng bụng, màng tim, viêm thận, viêm tinh hoàn, nhiễm khuẩn huyết. Phế cầu là một trong những vi khuẩn gây bệnh thường gặp nhất.

– Ở các nơi tổn thương, phế cầu hình thành một lớp vỏ dày, ngăn cản hiện tượng thực bào, có nhiều fibrin quanh chỗ tổn thương, tạo nên một vùng cách biệt, làm cho thuốc kháng sinh khó ngấm vào, mặc dù những vi khuẩn này vẫn nhạy cảm với nhiều kháng sinh. Do đó, chữa bệnh bằng kháng sinh phải sớm và triệt để.

3.3. Khả năng gây bệnh thực nghiệm

Các chủng phế cầu có vỏ có thể gây bệnh cho chuột nhắt, chuột cống, thỏ và khỉ. Mèo và nhím không nhạy cảm. Chuột nhắt trắng dễ nhạy cảm với phế cầu, vì thế chúng thường được dùng để làm thử nghiệm xác định độc lực của vi khuẩn này.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Nuôi cấy phân lập

Đây là phương pháp tốt nhất để xác định phế cầu gây bệnh. Bệnh phẩm có thể lấy từ họng mũi bằng tăm bông mềm hoặc máu (nếu nghi nhiễm khuẩn huyết) hoặc chất hút từ phổi... Nếu bệnh phẩm là dịch phế quản hoặc dịch hầu họng, nó được cấy vào môi trường thạch máu có gentamicin (5 µg/ml). Phế cầu có khuẩn lạc: S, nhày, đường kính 1–2 mm, có chóp và tan máu α. Sau 18 giờ nuôi cấy, hình chóp của khuẩn lạc bị mất dần đi và khuẩn lạc trở nên lõm xuống. Điều này giúp ta phân biệt với các liên cầu tan máu α khác, là vi khuẩn rất thường gặp trong bệnh phẩm họng mũi, khuẩn lạc không lõm xuống.

Người ta thường phân biệt phế cầu với liên cầu bằng test optochin. Phế cầu thì nhạy cảm và đường kính vòng vô khuẩn từ 14 mm trở lên. Còn liên cầu thì không nhạy cảm với test này. Cũng có thể thay optochin bằng mật bò. Phế cầu bị dung giải bởi mật bò còn liên cầu thì không.

Để xác định độc lực của phế cầu (nhằm phân biệt với các chủng ký sinh) thường phải tiêm vi khuẩn vào phúc mạc của chuột bạch, sau khi chuột chết phân lập lại vi khuẩn từ máu của tim chuột. Nếu phân lập được vi khuẩn thì chắc chắn là phế cầu có độc lực. Người ta cũng có thể xác định vỏ của vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm vỏ hoặc dùng phản ứng phình vỏ (Quellung). Khi kháng thể kháng vỏ kết hợp với vỏ nó sẽ làm cho lớp vỏ của vi khuẩn phình to lên và người ta có thể quan sát bằng phương pháp nhuộm vỏ.

4.2. Xác định kháng nguyên vỏ

Vỏ phế cầu có thể xuất hiện trong quá trình gây nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não mủ hoặc gây viêm phổi. Có thể tìm kháng nguyên vỏ để xác định phế

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cầu bằng các kỹ thuật miễn dịch điện di đối lưu hoặc các phản ứng ngưng kết latex, hay đồng ngưng kết. Độ nhạy và đặc hiệu của hai kỹ thuật sau đạt trên 90% với bệnh phẩm là dịch não tuỷ hoặc nước tiểu.

Có thể xác định nhanh polysaccharide C bằng miễn dịch sắc ký với bệnh phẩm là dịch não tuỷ hoặc nước tiểu, độ nhạy > 80% và độ đặc hiệu > 90%.

4.3. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Kỹ thuật này giúp chẩn đoán nhanh và chính xác hơn sắc ký miễn dịch với mọi loại bệnh phẩm của phế cầu. Các gen thường được dùng là các gen chi phối enzym *autolysin* hoặc *pneumolysin*. Độ nhạy và độ đặc hiệu > 90%.

4.4. Kháng sinh đồ

Khi sử dụng kỹ thuật này để xác định độ nhạy cảm của phế cầu với penicillin, cần lưu ý là dùng khoanh giấy penicillin không tốt bằng khoanh oxacillin 1 µg. Xác định MIC, tốt nhất là nên dùng phương pháp E–test, cho kết quả nhanh và chính xác.

5. PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh

Phế cầu thường lây theo đường hô hấp, cho nên việc phòng bệnh không đặc hiệu rất khó khăn. Phòng bệnh đặc hiệu đã được sử dụng ở một số nước tiên tiến bằng vắc xin polysaccharide của vỏ phế cầu. Người ta thường sử dụng vỏ của một số type huyết thanh hay gặp. Vắc xin này có tác dụng bảo vệ nhưng không hoàn toàn, bởi lẽ nó không chứa đầy đủ các type huyết thanh, nhưng nó có tác dụng ngăn cản những nhiễm phế cầu nặng (viêm màng não mủ, hoặc nhiễm khuẩn huyết). Vì vắc xin thường bao gồm những type huyết thanh gây bệnh nặng này. Hiện nay vắc xin này đã có ở Việt Nam do các hãng nước ngoài đưa vào.

Hiện nay, có 90 serotype *S. pneumoniae* có vỏ khác nhau nên một vắc xin toàn diện dựa trên polysaccharide đơn độc là không khả thi. Do đó vắc xin dựa trên nhóm nhỏ của những type thịnh hành cao đã được hình thành. Số serotype trong vắc xin tăng từ 4 ở năm 1945 tới 14 những năm 1970, và hiện nay là 23. Những serotype này đại diện cho 85–90% của những loại gây ra bệnh lây lan và hiệu quả của vắc xin được ước lượng là 60%. Tuy nhiên, việc sử dụng vắc xin còn quá ít nên *S. pneumoniae* vẫn là vi khuẩn gây nhiễm khuẩn phổ biến nhất cho nhiều lứa tuổi. Nó dẫn đến nhiều biến chứng hơn bởi thực tế là polysaccharide không thể gây miễn dịch hoàn toàn ở trẻ em dưới hai tuổi, độ tuổi mà bệnh thường xảy ra.

Tiêm chủng ở Mỹ, vắc xin cộng hợp *S. pneumoniae* được khuyến cáo từ năm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2000 cho tất cả trẻ em từ 2 đến 59 tháng tuổi. Thông thường 4 liều được tiêm vào tháng thứ 2, 4, 6 & 12–14. Sự phòng ngừa này rất tốt để chống lại nhiễm *S. pneumoniae* (đặc biệt nhiễm khuẩn huyết và viêm màng não mủ).

5.2. Điều trị

Phế cầu nói chung vẫn là một vi khuẩn còn nhạy cảm với các kháng sinh thường dùng. Người ta thường dùng penicillin, cũng có thể dùng cephalosporin.

Điều đáng lưu ý ở đây là sự kháng kháng sinh của phế cầu ngày càng gia tăng, đặc biệt với penicillin G, chloramphenicol và cotrimoxazole.

Phế cầu kháng penicillin không phải bằng β--lactamase như nhiều vi khuẩn khác, mà bằng cách thay đổi một trong sáu protein gắn penicillin (PBP – penicillin binding protein). Hậu quả là làm giảm ái lực gắn PBP với thuốc, nhưng vẫn đảm bảo được chức năng transpeptidease cần thiết để xúc tác cho tổng hợp peptidoglycan của vách vi khuẩn. Cần có một lượng penicillin đủ lớn mới ức chế được vi khuẩn. Sự đề kháng này thường do biến cố di truyền (biến nạp hoặc transposon).

Nhiều chủng *S. pneumoniae* kháng kháng sinh xuất hiện trong những năm đầu 1970 ở Papua New Guinea và Nam Mỹ, nhưng nhiều loại kháng kháng sinh hiện nay xuất hiện khắp toàn cầu và tăng rất nhanh từ 1995. Theo sau sự kháng lại penicillin là sự kháng lại cephalosporin và nhiều loại thuốc khác. Tỷ lệ kháng lại penicillin tăng từ dưới 0,02% ở năm 1987 lên 3% ở năm 1994 và 30% một số cộng đồng ở Mỹ và 80% ở một số nước khác vào năm 1998. Sự kháng lại một số kháng sinh khác xuất hiện đồng thời: 26% cotrimoxazol, 9% cefotaxime, 30% macrolide, và 25% kháng lại nhiều loại thuốc khác. Những vi khuẩn kháng kháng sinh gặp nhiều hơn ở các type huyết thanh gây bệnh thường gặp: 6A, 6B, 9V, 14, 19A và 23F.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001.
2. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. Lê Huy Chính, Nguyễn Vũ Trung. Cẩm nang Vi sinh vật y học. Nhà xuất bản Y học. 2006.
4. Alexander SK, Strete D. Microbiology: A photographic atlas for the laboratory. Benjamin Cummings. 2001.
5. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Mosby. 11th ed, 2002.
6. Mahon, C.R., Lehman, D.C., Manuselis, G., Textbook of Diagnostic Microbiology, Elservier, 3rd ed, 2007.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

CẦU KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT

Enterococcus

Schleifer và Kilpper–Balz 1984

Loài mẫu: *Enterococcus faecalis*
(Andrewes và Horder 1906) Schleifer và Kilpper–Balz 1984

1. GIỚI THIỆU

Trước năm 1984, *Enterococci* là thành viên của chi *Streptococcus*. Tên *Streptococcus faecalis* được sử dụng chung cho hầu hết các loài liên quan tới phân. Theo phân loại của Sherman năm 1937, thuật ngữ *Enterococcus* được sử dụng cho những loài liên cầu có khả năng phát triển ở nhiệt độ 10°C và 45°C, với nồng độ muối 6,5% và pH 9,6. Theo phân loại của Lancefield, *Enterococci* là liên cầu nhóm D. Năm 1940, người ta đã xác định tính chất sinh hoá khác nhau giữa *Streptococcus faecium* với *Streptococcus faecalis* và tới giữa năm 1960, *S. faecium* được tách thành một loài riêng. Năm 1984, người ta dựa vào tính chất tương đồng thấp về acid nucleic giữa chi *Enterococcus* và *Streptococci* để xếp loài *S. faecalis* thành loài *Enterococcus faecalis*; *S. faecium* thành *Enterococcus faecium* và chi *Enterococcus* bao gồm loài *E. faecalis*, *E. faecium* và một số loài khác. Những năm gần đây, nhiều loài mới của *Enterococcus* cũng đã được mô tả. Ngày nay, chi *Enterococcus* đã gồm trên 20 loài.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Enterococcus là các cầu khuẩn Gram (+), xếp thành đôi hoặc thành chuỗi ngắn.

2.2. Tính chất nuôi cấy

Enterococci phát triển tốt trên các môi trường: thạch máu, Mueller–Hinton, brain heart infusion (BHI), chocolate. Canh thang có 6,5% muối. Có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ 10–45°C. Một vài chủng của *E. faecalis* có thể gây tan máu β trên môi trường thạch máu (điều chế từ máu thỏ, máu ngựa, máu người), nhưng không tan máu cừu.

2.3. Tính chất hoá sinh

Các thành viên của chi *Enterococcus* đều có pyrrolidonyl arylamidase và leucine aminopeptidease, catalase (–).

Các tính chất khác nhau cần phân biệt giữa *Enterococci* với một số vi khuẩn Gram (+) khác *(Bảng 2.10)*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 2.10. Các tính chất của *Enterococci* và một số vi khuẩn Gram (+)

Vi khuẩn	Hơi	Kháng VA	Ag nhóm D	Esculin	PYR	Leu	Tan máu	Phát triển 6,5% NaCl	Phát triển 45°C	Phát triển 10°C
Enterococci	–a	'b	v+	+	+	+	α/γ	+	+	V+
Viridans *Streptococci*	--	–	--	V–	–a	+	α/γ	–	V–	–a
Lactococci	–	–	–	V+	V+	+	α/γ	V+	V--	+
Aerococci	-	--	-	V-	+	–	α	+	-	--
Pediococci	–	+	+	+	–	+	α	V–	V+	–
Leuconostocs	+	+	V–	V+	–	–	α/γ	V+	–	V+
Lactobacili	V+	V+	V-	V+	–	–	α/γ	V–	V+	+
Gemella	-	-	–	--	+	+	γ	–	–	–

Ag, Antigen; Leu, Leucine aminopeptidease; VA, Vancomycin; PYR, L–pyrrolidonyl–β–naphthylamide

–, >90% chủng âm tính; +, >90% chủng dương tính; –a, có thể xảy ra dương tính ngẫu nhiên; 'b, thực chất hoặc mắc phải để kháng vancomycin; hơi, lên men glucose sinh hơi; V–, hơn nửa số chủng âm tính; V+, hơn nửa số chủng dương tính; tan máu, trên môi trường thạch máu (5% máu cừu).

Bảng 2.11. Các tính chất hoá sinh của các loài thuộc chi *Enterococcus*

Các loài	Mannitol	Sorbitol	Sorbose	Arginine	Arabinose	Raffinose	Tellurite	Di động	Sucrose	Pyruvate	Methyla–glu*
Nhóm I											
E. avium	+	+	+	–	+	–	–	–	+	+	v
E. malodoratus	+	+	+	–	–	+	–	–	+	+	v
E. raffinosus	+	+	+	–	+	+	–	–	+	+	v
E. pseudoavium	+	+	+	--	--	--	--	--	+	+	+
E. saccharolyticus	+	+	+	–	–	+	–	–	+	–	+
E. pallens	+	+	+	–	–	+	–	–	+	–	+
E. gilvus	+	+	+	–	–	+	–	–	+	+	–
Nhóm II											
E. faecalis	+	+	–	+	–	–	+	–	+	+	–
E. faecium	+	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–
E. casseliflavus/ E. flavescens	+	v	–	+	+	+	–	+	+	v	+
E. mundtii	+	v	–	+	+	+	–	–	+	–	–
E. gallinarum	+	–	–	+	+	+	–	+	+	–	+

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các loài	Mannitol	Sorbitol	Sorbose	Arginine	Arabinose	Raffinose	Tellurite	Di động	Sucrose	Pyruvate	Methylα–glu*
Nhóm III											
E. durans	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
E. hirae	–	–	–	+	–	+	–	–	+	–	–
E. dispar	–	–	–	+	–	+	–	–	+	+	+
E. ratti	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
E. faecalis (variant)	–	–	–	+	–	–	+	–	–	+	–
Nhóm IV											
E. asini	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
E. sulfureus	–	–	–	–	–	+	–	–	+	–	+
E. cecorum	–	+	–	–	–	+	–	–	+	+	–

+, trên 90% dương tính; –, trên 90% âm tính; v, có thể dương tính, có thể âm tính; *, Methyl–α–D–glu: methyl–α–D–glucopyranoside.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Enterococci thường cư trú ở đường tiêu hoá của động vật máu nóng và cũng được tìm thấy ở côn trùng và thực vật. *E. faecalis* thường có mặt ở phân người (trung bình 10^5–10^7 CFU/1g), *E. faecium* thấp hơn (trung bình 10^4–10^5 CFU/1g). Ngoài ra có thể tìm thấy ở âm đạo, da, khoang miệng, lợi.

Tuy nhiên, *Enterococci* cũng có thể gây một số bệnh ở người như viêm đường tiết niệu, đặc biệt ở những người đặt ống thông đường tiết niệu.

Viêm màng trong tim, đứng thứ ba sau *Streptococci* nhóm viridans và *S. aureus* (chiếm khoảng 5–20% các trường hợp).

Nhiễm khuẩn huyết có thể thứ phát sau nhiễm trùng tại chỗ: vết thương, đặt ống thông đường tiết niệu, nhiễm trùng trong ổ bụng v.v...

Ngoài ra, *Enteroccoci* còn có thể gây nhiễm trùng gan mật, nhiễm trùng trong ổ bụng, nhiễm trùng vết mổ, viêm màng não ở trẻ em hoặc người trưởng thành ... có 10 loài có thể phân lập được từ các trường hợp nhiễm trùng ở người, nhưng thường gặp nhất là hai loài: *E. feacalis* và *E. faecium*.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm được lấy ở các vị trí khác nhau tuỳ thuộc từng thể bệnh: viêm đường tiết niệu: lấy nước tiểu giữa dòng; nhiễm khuẩn huyết, viêm nội tâm mạc: lấy máu; nhiễm trùng vết mổ: lấy mủ ...

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.2. Các phương pháp chẩn đoán

Tuỳ từng loại bệnh phẩm mà sử dụng các phương pháp chẩn đoán khác nhau. Ví dụ: bệnh phẩm nước tiểu: nhuộm soi cặn nước tiểu, thử nghiệm LN (Leucocyte nitrite), cấy đếm. Bệnh phẩm máu: cấy máu...

Vi khuẩn được xác định dựa vào hình thể, tính chất bắt màu, tính chất nuôi cấy và tính chất hoá sinh. Có thể phân biệt các loài bằng cách sử dụng bộ API 20S và API Rapid ID 32. Ngoài ra, hiện nay kỹ thuật PCR được sử dụng để phát hiện các gen đặc hiệu của các loài, đặc biệt loài *E. faecalis* và *E. faecium*.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

Hiện nay nhiều chủng *E. faecalis* đã kháng nhiều loại kháng sinh: cephalosporin, clindamycin, penicillin, đặc biệt là kháng vancomycin... Vì vậy, để điều trị hiệu quả nên dựa vào kết quả kháng sinh đồ.

Các biện pháp ngăn ngừa nhiễm trùng *Enterococcus*: chủ yếu vẫn là các biện pháp ngăn ngừa nhiễm trùng bệnh viện, ngăn ngừa nhiễm trùng chéo trong bệnh viện. Đặc biệt, các bệnh nhân nằm viện lâu, bệnh nhân suy giảm miễn dịch, các bệnh nhân đặt ống thông đường tiết niệu, đặt ống dẫn lưu, can thiệp các thủ thuật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001.
2. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. John C. Sherris, Jam J. Champoux, Lawrence Corey Frederick C. Neidhardt, James J. Plorde C. George Ray, Kenneth J. Ryan. Medical Microbiology. 1991.
4. Fritz H. Kayser, Kurt A. Bienz, Johannes E, Rolf MZ. Medical Microbiology. 2005.
5. Gillespie SH and Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd. 2nd ed. 2006.
6. WHO. Manual of microbiological diagnostic methods for streptococcal infections and their sequelae. 1983.
7. WHO. Laboratory diagnosis of group A streptococcal infections. 1996.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

TỤ CẦU

Staphylococcus

Tụ cầu là một trong những vi khuẩn gây bệnh được ghi nhận sớm nhất, vào đầu thế kỷ XIX. Năm 1880, Louis Pasteur đã phân lập được tụ cầu. Năm 1881, Ogston đã gây bệnh thực nghiệm. Năm 1884, Rosenbach đặt tên vi khuẩn là *Staphylcoccus aureus*.

Về phân loại, ban đầu *Staphylococcus* thuộc tộc *Micrococcus*, nhưng tỷ lệ G + C của chúng khá khác biệt, *Micrococcus* là 63–73 mol% còn *Staphylococus* là 30–39 mol%, điều này chứng tỏ chúng không có liên quan chặt chẽ.

Chi *Staphylococcus* hiện nay thuộc về nhóm lớn vi khuẩn Gram dương *Bacillus–Lactobacillus–Streptococcus*, chúng có tỷ lệ thấp G + C.

Tụ cầu phân bố rộng rãi trong tự nhiên và là một loại vi khuẩn thường ký sinh trên niêm mạc mũi và đường hô hấp trên của người. Trong đó nhiều loài là những tụ cầu cộng sinh và một vài loài là những vi khuẩn gây bệnh giới hạn. Theo nhiều nghiên cứu ở Việt Nam, trong các vi khuẩn Gram dương, tụ cầu vàng là loài vi khuẩn gây bệnh thường gặp nhất và kháng lại kháng sinh mạnh nhất, đặc biệt là gây nhiễm khuẩn huyết, gây ngộ độc thức ăn, gây nhiễm trùng bệnh viện.

Chi *Staphylococcus* ít nhất bao gồm 13 loài, trong đó ba loài có vai trò quan trọng trong y học là:

- *S. aureus* (tụ cầu vàng)
- *S. epidermidis* (tụ cầu da)
- *S. saprophyticus*

TỤ CẦU VÀNG

Staphylococcus aureus

Rosenbach 1884

Chủng mẫu: ATCC 12600

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình dạng và kích thước

Tụ cầu vàng là những cầu khuẩn, có đường kính từ 0,8–1,0 μm và đứng thành hình chùm nho, bắt màu Gram dương, không có lông, không nha bào, thường không có vỏ *(Xem hình P8 ở Phụ bản)*.

1.2. Nuôi cấy

Tụ cầu vàng thuộc loại dễ nuôi cấy, phát triển được ở nhiệt độ 10 – 45°C và nồng độ muối cao tới 10%. Thích hợp được ở điều kiện hiếu và kỵ khí.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Trên môi trường thạch thường, tụ cầu vàng tạo thành khuẩn lạc S, đường kính 1 – 2 mm, nhẵn. Sau 24 giờ ở 37°C, khuẩn lạc thường có màu vàng chanh.

– Trên môi trường thạch máu, tụ cầu vàng phát triển nhanh, tạo tan máu hoàn toàn. Tụ cầu vàng tiết ra năm loại dung huyết tố (hemolysin): α, β, δ, ε, γ.

– Trên môi trường canh thang: tụ cầu vàng làm đục môi trường, để lâu nó có thể lắng cặn.

1.3. Khả năng đề kháng

Tụ cầu vàng có khả năng đề kháng với nhiệt độ và hoá chất cao hơn các vi khuẩn không có nha bào khác. Nó bị diệt ở 80°C trong một giờ (các vi khuẩn khác thường bị diệt ở 60°C trong 30 phút). Khả năng đề kháng với nhiệt độ thường phụ thuộc vào khả năng thích ứng nhiệt độ tối đa (45°C) mà vi khuẩn có thể phát triển. Tụ cầu vàng cũng có thể gây bệnh sau một thời gian dài tồn tại ở môi trường.

1.4. Sự kháng kháng sinh

Sự kháng lại kháng sinh của tụ cầu vàng là một đặc điểm rất đáng lưu ý. Đa số tụ cầu kháng lại penicillin G do vi khuẩn này sản xuất được men penicillinase nhờ gen trên R–plasmid. Một số còn kháng lại được methicillin gọi là *methicillin resistance S. aureus* (viết tắt là MRSA), do nó tạo ra được các protein gắn vào vị trí tác động của kháng sinh. Hiện nay, một số rất ít tụ cầu còn đề kháng được với cephalosporin các thế hệ. Kháng sinh được dùng trong các trường hợp này là vancomycin.

1.5. Tính chất sinh vật hoá học

Tụ cầu có hệ thống enzym phong phú, những enzym được dùng trong chẩn đoán là:

– Coagulase có khả năng làm đông huyết tương người và động vật khi đã được chống đông. Đây là tiêu chuẩn quan trọng nhất để phân biệt tụ cầu vàng với các tụ cầu khác. Coagulase có ở tất cả các chủng tụ cầu vàng. Hoạt động của coagulase giống như thrombokinase tạo thành một "áo fibrinogen" trong huyết tương.

Coagulase có hai loại: một loại tiết ra môi trường – gọi là coagulase *tự do* và một loại bám vào vách tế bào – gọi là coagulase *cố định*.

– Catalase dương tính. Enzym này xúc tác gây phân giải $H_2O_2 \rightarrow O + H_2O$. Catalase có ở tất cả các tụ cầu mà không có ở liên cầu.

– Lên men đường mannitol.

– Desoxyribonuclease là enzym phân giải ADN.

– Phosphatase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2. PHÂN LOẠI

2.1. Kháng nguyên

Các tụ cầu có nhiều loại kháng nguyên: protein, polysaccharide, acid teichoic của vách. Nhưng dựa vào kháng nguyên việc định loại rất khó khăn. Sau đây là một số kháng nguyên trên bề mặt tế bào được quan tâm nghiên cứu:

– Acid teichoic: là kháng nguyên ngưng kết chủ yếu của tụ cầu và làm tăng tác dụng hoạt hoá bổ thể. Đây còn là chất bám dính của tụ cầu vào niêm mạc mũi. Acid này gắn vào polysaccharide vách tụ cầu vàng. Đây là thành phần đặc hiệu của kháng nguyên O.

– Protein A: là những protein bao quanh bề mặt vách tụ cầu vàng và là một tiêu chuẩn để xác định tụ cầu vàng. Tất cả (100%) các chủng tụ cầu vàng có protein này. Sở dĩ kháng nguyên này mang tên protein A, vì protein này gắn được phần Fc của IgG. Điều này dẫn tới làm mất tác dụng của IgG, chủ yếu là mất đi opsonin hoá (opsonisation), nên làm giảm thực bào.

– Vỏ và biofilm: vỏ cấu tạo bởi polysaccharide có ít nhất 11 serotype. Trong đó các serotype 1, 2, 5, 8 đã được nghiên cứu về cấu trúc phân tử. Gây bệnh cho người thường là những chủng tụ cầu vàng có vỏ mỏng và thường là serotype 5 hoặc 8. Chỉ một số ít chủng *S. aureus* có vỏ và có thể quan sát được bằng phương pháp nhuộm vỏ. Lớp vỏ này bao gồm nhiều tính đặc hiệu kháng nguyên và có thể chứng minh được bằng phương pháp huyết thanh học. Biofilm là những lớp mỏng, sền sệt và nhờn do *S. aureus* tiết ra và bao bên ngoài tế bào vi khuẩn. Nó có tác dụng cho *S. aureus* bám và xâm nhập vào niêm mạc.

– Kháng nguyên adherin (yếu tố bám)

Giống như nhiều vi khuẩn khác, tụ cầu có protein bề mặt đặc hiệu, có tác dụng bám vào receptor đặc hiệu tế bào. Adherin có thể là các protein: laminin, fibronectin, collagen.

2.2. Phân loại bằng phage (phage typing)

Các phương pháp phân loại dựa trên kháng nguyên của tụ cầu là rất khó khăn, vì vậy việc phân loại tụ cầu vàng là chủ yếu dựa trên phage. Sự ký sinh của phage trên vi khuẩn mang tính đặc hiệu rất cao. Do vậy phương pháp này rất có ý nghĩa trong phân loại vi khuẩn. Đây là phương pháp được sử dụng nhiều trong phân loại *S. aureus*, vì đây là vi khuẩn gây nhiễm trùng nhiều nhất trên người.

3. PROTEIN BỀ MẶT VÀ PROTEIN TIẾT RA MÔI TRƯỜNG

– Protein A (SPA): tất cả các chủng tế bào tụ cầu vàng đều có lớp protein A bao xung quanh. Lớp protein này có tác dụng gắn phần Fc của IgG và do đó vô

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hiệu hoá tác dụng của kháng thể này. IgG là loại kháng thể có tỷ lệ cao nhất (70%) trong các loại kháng thể và đóng vai trò quan trọng nhất trong chống nhiễm trùng.

– Protein gắn fibronectin A và B (fibronectin binding Proteins A and B, FnBPA, FnBPB) adherin "bám" cho fibronectin. FnBPA ghi nhớ cho fibrinogen.

– Yếu tố kết tụ A và B (Clumping factor A and B (ClfA, ClfB): adherin cho fibrinogen. ClfA và ClfB hoạt hoá và ngưng tụ tiểu cầu.

– Protein gắn collagen (collagen binding Proteins, Cna): adherin cho collagen.

– Protein gắn sialprotein xương (Bone sialprotein binding Proteins, Bbp): adherin cho sialprotein xương.

– Protein nhạy cảm plasmin (Plasmin-sensitive Protein, Pls); là protein có bề mặt lớn, có thể tương tác với vi khuẩn và tế bào cơ thể như là fibronectin, kháng thể.

– Protein liên quan tới Biofilm (Biofilm--associated Proteins, Bap): có thể tương tác với vi khuẩn đang xâm nhập tổ chức. Nó hiện hữu trong 5% các chủng tụ cầu vàng ở bò và thường không có trong các chủng tụ cầu vàng ở người.

– Protein gắn elastin (elastin binding Proteins, EbpS): adherin cho elastin.

– Protein gắn ngoại tế bào (Extracellular matrix–binding Proteins, Ehb):

Protein cộng hợp rất lớn ở vách tụ cầu vàng, gắn với fibronectin người.

Các protein bề mặt hoặc protein tiết của tụ cầu vàng tham gia vào các tác dụng sinh học khác nhau của chúng.

4. ĐỘC TỐ VÀ CÁC YẾU TỐ ĐỘC LỰC

4.1. Độc tố ruột (enterotoxin SEA–SEE and SEG–SEQ)

Độc tố ruột được sản xuất bởi phần lớn các chủng tụ cầu vàng, nhưng không phải là tất cả mọi chủng: đây là những protein tương đối chịu nhiệt, nên không bị huỷ bởi sự đun nấu, có trọng lượng phân tử từ 28.000 – 30.000 Dalton và bao gồm sáu type được ký hiệu từ A – F. Về miễn dịch, sáu type này được phân biệt khá rõ ràng, mặc dù giữa chúng có kháng nguyên chéo. Về cơ chế gây bệnh, độc tố ruột kích thích tạo ra một lượng lớn interleukin I và II. Xác định enterotoxin bằng các kỹ thuật miễn dịch.

4.2. Độc tố gây hội chứng shock nhiễm độc (Toxic shock syndrome toxin – TSST)

Độc tố gây shock nhiễm độc thường gặp ở những phụ nữ có kinh dùng bông băng dày bẩn hoặc những người bị nhiễm trùng vết thương. Độc tố này khó phân

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

biệt với enterotoxin F của tụ cầu vàng. TSST kích thích giải phóng TNF (Tumor necrosis factor, yếu tố hoại tử u) và các interleukin I, II. Cơ chế gây shock của nó tương tự như của nội độc tố.

4.3. Độc tố hoại tử da (Exfoliatin toxin, epidermolytic toxin)

Đây là một ngoại độc tố. Nó gây nên hội chứng phỏng rộp và chốc lở da (Scalded skin syndrome) ở trẻ em. Hội chứng này đã được biết khá lâu, nhưng mãi đến năm 1971 người ta mới biết đến exfoliatin. Độc tố này được tạo bởi gen của 85% của các chủng tụ cầu vàng thuộc loại phage nhóm II.

4.4. Độc tố alpha (α toxin)

Độc tố này gây tan các bạch cầu đa nhân và tiểu cầu, từ đó gây ra các ổ áp xe, gây ra hoại tử da và tan máu. Alpha toxin là một protein trọng lượng phân tử 33.000–36.000 Dalton. Nó gắn trên màng tế bào và thể hiện các thuộc tính hoạt động bề mặt. Độc tố có tính kháng nguyên nhưng kháng thể của nó không có tác dụng chống nhiễm khuẩn.

4.5. Chất diệt bạch cầu (Leucocidin)

Mặc dù một số staphylolysin chứa độc tố bạch cầu, nhưng chỉ một độc tố tụ cầu thực sự độc với bạch cầu và được coi là leucocidin. Độc tố này gây độc cho bạch cầu người và thỏ, không gây độc cho bạch cầu các loại động vật khác. Nó cũng có tác dụng hoại tử da thỏ. Leucocidin bao gồm hai mảnh F và S và có thể tách rời bằng sắc ký ion, trọng lượng phân tử là 32.000 và 38.000 Dalton. Nếu tách rời hai mảnh này thì mất tác dụng gây độc.

4.6. Ngoại độc tố sinh mủ (pyogenic exotoxin)

Vào 1979, Schlivent và cộng sự đã tách biệt được một độc tố từ tụ cầu vàng. Về nhiều phương diện, độc tố này tương tự độc tố sinh mủ của liên cầu. Protein ngoại độc tố này có tác dụng sinh mủ và phân bào lymphocyte, đồng thời nó làm tăng nhạy cảm về một số phương diện đối với nội độc tố như gây shock và hoại tử gan và cơ tim.

Sau đó, người ta đã phân biệt được ba loại ngoại độc tố sinh mủ, ký hiệu là A, B, C. Ba loại này khác nhau về trọng lượng phân tử (theo thứ tự: 12.000, 18.000 và 22.000 Dalton) và về tính đặc hiệu kháng nguyên nhưng giống nhau về khả năng sinh mủ và phân bào.

4.7. Dung huyết tố (hemolysin, staphylolysin)

Tụ cầu vàng sinh ra bốn loại hemolysin có các tính chất khác nhau.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 2.12. Tính chất của các loại hemolysin của tụ cầu vàng

Type	Loại hồng cầu nhạy cảm	Loại bạch cầu nhạy cảm	Nguồn gốc vi khuẩn	Tác động trên động vật thí nghiệm
α	Thỏ, cừu	Thỏ, người	Người	Gây hoại tử da thỏ, gây chết chuột và thỏ, gây độc tế bào nuôi cấy
β	Cừu, người, bò	Không	Động vật	Liều cao gây chết thỏ, hoại tử từng đám tế bào nuôi cấy
γ	Thỏ, người, cừu, chuột, bò, ngựa	?	Người	Hoại tử nhẹ da thỏ và da chuột, gây chết thỏ
δ	Người, thỏ, ngựa, cừu, chuột	Thỏ, chuột, người	Người	Làm xơ cứng da thỏ và da chuột, gây hoại tử tế bào nuôi cấy

4.8. Fibrinolysin *(staphylokinase)*

Fibrinolysin (staphylokinase) là một enzym đặc trưng cho các chủng gây bệnh ở người, giúp tụ cầu phát triển trong các cục máu và gây vỡ các cục máu này, tạo nên tắc mạch.

4.9. Coagulase (xem mục 1.5)

4.10. Hyaluronidase

Enzym này phân giải các acid hyaluronic của mô liên kết, giúp vi khuẩn lan tràn vào mô.

4.11. β–lactamase (xem mục 1.4)

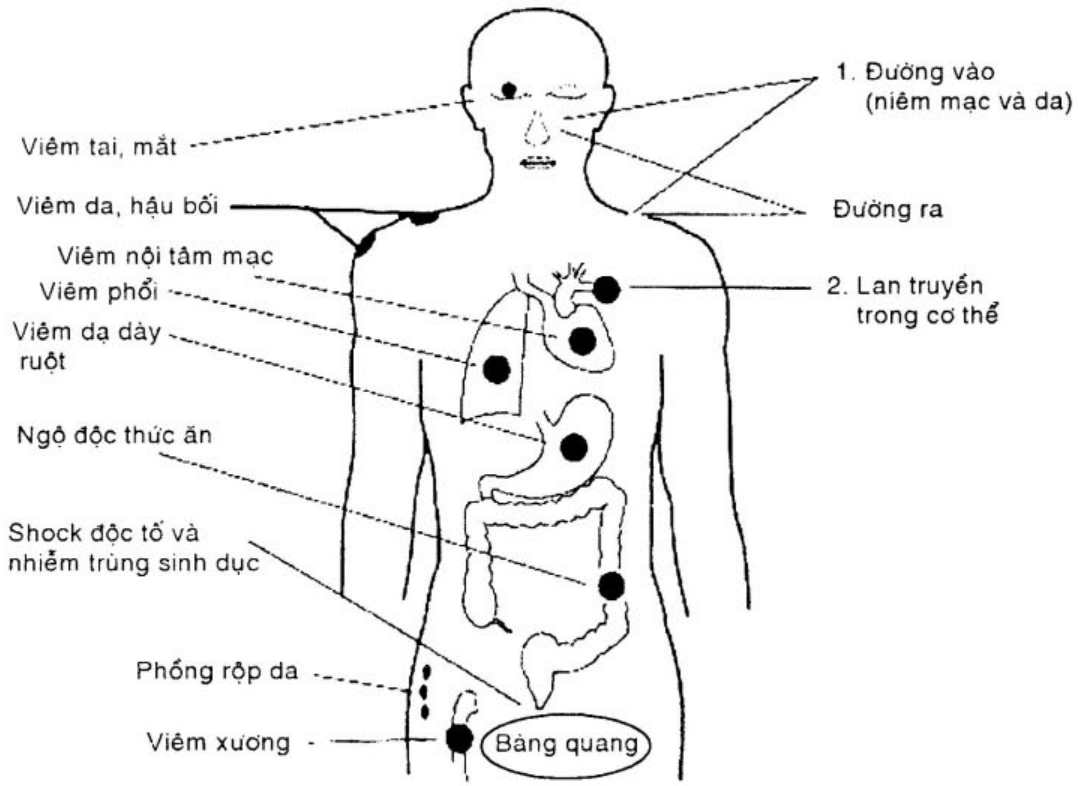
5. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Tụ cầu vàng thường ký sinh ở mũi họng và có thể cả ở da. Vi khuẩn này gây bệnh cho người bị suy giảm sức đề kháng hoặc chúng có nhiều yếu tố độc lực. Tụ cầu vàng là vi khuẩn gây bệnh thường gặp nhất và có khả năng gây nhiều loại bệnh khác nhau.

5.1. Nhiễm khuẩn ngoài da

Do tụ cầu vàng ký sinh ở da và niêm mạc mũi, nên nó có thể xâm nhập qua các lỗ chân lông, chân tóc hoặc các tuyến dưới da. Sau đó gây nên các nhiễm khuẩn sinh mủ: mụn nhọt, đầu đinh, các ổ áp xe, eczema, hậu bối... Mức độ các nhiễm khuẩn này phụ thuộc vào sự đề kháng của cơ thể và độc lực của vi khuẩn. Nhiễm tụ cầu ngoài da thường gặp ở trẻ em và người suy giảm miễn dịch. Hậu bối và đinh râu có thể gây nên các biến chứng nguy hiểm.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 2.2. Khả năng gây nhiễm của *Staphylococcus aureus*

5.2. Nhiễm khuẩn huyết

Tụ cầu vàng là vi khuẩn thường gây nhiễm khuẩn huyết nhất. Do chúng gây nên nhiều loại nhiễm khuẩn, đặc biệt là các nhiễm khuẩn ngoài da, từ đấy vi khuẩn xâm nhập vào máu gây nên nhiễm khuẩn huyết. Đây là một nhiễm trùng rất nặng. Từ nhiễm khuẩn huyết, tụ cầu vàng đi tới các cơ quan khác nhau và gây nên các ổ áp xe (gan, phổi, não, tuỷ xương...) hoặc viêm nội tâm mạc. Có thể gây nên các viêm tắc tĩnh mạch. Một số nhiễm trùng khu trú này trở thành viêm mạn tính như viêm xương...

5.3. Viêm phổi

Viêm phổi do tụ cầu vàng ít gặp. Nó chỉ xảy ra sau viêm đường hô hấp do virus (như cúm) hoặc sau nhiễm khuẩn huyết. Tuy vậy, cũng có viêm phổi tiên phát do tụ cầu vàng, ở trẻ em hoặc những người suy yếu. Tỷ lệ tử vong của bệnh này khá cao, vì thế nó được coi là bệnh nặng.

5.4. Nhiễm độc thức ăn và viêm ruột cấp

Đây là một trong những loại ngộ độc thức ăn do nhiễm trùng thường gặp nhất ở nước ta. Bệnh rất cấp tính sau khi ăn phải thức ăn nhiễm độc tố ruột tụ cầu vàng.

Ngộ độc thức ăn cũng có thể do tụ cầu vàng vốn cư trú ở đường ruột chiếm ưu

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thế về số lượng. Nguyên nhân là sau một thời gian dài bệnh nhân dùng kháng sinh có hoạt phổ rộng, dẫn đến các vi khuẩn chí bình thường của đường ruột nhạy cảm kháng sinh bị tiêu diệt và tạo điều kiện thuận lợi cho tụ cầu vàng (kháng kháng sinh) tăng trưởng về số lượng.

Triệu chứng của ngộ độc thức ăn do tụ cầu thường rất cấp tính. Sau khi ăn phải thức ăn nhiễm độc tố tụ cầu từ 2 đến 8 giờ, bệnh nhân nôn và đi ngoài dữ dội, phân lẫn nước, càng về sau phân và chất nôn chủ yếu là nước. Do mất nhiều nước và điện giải có thể dẫn tới shock. Ngộ độc thức ăn do tụ cầu vàng là một trong những ngộ độc thức ăn rất thường gặp ở Việt Nam.

5.5. Nhiễm khuẩn bệnh viện

Nhiễm khuẩn bệnh viện do tụ cầu rất thường gặp, nhất là đối với nhiễm trùng vết mổ, vết bỏng... từ đó dẫn tới nhiễm khuẩn huyết. Các chủng tụ cầu này có khả năng kháng kháng sinh rất mạnh và phải dùng vancomycin. Tỷ lệ tử vong của bệnh này rất cao.

5.6. Hội chứng da phồng rộp (scalded skin syndrome), xem mục 4.3.

5.7. Hội chứng shock nhiễm độc (toxic shock syndrome), xem mục 4.2.

6. MIỄN DỊCH

Miễn dịch thu được với tụ cầu nói chung là thấp. Hàng rào tế bào tự nhiên, trong đó tế bào thực bào đóng vai trò quan trọng nhất.

– Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào có xảy ra với việc tiết ra các lymphokin và hoạt hoá đại thực bào. Tuy vậy, sự đáp ứng này không làm tăng được sự diệt khuẩn.

– Miễn dịch dịch thể cũng xuất hiện để chống lại các yếu tố độc lực (độc tố và enzym). Nhưng nó không có vai trò bảo vệ có ý nghĩa vì tụ cầu ít tiếp xúc với kháng thể hoặc tế bào sản xuất kháng thể. Vi khuẩn này thường ẩn trú trong các ổ áp xe, trong các cục fibrin và trong các tế bào bạch cầu. Như vậy miễn dịch tích cực chống nhiễm tụ cầu ít có vai trò bảo vệ.

7. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Phân lập xác định tụ cầu là việc cần thực hiện và không mấy khó khăn.

Bệnh phẩm là máu, mủ, phân... tuỳ theo loại bệnh của tụ cầu.

Thạch máu là môi trường thích hợp để phân lập. Tụ cầu phát triển rất tốt trên môi trường này. Có thể sử dụng môi trường lựa chọn chứa 7,5% NaCl, đường mannitol và có thể có cả kháng sinh chống vi khuẩn Gram âm, khi bệnh phẩm có nhiều loại vi khuẩn. Sau đó xác định các tính chất:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

- Khuẩn lạc dạng S và màu vàng nhẹ.
- Cầu khuẩn **Gram** dương, đứng thành hình chùm nho.
- Coagulase **dương** tính *(Xem hình P9 ở Phụ bản).*
- Mannitol dương tính *(Xem hình P10 ở Phụ bản).*
- Kháng novobiocin.
- Phosphatase dương tính.
- Catalase dương tính.

8. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

8.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh nhiễm khuẩn tụ cầu chủ yếu là vệ sinh môi trường, quần áo và thân thể vì tụ cầu có rất nhiều ở những nơi này. Đặc biệt là vệ sinh môi trường bệnh viện để chống nhiễm khuẩn bệnh viện.

8.2. Điều trị

Kháng sinh trị liệu là biện pháp chủ yếu. Vấn đề khó khăn là tụ cầu vàng kháng thuốc rất mạnh, nên cần phải làm kháng sinh đồ để chọn lọc thuốc thích hợp (xem mục 1.4.).

Dùng vắc xin gây miễn dịch chống tụ cầu vàng cũng là một biện pháp cần thiết ở những bệnh nhân dùng kháng sinh ít kết quả. Đây là những vắc xin chết và có thể được bào chế từ chủng tụ cầu vàng phân lập được ở chính bệnh nhân đó (gọi là vắc xin tự liệu), hoặc dùng các chủng tụ cầu vàng mẫu, là những chủng thường gặp (gọi là vắc xin trị liệu).

8.3. Vấn đề kháng kháng sinh của tụ cầu vàng

8.3.1. S. aureus kháng với kháng sinh beta lactam

Bằng chứng có ý nghĩa nhất trong lịch sử kháng thuốc kháng sinh của tụ cầu vàng là sự đề kháng penicillin (gần như ở mọi nơi và khá nổi cộm). Sự kháng methicillin cũng gia tăng có tính dịch tễ. Thực tế đã ghi nhận các chủng tụ cầu vàng kháng trung gian với vancomycin và gần đây đã xác định được các chủng *S. aureus* kháng hoàn toàn với kháng sinh này.

S. aureus kháng penicillin nổi lên từ những năm 1940, sau khi kháng sinh này được đưa vào sử dụng. Sự kháng methicillin và các kháng sinh khác thuộc nhóm beta lactam cũng bắt đầu xuất hiện, sau khi methicillin được sử dụng. Ngay trong thời gian ấy, từ các chủng *S. aureus* phân lập được ở Anh, người ta đã chứng minh được rằng kháng methicillin là do đa gen đề kháng. Nhiều vụ dịch tụ cầu vàng kháng methicillin (MRSA) là do nguồn gốc từ một chủng *S. aureus*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ban đầu và bị lây nhiễm giữa các bệnh viện. Từ đó, nhiều clon (dòng) MRSA đã gây nhiễm trùng rộng rãi hoặc tản phát trên toàn cầu.

Khoảng 1/3 các vụ nhiễm trùng *S. aureus* nặng ở Anh là do MRSA. Trên thế giới bức tranh này có khác nhau. Các chủng MRSA ở cộng đồng do nhiễm trùng hoặc thường trú đang được ghi nhận nhiều hơn. Các chủng MRSA ở cộng đồng thường kháng nhóm kháng sinh beta lactam ít hơn các chủng MRSA bệnh viện.

Gen kháng methicillin (*mecA*) nằm trên nhiễm sắc thể của MRSA và MRSE (*S. epidermidis*).

Cơ chế đề kháng methicillin là do các vi khuẩn này đã tổng hợp nên protein gắn penicillin (PBP) giảm ái lực với methicillin và được ký hiệu PBP2a. *mecA* một phần của gen di động gọi là mec chromosome cassette của tụ cầu (SCC*mec*). Qua phân tích đã xác định được bốn loại gen SCC *mec*. Từ type I–III khác nhau về cỡ lớn và chuỗi nucleotid. Phân tích 38 chủng MRSA phân lập từ 20 quốc gia đã chỉ ra rằng phần lớn số chủng này có chứa ở nhiễm sắc thể 1/3 gen chính SCC *mec*. Type IV xác định được từ MRSA cộng đồng, thiếu các gen kháng kháng sinh không phải beta lactam và bé hơn MRSA bệnh viện. Nhưng ở Mỹ đã phân lập được các dòng MRSA ở cộng đồng đa đề kháng, thuộc type IV.

Mối quan hệ di truyền của 254 chủng MRSA phân lập từ 9 nước của 4 châu lục, đã được nghiên cứu phân tích bằng kỹ thuật điện di di động các enzym. Mười lăm loại (clon) riêng biệt đã được phát hiện. Gen *mec* đã được chỉ ra là có sự phân nhánh di truyền. Đây là bằng chứng di truyền chứng tỏ rằng sự truyền ngang và tái tổ hợp đã tạo nên sự lan toả cơ chế kháng methicillin của *S. aureus*. Bảy clon lớn của MRSA đã được tách biệt của năm nhóm genotype liên quan. Chúng đã tái xuất hiện nhiều lần trong các chủng MRSA dịch tễ và giảm nhạy cảm với vancomycin.

S. hominis và *S. sciuri* là tiền thân của MRSA. Các nghiên cứu về di truyền cho thấy *S. hominis* và *S. sciuri* có cấu trúc rất giống với gen SCC*mec* và không thấy có gen này ở những chủng nhạy cảm methicillin.

Một số chủng *S. aureus* có gen *mecA* đã chỉ ra giới hạn của sự nhạy cảm methicillin (MIC oxacillin 1–2 µg/ml) và đề kháng beta lactam khác penicillin. Điều này do sự quá sản beta–lactamase.

8.3.2. S. aureus kháng với vancomycin

Vancomycin và teicoplanin là những kháng sinh glycopeptide, chúng ngăn cản transcolysyl và transpeptide để tổng hợp peptidoglycan của vách bằng cách gắn vào peptideyl–D–alanyl–D–alamin của tiền peptidoglycan.

Vancomycin là kháng sinh quan trọng để điều trị nhiễm trùng *S. aureus* nặng. Ba mức đề kháng vancomycin đã được CDC phân chia là:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

- Kháng trung gian, gọi là VISA
- Kháng hoàn toàn, gọi là VRSA
- Kháng không đồng nhất, gọi là hVISA

Tiêu chuẩn để xác định VISA của CDC như sau:

- Mọc được trên môi trường thạch BHI có 6 µg /ml vancomycin.
- E–test MIC > 6 µg /ml vancomycin.
- MIC trong môi trường lỏng từ 8–16 µg/ml vancomycin.

Phương pháp tối ưu xác định hVISA còn đang tranh luận. Tiêu chuẩn để khẳng định VRSA là MIC của vancomycin > 32 µg/ml.

Chủng VISA (kháng trung gian) đầu tiên được phân lập ở Nhật 1996, ký hiệu Mu50, từ một trẻ em được điều trị sau phẫu thuật tiết niệu. Chủng này có MIC của vancomycin là 8 µg/ml. Các chủng VISA phân lập được ở khắp nơi trên thế giới, mặc dù nó ít xuất hiện trên lâm sàng. Phần lớn những chủng này phát hiện được từ những chủng MRSA, ở những bệnh nhân sau một thời gian dài điều trị bằng vancomycin.

Chủng đầu tiên của hVISA cũng được phân lập ở Nhật từ đờm bệnh nhân viêm phổi, sau phẫu thuật, chủng này được ký hiệu Mu3. MIC vancomycin của nó là 3 µg/ml.

Mu3 được phân lập nhiều nơi trên thế giới và gặp nhiều hơn VISA.

Chủng VRSA đầu tiên được xác định ở Michigan, Mỹ, năm 2002.

Cơ chế đề kháng của VISA và hVISA chưa hoàn toàn sáng tỏ. Những chủng này đã không mang gen đề kháng vancomycin như của *Enterococcus*, ký hiệu *vanA, vanB* hoặc *vanC* 1–3. Sự thay đổi vách *S. aureus* kháng vancomycin là quan trọng. Peptidoglycan của Mu50 gắn vancomycin 1,4 lần nhiều hơn chủng Mu3.

Cả hai loại chủng này đều tổng hợp PBP 3–5 lần nhiều hơn những chủng nhạy cảm vancomycin, hoặc không MRSA. Vách Mu50 cũng dày gấp 2 lần vách *S. aureus* không kháng vancomycin. Có lẽ do vách dày hơn mà vancomycin khó tiếp xúc với màng tế bào.

Enterococci kháng vancomycin đã được thông báo năm 1988. Thí nghiệm dẫn truyền kháng vancomycin và teicoplamin từ *Enterococcus faecalis* tới *S. aureus* đã được thực hiện invitro bởi gen *vanA*. Gen này mã hóa cho ligase, nó gây ra thay đổi ở đầu tận dipeptide trong muramic pentapeptide của vách *S. aureus*, dẫn tới giảm ái lực glycopeptide. Điều này chỉ ra cơ chế đề kháng với hai chủng VRSA phân lập ở Mỹ, mang gen v*anA*.

8.3.3. Cơ chế kháng kháng sinh khác của tụ cầu vàng

Marolide, lincosamide và streptogramin (MLS)

Kháng do 23S rARN methylase A–C

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Cơ chế đề kháng chính: Methylase gây ra thay đổi cấu trúc ribosom, dẫn đến làm giảm gắn MLS kháng sinh vào tiểu phần 50S.

– Do gen: *ermA* và *ermB*

– Vị trí: *ermA* nằm ở nhiễm sắc thể và *ermB* nằm ở nhiễm sắc thể và plasmid

Streptogramin A

– Kháng do acetyltransferase

– Cơ chế kháng: bất hoạt kháng sinh do enzym

– Do gen: *vatA* và *vatB* định vị ở plasmid

Streptogramin B

– Kháng do hydrolase, thuỷ phân thuốc

– Gen: *vgbA* và *vgbB* định vị ở plasmid

Lincosamide

- Kháng do 3--lincomycin, 4--clindamycin O--nuclectidetranferase bất hoạt lincosamide

– Gen: *linA* nằm ở plasmid

Tetracycline

– Kháng do bơm đẩy tetracycline, làm biến mất tetracycline

– Gen: *tetK* và *tetL* nằm ở plasmid

Aminoglycoside

Kháng do enzym làm thay đổi aminoglycoside.

– Acetyltransferase (AAC) acetyl hóa nhóm acid amin của: tobramycin, netilmicin, amikacin và gentamicin.

Gen: *aac*(6')–*aph*(2") định vị ở plasmid và nhiễm sắc thể do transposon.

– Kháng do phosphoryltransferase (APH) phosphoryl hoá nhóm OH– của: amikacin, gentamicin, kanamycin, neomycin.

Do gen: *aph*(3')–*IIIa*(aphA), định vị ở plasmid và nhiễm sắc thể.

– Kháng do adenyltransferase adenyl spectiomycin

Do gen: *ant*(9)–*Ia*(spc), định vị ở nhiễm sắc thể.

Trimethoprim

Dihydrofolate reductase (DHFR)

– Kháng do bổ sung một acid amin vào gen *drfB* dẫn tới làm giảm ái tính với trimethoprim. Tác dụng của gen *rfB* mã hoá DHFR kháng trimethoprim.

– Do gen *drfB* và *drfB,* định vị ở plasmid và nhiễm sắc thể.

Chloramphenicol

Chloramphenicol acetyltransferase (CAT)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Kháng do CAT bằng cách acetyl hóa coenzym A, tạo ra sản phẩm mất khả năng gắn vào ribosom.

– Do gen *cat,* định vị ở plasmid (lớp I).

Fluoroquinolone

DNA gyrase hai tiểu phần GyrA và GyrB.

– Kháng do đột biến gen 2 tiểu phần DNA gyrase.

– Do gen *gyrA và gyrB*, nằm ở nhiễm sắc thể.

Rifampin

ARN phụ thuộc ADN polymerase tiểu phần beta.

– Kháng do thay đổi một cặp base dẫn đến bổ sung một acid amin vào tiểu phần β–ADN polymerase.

– Do gen *rpoB* nằm ở nhiễm sắc thể.

TỤ CẦU CÓ COAGULASE ÂM TÍNH

(Coagulase negative *Staphylococci* = CONS)

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Tụ cầu có coagulase âm tính (coagulase negative *Staphylococci* = CONS) là một nhóm vi khuẩn, mà vai trò quan trọng của nó trong y học nổi trội lên trong ba thập kỷ qua. Chúng có vị trí nổi bật trong nhiễm trùng bệnh viện, thường gặp khi cấy máu. CONS cũng gây nhiễm trùng sau cấy ghép y tế và đặc biệt ở các bệnh nhân AIDS. Biểu hiện lâm sàng của nó có thể là thầm lặng, rõ ràng hoặc bùng phát khi có cơ hội. Điều này chỉ ra rằng CONS do một nhóm vi khuẩn gây bệnh không thuần nhất. CONS thường đa kháng kháng sinh, nên gây khó khăn cho điều trị.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

Về phân loại, CONS cùng với *S. aureus* là thành viên của họ *Micrococaceae*. Chúng là các cầu khuẩn Gram dương, đứng thành từng đám như chùm nho, hiếu khí không bắt buộc, không có lông, không nha bào, catalase dương tính, coagulase âm tính, một số chủng có lớp vỏ mỏng.

CONS được phân chia thành 30 loài và nhiều dưới loài (subspecies), khoảng 1/2 trong chúng liên quan đến người. Số còn lại liên quan đến động vật nuôi. Sự liên quan được xác định bằng tỷ lệ G+C của ADN. Nếu chuỗi ADN tương đồng trên 50% thì được xếp vào cùng loài, mặc dù các loài có liên quan khá xa nhau.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

CONS có coagulase âm tính, mặc dù một số thành viên có coagulase dương tính yếu như *S. intermedius, S. hyicus*. Thermonuclease bền vững với nhiệt có ở các loài: *S. intermedius, S. hyicus, S. schleiferi.*

CONS liên quan đến người bao gồm: *Staphylococcus epidermidis, S. auricularis, S. capitis, S. caprae, S. cohnii, S. haemolyticus, S. hominis, S. lugdunensis, S. pasteuri, S. saccarolyticus, S. saprophyticus, S. schleiferi, S. simulans, S. warneri, S. xylosus.*

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Cơ chế gây bệnh

Nhiễm trùng quan trọng nhất của CONS là sau các can thiệp y tế vào dưới da. Hai giai đoạn được bắt đầu bởi sự tấn công của CONS, tiếp theo bởi sự phân bào và sau đó là sự bài tiết các chất nhờn (biofilm). Quá trình vi khuẩn tấn công lên bề mặt tế bào đã có nhiều công trình nghiên cứu. Với CONS, đây là một cơ chế phức tạp, vi khuẩn có khả năng thay đổi tác động bề mặt tự nhiên và môi trường, mà trong đó xảy ra sự tấn công của nó.

Những chất polymer sinh học thường có phân tử lượng lớn, nhưng đôi khi nó cũng giống các hợp chất tự nhiên. Các yếu tố hoá sinh học có tác dụng tấn công, bao gồm liên kết tĩnh điện và liên kết ái nước. Trong khi các chủng "ai nước" tấn công khá dễ dàng lên bề mặt tế bào thì có một thay đổi đáng kể trong sự tấn công này bởi phụ thuộc vào các yếu tố của môi trường (giới hạn của dinh dưỡng, pH, nồng độ CO_2...).

Thêm vào đó, cơ chế gây nhiễm trùng của CONS còn phụ thuộc vào bề mặt các dụng cụ can thiệp y tế. Các chủng CONS khác nhau thì các yếu tố độc lực cũng khác nhau, bao gồm hemolysin, phosphatase, thermonuclease, lipase, galactosidase và các decarboxylase.

3.2. Dịch tễ học

Vi hệ bình thường

Phân bố và số lượng của CONS trên da và niêm mạc mũi của người rất khác nhau, dao động từ 10.000 đến 1.000.000 CFU/cm^2. Kiểu mẫu phân bố phản ánh các loài của CONS phân lập được từ các bệnh phẩm.

Vai trò gây bệnh ngày càng quan trọng của CONS được ghi nhận trong 25 năm qua. Đầu tiên đối với *S. epidermidis* là tác nhân gây bệnh không thường gặp, nhưng với *S. saprophyticus* thường gây nhiễm trùng tiết niệu ở phụ nữ trẻ. Nhiễm trùng do CONS trong cộng đồng là ít gặp, nhưng gặp nhiều hơn ở các bệnh nhân trong bệnh viện có can thiệp y tế. Nhiễm trùng bệnh viện gây ra bởi các chủng của CONS thường có biểu hiện chậm.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong bệnh viện

Trong các bệnh viện, nhiễm trùng do CONS đã gây ảnh hưởng nghiêm trọng. Nhiều nghiên cứu đã khẳng định tần suất nhiễm trùng do CONS đã tăng lên. Nhiễm trùng bệnh viện do CONS chiếm 5 – 10% thập niên 1980, đã tăng lên 25 – 30% thập niên 1990 trong tổng số nhiễm khuẩn bệnh viện. Hiện nay, nhiễm khuẩn bệnh viện do CONS đóng vai trò dẫn đầu trong nhiễm khuẩn bệnh viện ở nước Mỹ.

Mặc dù, nhiễm trùng do CONS tăng lên do vi hệ, nhưng một số bằng chứng cho thấy rằng nó còn do hậu quả lây lan của nhiễm khuẩn bệnh viện. Các chủng của CONS đã lây truyền từ nhân viên y tế tới bệnh nhân. Một số chủng (dịch tễ) của CONS đã lưu hành trong các khoa cách ly cao, như khoa nhũ nhi...

3.3. Đặc điểm lâm sàng

Nhiễm trùng do CONS ít có những triệu chứng hoặc dấu hiệu đặc trưng. Thường bệnh nhân có sốt không cao. Đôi khi bệnh nhân có dấu hiệu rõ ràng của nhiễm khuẩn huyết.

Các nhiễm trùng do CONS gây ra:

– Nhiễm khuẩn sau can thiệp y tế là phổ biến nhất, thường do đặt các dụng cụ phục vụ điều trị.

– Nhiễm khuẩn tiết niệu.

– Vãng khuẩn huyết và viêm nội tâm mạc...

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Bệnh phẩm

Nhiều loại bệnh phẩm cần được thu thập và nghiên cứu phân tích. Thường gặp khó khăn trong xác đinh vai trò bệnh nguyên. Sự phân lập nhiều lần từ những vị trí sâu trong cơ thể, bộc lộ một số vấn dề về xác định vai trò bệnh sinh của CONS. Nhưng chúng ta cũng biết rằng CONS là một nhóm vi khuẩn không thuần nhất, bao gồm nhiều loài *Staphylococci* và lại là thành viên của vi hệ bình thường trên da và niêm mạc mũi. Vì thế, kết quả phân lập và xác định thường có hướng về các vi khuẩn liên quan đến vi hệ.

Hơn nữa, nhiễm khuẩn do CONS còn do các can thiệp y tế như thay hoặc cấy ghép các bộ phận của cơ thể, gây khó khăn cho việc lấy bệnh phẩm, phân lập và đánh giá kết quả. Các phương pháp khác nhau đã được sử dụng để tăng độ nhạy và độ chính xác cho chẩn đoán labo.

4.2. Môi trường và khuẩn lạc

Các môi trường thường dùng để phân lập và xác định CONS là thạch máu, thạch thường, thạch BHI và các loại canh thang tương ứng... Các loại khuẩn lạc

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

của các loài trong CONS nếu so sánh với tụ cầu vàng thường mỏng hơn, bé hơn và màu trắng (vì thế trước dây còn gọi là *S. albus). S. lugdunensis* thường có màu khuẩn lạc vàng kem. Đôi khi một số chủng có vỏ mỏng. Đường kính khuẩn lạc của CONS trong khoảng 1–3 mm. Kích thước này chỉ là tương đối, khuẩn lạc của *S. haemolyticus* thường lớn hơn *S. epidermidis*.

4.3. Đánh giá kết quả

Một khó khăn khác cho chẩn đoan phòng thí nghiệm là thiếu hệ thống phân loại CONS, tiện lợi, sẵn có, chính xác và kinh tế để xác định kết quả phục vụ cho lâm sàng và dịch tễ học.

Một số phương pháp xác định nhanh hiện nay đang sử dụng, như máy định danh Vitek hay API–STAPH có nhiều hứa hẹn. Trong các kit này đã bao gồm novobiocin, đảm bảo kết quả trả lời chính xác từ 70 đến 90%. Đôi khi khó khăn cho trả lời kết quả của *S. warneri* và *S. haemolyticus*.

Hiện nay có hệ thống phân tích acid béo bằng sắc ký khí cho kết quả cao, nhưng đắt và không cần thiết cho xét nghiệm chẩn đoán thường quy.

Xác định tính đa kháng của CONS thật sự cần thiết cho điều trị.

5. ĐIỀU TRỊ

Vai trò gây bệnh cho người và kháng đa kháng sinh của CONS đã làm cho nó ngày càng quan trọng hơn. Những chủng CONS đa kháng kháng sinh ngày càng được xác định nhiều hơn trong các chủng gây bệnh và vi hệ bình thường. Những bằng chứng về sự truyền chéo tính đa kháng thuốc giữa bệnh nhân và nhân viên y tế, giữa các chủng độc lực cao và người mang đang được quan tâm nhiều.

Đa số CONS có khả năng tổng hợp enzym beta–lactamase để kháng lại penicillin, trong khi đó chúng sản sinh protein gắn penicillin có ái tính thấp (PB2a) tạo ra khả năng kháng methicillin và các kháng sinh liên quan. Gen *mecA* luôn luôn có mặt trong tất cả các chủng *Staphylococci* kháng methicillin và không đồng nhất trong một số ít các quần thể vi khuẩn phân lập được. Hình như một số CONS đa kháng nhiều thì chúng mọc chậm hơn, gây khó khăn cho phân lập và xác định. Phân lập và xác định CONS tốt hơn khi cấy với nồng độ vi khuẩn lớn, ở nhiệt độ nuôi cấy 30°C, nồng độ NaCl 2% và để thời gian dài hơn, mặc dù lai gen *mecA* có thể luôn là kỹ thuật nhạy nhất. Hơn 80% CONS lây nhiễm trong bệnh viện kháng methicillin và 50% kháng lại những thuốc khác như: gentamicin, trimethoprim, erythromycin và clindamycin. Tính kháng tetracycline, quinolone và choramphenicol thường rất thay đổi. CONS kháng methicillin được coi là đa kháng, trừ trường hợp có bằng chứng ngược lại trên in vitro.

Kháng gentamicin thường do enzym, dẫn đến acetyl hoá hoặc phosphoryl hoá thuốc kháng sinh. Gen kháng aminoglycoside như vậy, thường gặp nhất là nằm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trên plasmid hoặc nhiễm sắc thể, điều này cần được lưu ý khi điều trị viêm nội tâm mạc với sự kết hợp beta lactam–aminoglycoside.

Kháng quinolone được ghi nhận sau một thời gian ngắn đưa vào sử dụng, như: ciprofloxacin, ofloxacin. Sự sử dụng rất rộng rãi của các kháng sinh này trong các bệnh viện dẫn đến sự giảm nhạy cảm của chúng do đột biến của enzym ADN gyrase. Gần đây hơn, sự thay đổi của gen *norA*, dẫn đến sự liên kết kháng thuốc gia tăng giữa quinolone và các kháng sinh khác. Tỷ lệ kháng thuốc thay đổi tuỳ từng vùng trên thế giới, nhưng trong khoảng 7 – 22%. Sự kháng chéo giữa các quinolone là thường gặp và gần đây nó xảy ra với các cầu khuẩn Gram dương.

Tetracycline bị kháng khoảng 25–35%. Do vậy, nó ít được sử dụng. Cơ chế đề kháng liên quan đến ribosom. Gen *tet*K trên plasmid, gen *tet*M được mang bởi nhiễm sắc thể và đề kháng với minocyclin, tetracycline, doxycyclin. Mặc dù minocyclin hãy còn có tác dụng với những chủng kháng tetracycline khác.

Macrolide bị kháng thường là clindamycin và streptogramin vì nó có cùng vị trí gắn là ribosom 50S để dịch chuyển vị trí (translocation). Đa số các chủng của CONS kháng với methicyclin thì cũng kháng với erythromycin và những thuốc liên quan. Sự kháng kết hợp giữa erythromycin và clindamycin là hậu quả của gen *rm*. Macrolid mới như clarithromycin, azithromycin không có tác dụng tốt cho CONS vì có sự kháng chéo.

Rifampicin kết hợp với các kháng sinh khác ngày càng được sử dụng nhiều hơn để điều trị các nhiễm trùng sâu dò CONS. Các vi khuẩn này vẫn còn nhạy cảm cao với rifamicin. Tỷ lệ đột biến gây đề kháng chỉ khoảng 1/1.000.000. Gen đột biến mã hóa cho tiểu phần của ARN polymerase phụ thuộc ADN. Cần sử dụng kháng sinh này hạn chế và dựa trên kháng sinh đồ.

Vancomycin là kháng sinh glycopeptide, thường được dùng để điều trị các nhiễm khuẩn nặng của CONS. Hiện nay hầu hết các chủng trong CONS vẫn còn nhạy cảm với Vancomycin ở nồng độ 4 µg/ml, mặc dù ngẫu nhiên có những chủng của *S. epidermidis* kháng lại kháng sinh này. Cần phải chú ý khi tỷ lệ đề kháng với vancomycin của *S. aureus* tăng.

S. EPIDERMIDIS

(Winslow 1908) Evans 1916

S. SAPROPHYTICUS

(Fairbrother 1940) Shaw, Stitt và Cowan 1951

Hai loài tụ cầu này là những thành viên tiêu biểu của CONS, đóng vai trò gây bệnh quan trọng. Hiện nay trên các y văn nước ngoài, vai trò gây bệnh của CONS được đề cập đến rất nhiều.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hai loại tụ cầu này, đặc biệt là *S. epidermidis* ký sinh trên da và trong lỗ mũi của người lành (carrier). Sự ký sinh này có rất sớm từ khi mới lọt lòng và kéo dài suốt đời. Sự ký sinh này có ba ý nghĩa:

– Có tác dụng bảo vệ cơ thể, chống lại sự xâm nhập của các vi khuẩn khác, đặc biệt là các vi khuẩn độc lực. Vì các vi khuẩn này đã chiếm mất receptor là chỗ bám của các vi khuẩn khác.

– Ở các cơ thể suy giảm miễn dịch, hai loại tụ cầu này có thể gây các nhiễm trùng cơ hội, mà rất thường gặp là: *S. epidermidis* gây nhiễm khuẩn da và viêm nội tâm mạc bán cấp, *S. saprophyticus* gây nhiễm khuẩn tiết niệu.

– Sự cư trú trên cơ thể và trong môi trường bệnh viện giữa các loại tụ cầu, dẫn tới sự truyền cho nhau khả năng kháng thuốc, làm cho sự kháng kháng sinh tăng lên, nhất là trong bệnh viện. Càng làm cho việc điều trị kháng sinh khó khăn hơn. Có lẽ vì lý do này mà tụ cầu là một trong những vi khuẩn kháng thuốc mạnh nhất

Sự khác biệt về các tính chất của ba loài tụ cầu được trình bày ở bảng 2.13.

Bảng 2.13. So sánh các tính chất sinh vật hóa học của ba loài tụ cầu

Tính chất	Cầu khuẩn Gram (+)	Catalase	Coagulase	Tan máu β	Lên men mannitol	Deoxyribonuclease	Novobiocin	Protein A trên vách
S. aureus	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Kháng	(+)
S. epidermidis	(+)	(+)	(–)	(–)	(–)	(–)	Nhạy	(–)
S. saprophyticus	(+)	(+)	(–)	(–)	(–)	(–)	Kháng	(–)

Test novobiocin dùng phân biệt *S. saprophyticus* với các CONS khác *(Xem hình P11 ở Phụ bản).*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001.
2. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. Lê Huy Chính, Nguyễn Vũ Trung. Cẩm nang Vi sinh vật y học. Nhà xuất bản Y học. 2006.
4. Alexander SK, Strete D. Microbiology: A photographic atlas for the laboratory. Benjamin Cummings. 2001.
5. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Mosby. 11th ed. 2002.
6. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. Elservier. 3rd ed. 2007.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 3

CẦU KHUẨN GRAM ÂM

MORAXELLA CATARRHALIS

(Frosch và Kolle 1896) Henriksen và Bovre 1968

Chủng mẫu: ATCC 25238

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Moraxella (*Branhamella*) *catarrhalis*, trước đây được gọi là *Neisseria catarrhalis* hoặc *Micrococcus catarrhalis*, là các song cầu Gram âm, hiếu khí và sống trong đường hô hấp trên của người. Trong 20–30 năm trở lại đây, loài vi khuẩn này được coi là căn nguyên gây bệnh đường hô hấp trên ở trẻ em và người già. Thêm vào đó, *M. catarrhalis* là một căn nguyên quan trọng gây ra các biến chứng nhiễm trùng ở bệnh nhân bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease – COPD). Ở những bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch, vi khuẩn có thể gây viêm phổi, viêm nội tâm mạc, nhiễm khuẩn huyết và viêm màng não. Các vụ dịch viêm nhiễm đường hô hấp liên quan đến nhiễm trùng bệnh viện do *Moraxella catarrhalis* đã được mô tả trong nhiều nghiên cứu gần đây. Điều này đã khẳng định vai trò gây nhiễm trùng bệnh viện của vi khuẩn này. Do trước đây, *M. catarrhalis* được coi là vi khuẩn vô hại sống cộng sinh, nên những hiểu biết về khả năng gây bệnh, các yếu tố độc lực, khả năng kháng kháng sinh mới chỉ được đề cập gần đây. Chính vì lẽ đó, việc nhận định dây là vi khuẩn gây bệnh không còn là vấn đề bàn cãi.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

M. catarrhalis cư trú ở hầu họng. Vi khuẩn lần đầu tiên được mô tả vào năm 1896 với tên là *Micrococcus catarrhalis*. *M. catarrhalis* là các song cầu Gram âm, úp hai đầu dẹt vào nhau. Kích thước từ 0,5–1,5 µm. Trong đờm, vi khuẩn có thể đứng thành đôi, thành bốn, hoặc thành từng nhóm nhỏ, hình thể giống như hạt cà phê *(Xem hình P12 ở Phụ bản).*

2.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí, phát triển tốt ở môi trường có 5% máu cừu hoặc môi trường chocolate, ở nhiệt độ 35–37^{0}C, khí trường có 5–7% CO_2. Trên thạch máu,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn lạc nhỏ, tròn, mờ đục, lồi, màu hơi trắng xám, không tan máu, đường kính 1–3 mm. Khi dùng que cấy đẩy, khuẩn lạc trượt dễ dàng trên mặt thạch. Vi khuẩn không mọc trên môi trường MacConkey.

2.3. Tính chất sinh vật hoá học

M. catarrhalis sinh oxidase, catalase, DNase *(Xem hình P13 ở Phụ bản)*; phân huỷ nitrate thành nitrite, thuỷ phân tributyrin. Vi khuẩn không sinh acid từ glucose, maltose, sucrose, lactose, và fructose; test ONPG (–). Trong số các tính chất sinh vật hoá học của *M. catarrhalis*, tính chất sinh DNase, phân huỷ nitrate, và thuỷ phân tributyrin có giá trị trong xác định *M. catarrhalis*.

2.4. Tính chất kháng nguyên

Có ba type huyết thanh (A, B và C) của *M. catarrhalis* dựa trên sự khác biệt về cấu trúc của lipooligosaccharide trong cấu trúc vách của vi khuẩn. Type A chiếm tới hơn 60% số chủng

2.4.1. Cấu trúc lipooligosaccharide, peptidoglycan và vỏ

Lipooligosaccharide (LOS) của *Moraxella catarrhalis* có dạng nửa "ráp" có nghĩa là nó có thể chứa các cấu trúc kháng nguyên O lặp lại. LOS có tính kháng nguyên cao và bảo tồn. Điều này ủng hộ một số ý kiến cho rằng cấu trúc này không thể được dùng trong hệ thống định type vi khuẩn này. Tính đặc hiệu kháng nguyên của ba type huyết thanh đã được xác định do sự khác biệt về các phân tử đường tận cùng của một trong các nhánh. Thêm vào đó, một vùng lặp lại của cấu trúc cũng đã được đề cập trong một số nghiên cứu về LPS của *Neisseria* và *Haemophilus*. LOS của type huyết thanh B và C chứa các chuỗi oligosaccharide có độ dài khác nhau. Điều này có thể do sự biểu hiện của các gen cấu trúc ở các thời điểm khác nhau do sự xuất hiện của các đoạn lặp lại. Một sự giải thích khác là do sự đa dạng của các enzym tham gia vào quá trình lắp ráp vách tế bào dẫn đến một cấu trúc oligosaccharide khác biệt. LOS cũng xuất hiện trong dịch nổi của môi trường nuôi cấy. Điều này có thể thúc đẩy sự lan tràn các LOS trong cơ thể vật chủ.

Hiện nay, có phải các cấu trúc này có vai trò trong sinh lý của vi khuẩn hay không, đó là vấn đề cần được nghiên cứu thêm. LOS của type huyết thanh A nếu được làm giảm độc tính hoàn toàn có thể được sử dụng làm vắc xin khi được gắn thêm một protein mang. Khi gây miễn dịch, người ta thấy tăng nồng độ IgG kháng LOS. Nồng độ kháng thể gia tăng có vai trò trong việc thanh thải vi khuẩn khỏi tổ chức phổi của chuột thực nghiệm khi gây nhiễm *M. catarrhalis* qua đường hô hấp. Keller và cộng sự đã gợi ý rằng *M. catarrhalis* có cấu trúc peptidoglycan đa lớp. Lớp peptidoglycan này được cho là có vai trò quan trọng đối với vi khuẩn trong việc tạo ra các chức năng khác cho đại thực bào. Sự tiết yếu tố

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hoại tử mô và chuyển hoá nitrite cộng thêm hoạt tính tiêu diệt tế bào có thể giải thích một phần lý do tại sao *M. catarrhalis* có độc lực yếu. Một nghiên cứu khác chứng tỏ sự có mặt của polysaccharide lớp vỏ. Vỏ được coi là một yếu tố độc lực quan trọng của cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Không giống như nhiều căn nguyên vi khuẩn khác, vỏ rất khó phát hiện khi đánh giá khuẩn lạc *M. catarrhalis* mọc trên đĩa thạch.

2.4.2. Các protein màng ngoài

Ngược lại với các vi khuẩn Gram âm không thuộc họ đường ruột, các chủng *M. catarrhalis* khác nhau có kiểu cách protein màng ngoài (OMP) khá giống nhau. Murphy và các đồng nghiệp đã xác định được 8 loại OMP quan trọng đặt tên từ A đến H. Chúng có trọng lượng phân tử từ 21 đến 98 kDa. OMP loại C và D dường như là hai dạng khác nhau nhưng là các dạng bền vững của cùng một protein có tên là CD protein. Gen mã quá cho OMP loại CD có tính chất bảo tồn cao giữa các chủng *M. catarrhalis*. Protein CD có liên quan đến việc bám vào chất nhày ở họng và tai giữa nhưng không có liên quan đến chất nhày ở nước bọt và khí phế quản. Trên mô hình thực nghiệm ở chuột, lượng kháng thể tăng có tác dụng làm sạch đường hô hấp. Khi nghiên cứu các chủng *M. catarrhalis*, kháng nguyên E của OMP dường như ít có tính sinh miễn dịch nhưng nó có các quyết định kháng nguyên đa dạng. Nó có vai trò trong việc lấy các chất dinh dưỡng từ môi trường. Ngoài các OMP từ A đến H, Klingman và Murphy (1994) đã mô tả một OMP mới có trọng lượng phân tử cao gọi là HMW–OMP hoặc UspA. Gần đây, người ta thấy UspA được mã hoá bởi hai gen khác nhau và hai gen này có khả năng mã hoá cho một vùng bên trong của protein và có sự giống nhau tới 90% trình tự các acid amin.

Đột biến trên gen *Usp*A1 làm giảm đáng kể sự bám dính. *Usp*A2 có liên quan đến sự kháng bổ thể. Protein UspA1 bám đặc hiệu vào fibronectin, trong khi protein UspA2 bám vào vitronectin. Cả hai protein này đều có tính sinh miễn dịch trên chuột và động vật được gây miễn dịch có khả năng đào thải vi khuẩn rất nhanh khỏi đường hô hấp. Các nghiên cứu về di truyền học cho thấy, sự thay đổi về gen giữa các loài có thể liên quan đến thay đổi các vùng của đoạn ADN lặp lại. Hơn nữa, nhiều gen liên quan đã được xác định trong bộ gen của nhiều loài vi khuẩn khác nhau. Điều này gợi ý rằng, các protein tương ứng chịu trách nhiệm cho những chức năng chung và quan trọng của vi khuẩn. Mặc dù các kháng nguyên UspA1/2 là kháng nguyên được nghiên cứu nhiều nhất hiện nay, khả năng sản xuất vắc xin cũng còn là vấn đề trong tương lai.

Moraxella catarrhalis có receptor cho cả transferrin (TbpA và TbpB), lactoferrin (LbpA và LbpB) trên bề mặt tế bào vi khuẩn. Những protein này giống nhau một phần và làm cho tế bào có khả năng lấy sắt từ các protein mang của vật chủ. Bản

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thân các receptor này là các yếu tố độc lực vì khi phân tích đột biến của receptor transferrin, người ta thấy thiếu hụt sự phát triển của vi khuẩn của chủng bị gây đột biến. Các receptor cũng có tính sinh miễn dịch và chúng có thể được dùng để sản xuất vắc xin. Khi tiến hành loại bỏ gen *tbp*B, nếu có sự xuất hiện của kháng thể đơn dòng đặc hiệu với TbpB và bổ thể của người, chủng bị đột biến không bị chết, điều này đối lập hoàn toàn với chủng hoang dại.

2.4.3. Các cấu trúc ngoài vi khuẩn

Nhờ có pili và diềm, vi khuẩn có thể bám dính vào các tế bào biểu mô. Một số nghiên cứu cho thấy *M. catarrhalis* có khả năng sinh pili, trong khi một số nghiên cứu khác lại cho kết quả đối lập. Marrs và Weir đã thấy một số đặc điểm liên quan đến sự xuất hiện pili loại bốn của *M. catarrhalis*. Thêm vào đó, hình ảnh kính hiển vi điện tử cho thấy, ngoài pili giống như pili loại 4, còn có một loại pili khác. Các pili tạo ra cấu trúc quanh màng của vi khuẩn.

2.5. Danh pháp

Trước đây, *M. catarrhalis* được coi là một vi khuẩn vô hại, là thành viên của vi hệ trong họng của người. Vi khuẩn này thuộc chi *Neisseria* nhưng không phải Lậu cầu và không phải Não mô cầu. Vi khuẩn này được mô tả lần đầu tiên vào năm 1896 và được đặt tên là *M. catarrhalis*. Vào đầu những năm 1960, các nhà khoa học cho rằng, *M. catarrhalis* thực tế có hai loài khác nhau là *Neisseria cinerea* và *Neisseria catarrhalis*. Dựa vào đặc điểm chuyển hoá nitrate và nitrite cũng như tributyrin, hai loài này có thể phân biệt được với nhau. Do sự khác biệt về mặt phát sinh loài giữa *N. catarrhalis* và các loài thực sự là *Neisseria*, vi khuẩn này được xếp vào chi *Branhamella* để tôn vinh Sara E. Branham. Năm 1984, *Branhamella catarrhalis* được xếp lại vào chi *Moraxella* với tên là *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*. Sau này, các nghiên cứu dựa trên trình tự ADN của ribosom đã khẳng định giá trị của việc xếp loại hiện tại. Catlin (1991) đã đề xuất một họ mới là *Branhamaceae*, cho việc phân loại *Moraxella* và *Branhamella*. Tuy nhiên, khi so sánh trình tự ADN của tiểu phần 16S ribosom của *Moraxella*, người ta thấy sự liên quan của *M. catarrhalis* và *Moraxella lacunata* subsp. *lacunata* với một loại *Neisseria* trước đây bị phân loại nhầm, *Neisseria ovis*. Hiển nhiên là không có cơ sở nào cho việc phân chia lại chi *Branhamella*. Tại thời điểm hiện tại, *M. catarrhalis* vẫn là một cái tên ưa dùng đối với loài vi khuẩn này. Vào năm 1972, bài báo khoa học đầu tiên về danh pháp của *K. denitrificans* được xuất bản. Vi khuẩn này lúc đó được đặt tên là TM–1, do có thể mọc trên môi trường Thayer–Martin khi cấy bệnh phẩm ngoáy họng. Về sau, nhóm các vi khuẩn được đặt tên TM–1 tương tự như các loài *Moraxella* có khả năng phân huỷ sacharose hiện nay được gọi là *Kingella kingae*. *M. catarrhalis* thuộc Ngành BXII. Proteobacteria, Lớp III. Gammaproteobacteria, Bộ IX. Pseudomonadales, Họ II.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Moraxellaceae, Chi I. Moraxella (Bergey's Manual, Trust website, 2004; www.bergeys.org).

Hệ thống phân loại cổ điển và kỹ thuật sinh học phân tử

Cũng có một vài kỹ thuật dùng để phân loại và xác định các đặc điểm về kiểu hình của *M. catarrhalis* khi nghiên cứu về dịch tễ học của vi khuẩn này. Tuy nhiên, không có một kỹ thuật nào được chấp nhận một cách rộng rãi và việc sử dụng các kỹ thuật này cũng còn hạn chế. Hệ thống định type bằng huyết thanh học dựa vào cấu trúc lipopolysaccharide (LPS), kỹ thuật xác định điểm đẳng điện của các protein β–lactamase, đặc điểm trên điện di của các protein màng ngoài (OMPs) và hệ thống định type sinh học cũng đã được dùng. Gần đây, các phương pháp dựa vào tính đa hình của acid nucleic đã khá phổ biến. Việc so sánh kết quả phân tích các đoạn cắt bằng enzym giới hạn (REA) cùng với việc xác định các đặc điểm về kiểu hình cho thấy, REA của bộ gen vi khuẩn dựa vào kỹ thuật điện di điện trường xung (PFGE) có thể được dùng để mô tả các vụ dịch do *M. catarrhalis*. Việc sử dụng các mẫu dò (probe) ADN đặc hiệu cho các chủng vi khuẩn đã được mô tả. Các nghiên cứu đã xác định rằng, kỹ thuật xác định tính đa hình của đoạn cắt bằng enzym giới hạn cũng như kỹ thuật ribotyping tự động được coi là một phương pháp định type có ý nghĩa. Thêm vào đó, sử dụng hai kỹ thuật này người ta cũng phát hiện ra một dòng vi khuẩn khá khác biệt thuộc "*M. catarrhalis* kháng lại bổ thể". Những kết quả này rất phù hợp với những nghiên cứu trước đây cho rằng, *M. catarrhalis* là một loài vi khuẩn không đồng nhất về mặt di truyền. Nhiều tác giả khác cũng đã sử dụng các kỹ thuật này trong những nghiên cứu trước đây tại các khu vực địa lý khác nhau. Người ta cũng đã xác định sự tự lan truyền ngang các gen của *M. catarrhalis* tạo ra các đặc điểm về kiểu hình của các vi khuẩn khi tích hợp được các gen này.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Độc lực

Nhìn chung, bệnh sinh và độc lực của vi khuẩn có liên quan đến năm yếu tố quan trọng:

- Sự bám và cư trú trên niêm mạc
- Xâm nhập vào mô của tế bào chủ
- Nhân lên trong cơ thể vật chủ
- Tương tác với các cơ chế bảo vệ của vật chủ
- Phá huỷ cơ thể vật chủ

Cho tới nay, việc hiểu biết chính xác về các yếu tố độc lực của *M. catarrhalis* còn rất hạn chế.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.1.1. Sự bám dính

Cần phải nói rõ rằng, cho tới nay có rất ít nghiên cứu xác định chính xác mối tương tác giữa các thụ cảm thể của *M. catarrhalis* và các kháng nguyên của cơ thể người. Nghiên cứu của Reddy và cộng sự năm 1997 sử dụng glycoprotein màng nhày đã được tinh chế từ tai giữa cho thấy, chỉ có protein CD có khả năng thiết lập mối tương tác đặc biệt với một dạng protein trong nước bọt của người. Một nghiên cứu thuần tập khác cũng thấy sự tương tác khá đa dạng giữa căn nguyên gây nhiễm trùng đường hô hấp và chất mucin ở người. Cơ chế bám dính của *M. catarrhalis* lên bề mặt tế bào vật chủ cũng đã được Rikitomi, Ahmed và Nagatake nghiên cứu năm 1997. Các nghiên cứu này cho thấy, sự bám dính của vi khuẩn không phải do tương tác giữa lectin–carbohydrate. Trong một nghiên cứu về sự bám dính trên thực nghiệm sử dụng tế bào Hep–2, các chủng *M. catarrhalis* phân lập từ ổ nhiễm trùng bám dính hiệu quả hơn so với các chủng cư trú bình thường trên cơ thể. Thêm nữa, việc điều trị trên thực nghiệm cũng gợi ý rằng, sự bám dính của vi khuẩn dường như là qua trung gian của các gốc carbohydrate. Sự bám dính này được kích thích bởi các yếu tố bảo vệ của bạch cầu đa nhân trung tính, các peptide có hoạt phổ kháng khuẩn rộng. Như vậy, sự bám dính qua trung gian các yếu tố bảo vệ góp phần vào quá trình nhiễm trùng trường diễn. Năm 2000, Ahmed và cộng sự điều tra sự ảnh hưởng của điện thế bề mặt trong quá trình bám dính. Mặc dù vi khuẩn và các tế bào biểu mô tích điện âm, nhưng có sự tương tác giữa bề mặt tích điện âm của tế bào *M. catarrhalis* và các phần tích điện dương gọi là "vi nếp" trên tế bào biểu mô ở họng.

Các mô hình động vật thực nghiệm

Để xác định khả năng độc lực thấp của *M. catarrhalis*, cho tới nay, còn thiếu các mô hình động vật thực nghiệm để nghiên cứu. Trên mô hình nghiên cứu ở chuột để xác định đáp ứng thực bào và các cơ chế làm sạch vi khuẩn sau khi tiêm *M. catarrhalis* vào khí quản, người ta thấy có một lượng lớn bạch cầu đa nhân trung tính được giải phóng và vi khuẩn bị loại trừ sau 24–48 giờ. Một mô hình khác sử dụng vi khuẩn đưa vào theo đường uống vào phổi sau khi gây mê. Mô hình thực nghiệm này cho phép đánh giá sự tương tác của vi khuẩn với biểu mô đường hô hấp dưới và đánh giá chính xác sự thay đổi về mặt bệnh học ở phổi. Kyd và cộng sự năm 1999 đã sử dụng một mô hình thực nghiệm cho miễn dịch màng nhày bằng cách đưa trực tiếp vi khuẩn vào mảng Payer. Sau đó, tiếp tục đưa vi khuẩn chết vào đường phế quản. Cùng với việc quan sát thấy nồng độ IgA và IgG đặc hiệu tăng cao trong huyết thanh và dịch phế nang, thì vi khuẩn cũng được đào thải từ phổi nhanh chóng. Do *M. catarrhalis* cư trú ở đường hô hấp trên, mô hình thực nghiệm qua việc hít vi khuẩn là phù hợp hơn so với các mô hình đưa vi khuẩn vào màng bụng, qua khí quản hoặc qua mũi. Trên chuột Sprague–Dawley, người ta cũng có thể gây viêm tai giữa mủ thực nghiệm. Nhiễm trùng thực nghiệm này

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

tiến triển nhẹ nhàng và sau khi có miễn dịch, tỷ lệ bảo vệ trên dưới 50%. Khi sử dụng cùng mẫu động vật thực nghiệm, sau khi tiêm vi khuẩn 60 ngày, số lượng tế bào tiết nhày tăng lên rõ rệt chứng tỏ có sự tăng đáp ứng miễn dịch ở niêm mạc. Trong một nghiên cứu khác, khi gây nhiễm chuột bằng *M. catarrhalis* bị gây chết bằng nhiệt qua đường mũi, đã tạo ra viêm họng–khí quản tái phát. Khi đưa *M. catarrhalis* vào tai giữa của sóc Nam Mỹ và chuột, người ta thấy tăng tiết dịch nhưng không tìm thấy vi khuẩn sống tại ví trí gây nhiễm sau 24 giờ. Những công bố sau này cũng cho thấy, hoàn toàn có khả năng nghiên cứu về viêm tai giữa ở mô hình động vật thực nghiệm là sóc Nam Mỹ.

3.1.2. Sự kháng bổ thể

Nhìn chung, những chủng vi khuẩn Gram (–) được gọi là chủng "ráp" (nếu chúng tạo ra LPS thiếu một số chuỗi ở vị trí cấu trúc của kháng nguyên O) thường rất hay bị chết dưới tác động của bổ thể C5b–9. Trong khi đó, các chủng "nhẵn" thường kháng lại tác dụng này của bổ thể. Vì LPS của *M. catarrhalis* là loại "ráp", nên có thể nó không đóng vai trò quan trọng trong tính chất kháng bổ thể. Mặc dù vậy, năm 2000, Zaleski và cộng sự cho thấy, việc bất hoạt một gen tham gia vào quá trình sinh tổng hợp quyết định kháng nguyên galβ1–4 galβ1–4 glc LOS dẫn đến việc tăng nhạy cảm với việc chủng bị chết bởi huyết thanh. Sự kháng lại bổ thể có thể coi là một yếu tố độc lực của *M. catarrhalis*: 89% số chủng phân lập từ bệnh phẩm nhiễm trùng đường hô hấp dưới đều kháng lại với bổ thể trong khi đó, 58% số chủng phân lập từ đường hô hấp trên nhạy cảm hơn. Các chủng kháng lại bổ thể ức chế giai đoạn cuối của con đường hoạt hoá bổ thể ví dụ như giai đoạn hình thành phức hợp tấn công màng. Sự bám của vitronectin, một chất ức chế giai đoạn này dường như đóng một vai trò rất quan trọng. Một nghiên cứu khác gợi ý rằng, protein màng CopB/OMP B2 có tham gia trong cơ chế kháng lại sự tiêu diệt bởi huyết thanh bình thường của người. Chủng *M. catarrhalis* không có CopB bị chết bởi tác động của huyết thanh trong khi những chủng hoang dại bố mẹ vẫn sống. Người ta đã chứng minh rằng, bất hoạt gen *Cop*B ức chế sự hấp thu sắt từ lactoferin và transferin. Một protein màng ngoài khác là OMP E cũng được cho là có tham gia vào cơ chế kháng bổ thể. Chủng đột biến OMP E tăng sự nhạy cảm với huyết thanh. Như vậy, có thể kết luận rằng, sự kháng bổ thể của *M. catarrhalis* có thể là một quá trình nhiều yếu tố tham gia, thuộc về cả vật chủ và vi khuẩn.

3.2. Miễn dịch

Cho tới nay, người ta còn chưa biết rõ nhiều khía cạnh miễn dịch của đường hô hấp ngoại trừ những yếu tố tại chỗ như sự làm sạch của biểu mô màng nhày, động học của sự trao đổi khí, hoạt động của đại thực bào tại phế nang, cơ chế tiêu diệt vi khuẩn nhờ bổ thể và hoạt tính của sức căng bề mặt. Những yếu tố này đóng vai trò

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

quan trọng trong cơ chế bảo vệ của cơ thể đối với các tác nhân gây nhiễm trùng đường tiêu hoá. Sự phát triển của đáp ứng viêm hoặc đáp ứng đặc hiệu kháng thể thúc đẩy cơ chế bảo vệ của vật chủ. Một ví dụ khác ở bệnh nhân bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, cơ chế bảo vệ tại chỗ của vật chủ đối với tác nhân gây bệnh đường hô hấp rất mờ nhạt. Điều này cho thấy cơ chế bảo vệ không đặc hiệu tại chỗ trong việc loại trừ các loài vi khuẩn khác nhau không có vai trò quan trọng. Khi so sánh với các loài vi khuẩn khác, *M. catarrhalis* bị loại trừ khỏi phổi khá chậm, và lượng bạch cầu đơn nhân cần hơn 400 lần so với bình thường.

3.2.1. Đáp ứng kháng thể đối với vi khuẩn

Một số tác giả đã tiến hành nhiều nhiên cứu đánh giá đáp ứng kháng thể đối với *M. catarrhalis*. Năm 1995, Chapman và cộng sự cho thấy, 90% bệnh nhân người lớn bị nhiễm khuẩn đường hô hấp dưới có kháng thể tiêu diệt khuẩn trong huyết thanh giai đoạn hồi phục. Chỉ có 37% có kháng thể diệt khuẩn trong huyết thanh giai đoạn cấp. Black và Wilson năm 1988 cũng có nghiên cứu và cho kết quả tương tự. Hầu hết trẻ em bị viêm tai giữa cấp do *M. catarrhalis* đều có sự gia tăng mức IgG trong huyết thanh. Trong một nghiên cứu ở trẻ em bị viêm tai giữa, đáp ứng kháng thể IgG đặc hiệu được phát hiện ở 10 trong số 12 trẻ em 8 tháng tuổi lớn hơn so với các trẻ từ 1 đến 6 tháng tuổi. Thêm nữa, sử dụng kỹ thuật thấm miễn dịch đã phát hiện được 4 OMP là UspA, CopB, TbpB và một protein khác là OMP CD. Các kháng thể đặc hiệu với *M. catarrhalis* có nồng độ rất thấp hoặc không có ở trẻ em dưới 1 tuổi và sự phát triển của một đáp ứng kháng thể ở nhóm trẻ này có liên quan đến giảm sự cư trú của vi khuẩn. Kháng thể kháng lại OMP của *M. catarrhalis* xuất hiện khi trẻ trong giai đoạn 4 tuổi. Hơn nữa, sự giảm nồng độ kháng thể IgG3 chống lại *M. catarrhalis* có thể là tiền đề cho nhiễm trùng do vi khuẩn.

3.2.2. Tính sinh miễn dịch của LOS

Các nghiên cứu cho thấy, đáp ứng kháng thể với các cấu trúc bề mặt này góp một phần quan trọng vào đáp ứng miễn dịch thể dịch trong quá trình nhiễm trùng do *M. catarrhalis*. Đáp ứng kháng thể này không đặc hiệu type huyết thanh nhưng có liên quan đến các yếu tố quyết định kháng nguyên ở LOS của các type huyết thanh khác nhau của *M. catarrhalis*. Như vậy, LOS của *M. catarrhalis* có thể là vấn đề cần quan tâm để đánh giá một vắc xin trong tương lai.

3.2.3. Tính sinh miễn dịch của các protein màng ngoài

Các protein màng ngoài OMPs B1, CopB/OMP B2, LbpB, OMP CD, OMP E, OMP G, TbpB và UspA đã được nghiên cứu để phát triển vắc xin. Trong huyết thanh của bệnh nhân bị viêm phổi giai đoạn hồi phục, người ta không thấy có kháng thể kháng lại TbpA hoặc LbpA. Điều này chứng tỏ hai kháng nguyên này

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ít có khả năng được sử dụng để làm vắc xin. Năm 1994, Helminen và cộng sự, năm 1997, nhóm nghiên cứu của Sethi, Surface và Murphy cho thấy CopB/OMP B2 có thể là kháng nguyên tốt cho việc kích thích sinh kháng thể. Tuy nhiên, một số vùng trên protein này có sự thay đổi giữa các chủng. Do vậy, nếu protein đó được phát triển thành vắc xin, chỉ có một số vùng có tính bảo tồn cao sẽ được sử dụng. Sethi, Hill và Murphy năm 1995 đã thấy có đáp ứng kháng thể đối với một OMP có kích cỡ khoảng 84 kDa được gọi là OMP B1. OMP CD dường như không phải là một kháng nguyên có tính sinh miễn dịch. Do vậy, ở những bệnh nhân bị COPD và nhiễm trùng do *M. catarrhalis* sẽ thiếu đáp ứng kháng thể đối với protein này. Nhóm nghiên cứu của Helminen năm 1994 cũng đã cho thấy bằng chứng là UspA có thể được sử dụng trong đáp ứng sinh kháng thể ở người. Khi Chen kích thích chuột bằng UspA tinh chế, số lượng vi khuẩn phân lập được từ nhóm chuột được miễn dịch cao hơn so với nhóm chứng. Một nghiên cứu khác của Chen cũng khẳng định vai trò của IgG3 trong đáp ứng miễn dịch với UspA1 và UspA2 từ *M. catarrhalis*. Trong một nghiên cứu theo dõi dọc một số trẻ em bị viêm tai giữa, người ta cũng phát hiện các kháng thể đặc hiệu với protein UspA1/2. Số lượng các kháng thể này cũng rất khác nhau tuỳ theo tuổi.

3.2.4. Đáp ứng miễn dịch tại chỗ

Chỉ có một số ít công trình nghiên cứu về đáp ứng kháng thể trong dịch tai giữa ở trẻ em bị viêm tai giữa. IgG và IgA dường như được tạo ra tại chỗ ở hầu hết các bệnh nhân. Các kháng thể có nguồn gốc từ huyết thanh cũng được phát hiện thấy trong dịch tai giữa. Faden, Hong và Murphy năm 1992 cho thấy, IgG, IgM và IgA từ dịch tai giữa được tạo ra với tỷ lệ lần lượt là 100%, 29% và 71% ở các trẻ em bị viêm tai giữa. Điều đáng quan tâm là nhiều trẻ em có các kháng thể tại chỗ trong dịch tai giữa đã không có đáp ứng miễn dịch toàn thân. Các kháng thể tạo ra tại chỗ có thể đóng vai trò quan trọng trong việc hồi phục và phòng viêm tai giữa cấp. Trong một nghiên cứu về IgA tại chỗ kháng lại UspA ở dịch tiết họng mũi của trẻ em có *M. catarrhalis*, người ta không hề thấy có đáp ứng kháng thể.

3.3. Khả năng gây bệnh

3.3.1. Dịch tễ học

Việc nghiên cứu về dịch tễ học của *M. catarrhalis* gặp nhiều khó khăn do các thông tin liên quan đến định type của vi khuẩn này mới có gần đây. Ngoài ra, cho tới nay, cũng chưa có các test huyết thanh học đủ độ nhạy và tin cậy. Thêm nữa, tầm quan trọng của *M. catarrhalis* trên lâm sàng cũng mới được đề cập. Do vậy, trước đây, các labo vi sinh thường không thông báo vi khuẩn này là một căn nguyên gây bệnh. Việc xác định *M. catarrhalis* trong bệnh phẩm đờm cũng gặp khó khăn do sự xuất hiện của nhiều *Neisseria* không gây bệnh.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.3.2. Tình trạng mang vi khuẩn

Tỷ lệ mang *M. catarrhalis* ở trẻ em khá cao, tới 75%. Ngược lại, tỷ lệ mang vi khuẩn này ở người trưởng thành khoẻ mạnh chỉ khoảng 1–3%. Mối liên hệ đảo ngược giữa tỷ lệ mang và lứa tuổi đối với *M. catarrhalis* đã được biết từ năm 1907. Điều này có thể được giải thích dựa vào sự xuất hiện của IgA tiết phụ thuộc vào lứa tuổi. Đáng chú ý là nồng độ IgG không có mối liên quan nào với tình trạng cư trú của vi khuẩn và nhiễm trùng đường hô hấp dưới do *M. catarrhalis* gây ra ở trẻ em. Một điều thú vị nữa là tỷ lệ mang *M. catarrhalis* cao hơn vào mùa đông và mùa thu so với mùa xuân và mùa hè. Faden và cộng sự năm 1994 khi nghiên cứu 120 bệnh phẩm ở họng mũi trẻ em hằng tháng hoặc hai lần một tháng cho thấy, *M. catarrhalis* được phân lập ở 77,5% số trẻ em ít nhất là một lần trong 2 năm đầu đời. Hơn nữa, các tác giả cũng cho thấy một mối liên hệ rất rõ ràng giữa tần số cư trú của vi khuẩn và tình trạng viêm tai giữa. Một nghiên cứu khác ở Nhật cho thấy, sự cư trú của *M. catarrhalis* ở trẻ em tại một nhà trẻ thay đổi khá nhiều. Mặc dù, trong 2–4 tuần, có sự tồn tại khá vững bền của một số vi khuẩn thuộc một số genotype nào đó, tuy nhiên, người ta cũng thấy sự thay đổi thường xuyên của các chủng cư trú. Các tác giả khác đã mô tả mối liên hệ giữa tần số cư trú và sự xuất hiện nhiễm trùng đường hô hấp trên. Klingman năm 1995 đã điều tra sự cư trú của vi khuẩn này ở đường hô hấp của bệnh nhân bị giãn phế quản. Tính trung bình cứ 2, 3 tháng, bệnh nhân đều có cùng một chủng cư trú tại đường hô hấp. Các kết quả này được xác định bằng cùng một kỹ thuật. Nếu có một chủng mới, thì chủng này cũng không có mối liên quan với tình trạng lâm sàng.

3.3.3. Bệnh liên quan đến M. catarrhalis ở trẻ em

Moraxella catarrhalis được coi là một căn nguyên quan trọng gây nhiễm trùng đường hô hấp ở cả trẻ em và người lớn (những người bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính). Trong một số trường hợp đặc biệt, vi khuẩn có thể gây bệnh toàn thân. Ở trẻ em bị rối loạn chức năng miễn dịch có kèm theo sốt và nhiễm trùng đường hô hấp, cần phải xem xét khả năng nhiễm khuẩn huyết do *M. catarrhalis* gây ra. Thêm vào đó *M. catarrhalis* cũng có thể là nguyên nhân duy nhất gây viêm xoang, viêm tai giữa, viêm khí quản hoặc viêm phổi. Một số trường hợp hiếm hơn, vi khuẩn có khả năng gây viêm nhãn cầu. Ở trẻ em, sự cư trú của *M. catarrhalis* là khởi đầu cho sự phát triển các bệnh do vi khuẩn này gây ra.

Viêm xoang

Viêm xoang là tình trạng nhiễm trùng rất phổ biến ở trẻ em trong giai đoạn đầu phát triển. Nó chiếm tới 5 – 10% số các trường hợp nhiễm trùng đường hô hấp. Bệnh thường không được chẩn đoán do các triệu chứng không đặc hiệu. Ở

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

những trường hợp viêm xoang cấp tính, khi mà các triệu chứng kéo dài 10–30 ngày hoặc là trường hợp mạn tính nếu triệu chứng kéo dài từ 30–120 ngày, *Streptococcus pneumoniae*, *H. influenzae* và *M. catarrhalis* là các vi khuẩn phổ biến nhất thường gặp. *M. catarrhalis* là nguyên nhân của gần 20% số các trường hợp. Ở những trẻ bị hen, sự phân bố các vi khuẩn này cũng tương tự, cho dù Goldenhersh và cộng sự năm 1990 đã phân lập được *M. catarrhalis* là một căn nguyên chiếm ưu thế ở bệnh nhân bị viêm xoang mạn tính (triệu chứng > 30 ngày) ở trẻ em bị dị ứng đường hô hấp. Điều này cho thấy vai trò nổi bật của *M. catarrhalis* trong một số bệnh nhiễm trùng.

Viêm tai giữa

Viêm tai giữa cấp tính là nhiễm trùng thường gặp ở trẻ em. Trong năm đầu của trẻ, khoảng 50% số trẻ đã từng bị viêm tai giữa. Trong 3 năm đầu tiên, tỷ lệ này là 30%. Nguyên nhân chủ yếu của viêm tai giữa là *M. catarrhalis*. Do tỷ lệ mắc cao, nên nhu cầu dùng kháng sinh và vắc xin phòng bệnh rất quan trọng. Kể từ năm 1980, nhiều tác giả đã phân lập được *M. catarrhalis* từ dịch tiết ở viêm tai giữa. Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn này khoảng 15–20%. Ngoài ra, 90–95% số chủng phân lập được sinh enzym beta–lactamase. Tuy nhiên, việc nuôi cấy không phải lúc nào cũng thực hiện được thường xuyên, nên tỷ lệ phân lập *M. catarrhalis* có thể thấp hơn thực tế. Trong một nghên cứu khác trên 97 bệnh nhân, khi sử dụng PCR để phát hiện, tỷ lệ dương tính với *M. catarrhalis* là 46,4%, *H. influenzae* là 54,6% và *S. pneumoniae* là 29,9%. Tuy nhiên, 48% số bệnh phẩm PCR dương tính có kết quả nuôi cấy âm tính. Điều lý thú là, tất cả các bệnh phẩm nuôi cấy dương tính đều dương tính với PCR. Mức độ nặng của triệu chứng và số lượng vi khuẩn phân lập được ở dịch tai giữa dường như nhẹ hơn ở *M. catarrhalis* so với *S. pneumoniae* hoặc *H. influenzae*.

Nhiễm trùng đường hô hấp dưới

Nhiễm trùng đường hô hấp dưới do *M. catarrhalis* hầu hết xảy ra ở trẻ em dưới 1 tuổi. Korppi năm 1992 đã nghiên cứu sự chuyển đổi huyết thanh đối với *M. catarrhalis* ở những bệnh nhân nằm viện có biểu hiện nhiễm trùng đường hô hấp như viêm họng, viêm khí quản, viêm phế quản và nhiễm trùng đường hô hấp dưới. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chỉ có bốn trong tổng số 76 trẻ em (5%) có kết quả nuôi cấy dịch họng mũi dương tính với *M. catarrhalis* so với bốn trong số 373 trẻ em (1%) có kết quả nuôi cấy âm tính, chứng tỏ *M. catarrhalis* không phải là căn nguyên ở bệnh cảnh lâm sàng này. Tuy nhiên, một vài nghiên cứu khác lại nhấn mạnh tầm quan trọng của *M. catarrhalis* đối nhiễm trùng đường hô hấp dưới ở trẻ em. *M. catarrhalis* có thể phân lập được từ dịch hút khí quản ở trẻ em mới sinh, trẻ nhỏ bị viêm phổi. Trong một nghiên cứu thuần tập phối hợp giữa vi sinh và lâm sàng, Boyle và cộng sự đã xác định vi khuẩn này là căn nguyên chính gây nhiễm khuẩn hô hấp ở trẻ em. Một số nghiên cứu cũng đã cho thấy có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

đáp ứng kháng thể tại chỗ và toàn thân đối với nhiễm trùng do *M. catarrhalis*. Viêm phổi có biến chứng nhiễm khuẩn huyết do *M. catarrhalis* cũng đã được đề cập. Nói tóm lại, có thể thấy rằng *Moraxella catarrhalis* dường như có vai trò gây bệnh trong các nhiễm khuẩn đường hô hấp dưới.

Các nhiễm khuẩn khác ở trẻ em

M. catarrhalis đã được cho là căn nguyên gây viêm phế quản do vi khuẩn ở trẻ em, mà yếu tố khởi đầu của viêm nhiễm là do virus. Mặc dù có rất ít các nghiên cứu về nhiễm khuẩn ở mắt do *M. catarrhalis*, nhưng một số tác giả đã mô tả những bệnh cảnh lâm sàng của viêm kết mạc và viêm giác mạc do vi khuẩn này.

3.3.4. Bệnh liên quan đến M. catarrhalis ở người lớn

M. catarrhalis phối hợp với một số nhiễm trùng khác nhau ở người lớn đặc biệt là nhiễm trùng bệnh viện và viêm nội tâm mạc.

Viêm họng

Ở người lớn bị viêm họng, *M. catarrhalis* là căn nguyên vi khuẩn hay gặp nhất. Schalen và cộng sự năm 1980 và 1985 đã nghiên cứu 40 người lớn bị viêm họng và thấy rằng, 22 người có nhiễm *M. catarrhalis*, chiếm 55%. Trong khi đó ở 40 người khoẻ mạnh, không phân lập được vi khuẩn này. Vai trò chính xác của *M. catarrhalis* là căn nguyên gây bệnh thật sự hay là vi khuẩn sống ký sinh vẫn còn chưa được hiểu rõ.

Viêm phế quản và viêm phổi

M. catarrhalis là nguyên nhân phổ biến dẫn đến tình trạng nặng của bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính. Một nghiên cứu cho thấy, đây là căn nguyên được phân lập duy nhất rất phổ biến ở bệnh cảnh lâm sàng này. Sarubbi và cộng sự năm 1990 đã xem xét 16 627 bệnh phẩm đường hô hấp được nuôi cấy phân lập để phát hiện *M. catarrhalis*, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn này là 2,7%. *M. catarrhalis* được phân lập chỉ sau *H. influenzae* loại không định type được. Những tác giả khác cho thấy mối liên quan giữa tỷ lệ phân lập được vi khuẩn này theo mùa trong năm, đặc biệt là mùa đông và mùa xuân. Nhiễm virus đường hô hấp có thể là yếu tố tạo điều kiện thuận lợi cho nhiễm *M. catarrhalis* mặc dù giả thuyết này cũng chưa được kiểm chứng. Viêm phổi do *M. catarrhalis* dường như không gây ra tình trạng bệnh nặng trên lâm sàng. Viêm phổi do vi khuẩn này có biểu hiện trên X.quang khác với viêm phế quản. Đó là hình ảnh của thâm nhiễm thuỳ dưới phổi. Sốt cao, đau ngực ít gặp hơn triệu chứng tràn mủ màng phổi và nhiễm khuẩn huyết. Collazos, de Miguel và Ayarza năm 1992 đã xem xét tình trạng viêm phổi do *M. catarrhalis* và thấy rằng, các triệu chứng lâm sàng và đặc điểm viêm phổi do vi khuẩn này cũng tương tự như viêm phế quản và viêm phổi không do vi khuẩn. Tuy nhiên, tỷ lệ tử vong do nhiễm khuẩn huyết khoảng 13,3%. Ioannidis cùng cộng sự năm 1995 đã mô tả các dấu hiệu lâm sàng của nhiễm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn huyết do *M. catarrhalis* ở 58 bệnh nhân. Các yếu tố thuận lợi của tình trạng này là giảm bạch cầu trung tính, u ác tính hoặc thiểu năng đường hô hấp. Các yếu tố này có thể tồn tại cùng nhau hoặc đơn thuần. Tỷ lệ tử vong khoảng 29% ở những bệnh nhân có bệnh nền và bệnh cảnh trở nên trầm trọng hơn nếu bệnh nhân bị đồng nhiễm với căn nguyên nhiễm trùng đường hô hấp khác. Viêm phổi do *M. catarrhalis* thường xảy ra ở những bệnh nhân trong giai đoạn cuối của các bệnh phổi, u ác tính. Tỷ lệ tử vong trong giai đoạn sớm khoảng 45%. Hầu hết những bệnh nhân lớn tuổi đều bị một bệnh tim mạch nào đó hoặc COPD. Nhiều bệnh nhân dường như bị suy dinh dưỡng, nghiện thuốc lá hoặc đã từng hút thuốc lá, nam bị nhiều hơn nữ.

Nhiễm trùng bệnh viện

Cho tới nay, việc khẳng định sự lan tràn của *M. catarrhalis* ở các bệnh nhân nằm viện còn gặp nhiều khó khăn và chưa có một hệ thống định type nào có đủ độ tin cậy. Patterson và cộng sự năm 1988 sử dụng REA để khẳng định một vụ dịch xảy ra ở bệnh viện. Trong quá trình điều tra một vụ dịch khác, Rechards và cộng sự đã sử dụng kỹ thuật thấm miễn dịch phối hợp với REA để định type của *M. catarrhalis*. Cả hai kỹ thuật đều cho phép phân biệt được sự khác biệt giữa các chủng nhưng không phải lúc nào kết quả của hai kỹ thuật cũng thống nhất. Tuy nhiên, tại các cơ sở y tế, *M. catarrhalis* lan truyền theo con đường nào vẫn còn là một câu hỏi cần nhiều nghiên cứu thêm. Ikram và cộng sự, năm 1993, thấy sự lan tràn vi khuẩn này trong bệnh viện rất phổ biến tại các khoa Hô hấp. Các tác giả cũng thấy nguy cơ lây nhiễm rất lớn qua môi trường, do vậy, vai trò lan truyền của các giọt nhỏ trong không khí rất quan trọng. Một số tác giả khác cũng đã nhấn mạnh vai trò lây truyền giữa người với người hoặc qua môi trường. Các trường Điều dưỡng đã được cho là những nơi mà sự trao đổi các chủng *M. catarrhalis* xảy ra thường xuyên nhất.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Nuôi cấy phân lập

Việc phân lập và xác định *M. catarrhalis* từ các bệnh phẩm lâm sàng như đờm có thể gặp khó khăn do có sự xuất hiện của các *Neisseria* không gây bệnh. Mặc dù các môi trường phân lập chọn lọc không thực sự cần thiết trong thường quy chẩn đoán, tuy nhiên, các môi trường này có thể được sử dụng trong một số trường hợp và có những kết quả nhất định. Một số chất khi cho vào trong môi trường có thể hạn chế sự phát triển của các vi khuẩn khác và tạo điều kiện chọn lọc cho *M. catarrhalis* như acetazolamide hạn chế sự phát triển của các *Neisseria* khi nuôi cấy trong điều kiện hiếu khí, một số kháng sinh như vancomycin, trimethoprim và

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

amphotericin B dùng để ức chế sự phát triển của các vi khuẩn thuộc khuẩn chí bình thường. Vancomycin cũng có thể được sử dụng trong các môi trường tăng sinh chọn lọc.

4.1.2. Xác định

Tiêu chuẩn sau có thể được dùng để phân biệt *M. catarrhalis* với các loài vi khuẩn khác: Nhuộm Gram, hình thể khuẩn lạc, khuẩn lạc không sinh sắc tố trên thạch máu, vi khuẩn sinh oxidase, DNase, không sinh acid khi chuyển hoá glucose, maltose, sucrose, lactose and fructose; vi khuẩn mọc ở nhiệt độ 22^{0}C trên môi trường thạch dinh dưỡng, không mọc trên môi trường Thayer--Martin (MTM). Cuối cùng, vi khuẩn có khả năng khử nitrate và nitrite. Nhuộm Gram có ý nghĩa cực kỳ quan trọng trong quá trình phân lập và xác định vi khuẩn từ các bệnh phẩm trên lâm sàng, ví du như từ đờm. Hình thể điển hình của vi khuẩn khi nhuộm Gram là các song cầu Gram âm, phần tiếp xúc giữa hai vi khuẩn dẹt và thường ít mất màu trong quá trình tẩy màu. Trên thạch máu, khuẩn lạc tròn, lồi, đục, không tan máu và màu trắng xám. Khuẩn lạc vẫn nguyên vẹn khi đẩy trượt trên mặt thạch. Vi khuẩn sinh oxidase và DNase. Tính chất khử nitrate và nitrite cũng như thuỷ phân tributyrin là các đặc tính quan trọng của *M. catarrhalis*. Nếu vi khuẩn có ít nhất ba tính chất dương tính thì có thể khẳng định đó là *M. catarrhalis*. Ngoài ra, các kỹ thuật sinh học phân tử, như PCR, cũng có thể được dùng để phát hiện đoạn ADN đặc thù của vi khuẩn này. Kết quả PCR cũng tương tự như kết quả nuôi cấy phân lập và test phát hiện nội độc tố. Với các bệnh phẩm trên lâm sàng (ví dụ như dịch tiết tai giữa), PCR cho tỷ lệ dương tính cao hơn nuôi cấy phân lập. Kết quả cũng tương tự với các mô hình thực nghiệm. Ngoài ra, trên mô hình thực nghiệm gây nhiễm nhiều loại vi khuẩn, PCR cũng cho kết quả tin cậy hơn, đặc biệt nếu sử dụng PCR đa mồi. Có tác giả cho rằng, PCR có độ nhạy cao nhất, với ngưỡng phát hiện từ 6--7 tế bào vi khuẩn (tương đương với 6--7 đoạn gen đặc hiệu cho PCR). Tuy nhiên, PCR có yêu cầu cao hơn về máy móc, trang thiết bị và kỹ thuật hơn so với các kỹ thuật nuôi cấy, phân lập thông thường.

4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Nhiễm trùng *M. catarrhalis* thường rất hạn chế ở bề mặt niêm mạc, ít khi là nhiễm trùng toàn thân. Do vậy, các kỹ thuật phát hiện kháng thể trong máu có nhiều hạn chế.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

M. catarrhalis đề kháng tự nhiên với trimethoprim và rất nhiều chủng sinh β–lactamase. Tuy nhiên, theo nhiều nghiên cứu, *M. catarrhalis* vẫn nhạy cảm với phần lớn các kháng sinh thường dùng trong điều trị nhiễm trùng đường hô hấp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.1.1. Mức độ nhạy cảm với kháng sinh

Mặc dù *M. catarrhalis* dề kháng với penicillin qua trung gian β–lactamase và kháng tự nhiên với trimethoprim, vi khuẩn này vẫn nhạy cảm với hầu hết các kháng sinh dùng trong điều trị nhiễm trùng đường hô hấp. Các chủng sinh β–lactamase dường như dề kháng hoàn toàn với penicillin, ampicillin, amoxicillin và piperacillin.

5.1.2. M. catarrhalis sinh β–lactamase

Chủng *M. catarrhalis* sinh β–lactamase lần đầu tiên được phát hiện năm 1976. Đến năm 1980, 75% số chủng *M. catarrhalis* phân lập được ở Mỹ sinh β–lactamase. Các nghiên cứu mới đây ở Úc, châu Âu và Mỹ đều cho thấy, trên 90% số chủng sinh β–lactamase. Walker và cộng sự năm 2000, đã điều tra xu hướng kháng kháng sinh của các chủng *M. catarrhalis* ở một bệnh viện trong 10 năm. Trong thời gian này, tỷ lệ chủng sinh β–lactamase từ 30% đến 96%. Xu hướng kháng penicillin và ceftriaxone do càng có nhiều chủng sinh β–lactamase. Có hai type *M. catarrhalis* sinh β–lactamase giống hệt nhau về kiểu cách biểu hiện BRO–1 và BRO–2. Cả hai protein này đều là protein gắn màng, chúng chỉ khác nhau một acid amin và được mã hoá trên nhiễm sắc thể. Hai enzym này rất dễ dàng truyền từ tế bào này sang tế bào khác. May mắn là, cả hai enzym này đều dễ dàng bị bất hoạt bởi chất ức chế β–lactamase. Tất cả các chủng có enzym này vẫn nhạy cảm với amoxicillin phối hợp với acid clavulanic. BRO–1 hay gặp hơn BRO–2 và có vai trò quan trọng liên quan đến kháng thuốc với MIC rất cao. Sự khác biệt là do việc sản xuất nhiều enzym do tăng hoạt tính dịch mã của gen chịu trách nhiệm cho protein này. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, β–lactamase của *M. catarrhalis* được lipid hoá. Điều này cho thấy, chúng có nguồn gốc từ vi khuẩn Gram dương. Việc sản sinh ra β–lactamase của các chủng *M. catarrhalis* làm cho việc điều trị bằng penicillin bị thất bại. Hiện tượng này cũng đóng góp vào cơ chế sinh bệnh của vi khuẩn này, do vậy, trên lâm sàng cũng đã có nhiều báo cáo về thất bại điều trị. Điều này nhấn mạnh đến tầm quan trọng của các thông tin, không những về các bệnh phẩm nuôi cấy đơn thuần có hoặc hỗn hợp vi khuẩn trong đó có *M. catarrhalis*.

5.2. Phòng bệnh

5.2.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Cũng giống như các vi khuẩn lây theo đường hô hấp khác, việc phòng bệnh không đặc hiệu gặp khó khăn. Các biện pháp tăng cường vệ sinh mũi họng, tránh tiếp xúc với người bệnh, đảm bảo thông thoáng môi trường làm việc và sinh hoạt là quan trọng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.2.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Hiện nay, việc phát triển vắc xin phòng bệnh do *M. catarrhalis* là một vấn đề đang được quan tâm rộng rãi nhờ vào các mô hình nghiên cứu trên động vật và các kỹ thuật hiện đại. Tuy nhiên, cho tới nay, vẫn còn nhiều vấn đề cần được nghiên cứu thêm để có một vắc xin hiệu quả phòng bệnh.

Vắc xin

Hiện nay, quá trình phát triển vắc xin phòng *M. catarrhalis* đang là vấn đề thời sự. Các vắc xin có nhiều hứa hẹn nhất đã được McMichael đề cập trong tổng quan của mình năm 2000. Khi xem xét toàn bộ các thông tin trong y văn hiện nay, việc phát triển vắc xin phòng *M. catarrhalis* khá hứa hẹn. Người ta đã xây dựng được các mô hình động vật, các phân tử kháng nguyên dùng để sản xuất vắc xin, các nghiên cứu về di truyền, công nghệ sinh học đang được áp dụng nhằm tìm ra những vùng có tính bảo tồn cao giữa các chủng *M. catarrhalis*. Tuy nhiên, người ta cũng chưa biết nhiều về cách đưa vắc xin vào cơ thể theo con đường nào là tối ưu và liệu có cần tá chất hay không. Một nghiên cứu sử dụng mẫu hình trên chuột cho biết, việc gây miễn dịch theo đường niêm mạc hiệu quả hơn là theo đường toàn thân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bootsma HJ, van der Heide HG, van de Pas S et al. Analysis of *Moraxella catarrhalis* by DNA typing: evidence for a distinct subpopulation associated with virulence traits. J Infect Dis. 2000 (181):1376–87.
2. Gillespie SH, Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Second edition. John Wiley & Sons, Ltd. 2nded. 2006.
3. Hays JP, van der Schee C, Loogman A, et al. Total genome polymorphism and low frequency of intra genomic variation in the uspA1 and uspA2 genes of *Moraxella catarrhalis* in otitis prone and otitis non–prone children up to two years of age: consequences for vaccines design. Vaccines. 2003 (21):1118–24.
4. Karalus R and Campagnari A. *Moraxella catarrhalis*: a review of an important human mucosal pathogen. Microbes Infect. 2000 (2):547–59.
5. Verduin CM, Kools–Sijmons M, van der Plas J, et al. Complement–resistant *Moraxella catarrhalis* forms a genetically distinct lineage within the species. FEMS Microbiol Lett. 2000 (184):1–8.
6. Walker ES, Neal CL, Laffan E, et al. Long–term trends in susceptibility of *Moraxella catarrhalis*: a population analysis. J Antimicrobial Chemother. 2000 (45):175–82.

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

NÃO MÔ CẦU

Neisseria meningitidis

(Albrecht và Ghon 1901) Murray 1929

Chủng mẫu: ATCC 13077

1. GIỚI THIỆU

Não mô cầu (*Neisseria meningitidis*) và lậu cầu (*Neisseria gonorrhoeae*) là hai tác nhân chỉ gây bệnh ở người, chúng thuộc chi *Neisseria,* họ *Neisseriaceae*. Não mô cầu (hay còn gọi là meningococcus – màng não cầu) là căn nguyên thông thường nhất gây viêm màng não mủ trên toàn thế giới và là vi khuẩn duy nhất có khả năng gây ra dịch viêm màng não. Hiện tượng này được mô tả lần đầu tiên trong một vụ dịch giống như là bệnh mới, sốt não tủy (cerebrospinal fever), mà chúng lây lan một cách nhanh chóng trong và xung quanh vùng Geneva vào mùa xuân năm 1805. Các thập niên sau đó, một vài vụ dịch khác tương tự cũng được ghi nhận. Nhưng mãi đến năm 1887, tại Viên (Áo), lần đầu tiên vi khuẩn mới được tìm ra bởi Anton Weichselbaum. Ông đã phân lập được vi khuẩn gây bệnh từ dịch não tủy của 6 trường hợp "sốt não tủy" và mô tả chúng với cái tên là *Diplococcus intracellular meningitidis;* sau đó, năm 1901, Albrecht và Ghon đã đổi thành *Neisseria meningitidis* để ghi công Albert Neisser – nhà khoa học người Đức.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Đặc điểm nuôi cấy và tính chất sinh vật hóa học

Não mô cầu là song cầu khuẩn Gram âm, hiếu khí, không sinh nha bào, không có lông và có đường kính khoảng 0,8 µm. Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc não mô cầu lồi, không màu (hoặc màu xám), không gây tan máu và có đường kính từ 0,5 – 5 mm tuỳ theo thời gian nuôi cấy. Vi khuẩn đòi hỏi một số yếu tố phát triển và điều kiện mọc tối ưu là ở 35 – 37°C, pH 7,0 – 7,4 trong khí trường ẩm, có 5 – 10% CO_2 *(Xem hình P14 ở Phụ bản)*. Não mô cầu mọc yếu trên môi trường nghèo dinh dưỡng nhưng lại mọc tốt trên môi trường thạch máu, thạch chocolate, thạch New York City cải tiến và thạch Mueller Hinton có thêm máu. Nó cũng có thể sống sót và phát triển chậm ở nhiệt độ 25 hoặc 42°C. Cách cấy chuyển tốt nhất là trên thạch nghiêng chocolate và bảo quản bằng cách đông khô, hoặc đông băng ở –70°C hoặc trong nitơ lỏng.

Não mô cầu có oxidase (+) và catalase (+). Nó có khả năng sử dụng glucose mà không sinh hơi; không giống lậu cầu, nó sử dụng maltose (mặc dù một vài chủng có phản ứng maltose âm tính trong lần phân lập đầu tiên); không sử dụng lactose, sucrose hoặc fructose. Não mô cầu sinh γ–glutamyl aminopeptidase, nhưng không sinh prolyl aminopeptidase hoặc β–galactosidase.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.2. Bộ gen

Bộ gen của hai chủng não mô cầu (nhóm huyết thanh A và B) được mô tả vào năm 2000. Bộ gen của chủng thứ ba (nhóm huyết thanh C) cũng đã được mô tả, nhưng tới nay vẫn chưa được công bố. Độ dài của bộ gen khoảng 2,2 Mb và chứa trên 2000 khu vực dự đoán được mã hoá. Tổng thành phần G + C chiếm khoảng 52%, nhưng nhiều khu vực mã hoá có thành phần G + C thấp hơn, gợi ý rằng não mô cầu gần đây có nhận ADN từ các vi khuẩn cùng họ khác (trao đổi ngang). Thực vậy, một số gen được nhận dạng tương ứng từ vi khuẩn khác có các yếu tố độc đã được biết. Khi so sánh não mô cầu với lậu cầu, trình tự của bộ gen chỉ ra rằng 2 loài có mức độ tương đồng trên 90% ở vị trí protein được mã hoá. Một trong các điểm đặc trưng đáng kể và khác thường nhất của bộ gen là sự phong phú và đa dạng của các mảnh ADN đặc trưng lặp đi lặp lại.

Các vị trí then chốt khác được tìm thấy nhờ các dữ liệu về trình tự gen. Đó là sự có mặt của hơn 60 đoạn gen có biến đổi pha (phase–variable) xảy ra ngẫu nhiên. Bản chất của hiện tượng biến đổi pha này được cho là do sự có mặt của các chuỗi lặp lại đơn giản (Henderson, 1999). Độ dài của các chuỗi này lại có thể thay đổi thường xuyên do kết quả của sợi không cặp đôi trong quá trình sao chép. Quá trình này dẫn đến mã khởi đầu, ATG, được đưa vào hoặc đưa ra khỏi khung đọc mở của đoạn gen còn lại. Rất nhiều gen biến đổi pha, ví dụ như operon sinh tổng hợp vỏ, là yếu tố quyết định độc lực quan trọng của vi khuẩn. Sự có mặt của nhiều gen biến đổi pha đã làm tăng khả năng thích ứng nhanh chóng với môi trường mới bên trong vật chủ của vi khuẩn.

N. meningitidis có chuỗi ADN đặc hiệu mà không có ở các loài *Neisseria* khác. Có khu vực ADN chung cho não mô cầu và lậu cầu nhưng lại không có trong các loài hoại sinh như *N. lactamica*. Các trình tự đó có thể xác định chu kỳ sống thông thường của các loài *Neisseria* gây bệnh, đó là cố định ở màng nhày và thâm nhập vào tế bào biểu mô; trong đó sự cố định của vi khuẩn có vai trò lớn trong cơ chế bệnh sinh, đặc biệt là thể nhiễm khuẩn huyết và sự di chuyển qua lại hàng rào máu–não. Trình tự đặc hiệu cho não mô cầu được định cư trên 8 vùng nhiễm sắc thể, có độ lớn từ 1,8 đến 40 kb (Klee và cộng sự, 2000). Năm trong số các vùng đó là các vùng bảo tồn đại diện cho các chủng. Thí dụ, một khu vực được bảo tồn có chứa các gen giống như gen của sợi ngưng kết hồng cầu (FhaB) và protein phụ của nó (FhaC) của vi khuẩn ho gà.

2.3. Vỏ tế bào

Tế bào não mô cầu gồm có một lớp vỏ polysaccharide, tương tự như lậu cầu và các vi khuẩn Gram âm khác. Vỏ này có 3 lớp: lớp màng bên ngoài chứa các protein, lipooligosaccharide (LOSs) và phospholipid; lớp ở giữa mỏng nhưng cứng, chứa peptidoglycan; lớp bên trong là màng tế bào chất chứa enzym của

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chuỗi vận chuyển điện tử và phosphoryl oxy hoá. Vỏ tế bào đã từng được nghiên cứu kỹ về sinh bệnh học, phân loại, đáp ứng miễn dịch với mục đích sản xuất vắc xin. Nhiều thành phần nhô lên của vỏ tế bào, đặc biệt là các thành phần của màng ngoài, không chỉ cho thấy tính đa dạng về cấu trúc và kháng nguyên mà đã từng được khai thác về mục đích dịch tễ học trong việc phân loại các chủng phân lập từ lâm sàng.

2.4. Phân loại các chủng phân lập từ người bệnh

Với mục đích dịch tễ học, đã có vài hệ thống phân loại cho *N. meningitidis* được áp dụng. Sử dụng rộng rãi và thiết lập tốt nhất là phân chia các chủng dựa trên các kháng nguyên khác nhau có trong vỏ của chúng, PorB protein, PorA protein và LOSs thành nhóm huyết thanh (serogroups), type huyết thanh (serotypes), phân type huyết thanh (serosubtypes) và type miễn dịch (immunotypes) một cách tương ứng. Thí dụ: chủng serogroupe B serotype 4, serosubtype 15 và immunotype 10 được viết là B:4:P1.15:L10.

Cách phân loại khác cũng đã từng được sử dụng, dùng kỹ thuật điện di enzym đa vị trí (multilocus enzyme electrophoresis – MLEE) và định type trình tự đa vị trí (multilocus sequence typing – MLST). Sắp xếp theo hệ thống MLEE (electrotyping – ET) là dựa trên sự có mặt và chuyển động trong điện trường của các đồng phân của enzym tế bào mà chúng có trọng lượng phân tử khác nhau giữa các chủng não mô cầu. MLEE có khả năng phân chia nhỏ các chủng có liên quan đến khía cạnh di truyền của nhóm huyết thanh A thành các phân nhóm, nhóm huyết thanh B và C thành các phức hợp khác nhau. Sử dụng phương pháp này, người ta có thể phát hiện ra sự chuyển động của một hệ vô tính dòng (clone) nhất định (clone III–I) của não mô cầu nhóm huyết thanh A từ Trung Quốc sang Nepal trong năm 1983, từ Ấn Độ và Pakistan năm 1985, tới Mecca năm 1987 và thành vành đai não mô cầu khắp châu Phi và các phần khác trên toàn thế giới vào năm 1989. Thêm vào đó, sử dụng MLEE người ta có thể thiết lập "dân cư" não mô cầu có thay đổi khác nhau nhiều về mặt di truyền. Tuy nhiên, chỉ một ít dòng xuất hiện trong hầu hết bệnh não mô cầu. Thí dụ: các chủng thuộc dòng ET–5 và ET–37 chiếm ưu thế hơn các chủng gây bệnh nhóm huyết thanh B và C ở Anh và địa điểm du lịch của châu Âu. Tuy nhiên, các dòng trội hơn hẳn này đang thay đổi chậm chạp theo thời gian và có dấu hiệu bệnh xuất hiện tăng lên để trùng với sự thâm nhập của các dòng mới vào những cộng đồng đặc biệt.

Nhờ tiến bộ trong kỹ thuật giải trình tự ADN, nên phát triển và sự sắp xếp theo hệ thống MLST ít cồng kềnh hơn (Maiden và cộng sự, 1998). Trong hệ thống phân loại này, các mảnh tương đối nhỏ ADN từ 7 gen "giữ nhà" (house keeping gene) não mô cầu được khuếch đại bằng PCR và sau đó giải trình tự gen. Những gen này bao gồm: *abcZ, adk, aroE, fumC, gdh, pdhC* và *pgm*. Các gen này từ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhiều chủng não mô cầu khác nhau đại diện cho các dòng khác nhau được sắp cho thẳng hàng nhau để so sánh.

Thêm vào đó, hệ thống đánh dấu "vân tay" (fingerprinting) có giá trị phân loại cao. Các kỹ thuật điện di xung trường (Pulsed–field gel electrophoresis – PFGE), tính đa hình của các đoạn được cắt bằng enzym hạn chế (restriction fragment length polymorphism – RFLP), để phân loại đa hình của các mảnh cắt có đánh dấu huỳnh quang (fluourescent–labelled amplified fragment length polymorphism (fAFLP) và các phương pháp PCR cơ bản khác đã được sử dụng.

2.5. Polysaccharide vỏ: kháng nguyên nhóm

Vỏ polysaccharide của não mô cầu có một giai đoạn có thể thay đổi giống như các loài *Neisseria* không gây bệnh. Tính không đồng nhất về cấu trúc và tính kháng nguyên của polysaccharide vỏ đã được dùng để phân loại thành ít nhất 14 nhóm huyết thanh với tên là A, B, C, D, 29E, H, I, J, K, L, W,135, X, Y và Z. Nhóm huyết thanh A chứa mannosamine phosphate, trong khi đó nhóm huyết thanh B, C, Y và W135 chứa acid sialic – chất đóng vai trò quan trọng trong sự tồn tại và độc tính. Polysaccharide vỏ của não mô cầu nhóm huyết thanh B và C bao gồm một homopolymer của acid *N*–acetyl–neuraminic liên kết với α–2,8 và α–2,9. Sự khác nhau nhỏ trong cấu trúc dẫn đến các đặc tính miễn dịch khác nhau một cách rõ ràng: trong khi cấu trúc α–2,9 là kháng nguyên mạnh đối với cơ thể người và sinh ra kháng thể bảo vệ thì α–2,8 lại có tính kháng nguyên rất yếu.

Hiện nay, não mô cầu nhóm A rất ít gặp ở các nước phát triển, nhưng lại rất hay gặp ở châu Phi và một số nước châu Á, chúng thường gây thành dịch. Ở Anh, não mô cầu nhóm A đã từng gây dịch ở đầu XX, nhưng sau đó trở nên ít phổ biến và được thay thế bằng nhóm huyết thanh B (chiếm tới 70%) và nhóm C (20–30%). Từ khi vắc xin cộng hợp cho nhóm C (C–conjugate vaccines) được sử dụng trong chương trình tiêm chủng cho trẻ em, nhóm huyết thanh này dần dần trở nên không phổ biến ở Anh. Ở châu Âu và châu Mỹ, hiện nay nhóm B và C chiếm khoảng 85% các trường hợp, còn lại là nhóm huyết thanh Y và W135. Ở Trung Quốc đã từng báo cáo gặp nhóm huyết thanh H, I và K. Năm 1975, ở Na Uy, dưới 50% số chủng phân lập được là các chủng nhóm B, nhưng tới năm 1981 con số này lên tới 89,1% và giảm xuống còn 71,5% vào năm 1990; nhóm A chiếm 24% (năm 1975), nhưng hầu như biến mất năm 1990. Hiện nay não mô cầu nhóm B cũng chiếm ưu thế ở Trung và Nam Mỹ, miền Nam nước Úc và New Zealand.

Cùng với du lịch toàn cầu tăng lên, các chủng não mô cầu liên quan đến các vụ dịch cũng gieo rắc khắp toàn cầu. Các thí dụ điển hình là não mô cầu nhóm A và W135 gây dịch bệnh trên thế giới đã xuất hiện và liên quan đến cuộc hành hương Hajj ở cuối những năm 1980 và 1990. Những người hành hương bị nhiễm não mô cầu đã gây nên một số nhiễm trùng thứ phát ở các nước quê nhà của họ ở

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhiều nơi trên thế giới, như là châu Âu, Nam Mỹ và châu Á. Tương tự, sự lan truyền liên lục địa của một dòng đặc biệt trong nhóm B:15:P1.16 (dòng ET–5) đã gây ra dịch lớn cho Na Uy, Iceland, Đan Mạch, Hà Lan và Vương quốc Anh cũng như các nước vùng Nam Phi và Nam Mỹ.

2.6. Các protein PorB và PorA màng ngoài: các type huyết thanh (serotype) và phân type huyết thanh (serosubtype)

Màng ngoài não mô cầu chứa một số protein màng ngoài chính (OMPs): chức năng của PorB (tên trước kia là protein lớp 2/3) và PorA (protein lớp 1) như porin, cho phép chất dinh dưỡng đi vào. Giống như hầu hết các kháng nguyên bộc lộ trên bề mặt não mô cầu, độ lớn của kháng nguyên giữa các chủng là khác nhau, do đó có thể sử dụng chúng để phân loại não mô cầu thành các serotype và serosubtype. Các chủng *N. meningitidis* được phân chia thành trên 20 serotype và subtype khác nhau. Tuy nhiên, nhiều chủng phân lập không thể phân loại được là serotype và subtype nào bằng kháng thể đơn dòng hiện tại.

Cấu trúc kháng nguyên của serotype và serosubtype thay đổi *in vivo* một cách nhanh chóng trên một cá thể người và trong cộng đồng. Các vòng (mạch) có thể thay đổi trên bề mặt lộ diện của cả hai porins, có thể thay đổi về mặt kháng nguyên bằng cách thêm vào hoặc bớt đi amino–acid hoặc bằng cách truyền ngang các mảnh phụ của các gen đại diện. Sự thay đổi này làm cho việc phát triển vắc xin mới là hết sức khó khăn.

2.7. Lipooligosaccharide (Endotoxin)

Lipooligosaccharide (LOS) não mô cầu (còn gọi là endotoxin – nội độc tố) gồm một glycolipid màng ngoài nhưng khác với lipopolysaccharide (LPS) của *Enterobacteriaceae* vì thiếu các chuỗi O đặc trưng và hình thái "xù xì" (ráp) tương tự như vậy của LPS. Nó bao gồm 3 thành phần chính, tên là oligosaccharide nhân, lipid A kỵ nước (thành phần gây độc) và một chuỗi oligosaccharide nhánh có thể thay đổi (thành phần tạo miễn dịch). Chín gen glycosyltransferase (*lgt*) định vị ở 3 địa điểm trên nhiễm sắc thể đảm nhiệm việc sinh tổng hợp của các chuỗi oligosaccharide nhánh. Tính không đồng nhất về cấu trúc và tạo miễn dịch của các chuỗi oligosaccharide nhánh, một phần do cách thức có thể thay đổi khác nhau của 4 glycosyltransferase (*lgtA, lgtC, lgtD* và *lgtG*), đã được sử dụng để phân loại các chủng thành 12 type miễn dịch bằng cách dùng kháng thể đơn dòng. Type miễn dịch L1–L8 liên quan chi phối đầu tiên tới não mô cầu nhóm huyết thanh B và C, trong khi đó type miễn dịch L9–L12 liên quan đến các chủng não mô cầu nhóm A. Hai trong ba vị trí *lgt* não mô cầu (ngược với vị trí *lgt* cố định của lậu cầu) là khu vực của bộ gen có thể thay đổi nhanh. Gen truyền ngang của các *Neisseria* hoại sinh chi phối tính đa dạng về gen của vị trí *lgt*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3. DỊCH TỄ HỌC

Ở Anh, bệnh não mô cầu phải khai báo bắt buộc ngay từ năm 1912 đã giúp cho việc phát hiện mức độ tăng hay giảm của bệnh dịch. Đỉnh cao các trường hợp được báo cáo là xuất hiện trong thời kỳ chiến tranh thế giới I (vài nghìn trường hợp) và một sự kiện lớn hơn (trên 12.000 ca) xảy ra trong chiến tranh thế giới II. Hiện nay chúng ta đang trải qua một đợt dịch trên toàn thế giới với số trường hợp báo cáo tăng rõ rệt trong 2 thập kỷ qua. Sự xuất hiện các trường hợp này nhìn chung là không thể đoán trước được, nhưng đôi khi vẫn còn xuất hiện trong một vài vùng địa lý, đặc biệt trong thời gian bệnh hoạt động tăng. Tỷ lệ mắc phải ở các nước phát triển là 1 – 3 trường hợp trên 100.000 dân, trong khi các nước đang phát triển là 10 – 25 trường hợp.

Hằng năm, trên 310.000 người ở thế giới thứ ba bị bệnh não mô cầu, trong số đó, có 35.000 trường hợp tử vong. Hơn 300 triệu người sống ở các nước trong vùng dịch của thảo nguyên châu Phi (Savannah Africa), trải dài từ phía đông Ethiopia đến tây Gambia và từ phía bắc Sahara qua vùng rừng ẩm nhiệt đới của Trung Phi về phía nam nằm trong vùng dịch. Vùng dịch này đã từng được mô tả đầu tiên vào năm 1963 và bây giờ bao gồm 15 nước là Ethiopia, Sudan, Cộng hoà Trung Phi, Chad, Cameroon, Nigeria, Niger, Benin, Togo, Ghana, Burkina Faso, Mali, Guinea, Senegal và Gambia. Vào những năm 1988 – 1989, 80% các chủng não mô cầu phân lập được ở 15 nước thuộc châu Phi, và riêng trong năm 1989 có hơn một nửa các trường hợp được báo cáo là ở Ethiopia. Trong vùng dịch não mô cầu, tỷ lệ tấn công ở một vài nước cao tới 1000 ca trên 100.000 dân, trong khi đó ở các nước công nghiệp phát triển chỉ có 5 – 25 ca trên 100.000 dân (Rey, 1991). Ở nhiều khu vực, dịch não mô cầu xuất hiện có chu kỳ, với khoảng thời gian là từ 2 tới 25 năm (trung bình 12 năm). Các vụ dịch não mô cầu lớn cũng từng xuất hiện ở nhiều nước châu Á (như Pakistan, Trung Quốc), Trung và Nam Mỹ (như Cu Ba, Chi Lê và Brazil). Ở Cu Ba, tỷ lệ dịch tấn công tới 50 ca trên 100.000 dân.

Tỷ lệ tuổi đặc hiệu nhiễm não mô cầu ở Anh cho thấy tăng đột biến ở trẻ nhỏ xung quanh 3 tháng tuổi (trùng với thời gian kháng thể từ mẹ truyền cho giảm xuống), mà đỉnh cao ở 6 tháng tuổi (chiếm trên 50 ca trên 100.000 dân) và vẫn còn tỷ lệ cao ở 12 – 24 tháng tuổi (Jones, 1995). Tỷ lệ mắc bệnh giảm hẳn xuống 10 ca trên 100.000 ở 2 tuổi trở đi và tiếp tục giảm xuống 0,4 ca trên 100.000 dân ở tuổi 17 – 18.

Người lành mang mầm bệnh là nguồn lây bệnh cho người, nơi cư trú tự nhiên của não mô cầu là họng mũi. Mặc dù bệnh thay đổi theo mùa rất ít, nhưng độ ẩm và nhiệt độ dường như có ảnh hưởng rõ rệt lên bệnh não mô cầu xâm lấn và tác động đến tỷ lệ người lành mang mầm bệnh. Điều này dẫn đến tỷ lệ tấn công cao nhất của bệnh não mô cầu ở châu Âu và Hoa Kỳ vào năm đầu tiên của cuộc đời, trong khi đó tỷ lệ mang cao nhất được tìm thấy ở thanh thiếu niên. Trong khi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khó khăn trong việc dự đoán đúng tỷ lệ mang trong các nhóm tuổi khác nhau tại cộng đồng, nó cũng cho thấy rằng có một số yếu tố liên quan đến vi khuẩn, vật chủ và môi trường. Một vài nhóm huyết thanh của *N. meningitidis* như là 29E, được coi như là tác nhân ít gây bệnh và được phân lập từ những người lành mang trùng, trong khi đó nhóm huyết thanh A, B và C chiếm tới 90% các nhiễm trùng não mô cầu xâm lấn trên toàn thế giới. Nhìn chung người lành mang trùng ở lứa tuổi 20 – 30 và thường thấy nhiều ở nhóm hút thuốc lá hơn nhóm không hút thuốc. Tình trạng miễn dịch của cơ thể, thay đổi trong quần thể (vi khuẩn chí) vi sinh ở vùng mũi–hầu–họng và các nhiễm trùng virus đường hô hấp trên cũng ảnh hưởng tới người lành mang trùng. Nhiễm virus, đặc biệt là nhiễm cúm nhóm A, làm tăng người mang não mô cầu trở thành người mắc bệnh xâm lấn. Tỷ lệ người lành mang trùng thường cao hơn trong các thành viên trong gia đình và liên quan mật thiết với bệnh nhân và trong cộng đồng chật hẹp với tình trạng đông dân cư, như là trại huấn luyện tân binh, nhà tù và trường học v.v... Tỷ lệ người lành mang vi khuẩn chiếm khoảng 5 – 15%, tuy nhiên tỷ lệ này có thể dao động và có mức độ cao hơn ở một số cộng đồng nhất định.

Tỷ lệ người lành mang trùng thấp (< 3%) ở trẻ dưới 4 tuổi, nhưng có thể tăng lên gấp 10 lần ở thanh thiếu niên và tuổi trưởng thành và những nơi đông người như doanh trại quân đội.

Bệnh nhân bị bệnh có thể mang vi khuẩn nhiều ngày hoặc nhiều tuần trước khi bị ốm. Người lành mang chủng não mô cầu đặc biệt không nhất thiết chống lại sự xâm nhập hay cố định với các chủng tương ứng hay khác loại. Nghiên cứu ở Nottingham, có một sinh viên trở thành bị nhiễm não mô cầu sau khi mang vi khuẩn cùng chủng trên 7 tuần.

4. SINH BỆNH HỌC

Sinh bệnh học của bệnh não mô cầu bắt đầu với sự lan truyền vi khuẩn từ họng mũi của một cá thể sang người khác mà người ta tin rằng sự kiện này là do tiếp xúc trực tiếp về sinh lý hoặc qua các hạt nhỏ từ đường hô hấp (người cách người khoảng 1 mét). Sự tiếp xúc gần gũi với bệnh nhân làm tăng một cách mạnh mẽ nguy cơ lan rộng của bệnh (thông thường trong vòng ít ngày) với cùng một chủng. Một số nhỏ dòng não mô cầu gây bệnh (thỉnh thoảng được coi là chủng rất độc) như là ET–5 (ST–32) và ET–37 (ST–11) là nguyên nhân của hầu hết các trường hợp bệnh. Khoảng 90% số chủng phân lập từ người lành mang trùng là không có liên quan tới bệnh tật và được coi là các chủng không gây bệnh (Bevanger và cộng sự, 1998). Vì vậy, trong đa số các trường hợp, một chủng não mô cầu mới thường cố định trên màng nhày mũi họng mà không có triệu chứng bệnh lâm sàng. Như vậy có một sự thống nhất cao, coi não mô cầu như là vi khuẩn sống hoại sinh ở đường hô hấp mà rất ít khi gây nên bất cứ phản ứng có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hại cho vật chủ. Sự phát hiện ra não mô cầu trong các lớp biểu mô trong mũi họng của người khoẻ mạnh mang trùng gợi ý rằng sự thâm nhiễm tế bào dẫn đến não mô cầu có thể cư trú trong tế bào và có thể đó là một cơ chế tồn tại thành công của vi khuẩn. Vì thế, bệnh tật có thể được coi là một "sự cố" hiếm hoi dẫn đến từ quá trình này. Xâm nhập tạm thời vào máu hầu như chắc chắn là khá thông thường nhưng nó không được nhận ra trong hầu hết các trường hợp vì hệ thống miễn dịch bình thường của vật chủ có thể làm sạch vãng khuẩn huyết ở mức độ thấp. Đôi khi, nếu vi khuẩn tồn tại và nhân lên trong dòng máu dẫn đến vãng khuẩn huyết không kiểm soát được, chúng có thể trở thành nhiễm khuẩn huyết hoặc đi đến tấn công thâm nhiễm tế bào biểu mô màng não và kết quả là viêm màng não mủ. Não mô cầu có ái lực cao với màng não. Các nhiễm trùng lan toả ở các vị trí khác ít khi so sánh được. Các yếu tố ảnh hưởng tới khả năng gây bệnh bao gồm vỏ polysaccharide, pili type IV, OMPs như là Opa và OpcA và protein tiết như globulin miễn dịch A1 (IgA1) protease.

4.1. Vỏ polysaccharide

Khả năng biểu lộ một vỏ polysaccharide (tương tự các vi khuẩn thường cố định ở mũi họng như *H. influenzae* và *S. pneumoniae*) đóng vai trò quan trọng trong lan truyền não mô cầu. Vỏ bảo vệ vi khuẩn, làm cho vi khuẩn giảm khô trong quá trình hô hấp. Vỏ là một yếu tố độc lực thiết yếu, bảo vệ vi khuẩn chống lại sự thực bào và bổ thể trung gian tiêu diệt sau khi xâm nhập (Klein và cộng sự, 1996).

4.2. Type IV pili

Tương tự như các vi khuẩn Gram âm khác, não mô cầu có pili type IV thec từng giai đoạn phát triển và có tính kháng nguyên thay đổi. Pili type IV có cấu trúc sợi nhỏ, dài như sợi chỉ, đường kính 6 nm, nhô ra bề mặt tế bào. Pili đòi hỏi ít nhất 22 protein cho sinh tổng hợp và chức năng của nó. Cấu trúc của pili bao gồm các đơn vị lặp lại của protein PilE 18–22 kDa mà có thể thay đổi vị trí sau khi glycosyl hóa. Một polypeptide 110 kDa, PilC được định vị ở đầu của pili hoạt động như một chất gắn kết. PilC được điều chỉnh lại bằng các phản ứng ban đầu với tế bào vật chủ và là chất thiết yếu cho việc bám dính.

Thêm vào sự bám dính, pili type IV là yếu tố quan trọng cho các tính trạng khác như ngưng kết vi khuẩn, di động đứt quãng và biến đổi ADN. Pili cũng có thể làm tăng độc tố với tế bào vật chủ qua LOS trung gian và dẫn đến hình thành mảng vỏ.

4.3. Opa và OpcA

Sau khi sự bám dính qua trung gian pili bắt đầu, sự tương tác của não mô cầu với các tế bào biểu mô được bắt đầu ngay lập tức qua lớp chắn OMPs như là

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Opa và OpcA. Sự điều chỉnh lại việc bộc lộ vỏ và sự cắt bỏ sialic acid từ LOS đã được Opa và OpcA tương tác với các phân tử tế bào vật chủ. Opa thuộc dòng các protein cơ bản, hình thái có thể khác nhau với khối lượng phân tử khoảng 28 kDa, mỗi một protein này được mã hóa một bởi một gen *opa* riêng biệt. Não mô cầu thường có 4 hoặc 5 vị trí Opa.

Các protein OpcA (tên ban đầu là Opc) là nhóm OMPs khác, mặc dù tương tự một cách đặc biệt như protein Opa về độ lớn và đặc tính lý hoá nhưng chỉ có 22% đồng nhất với protein này (Olyhoek và CS, 1991). Sự điều chỉnh việc sao chép (có khả năng thay đổi hình thái) dẫn đến không biểu lộ, biểu lộ trung gian hoặc biểu lộ ở mức độ cao. OpcA xúc tiến sự bám dính của não mô cầu không có pili với các tế bào biểu mô đi qua proteoglycans sulphate trên bề mặt tế bào (de Vries và CS, 1998). OpcA cũng làm cho thuận tiện việc bám dính và xâm nhập vào các tế bào nội mô thông qua việc gắn của vitronectin. Sự tương tác OpcA–vitronectin cho phép não mô cầu tấn công vào toàn bộ $\alpha_v\beta_3$ trên đỉnh bề mặt của các tế bào nội mô.

4.4. IgA1 Protease và các protein chuyên chở tự động khác

Não mô cầu tiết ra một protease đi qua đường chuyên chở tự động mà được chứng minh là để chia tách IgA1 (chứ không phải là IgA2) ở khu vực khớp nối. Như vậy, về mặt chức năng, nó tạo ra các mảnh Fab có gắn kháng nguyên yếu. Sự chia tách này là không nhất định, nhưng các mảnh Fab bao quanh bề mặt có thể làm tăng khả năng đề kháng của vi khuẩn với các hoạt động diệt khuẩn của kháng thể IgG và IgM. Lamp1 – một glycoprotein màng chủ yếu của lysosome cũng được chia tách bởi IgA1 protease. Sự tăng lên của calci tự do trong tế bào đã được chỉ ra là nguyên nhân gây nên tăng lysosome ngoại bào.

4.5. Vai trò của Endotoxin

Nửa lipid A của endotoxin được cho là yếu tố gây tiền sốc nhiễm trùng, hủy hoại tổ chức, suy chức năng đa phủ tạng thông qua kích thích sự phóng thích chất trung gian gây viêm, gồm có TNF–α và một loạt các interleukin và cytokin khác. Thêm vào đó, endotoxin của não mô cầu còn khởi động (trigger) một loạt hệ thống như đông huyết tương, ly giải fibrinogen, bổ thể và kallikrein–kinin. Mặc dù liên kết chặt chẽ với màng, nhưng nó được tạo ra khi vi khuẩn đang sống và tích tụ ở túi màng ngoài (blebs) – cũng chứa OMPs. Túi này xuất hiện cả *in vitro* (trong canh thang nuôi cấy) lẫn *in vivo*. Mức độ endotoxin liên quan tới việc mức độ nguy kịch của bệnh và với nồng độ rất cao (> 700 ng/L) cũng liên quan tới sốc do nhiễm trùng huyết cấp tính, đông máu nội mạc rải rác (DIC) và tỷ lệ tử vong cao.

4.6. Bệnh lý đông máu

Bệnh lý đông máu là điểm đặc trưng của nhiễm khuẩn huyết do não mô cầu và được biết là thời gian tiền đông máu và đông máu bị kéo dài; giảm tiểu cầu,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

fibrinogen huyết tương, plasminogen và α–2–antiplasmin; tăng các sản phẩm giáng hoá fibrin, fibrinopeptide A và hoạt hoá plasminogen inhibitor–I; giảm chức năng của yếu tố V, antithrombin III, protein C, protein S và ức chế con đường tác động từ ngoài vào. Sự dữ dội của bệnh cũng được dự đoán là do tăng rõ rệt của phản ứng miễn dịch hoạt hoá plasminogen inhibitor–I và khi vượt quá 1850 µg/L thì hầu hết dẫn tới tử vong. Tiêu fibrin được hoạt hoá trong thời kỳ đầu của bệnh dẫn đến hình thành đông máu vi mạch trong các tổ chức khác nhau của cơ thể, kể cả da và tuyến thượng thận.

Các thành phần bổ thể được thiết lập sau đó là cần thiết cho sự sống để chống lại bệnh não mô cầu lan toả. Cả hai con đường cổ điển và chọn lọc đều quan trọng trong sự bảo vệ các tổ chức của cơ thể. Sự thiếu hụt bổ thể, bao gồm C2, C3, C4b, C5–9 và properdin, là nguy cơ cao cho sự phát triển của bệnh não mô cầu và có thể làm cho bệnh nặng hơn.

Trong trường hợp số nhiễm khuẩn nặng, con đường chọn lọc dường như chiếm ưu thế hơn con đường cổ điển. Mặc dù sự ly giải vi khuẩn qua trung gian bổ thể là cơ chế chống lại vi khuẩn có hiệu quả, người ta tin rằng có vài hiệu quả gián tiếp bất lợi thông qua việc phóng thích ra độc tố quá mẫn của C3a, C4a và C5a và/ hoặc giải phóng ra endotoxin có thể cho phép tấn công các phức hợp màng.

5. BIỂU HIỆN LÂM SÀNG

Não mô cầu có thể gây nên các hội chứng lâm sàng khác nhau, có thể từ viêm họng tạm thời đến viêm màng não mủ hoặc nhiễm trùng huyết do não mô cầu mà có thể dẫn đến tử vong trong vòng vài giờ sau khi các hội chứng xuất hiện. Vãng khuẩn huyết có hoặc không có nhiễm trùng, nhiễm trùng huyết do não mô cầu có hoặc không có viêm màng não, viêm não – màng não, viêm màng não do não mô cầu mạn tính, viêm phổi, nhiễm trùng khớp, viêm màng ngoài tim, viêm cơ tim, viêm màng trong tim, viêm kết mạc, nhiễm trùng đường sinh dục – tiết niệu, nhiễm trùng khung chậu, viêm phúc mạc và viêm đại tràng ... là tất cả những bệnh do não mô cầu gây nên. Viêm màng não và/hoặc nhiễm khuẩn huyết là tình trạng hay gặp nhất.

5.1. Nhiễm não mô cầu tạm thời

Bệnh giả cúm thể nhẹ, có nuôi cấy (+) có thể biểu hiện với các hội chứng không đặc hiệu như là tăng nhiệt độ, đau khớp có hoặc không có ban và có thể kéo dài từ vài ngày đến vài tuần. Vãng khuẩn huyết nhẹ như vậy có thể giải quyết hoàn toàn mà không cần điều trị hoặc tiến triển thành bệnh cấp tính nặng hoặc trở thành nhiễm não mô cầu mạn tính.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.2. Nhiễm trùng huyết não mô cầu có hoặc không có viêm màng não

Bệnh do não mô cầu cấp tính có thể bắt đầu xuất hiện với một loạt những biểu hiện không đặc hiệu mà chúng thường phối hợp với nhau và đó có thể là manh mối cho chẩn đoán. Các biểu hiện này có thể là nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não hoặc cả hai. Sự biểu hiện nhiễm khuẩn huyết do não mô cầu nặng ít gặp nhưng hay tử vong hơn viêm màng não.

Phần lớn các trường hợp bệnh xuất hiện ở trẻ nhỏ với các triệu chứng như sốt với có hoặc không có nôn, sợ ánh sáng, co giật, phát ban, hôn mê, dễ kích động, lơ mơ, chán ăn, rối loạn tiêu hoá và một số dấu hiệu hoặc hội chứng cục bộ khác. Ở trẻ lớn và người trưởng thành còn có thêm đau đầu, bồn chồn, đau cơ và viêm khớp. Đôi khi gặp các trường hợp đau bụng cấp tính có thể là hình ảnh dễ nhận thấy. Sự tấn công này có thể đến trước bởi các hội chứng nhiễm trùng đường hô hấp trên giả virus báo trước. Trên lâm sàng, bệnh nhân thường bất an với thân nhiệt thường cao đến 41°C.

Nhiễm trùng huyết do não mô cầu thường liên quan tới đặc tính ban đỏ do não mô cầu. Các tổn thương này, khi có mặt, có thể là ban đỏ trên da, sần, đốm xuất huyết hoặc hoại tử tự nhiên và có thể xuất hiện bất cứ ở đâu trên cơ thể, bao gồm toàn thân, tứ chi, các vị trí động mạch, lòng bàn tay, lòng bàn chân, mặt, vòm miệng và màng tiếp hợp. Các tổn thương liền kề có thể kết hợp thành một nhóm và hình thành một mảng xuất huyết, đốm xuất huyết, nốt phỏng xuất huyết hoặc thậm chí da bị hoại tử và các tổn thương phần mềm. Trong trường hợp nặng, đông máu nội mạch lan toả (DIC) với sự co mạch ngoại vi mạnh mẽ có thể dẫn đến hoại tử vùng ngoại biên như ngón tay, ngón chân hoặc thận chí toàn thể các chi.

Trong trường hợp nặng, bệnh nhân có sốc nhiễm trùng với mạch nhanh, suy yếu dần dần, tăng nhịp thở, giảm oxy huyết, tím tái, nhiễm toan, rối loạn điện giải, nồng độ lactat huyết tương tăng cao, tiến tới thiểu năng tuần hoàn, có thiểu niệu hoặc thậm chí bí tiểu. Sự suy sụp chức năng trung ương tiến triển dẫn đến rối loạn ý thức và có thể dẫn đến tình trạng hôn mê. Các dấu hiệu tiên lượng nguy hiểm bao gồm các tổn thương da hoại tử kéo dài và nhanh chóng, sốc, thiểu năng chức năng nhiều cơ quan nội tạng, mất ý thức và đông máu nội mạch lan toả.

Suy hô hấp ở các mức độ khác nhau và hội chứng thở đứt quãng cấp tính được thấy ở hầu hết các bệnh nhân sốc nhiễm trùng não mô cầu. Chúng được gây ra bởi các yếu tố khác nhau, gồm có phù phổi cấp do hội chứng thoát mao mạch, tắc mạch phổi do đông máu nội quản lan toả và co mạch giải phóng ra bạch cầu trung tính. Thiểu niệu hoặc suy thận xuất hiện trong các trường hợp nặng do ít nước tiểu được tiết ra và chức năng thận bị phá huỷ. Trong các trường hợp sốc kéo dài, hoại tử tủy sống và vỏ não có thể gây nên suy thận không thể cưỡng lại được.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.3. Viêm màng não

Các dấu hiệu và hội chứng của viêm màng não do não mô cầu gồm các dấu hiệu và hội chứng toàn thân (không đặc hiệu) và tại chỗ (đặc hiệu). Bệnh nhân thường có dấu hiệu báo trước, như những các dấu hiệu về thần kinh như co giật, rối loạn ý thức và hôn mê. Tuỳ thuộc vào tình trạng miễn dịch, các dấu hiệu tại chỗ có thể xuất hiện sớm hay muộn. Ở người trẻ và khoẻ mạnh, các dấu hiệu kích thích màng não thường sớm xuất hiện, trừ khi các ban đỏ xuất hiện đồng thời (chiếm 50% số các trường hợp) mà không có kèm triệu chứng viêm màng não do não mô cầu. Hầu hết các bệnh nhân, nhưng không phải tất cả, có các dấu hiệu kích thích màng não rõ ràng. Trong đó, cổ cứng là một dấu hiệu quan trọng nhất. tuy nhiên nó chỉ có ở gần một nửa số bệnh nhân. Ở trẻ em, dấu hiệu cổ cứng là khó xác định, nhưng khi trẻ nằm nghiêng về phía trái thì có thể quan sát được dấu hiệu này. Thóp phồng do tăng áp lực nội sọ, kích thích và vật vã, nằm quay mặt về chỗ tối (chứng sợ ánh sáng) là những dấu hiệu kèm theo. Dấu hiệu Kernig (+), bất lực co duỗi đầu gối khi bị co gập ở trạng thái nằm ngửa. Khi thử nâng cổ bằng động tác đột ngột, bệnh nhân trong tư thế đang ngồi với chân duỗi thẳng sẽ kích thích phản xạ co cho cả hai mông và đầu gối (dấu hiệu Brudzinski).

5.4. Các hình ảnh khác

Viêm khớp do nhiễm trùng não mô cầu cấp hoặc mạn tính là hay gặp và có thể làm phức tạp thêm cho các bệnh do nhiễm não mô cầu cấp tính. Nó thường ảnh hưởng đến một hoặc nhiều khớp và nhiều biểu hiện ở bất cứ giai đoạn nào của bệnh. Đôi khi viêm khớp làm bệnh nhân phàn nàn là hầu hết xuất hiện ở các khớp lớn như đầu gối hoặc hông. Não mô cầu có thể nhìn thấy khi nhuộm Gram và nuôi cấy phân lập từ các chất hút dịch khớp. Phản ứng miễn dịch trong viêm khớp (hay viêm màng ngoài tim) cũng có thể xuất hiện điển hình sau bị bệnh 3 – 5 ngày.

Nhiễm khuẩn đường hô hấp như viêm tai giữa, viêm hầu – họng, viêm thanh quản và viêm phổi có thể xuất hiện như là một phần của bệnh não mô cầu lan toả hoặc như là nhiễm trùng nguyên phát. Viêm phổi nguyên phát điển hình do não mô cầu type Y, đặc biệt hay gặp ở người lớn tuổi. Cấy máu và đờm có thể tìm thấy vi khuẩn; cấy chất dịch hầu họng dương tính có thể dẫn đến nhận định sai về bệnh và vì vậy, không được khuyến khích. Thêm vào đó phân lập não mô cầu từ nuôi cấy đờm dễ bị lầm với các *Neisseria* hoại sinh khác ở đường hô hấp.

Não mô cầu còn tấn công các cơ quan khác như là một phần của nhiễm trùng huyết hoặc như một nhiễm khuẩn tổ chức nguyên thủy. Các bệnh này bao gồm viêm màng ngoài tim, viêm cơ tim và viêm nội tâm mạc. Viêm cơ tim cấp tính có ở trong hầu hết các trường hợp nhiễm khuẩn huyết. Cũng như vậy, viêm niệu đạo và viêm tuyến thượng thận ở phụ nữ hoạt động tình dục mạnh và viêm đại tràng trong hoạt động đồng tính cũng có thể xuất hiện.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.5. Bệnh não mô cầu mạn tính

Cuối cùng, bệnh não mô cầu mạn tính ít thấy nhưng tồn tại kéo dài trên lâm sàng với sốt cao không liên tục, đau khớp, nhức đầu có hoặc không có tổn thương da và thường thấy ở người lớn hơn là trẻ em. Tình trạng này có thể kéo dài hàng tháng và gây nên các kiểu đau đớn khác nhau. Cũng có thể phân lập được vi khuẩn từ máu ngay ở những tuần đầu xuất hiện.

6. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

6.1. Bệnh phẩm

Dịch não tủy

Bác sĩ lâm sàng ngay lập tức tiến hành chọc dò tuỷ sống nếu có bất cứ dấu hiệu và hội chứng nào gợi ý là viêm màng não. Tuy nhiên, quy trình này không bắt buộc tuyệt đối cho tất cả các bệnh nhân bị bệnh não mô cầu, và cần phải cân nhắc giữa yếu tố nguy cơ và lợi ích của nó. Trong trường hợp tăng áp lực nội sọ, chọc dịch não tuỷ ở thắt lưng liên quan đến tử vong do thoát vị não và do đó không nên tiến hành. Trường hợp tăng nhẹ áp lực nội sọ, hầu như có ở tất cả các bệnh nhân viêm màng não do não mô cầu, không có chống chỉ định chọc dịch não tủy. Khi lâm sàng đã rõ ràng thì không cần thử chọc dịch não tủy. Việc tăng áp lực nội sọ rõ rệt, thì sự thoát vị não có thể xuất hiện sau đó (24 – 48h). Do vậy các dấu hiệu tăng áp lực nội sọ cấp tính và thoát vị não phải được xem xét khi ý thức bệnh nhân trở nên xấu hơn, co thắt tim, áp lực máu bất thường, hô hấp bất thường, liệt thần kinh sọ (đặc biệt dây thần kinh III và XI) và thay đổi trương lực cơ hoặc các bất thường khác về thần kinh. Chụp CT xác định việc tăng áp lực nội sọ để chọc dịch não tủy vẫn còn tranh cãi. Thoát vị não là bất thường và có thể không xuất hiện trên CT–Scan; khám lâm sàng cẩn thận có thể dễ phát hiện ra tăng áp lực nội sọ. Chọc dịch não tủy cũng nên tránh trong trường hợp sốc nhiễm trùng, vì điều này sẽ làm trầm trọng hơn tình trạng suy tuần hoàn và điều quan trọng phải nhớ rằng trong các trường hợp nhiễm trùng huyết do não mô cầu mà không có dấu hiệu viêm màng não, việc kiểm tra dịch não tủy có thể không phát hiện bất cứ bất thường nào về tế bào hoặc sinh hoá.

Trong viêm màng não, dựa vào số lượng bạch cầu và vi khuẩn trong đó, dịch não tủy có thể vẫn trong hoặc trở nên vẩn đục. Hai trăm bạch cầu trên mm^3 (0,2 x 10^9 tế bào/lít) có thể là cho dịch não tuỷ đục. Số lượng bạch cầu (chủ yếu là bạch cầu đa nhân) có thể tới 10.000 /mm^3. Nồng độ protein tăng cao, thậm chí lên tới 10 g/L và glucose giảm xuống dưới 40% so với glucose huyết tương hoặc thậm chí có thể không phát hiện thấy. Lactate dehydrogenase và neuraminidase cũng có thể phát hiện thấy trong dịch não tủy của bệnh nhân viêm màng não do não mô cầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Soi trực tiếp cặn dịch não tuỷ thường cung cấp cho hình ảnh chẩn đoán xác định đầu tiên mà có thể hướng dẫn cho việc lựa chọn kháng sinh trong điều trị. Nhuộm Gram có thể phát hiện ra song cầu Gram âm trong hơn 2/3 số trường hợp viêm màng não do não mô cầu, với điều kiện là các bệnh nhân chưa dùng kháng sinh trước khi chọc dịch não tủy. Song cầu được thấy cả ở trong và ngoài tế bào mủ. Việc biết nhóm huyết thanh nhanh của vi khuẩn gây bệnh giúp cho việc quản lý sự tiếp xúc các trường hợp bị cách ly. Có thể dùng cặn dịch não tủy để làm phản ứng ngưng kết (latex) với kháng thể kháng polysaccharide vỏ.

Phát hiện vi khuẩn từ dịch não tủy vẫn là cách tốt nhất cho mục đích chẩn đoán. Vi khuẩn có thể phân lập được trong các trường hợp nhiễm trùng huyết mà không có dấu hiệu viêm màng não, các thông số dịch não tủy có thể là bình thường.

Máu

Cấy máu có thể phát hiện ra tới 60% các trường hợp nếu chưa được dùng kháng sinh. Tỷ lệ này bị giảm xuống rõ rệt sau khi điều trị liều penicillin đầu tiên. *Neisseria meningitidis* có thể mọc trong hệ thống nuôi cấy với canh thang thường mà không nhìn thấy đục. Vì vậy, tất cả các bệnh nhân gợi ý là có viêm màng não thì phải cấy chuyển từ canh thang sang môi trường đặc (thông thường sau 12 – 18 h); nếu âm tính, phải làm lại sau 48 giờ.

Bệnh phẩm ngoáy họng và dịch mũi – hầu

Nuôi cấy chất ngoáy họng và dịch mũi – hầu cũng có thể phát hiện được vi khuẩn ở trên một nửa các trường hợp. Nó hỗ trợ cho chẩn đoán nhưng không thật cần thiết. Với việc tăng sử dụng kháng sinh trước khi nhập viện, các bệnh phẩm này có thể là nguồn duy nhất để phân lập. Vì vậy, nó rất quan trọng giúp cho những bác sĩ phòng khám để phát hiện nhanh ra bệnh, bất chấp penicillin đã được sử dụng trước. Các bệnh phẩm này phải được chuyển đến phòng xét nghiệm càng sớm càng tốt để có cơ hội tối đa phát hiện ra vi khuẩn.

Tổn thương da

Trên các tổn thương ngoài da cũng có thể phát hiện ra vi khuẩn gây bệnh. Các tổn thương xuất huyết dưới da có thể lấy bệnh phẩm bằng cách tiêm vào đó một lượng nhỏ nước muối sinh lý vô trùng rồi hút ra ngay và cấy vào môi trường lỏng. Sinh thiết da, dùng để nhuộm Gram và nuôi cấy ngay lập tức, cũng là một lựa chọn tốt. Ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết do não mô cầu, vi khuẩn có thể phát hiện từ sinh thiết da thậm chí sau khi sử dụng kháng sinh (van Deuren và cộng sự, 1993).

6.2. Phân lập *N. meningitidis*

Không cần nỗ lực quá để phân lập vi khuẩn gây bệnh, nên tiến hành trước khi sử dụng kháng sinh. Phát hiện và nhận dạng vi khuẩn là quan trọng cho lâm sàng và dịch tễ. Phân lập được vi khuẩn sẽ xác định chẩn đoán, ảnh hưởng tới

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

việc lựa chọn kháng sinh, cung cấp các thông tin dịch tễ. Não mô cầu có thể phân lập từ một số nguồn bệnh phẩm có thể như dịch não tủy, máu, chất ngoáy họng và mũi – hầu, các tổn thương ngoài da, dịch khớp, dịch mắt hoặc bất cứ dịch cơ thể khác hay các bệnh phẩm của tổ chức.

6.3. Định danh

Các chủng phân lập phải được định danh tới loài ở các phòng xét nghiệm tuyến tỉnh và được phân loại sâu hơn ở các phòng xét nghiệm chuẩn thức. Não mô cầu phải được phân biệt với các chủng song cầu Gram âm có oxidase dương khác bằng cách sử dụng các thử nghiệm sinh hoá và miễn dịch. Thử nghiệm sử dụng carbohydrate nhanh, mặc dù ở mức độ rộng rãi đã thay thế cho các thử nghiệm thông thường ở nhiều nước, đã giúp nhận dạng nhanh và đáng tin cậy. Trong thử nghiệm này, một lượng lớn vi khuẩn được trộn trong canh thang chứa các đường riêng biệt: não mô cầu sẽ phân hủy đường glucose và maltose (nhưng không phân hủy đường lactose và sucrose) trong vòng 1 giờ. Hoạt động của γ–Glutamyl aminopeptidease có thể phát hiện được trong các thử nghiệm nhanh như là Gonocheck–II (EY Laboratories, Inc., San Mateo, California, USA) khi cho não mô cầu vào, phản ứng có màu vàng. Các chủng nuôi cấy từ mũi hầu, họng, màng kết mạc, hậu môn và các vị trí khác nơi mà lậu cầu và các *Neisseria* đường hô hấp cũng có thể có mặt thì cần phải nhận dạng cẩn thận.

Định nhóm huyết thanh (serogroup) của vi khuẩn bằng cách ngưng kết hạt latex, đồng ngưng kết hoặc miễn dịch điện di đối lưu.

Điều quan trọng cần nhớ rằng, luôn có nguy cơ tiềm tàng mắc phải não mô cầu thông qua các thao tác với vi khuẩn sống trong khi tiến hành các thử nghiệm sinh hoá hoặc làm kháng sinh đồ. Vì thế, bất kỳ lúc nào, làm việc với chủng não mô cầu sống đều phải tiến hành trong buồng an toàn sinh học cấp I.

6.4. Phát hiện kháng nguyên não mô cầu, kháng thể và ADN

Trong các nuôi cấy dịch não tủy âm tính, chẩn đoán có thể hữu ích khi phát hiện nồng độ rất thấp kháng nguyên não mô cầu bằng các kỹ thuật miễn dịch và sinh hoá khác nhau. Sử dụng kháng thể đặc hiệu thì các kháng nguyên polysaccharide vỏ của nhóm A, C, W135 và Y có thể nhận ra một cách đáng tin cậy trong dịch não tủy của trên 75% các trường hợp. Thử nghiệm này không sử dụng được cho nhóm B do tính sinh miễn dịch của vỏ yếu và nó phản ứng chéo với vỏ của *E. coli* serotype K1 (hay gây viêm màng não ở trẻ nhỏ).

Hiệu giá kháng thể đặc hiệu kháng não mô cầu cao trong một mẫu huyết thanh đơn, hoặc sự gia tăng hiệu giá kháng thể trong mẫu huyết thanh kép cũng có thể xác nhận các trường hợp bị nghi ngờ khi các phương pháp khác âm tính.

ADN não mô cầu có thể phát hiện trong dịch não tủy và máu toàn phần (chống đông bằng EDTA) trong giai đoạn cấp của bệnh, thậm chí sau khi bắt đầu

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

sử dụng kháng sinh. Thử nghiệm PCR chẩn đoán bây giờ được sử dụng nhiều hơn ở các phòng xét nghiệm chuẩn thức ở hầu hết các nước phát triển. Trong trường hợp có mặt vi khuẩn, PCR cũng có thể sử dụng để xác định nhóm vỏ, PorB và PorA của vi khuẩn gây nhiễm.

7. ĐIỀU TRỊ

7.1. Hoá trị liệu

Việc chọn lựa kháng sinh khác nhau trong điều trị dựa trên một số yếu tố có liên quan với nhau, bao gồm bệnh nhân, vi khuẩn, dược động học của các kháng sinh (khả năng thấm vào nước não tủy), môi trường xung quanh, số liệu dịch tễ, khả năng chi trả và điều kiện thuận lợi của bệnh viện. Cách tiếp cận chuẩn là điều trị theo kinh nghiệm với những kháng sinh có phổ bao phủ hầu hết các vi khuẩn có khả năng gây bệnh, đặc biệt trong viêm màng não, cho đến khi chẩn đoán được xác định, rồi chuyển sang penicillin.

7.2. Điều trị bằng kháng sinh đặc hiệu

Penicillin vẫn là thuốc chọn lựa đầu tay và có hiệu quả cao đối với các chủng nhạy cảm với penicillin. Sự xâm nhập của thuốc vào dịch não tuỷ là kém khi hàng rào máu – não bị viêm; tuy nhiên, khi đưa một liều penicillin cao và thường xuyên thì vẫn là cách điều trị tốt. Trẻ đẻ non và trẻ sơ sinh được tiêm tới 100 mg/kg cân nặng hằng ngày – chia 2 lần, trẻ 1 – 4 tuần tuổi là 150 mg/kg hằng ngày – chia 3 lần, trẻ 1 tháng tuổi đến 12 tuổi là 180 – 300 mg/kg hằng ngày – chia 4 – 6 lần và người lớn là 2,4 g cứ 4 giờ tiêm 1 lần.

Não mô cầu thường nhạy cảm cao với benzylpenicillin (MIC 0,003 – 0,06 mg/L). Các chủng có MIC ở giữa 0,12 và 1,0 mg/L được coi là giảm nhạy cảm, mặc dù nhiều trường hợp vẫn còn đáp ứng với những liều điều trị khi tiêm penicillin vào tĩnh mạch. Não mô cầu cũng nhạy cảm cao với nhiều dẫn xuất penicillin khác như là ampicillin, amoxycillin (MIC < 0,06 mg/L), nhưng không phải là tất cả. Phenoxymethylpenicillin (penicillin V) không có hiệu quả cao (MIC: 0,25 mg/L) và não mô cầu kháng cao với các penicillin kháng penicillinase như là methicillin (MIC: ≥ 6,0 mg/L).

Trong trường hợp dị ứng hoặc vi khuẩn không nhạy cảm với penicillin thì điều trị bằng cephalosporin, trừ khi tiền sử có phản ứng quá mẫn. Chloramphenicol một kháng sinh diệt khuẩn với não mô cầu và có nồng độ cao trong dịch não tủy, là thuốc có thể thay thế cho penicillin ở các nước nghèo. Liều lượng là 100 mg/kg/ngày (tối đa 4 g/ngày) hoặc một liều đơn chloramphenicol có tác dụng lâu dài bằng cách hoà trong dầu. Bằng cách này nó không có tác dụng với viêm màng não do phế cầu và do vậy không nên sử dụng trong điều trị theo kinh nghiệm cho viêm màng não mủ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Điều trị kháng sinh nên kéo dài trong 7 ngày. Một đợt 5 ngày cũng thành công nhưng trong trường hợp có biến chứng thường được kéo dài tới 10 – 14 ngày. Điều này đã được chứng minh rõ ràng rằng sau khi sử dụng kháng sinh, tuần hoàn tăng lên, các nội độc tố tự do và các hệ thống kích thích gây viêm do nội độc tố hoạt động giảm xuống rất nhanh.

8. PHÒNG BỆNH VÀ KIỂM SOÁT

Kiểm soát các dịch bệnh não mô cầu bao gồm một số biện pháp có quan hệ với nhau như quản lý các trường hợp riêng lẻ, khai báo những trường hợp đã biết và nghi ngờ, điều trị dự phòng cho người thân tiếp xúc, giám sát lâm sàng tốt, tiêm vắc xin ở quy mô nhỏ hoặc lớn và phổ biến thông tin. Các bác sĩ bệnh viện, các nhà vi sinh vật, các chuyên gia y tế công cộng và những người hành nghề y đòi hỏi phải cố gắng phối hợp với nhau để chống các trường hợp thứ phát và kiểm soát sự sợ hãi và sự lo lắng khi tiếp xúc.

Trong tất cả các trường hợp nghi ngờ bị bệnh não mô cầu, cần phải cấy máu, dịch não tủy, chất ngoáy họng hoặc bất cứ bệnh phẩm thích hợp khác trong khi bệnh nhân nằm viện để tìm ra các trường hợp dương tính, hoặc sử dụng mẫu huyết thanh kép hoặc các bệnh phẩm lâm sàng khác gửi cho các phòng xét nghiệm chuẩn thức để tìm ra kháng nguyên, kháng thể hoặc ADN. Tất cả các chủng não mô cầu nên gửi tới phòng xét nghiệm chuẩn thức để định type từng chủng. Trong khi nằm viện, bệnh nhân nên được lấy xét nghiệm trong 24 giờ đầu, trước khi sử dụng kháng sinh. Nguy cơ mắc bệnh từ các bệnh nhân trong cùng bệnh phòng là ít, nhưng cao hơn ở phòng xét nghiệm, đặc biệt những người nuôi cấy vi khuẩn.

Khai báo sớm nhất tất cả các trường hợp khoẻ mạnh nghi ngờ và mắc bệnh viêm màng não do não mô cầu cho những người có thẩm quyền. Thông tin chi tiết cần được thông báo đầy đủ cho phía lâm sàng và dịch tễ những trường hợp này. Ở nhiều nước, việc khai báo là bắt buộc và dịch sớm nhất phải được nhận diện, sau đó phải giám sát chặt chẽ. Dịch được coi là có khi có trên hai trường hợp não mô cầu xảy ra trong cùng một thời gian, địa điểm với cùng một chủng não mô cầu. Dịch có thể xuất hiện trong các gia đình riêng biệt, các cộng đồng hoặc các cơ sở từ thiện.

Việc tiếp xúc gần như lau nhà, hôn nhau ... có thể bộc lộ bệnh sau hơn 10 ngày (thời gian ủ bệnh là 2 – 10 ngày) và cũng bao gồm các nhóm trẻ em chơi với nhau và các y tá. Nuôi cấy dịch hầu – họng của những người tiếp xúc gần không thật cần thiết, dùng kháng sinh có thể gây rắc rối cho xã hội. Điều quan trọng là phải thông tin đầy đủ các trường hợp tiếp xúc gần về bệnh tật và sự cần thiết phải điều trị dự phòng. Họ phải được nhận các hướng dẫn rõ ràng để tìm lời khuyên về y tế ngay lập tức nếu họ có bất cứ dấu hiệu hoặc hội chứng nào của bệnh não mô cầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

8.1. Điều trị dự phòng

Giữa những năm 1940 và 1960, sulphonamides đóng vai trò chủ yếu trong điều trị và xoá bỏ những người mang trùng. Tuy nhiên những chủng kháng sulphonamides (MIC ≥ 10 mg/L) hiện nay đã thịnh hành trên thế giới. Trong khi đó kháng với rifampicin (MIC ≥ 5 mg/L) ít gặp hơn và kháng với ciprofloxacin (MIC > 0,02 mg/L) cực kỳ hiếm. Một đợt 2 ngày, cứ mỗi 12 giờ 1 lần uống rifampicin (600 mg cho người lớn và 10 mg/kg cho trẻ em và 5 mg/kg cho trẻ nhũ nhi) có tác dụng cao tới 95% các trường hợp. Tuy nhiên, thất bại do thiếu sự ưng thuận, kháng thuốc hoặc tái phát bệnh. Rifampicin không nên sử dụng trong thời gian mang thai và các bệnh nhân suy gan. Thuốc này đắt, gây đổi màu dịch cơ thể và ảnh hưởng tới chức năng của thuốc ngừa thai. Các liều sau đây của ciprofloxacin (uống 500 mg, không dùng cho trẻ em) và ceftriaxon (tiêm bắp 250 -- 500 mg cho người lớn và 125 mg cho trẻ em dưới 12 tuổi), minocyclin (100 mg uống ngày 2 lần trong 3 ngày) cũng có hiệu quả. Tuy nhiên thuốc này không nên dùng cho trẻ em và phụ nữ mang thai bởi vì nó độc với tiền đình và khả năng của nó làm biến màu răng.

Các kháng sinh dự phòng cho tất cả những người tiếp xúc gần càng sớm càng tốt, giống như đối với bệnh nhân. Họng các trường hợp này cũng phải được điều trị bằng uống các kháng sinh này trước khi ra viện. Kháng sinh sử dụng ngẫu nhiên với người tiếp xúc ngắn sẽ được chỉ định bởi bác sĩ, và chỉ khuyến cáo trong các nhóm đối tượng cụ thể, không cho trẻ em lớn, trừ khi chúng tiếp xúc gần. Không sử dụng kháng sinh dự phòng cho các trẻ em dưới 3 tuổi. Cuối cùng, những người tiếp xúc gần với bệnh nhân bị nhiễm bệnh do não mô cầu nhóm A hoặc C (hoặc đôi khi là W135 hoặc Y) có thể cho sử dụng vắc xin. Vắc xin chống lại nhóm huyết thanh B hiện nay vẫn chưa có.

8.2. Vắc xin lý tưởng

Một vắc xin não mô cầu lý tưởng phải là an toàn, có miễn dịch kéo dài cho tất cả các nhóm tuổi, bằng đường uống hay khí dung và phù hợp với chương trình tiêm chủng mở rộng của Tổ chức Y tế Thế giới. Tuy nhiên, các vắc xin hiện hành chỉ chống lại bốn trong 13 nhóm huyết thanh não mô cầu. Các vắc xin này dựa trên polysaccharide vỏ của các nhóm A, C, Y và W135. Các vắc xin polysaccharide không cộng hợp này chỉ cho miễn dịch chéo nhẹ với các chủng cùng nhóm. Hơn nữa, chúng chỉ bảo vệ được một ít trẻ dưới 2 tuổi, nhóm tuổi dễ bị tấn công nhất, và vì vậy chúng không thích hợp cho chương trình tiêm chủng cho trẻ em. Hiện tại, không có vắc xin polysaccharide cho nhóm.

8.3. Vắc xin cộng hợp nhóm A và C

Sự kết hợp thành công giữa polysaccharide của *Haemophilus influenzae* type b (Hib) với một protein mang đã khích lệ một vắc xin cộng hợp giữa protein và

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

polysaccharide vỏ của não mô cầu nhóm A và C. Polysaccharide vỏ tinh chế đã được cộng hợp với độc tố uốn ván hoặc bạch hầu (CRM197). Các thử nghiệm lâm sàng đã cho thấy loại vắc xin này an toàn và sinh miễn dịch tốt (gồm cả đáp ứng trí nhớ).

Sự thành công của các vắc xin cộng hợp nhóm (MCC) và sự phát triển sắp tới của các vắc xin cộng hợp tương tự chống não mô cầu nhóm A, W135 và Y, báo hiệu khả năng thành công của vắc xin cho tất cả bệnh não mô cầu không phải nhóm B.

8.4. Các vắc xin chống lại bệnh não mô cầu nhóm B

Polysaccharide vỏ nhóm B

Polysaccharide vỏ não mô cầu nhóm B gồm có các gốc oligomer lặp đi lặp lại, liên kết α–(2–8) với acid sialic. Các oligomer này đóng vai trò như là một yếu tố độc lực quan trọng và là yếu tố bảo vệ tế bào vi khuẩn. Vắc xin ứng cử dựa trên polysaccharide nhóm B có gây ra đáp ứng kháng thể tạm thời, chủ yếu là isotype IgM, nhưng yếu. Tính sinh miễn dịch yếu của nó có thể do tính nhạy cảm với neuraminidase hoặc do sự dung nạp miễn dịch của vật chủ vì nó giống nửa acid sialic trong tổ chức não người (Finne và CS., 1987). Đây có thể là lý do phát triển tự miễn ở người khi dùng vắc xin polysaccharide vỏ có nguồn gốc từ nhóm B.

Protein màng ngoài– OMPs (Outer Membrane Protein)

Trong thập kỷ qua, một số vắc xin não mô cầu nhóm B đã được phát triển và thử nghiệm lâm sàng dựa bóng màng ngoài (nhiều PorA và PorB). Các thử nghiệm mù đôi ngẫu nhiên, kiểm soát bằng placebo ở diện rộng sau đó cho thấy, chỉ có vắc xin sản xuất ở Na Uy và Cu Ba là có hiệu quả bảo vệ. Vắc xin Na Uy có OMPs từ chủng não mô cầu gây dịch (B:15:P1.7.16) và đã dùng cho trẻ 14 – 16 tuổi. Người ta dự tính hiệu quả bảo vệ là 57% sau 30 tháng theo dõi và vì thế được coi là hiệu quả không đủ cho việc sử dụng chung chung. Vắc xin của Cu Ba bao gồm polysaccharide vỏ nhóm C phối hợp với OMPs từ một chủng gây dịch ở Cu Ba (B:4:P1.15). Khi dùng cho trẻ 10 – 16 tuổi thì cho thấy hiệu quả là 83% sau 16 tháng theo dõi; và với kết quả này, hiện nay, vắc xin đã được sử dụng cùng với các vắc xin khác trong chương trình tiêm chủng thường xuyên cho trẻ em ở Cu Ba. Mặc dù thử nghiệm không trực tiếp mang lại hiệu quả cho trẻ em dưới 10 tuổi ở Cu Ba, nhưng các nghiên cứu theo dõi việc tiêm chủng đại chúng cho thấy hầu hết được bảo vệ nếu vắc xin được bao phủ và phạm vi ảnh hưởng cho trẻ dưới 6 tuổi khoảng 93%.

Các phương pháp tiếp cận khác

Từ khi công trình nghiên cứu genome não mô cầu được hoàn thành, việc sản xuất vắc xin não mô cầu đã có bước tiến nhảy vọt. Pizza và cộng sự (2000) đã sàng lọc từ chuỗi genome trọn vẹn của chủng não mô cầu nhóm B và nhận dạng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

được hàng trăm gen mã hoá cho các kháng nguyên đích. Chúng đã được tách dòng (cloning) và biểu lộ (express) ra 350 kháng nguyên trong *E. coli*. Các kháng nguyên này đã được kiểm tra khả năng sinh kháng thể diệt khuẩn ở chuột.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Freeman BA. Text Book of Microbiology. WB Saunders Comp. 21st ed. 1979.
2. Gillespie SH and Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd., 2nd ed, 2006.
3. Myron ML, et al eds. New Generation Vaccines, Marcel Dekker, Inc. 4th ed. 2009.
4. Nancy Jo Trun et al. Fundamental Bacterial Genetics. Wiley–Blackwell. 1st ed. 2003.
5. Peter HA et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Volume 2. 1986.
6. Stanley AP et al. Vaccines. Sauders. 4th ed. 2004.

LẬU CẦU

Neisseria gonorrhoeae

(Zopt 1885) Trevisan 1885

Chủng mẫu: ATCC 19424

1. GIỚI THIỆU

Bệnh lậu được người Ai Cập cổ đại mô tả từ hơn 1550 năm trước Công nguyên. Sau đó, Hypocrat đã mô tả: "Đây là bệnh của những người ăn chơi trác táng, chìm đắm trong lạc thú của thần vệ nữ".

Năm 130 sau Công nguyên, Galen gọi bệnh lậu là *gonorrhea* hàm ý là "dòng chảy của tinh dịch".

Năm 1879, Neisser là người đầu tiên mô tả vi khuẩn lậu là căn nguyên gây bệnh lậu.

Năm 1882, Lestikow và Loeffler nuôi cấy thành công vi khuẩn lậu trên môi trường nhân tạo, tạo điều kiện thuận lợi cho việc chẩn đoán và xác định vi khuẩn lậu.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và cấu trúc

Vi khuẩn lậu là những song cầu hình hạt cà phê, hai mặt dẹt quay vào nhau, bắt màu Gram âm. Kích thước tế bào khoảng 0,6 µm × 0,8 µm, khoảng cách giữa

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2 cầu khuẩn bằng 1/5 chiều rộng. Trong mủ lấy từ bệnh nhân lậu cấp tính, vi khuẩn lậu độc chiếm trong tế bào bạch cầu đa nhân trung tính, người ta có thể gặp một cặp, hai cặp, bốn cặp hoặc nhiều cặp, có khi chúng xếp lèn chặt trong lòng tế bào. Trong trường hợp lậu mạn tính, vi khuẩn đứng ngoài tế bào và ít thấy trong tế bào. Vi khuẩn lậu không sinh nha bào, không có lông, một số chủng có pili.

Trong môi trường nuôi cấy, vi khuẩn lậu đa dạng, kích thước thay đổi và sắp xếp không điển hình: có thể xếp đôi hoặc thành bốn. Sự thay đổi hình thể, kích thước, cách sắp xếp biến đổi theo điều kiện môi trường nuôi cấy.

Tính chất bắt màu, vị trí cư trú bên trong hay ngoài tế bào bạch cầu đa nhân trung tính của vi khuẩn lậu có giá trị lớn trong chẩn đoán xác định bệnh lậu *(Xem hình P15 ở Phụ bản).*

Quan sát vi khuẩn lậu cắt ngang dưới kính hiển vi điện tử, người ta thấy có một lớp màng ngoài Gram (–) điển hình phủ lên lớp peptidoglycan tương đối mỏng và màng tế bào chất. Peptidoglycan của vi khuẩn lậu giống với peptidoglycan của các vi khuẩn Gram (–) khác, thành phần chính là acid muramic và N–acetylglucosamin *(Xem hình P16 ở Phụ bản).*

Pili xếp thành từng sợi hoặc tập hợp sợi và hầu như che phủ toàn bộ bề mặt bên ngoài tế bào vi khuẩn. Pili là các polymer bao gồm hàng nghìn cấu trúc dưới phân tử khoảng 18 kDa có nhiệm vụ làm tăng sự bám dính vào các mô của vật chủ và chống lại bạch cầu trung tính.

2.2. Tính chất nuôi cấy

Khi ra khỏi cơ thể, vì ảnh hưởng của điều kiện bên ngoài nên vi khuẩn lậu rất dễ chết. Vi khuẩn lậu khó nuôi cấy, vì chúng không phát triển được trong các môi trường thông thường mà đòi hỏi môi trường phải giầu chất dinh dưỡng như máu, và các yếu tố dinh dưỡng khác. Các môi trường được sử dụng hiện nay là thạch chocolat, Thayer–Martin, Martin–Lewis. Các môi trường này thường có các chất tăng sinh như isovitalex bao gồm các acid amin giàu chất dinh dưỡng tạo điều kiện cho vi khuẩn lậu phát triển. Ngoài ra, trong các môi trường này còn có các kháng sinh như colistin, vancomycin, nystatin, lincomycin để ức chế các trực khuẩn Gram (–), cầu khuẩn Gram (+) khác và nấm nhưng không ảnh hưởng tới sự phát triển của vi khuẩn lậu.

Để phát triển được tốt trong môi trường nuôi cấy, vi khuẩn lậu đòi hỏi khí trường phải có 3–10% CO_2, nhiệt độ 35–37°C, độ ẩm ≥ 70%, pH 7,3.

Sau 24 giờ nuôi cấy, kích thước khuẩn lạc từ 0,4–1 mm, màu xám trắng, mờ đục, lồi, bờ đều, nhày, lấp lánh sáng *(Xem hình P17 ở Phụ bản).* Nếu để 48 – 72 giờ, đường kính khuẩn lạc tới 3 mm. Có 5 loại khuẩn lạc: T1, T2, T3, T4, T5. Trong đó khuẩn lạc T1, T2 vi khuẩn có pili, còn T3, T4 và T5 không có pili. Các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn lạc T3, T4 và T5 thường to, phẳng, không có lấp lánh sáng. Sau 72 giờ nuôi cấy, vi khuẩn thường tự ly giải. Khi nhuộm vi khuẩn từ khuẩn lạc, cách sắp xếp và hình thái không điển hình.

2.3. Sức đề kháng

Sức đề kháng của vi khuẩn lậu rất kém, dễ bị bất hoạt khi ở điều kiện ngoại cảnh. ở 55°C vi khuẩn lậu chết sau 5 phút; trong điều kiện khô và giầu oxy, vi khuẩn lậu chết sau 1 – 2 giờ. Nhiệt độ lạnh và khô, vi khuẩn lậu chết nhanh, do vậy không bao giờ giữ bệnh phẩm ở điều kiện lạnh.

Với hoá chất: phenol 1%, mercuric chloric 0,01%, formol 0,1%, sublime 0,1% vi khuẩn chết sau 1– 5 phút tiếp xúc.

2.4. Tính chất sinh vật hoá học

Test oxidase: Cho khuẩn lạc lậu cầu tiếp xúc với N--tetramethyl P--phenylenediamin dihydrochlorid 1%, khuẩn lạc sẽ cho màu tím sẫm đến đen: dương tính.

Test superoxol: Lấy một lam kính sạch nhỏ lên 1 giọt dung dịch hydrogen peroxide 30%, dùng que cấy lấy 4–5 khuẩn lạc lậu hoà trực tiếp vào giọt dung dịch thử trên. Trong vòng 2–3 giây, dung dịch sẽ tạo nhiều bọt và các bóng nước: phản ứng dương tính (catalase+).

Chuyển hoá đường: Người ta có thể sử dụng tính chất phân hủy một số loại đường để phân biệt lậu cầu với não mô cầu.

Vi khuẩn	*Glucose*	*Maltose*	*Lactose*	*Sucrose*
Lậu cầu	+	–	–	–
Não mô cầu	+	+	–	–

Chuyển hoá peptide: Vi khuẩn lậu có khả năng phân giải prolin do chúng có men hydroxyprolinaminopeptidase.

Với nitrat và nitrit: Vi khuẩn lậu không khử nitrat nhưng có khả năng khử nitrit sinh nitơ.

2.5. Cấu trúc kháng nguyên

Nhiều tác giả cho rằng kháng nguyên của lậu cầu rất phức tạp, đặc biệt cho từng type và có liên quan chặt chẽ với tính chất gây bệnh, các kháng nguyên hiện nay được biết là:

– Kháng nguyên lipopolysaccharide (LPS) là kháng nguyên ngoài màng (Outer membrane antigen– OMA). Tất cả vi khuẩn lậu đều có Lipooligosaccharide (LOS) trên bề mặt tế bào bao gồm một nửa là lipid A và một nửa là polysaccharide lõi. Nhiệm vụ chủ yếu của LOS là tạo nên kháng nguyên của vi khuẩn, do vậy nó có vai trò quan trọng đối với phản ứng miễn dịch diệt khuẩn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Pili: có ở vi khuẩn lậu có dạng khuẩn lạc T1 và T2. Bản chất là protein có trọng lượng phân tử dao động từ 17.000 đến 21.000. Pili giúp lậu cầu bám vào tế bào, giúp cho sự trao đổi các vật liệu di truyền giữa những chủng có pili.

– Plasmid: Trong các nghiên cứu về vật liệu di truyền của vi khuẩn lậu, đáng quan tâm nhất là ba dạng plasmid:

- Loại 1: plasmid 24,5 MD có khả năng hoạt hoá các plasmid khác.
- Loại 2: plasmid 2,6 MD chưa rõ chức năng.
- Loại 3: plasmid quy định sinh β–lactamase, đây là plasmid quy định tính kháng kháng sinh của lậu cầu khuẩn. Có nhiều plasmid β–lactamase trên vi khuẩn lậu gây bệnh ở các nước trên thế giới, chúng có trọng lượng phân tử thay đổi: 4,4 Md; 3,2 Md; 2,9 Md.

2.6. Tính chất miễn dịch

Kháng thể kết hợp bổ thể có thể tồn tại trong huyết thanh bệnh nhân sau nhiều năm cho dù bệnh đã khỏi. Có ít nhất ba lớp kháng thể: IgM, IgA, IgG kháng lại pili của vi khuẩn lậu. Tỷ lệ đáp ứng miễn dịch trong số bệnh nhân bị bệnh cũng khác nhau. Ở người bị bệnh lậu cấp tính, Ig M xuất hiện sớm và có hiệu giá cao. Kháng thể kháng vi khuẩn lậu có ở bệnh nhân là một trong những căn cứ giúp cho việc phát hiện lậu ngoài đường sinh dục có hiệu quả.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Dịch tễ học

N. gonorrhoeae có mặt ở mọi quốc gia, nhất là những nước đang phát triển. Theo Tổ chức Y tế Thế giới, số người mắc bệnh lậu ngày càng tăng, hằng năm trên Thế giới có số ca mới mắc khoảng 60 triệu người. Tỷ lệ mắc bệnh không có xu hướng thuyên giảm trong khi đó bệnh lậu là đồng tác nhân lây truyền với HIV.

N. gonorrhoeae chỉ có vật chủ duy nhất là người. Bệnh lậu là một vấn đề được nhiều nước quan tâm vì khả năng lây lan cao, vi khuẩn có thể gây nhiễm cho mọi đối tượng. Đường lây truyền chủ yếu là quan hệ tình dục, lây truyền từ mẹ sang con trong thời kỳ chu sinh chiếm tỷ lệ rất ít.

Tỷ lệ mắc bệnh lậu có sự khác nhau đáng kể giữa nam và nữ, nam mắc nhiều hơn nữ, giữa các lứa tuổi, giữa các ngành nghề.

3.2. Khả năng gây bệnh cho người

3.2.1. Bệnh lậu ở người lớn

Thời kỳ ủ bệnh của vi khuẩn lậu thay đổi từ 1 đến 14 ngày. Triệu chứng lâm sàng được biểu hiện:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Viêm niệu đạo cấp tính

Viêm niệu đạo cấp tính hay gặp ở nam hơn ở nữ. Các triệu chứng nổi bật là tiết dịch niệu đạo, đái nóng, đái buốt, đái khó và đái ra mủ. Ở phụ nữ triệu chứng phức tạp hơn, ngoài viêm niệu đạo còn có thể viêm âm đạo, cổ tử cung, tuyến Bartholin, có khi tới cả tử cung, vòi trứng, buồng trứng...

– Viêm trực tràng

Viêm trực tràng thường gặp ở những người đồng tính luyến ái nam do quan hệ tình dục qua hậu môn. Triệu chứng viêm trực tràng do lậu thường không điển hình.

– Viêm họng

Nhiễm lậu cầu ở họng: gặp ở đồng tính luyến ái cả hai giới hoặc khác giới do quan hệ tình dục đường miệng.

– Nhiễm lậu cầu lan toả (Disseminated Gonococcal Infection)

Bệnh thường gặp ở những người bị lậu nhưng không được điều trị dứt điểm, không đúng phác đồ, hầu hết xảy ra ở phụ nữ. Biểu hiện của bệnh: viêm khớp, viêm da là chủ yếu. Cũng có thể gặp viêm gan, viêm cơ tim, viêm nội tâm mạc, viêm màng não.

3.2.2. Bệnh lậu ở trẻ em

Bệnh lậu ở trẻ em thường biểu hiện lậu ở mắt do lây vi khuẩn từ mẹ trong thời kỳ chu sinh, phổ biến nhất là chảy mủ kết mạc sau đẻ 1–7 ngày. Nếu không được điều trị kịp thời, có thể dẫn tới mù loà. Có thể gặp viêm âm hộ, âm đạo, niệu đạo do dùng chung khăn chậu với bố mẹ bị nhiễm lậu.

3.2.3. Biến chứng thường gặp ở bệnh lậu

Ở nam biến chứng tại chỗ thường gặp nhất là viêm mào tinh hoàn, viêm mạch bạch huyết dương vật và hẹp niệu đạo.

Ở nữ biến chứng tại chỗ thường gặp nhất là viêm vòi trứng cấp dẫn đến vô sinh, chửa ngoài tử cung. Áp xe tuyến Bartholin cũng là biến chứng hay gặp.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Cách lấy bệnh phẩm

– Ở nữ giới

+ Cổ tử cung: làm ẩm mỏ vịt bằng nước cất vô trùng, đặt mỏ vịt để bộc lộ cổ tử cung, dùng tăm bông vô trùng đưa sâu vào trong cổ tử cung 2–3 cm, để 5 –10 giây cho dịch ngấm vào tăm bông.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

+ Hai bên của tuyến Skène

+ Hai bên của tuyến Bartholin

+ Niệu đạo: dùng que cấy hoặc tăm bông vô trùng loại nhỏ đưa sâu vào niệu đạo khoảng 1,5–2 cm rồi xoay nhẹ tăm bông, để khoảng 5 –10 giây, rút tăm bông ra một cách nhẹ nhàng.

– Ở nam giới

+ Lậu cấp tính

Yêu cầu bệnh nhân bộc lộ bộ phận sinh dục, vuốt từ gốc dương vật lên dùng bông có thấm nước cất vô trùng, lau bỏ phần mủ ngoài trước khi lấy bệnh phẩm, dùng tăm bông đưa sâu vào niệu đạo 1,5–2 cm, xoay tròn, để tăm bông 5 –10 giây cho dịch thấm vào tăm bông rồi rút ra một cách nhẹ nhàng.

+ Lậu mạn tính

Nhất thiết phải hướng dẫn bệnh nhân nhịn đi tiểu ít nhất là 2–3 giờ trước khi thực hiện xét nghiệm. Các bước tiến hành lấy bệnh phẩm cũng như trường hợp lậu cấp tính.

– Lậu mắt trẻ sơ sinh

Đeo găng tay vô trùng, dùng ngón tay cái và ngón trỏ ấn nhẹ vào mí mắt trẻ sơ sinh, mủ ở kết mạc chảy ra, dùng tăm bông vô trùng để lấy bệnh phẩm, để 5 –10 giây cho mủ ngấm vào tăm bông.

4.1.2. Các phương pháp chẩn đoán

– Phương pháp nhuộm soi trực tiếp

Bệnh phẩm được dàn lên phiến kính, nhuộm Gram và nhuộm đơn. Quan sát dưới kính hiển vi, vi khuẩn có hình hạt cà phê hai mặt dẹt úp vào nhau, bắt màu Gram (–), nằm trong hay ngoài bạch cầu đa nhân trung tính thoái hóa, có thể nghĩ tới vi khuẩn lậu.

Người ta thường dùng phương pháp này để đánh giá hình thể, tính chất bắt màu, cách sắp xếp (đứng trong hay ngoài tế bào) của vi khuẩn. Trong giai đoạn cấp tính, phương pháp này có giá trị rất cao. Ở lậu mạn tính: ít thấy vi khuẩn, nếu thấy vi khuẩn thường nằm ngoài tế bào rất khó phân biệt với các vi khuẩn không gây bệnh khác; những trường hợp này, cần phải tiến hành nuôi cấy.

– Phương pháp nuôi cấy

Bệnh phẩm được ria cấy trên môi trường Thayer–Martin hoặc chocolat có chất tăng sinh và chất ức chế. Để ở nhiệt độ 35°–37°C, khí trường 3–10% CO_2, độ ẩm 70%, pH 7,3. Sau 18–24 giờ quan sát khuẩn lạc, nếu chưa thấy để thêm 24 giờ nữa.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sau 18–24 giờ khuẩn lạc của vi khuẩn lậu dạng S có đường kính khoảng 0,5–1 mm, tròn, bờ đều, lồi, nhày, óng ánh và có màu hơi sáng.

Chọn khuẩn lạc điển hình tiến hành xác định vi khuẩn dựa vào các tính chất sinh vật hoá học: oxidase, superosol, chuyển hoá đường.

– Xét nghiệm PCR

Chẩn đoán lậu bằng PCR có độ nhạy và độ đặc hiệu khá cao nhưng tốn kém

4.2. Chẩn đoán huyết thanh

Các xét nghiệm huyết thanh được dùng để phát hiện kháng thể kháng vi khuẩn lậu hoặc các thành phần của nó. Phương pháp chẩn đoán huyết thanh có giá trị cao khi chẩn đoán những bệnh nhân bị lậu lan toả. Các phản ứng huyết thanh hiện nay đang được dùng là:

- Phản ứng miễn dịch huỳnh quang
- Phản ứng ELISA

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng không đặc hiệu

Chủ yếu là giải quyết nạn mại dâm. Phòng lây do tiếp xúc: dùng bao cao su khi quan hệ tình dục... và các biện pháp khác.

Ngoài ra, cần điều trị triệt để cho người bệnh nhất là phụ nữ có thai để tránh lây sang trẻ sơ sinh.

5.2. Điều trị

Hiện nay, lậu đã bắt đầu kháng lại nhiều kháng sinh, do đó phải làm kháng sinh đồ để lựa chọn kháng sinh thích hợp cho việc điều trị bệnh. Cần điều trị triệt để để tránh chuyển sang lậu mạn tính, rất khó chẩn đoán và điều trị. Kháng sinh thường dùng hiện nay ceftriaxone, spectinomycin. Thường kết hợp với docycycline để điều trị nhiễm *Chlamydia trachomatis* đi kèm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh Y học, Trường Đại học Y Hà Nội. Vi sinh y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
2. Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty. Vi sinh vật học. Nhà xuất bản Giáo dục. 1997.
3. Lê Hồng Hinh, Lê Thị Phương và cộng sự. Tình hình kháng kháng sinh của vi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn lậu tại Hà Nội từ năm 2001 đến năm 2003. Tạp chí nghiên cứu y học Bộ Y Tế – Trường Đại học Y Hà Nội. 2004 (6): 148–155.

4. Catherine AI. *Neisseria gonorrhoeae*. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2006.
5. Manavi K, Young H and Clutterbuck D. Sensitivity of microscopy for the rapid diagnosis of gonorrhoea in men and women and the role of gonorrhoea serovars. International Journal of STD & AIDs. 2003.
6. Palladino S, Pearman JW, Kay ID et al. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. Genitourinary infections in males by the Amplicor PCR assay of urine. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 1999.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 4

TRỰC KHUẨN GRAM DƯƠNG

VI KHUẨN BẠCH HẦU

Corynebacterium diphtheriae

(Kruse 1886) Lehman và Neumann 1896

Chủng mẫu: ATCC 27010

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Năm 1826, Bretonnean đã mô tả bệnh cảnh lâm sàng của bệnh bạch hầu. Năm 1883, Klebs đã quan sát và mô tả trực khuẩn bạch hầu. Một năm sau đó, Loeffler đã phân lập được trực khuẩn bạch hầu và đưa ra các bằng chứng về vai trò bệnh nguyên, do vậy trực khuẩn bạch hầu còn mang tên là vi khuẩn Klebs –Loeffler.

Trực khuẩn bạch hầu là loại trực khuẩn hình chùy (*Corynebacterium*). Loại trực khuẩn này thường gặp trong tự nhiên. Chúng là những trực khuẩn thẳng hoặc hơi cong, có thể chứa các hạt nhiễm sắc (những hạt bắt màu đậm hơn). Hạt nhiễm sắc thường ở hai đầu trực khuẩn làm cho vi khuẩn phình ra như hình chùy. Loài trực khuẩn này không có vỏ, không có lông và không có nha bào. Một số loại trực khuẩn hình chùy gây bệnh cho động vật. Điển hình là *C. ulceran* gây bệnh cho ngựa, ngoại độc tố của trực khuẩn này gần như ngoại độc tố của trực khuẩn bạch hầu.

Trên da và niêm mạc mũi người có một số loài *Corynebacterium* không gây bệnh, đó là *C. hofmannii (C. pseudodiphtheriticum)* và *C. xerosis*. Trực khuẩn bạch hầu gây bệnh nguy hiểm cho người, nhất là trẻ em. Đó là bệnh nhiễm trùng, nhiễm độc rất cấp tính.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

Trực khuẩn bạch hầu có tên La tinh là *Corynebacterium diphtheriae*, thuộc chi *Corynebacterium*, là những trực khuẩn hình chùy, thường đứng thành đám như chữ nho. Về phân loại, *Corynebacterium* liên quan với *Mycobacterium* và *Nocardia*. Ba loài này liên quan với nhau về cấu trúc hóa học và huyết thanh học, tạo thành nhóm *Corynebacterium–Mycobacterium–Nocardia*. *C. diptheriae* gây ra bệnh bạch hầu, do vi khuẩn này sản sinh ra một ngoại độc tố có độc lực rất cao.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trực khuẩn bạch hầu có khả năng tạo ra ở bệnh nhân một màng giả trải rộng trên màng niêm mạc họng hoặc trên da tùy thuộc vào vị trí xâm nhiễm. Đôi khi màng này làm tắc nghẽn thanh quản và khí quản. Trực khuẩn bạch hầu ít khi gây nhiễm trùng động vật. Sự nhiễm trùng này là biểu hiện của sự xâm nhập và khả năng gây bệnh liên quan tới những protein nhất định và những thành phần lipid gắn với bề mặt tế bào vi khuẩn.

2.1. Hình dạng tế bào và cấu trúc phân tử

Trực khuẩn bạch hầu thường đa hình dạng: trực khuẩn, hình chùy, hình vợt và có thể hình sợi. Kích thước khoảng 0,5 – 1 x 1,5 – 5 μm, bắt màu Gram dương *(Xem hình P18 ở Phụ bản)*. Đa số trực khuẩn bạch hầu có hình dạng giống nhau khi nuôi trong môi trường đầy đủ yêu cầu dinh dưỡng. Thời gian cho mỗi thế hệ dưới những điều kiện nuôi cấy tối ưu là hằng định với mỗi chủng trực khuẩn bạch hầu.

2.1.1. Vách

Kato, Strominger và Kotani khi nghiên cứu chủng trực khuẩn bạch hầu PW8 (Park William) đã chỉ ra rằng, đa số các đơn vị peptide đã đổi chỗ cho acid acetyl muramic của murein. Họ tìm ra là tetrapeptide L–Au–D–gluco–DAP–Ala và tripeptide L–ala–D–gluco–meso–DAP, chiếm một phần (khoảng 20%) của các đơn vị tetrapeptide và tripeptide gắn chéo qua cầu D–Ala–meso–DAP. Người ta chưa xác định được arabinolactan gắn vào cấu trúc vách cơ bản như thế nào. Polysaccharide này được Lantrop gọi là kháng nguyên O. Nó là nhóm kháng nguyên chung của *Corynebacterium* và có phản ứng chéo với *Mycobacterium* và *Nocardia*. Lickfeld cho rằng *C. intermedius* hình như đã tổng hợp murein không cân bằng.

2.1.2. Lipid và protein của lớp vách ngoài tế bào

Ngoài peptidoglycan và arabinolactan còn có một số lipid gắn với vách của *Corynebacterium*. Phần lớn các thành phần lipid của *Corynebacterium* là những acid corynemycolic và phosphatid của mannnose và inositol. Trong một thời gian dài người ta nghĩ rằng sự xâm nhập của trực khuẩn bạch hầu gắn với lipid bề mặt của nó. Alimova là một trong những tác giả đầu tiên cho rằng độc tính của trực khuẩn bạch hầu do yếu tố *cord* (cord factor), acid béo hoặc acid liên kết ester với trehalose quyết định độc tố của chúng.

2.1.3. Yếu tố cord

Công trình của Ionede, Lenz và của Senn đã làm sáng tỏ rằng yếu tố cord của trực khuẩn bạch hầu là một phức chất diester của α, α' trehalose ester hóa ở vị

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trí 6, 6' với bất kỳ trehalose nào của acid corynemycolic và corynemycolenic. Gần đây Mashiko Kato chỉ ra rằng yếu tố cord này gây chết chuột nhắt. Ty thể của chuột nhắt bị phá hủy do tác dụng độc của yếu tố cord và những mảnh của ty thể còn lại không đủ để hô hấp tế bào vào phosphoryl hóa. Do đó hoạt tính dược lý của α – α' trehalose của locorynemycolat ít khác biệt với yếu tố cord của *Mycobacterium*. Hoạt tính của yếu tố cord cũng được chứng minh bằng chất chiết xuất của chúng ở *C. ovis* (*P. pseudotuberculosis*).

Lớp ngoài cùng của *C. diphtheriae* đã gắn không vững chắc với tế bào của chúng, do đó một số lượng đáng kể lipid đã tách khỏi tế bào khi rửa vi khuẩn. Mặc dù yếu tố cord thật sự quan trọng trong đáp ứng tế bào của cơ thể đối với trực khuẩn bạch hầu, nhưng sự xuất hiện của riêng nó không thể giải thích chc độc lực hoặc sự xâm nhập. Vì chủng PW8 khi mới phân lập đã ít có khả năng xâm nhập. Yếu tố cord có thể là yếu tố cần thiết của độc lực, kháng nguyên K trên bề mặt trực khuẩn bạch hầu là cần thiết cho sự xâm nhập của nó.

2.1.4. Phân tử tiếp nhận của Corynebacteriophage (Corynephage)

Dưới kính hiển vi điện tử người ta đã thấy Corynephage bám vào bề mặt trực khuẩn bạch hầu, trừ nghiên cứu của Groman và cộng sự, ức chế sự giải phóng của phage với sự tồn tại của acid oleic, ngoài ra chưa có những nghiên cứu về các receptor tự nhiên của các Corynephage này.

2.2. Nhân, màng sinh chất và chất nguyên sinh của vi khuẩn

2.2.1. ADN

Tỷ lệ (mol%) GC của một số chủng trực khuẩn bạch hầu như sau: 51,9 với chủng Tolouse: 54,4 với PW 8.

2.2.2. Các thể acid béo, lipid và hạt vùi

Burdon, bằng nghiên cứu bao quát khả năng nhuộm Sudan Black B với các loài vi khuẩn, đã ghi nhận rằng *Corynebacteria* và *Mycobacteria* chứa một số lượng đáng kể lipid trong gần hết các tế bào trưởng thành. Họ đã tìm thấy rằng ở các tế bào chuyển hóa chậm chạp, nhiều thể vùi lớn đã được quan sát nhờ nhuộm Sudan Black B. Khi so sánh những tế bào nguyên vẹn nhuộm bằng Sudan Black B và những lát cắt cực mỏng của nó nhuộm bằng acetat uranyl đã dẫn tới những kết luận rằng, nhiều lipid đã định vị như những đại phân tử trong các tế bào *Corynebacterium* và *Mycobacterium*, chúng đã gắn với các mesosome. Ở phần lớn *Mycobacterium* có các thể lipid lớn và trong các lát cắt mỏng của vi khuẩn, kháng nguyên này hình như ít thấy chúng kết hợp với hệ thống màng sinh chất.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.2.3. Các thể vùi polyphosphat (hạt nhiễm sắc hoặc volutin)

Đó là các hạt có màu đỏ tía tới màu đỏ sau khi nhuộm bằng xanh methylen hoặc xanh toluidin. Những hạt khúc xạ này được mô tả đầu tiên bởi Babes và Ernst năm 1895, bao gồm phosphat và thuộc về loại polyphosphat hữu cơ sợi dài như là muối của Graham. Các hạt nhiễm sắc được quan sát với cả ba loại vi khuẩn của nhóm *Corynebacterium–Mycobacterium–Nocardia*. Nhưng ở *Mycobacterium* các hạt nhiễm sắc đã không nhìn thấy được ở giai đoạn vi khuẩn phát triển tối đa, tuy vậy nó thường được nhìn thấy khi vi khuẩn này phát triển chậm và được cung cấp thêm phosphat vào môi trường. Ở giai đoạn phát triển tối đa của trực khuẩn bạch hầu ít thấy mesosome và không thấy hạt vùi chứa polyphosphat. Sự tập trung một số lượng đáng kể các hạt nhiễm sắc trong nhóm vi khuẩn *Corynebacterium–Mycobacterium–Nocardia* hình như là dấu hiệu của sự phát triển chậm của các vi khuẩn này. Những hạt nhiễm sắc xuất hiện trong tế bào già và không thấy trong các tế bào lúc các vi khuẩn này tái hoạt động.

Vai trò của các chuỗi dài polyphosphat để sử dụng trong sự chuyển hóa của các trực khuẩn bạch hầu thật sẽ được đề cập ở phần dinh dưỡng và chuyển hóa.

2.2.4. Sự tập trung của tellurium

Klett đã nhìn thấy một số vi khuẩn bao gồm cả trực khuẩn bạch hầu khi phát triển trong môi trường có muối của tellurium hoặc selenium đã làm giảm rõ ràng muối này và biến chúng thành kim loại tự do. Sự quan sát này giúp cho Conradi và Troch tạo ra môi trường bán chọn lọc chứa đựng potassium tellurit.

Năm 1941, Harry Morton và cộng sự đã tìm thấy những tinh thể giống như cát kim trong các tế bào trực khuẩn bạch hầu và *C. xerosis* nuôi cấy trên môi trường thạch tellurit. Họ gợi ý rằng vì phần lớn tinh thể chứa đựng trong các tế bào, như vậy các ion tellurit hoặc tellunos có khả năng khuếch tán qua vách bên tế bào nên làm giảm kim loại tellurium lắng đọng bên ngoài tế bào. Màu đen của tế bào và các tinh thể như kim đã không xuất hiện khi có thêm một ít nước bromin.

2.2.5. Các màng bên trong chất nguyên sinh hay mesosome

Các lát cắt của tế bào *Corynebacterium* như là C78 (–) tox khi phát triển ở tỷ lệ tối đa chỉ có dấu vết của hệ thống màng sinh chất. Sự thay đổi của các điều kiện dẫn tới sự chậm phát triển của vi khuẩn và xuất hiện nhiều màng nội sinh chất. Các mesosome của các vi khuẩn *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* và *Propionibacteria* tập trung tối đa ở giai đoạn không phân chia của vi khuẩn. Những tế bào như thế đã được Masahiko và cộng sự sử dụng như màng sinh chất để nghiên cứu sự tổng hợp ngoại độc tố của trực khuẩn bạch hầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hệ thống màng ở trực khuẩn bạch hầu hình như luôn luôn biểu hiện sự cuộn lại gắn bó mật thiết cùng với ADN vi khuẩn. Như vậy, số lượng mesosome nhiều nhất ở các tế bào vi khuẩn trong giai đoạn sinh sản thấp nhất và ngược lại sự thay đổi các hoạt tính enzym gắn với hệ thống màng của trực khuẩn bạch hầu chưa được xác định. Phương pháp để tạo ra hạt nguyên sinh là phương tiện quan trọng để nghiên cứu màng của *Corynebacterium*.

2.3. Nuôi cấy

Trực khuẩn bạch hầu ưa các môi trường có máu, huyết thanh và pepton. thích hợp với pH trung tính hoặc hơi kiềm và nhiệt độ 37°C. Vì thế các môi trường nuôi cấy, phân lập vi khuẩn phải có các điều kiện trên.

Trên môi trường thạch máu, trực khuẩn bạch hầu phát triển tốt, sau 24 giờ ở 37°C khuẩn lạc xuất hiện *(Xem hình P19 ở Phụ bản)*. Trên môi trường huyết thanh đông (môi trường Loeffler) khuẩn lạc của trực khuẩn bạch hầu cũng mọc sau 18 giờ. Nhưng trên hai loại môi trường này thường có nhiều vi khuẩn khác cũng phát triển rất sớm, đặc biệt là các *Streptococci*, vì thế người ta thường dùng môi trường Schroer là môi trường thạch máu có tellurit kali. Trên môi trường này, trực khuẩn bạch hầu tạo thành khuẩn lạc màu đen sau cấy 48 giờ. Các khuẩn lạc rất điển hình của các biovar trực khuẩn bạch hầu. Tellurit kali đã ức chế các vi khuẩn khác mà chủ yếu là liên cầu, một vi khuẩn có nhiều trong họng miệng nhưng ít ức chế trực khuẩn bạch hầu. Trong sản xuất vắc xin người ta thường dùng môi trường tổng hợp từ các acid amin và một số yếu tố khác (xem mục dinh dưỡng), trực khuẩn bạch hầu phát triển tốt và thu được ngoại độc tố thuận lợi hơn.

2.4. Dinh dưỡng và chuyển hóa

2.4.1. Dinh dưỡng

Drew và Mueller đã tìm ra môi trường tổng hợp thích hợp cho chủng PW8 phát triển và tạo ra ngoại độc tố. Môi trường này bao gồm β alanin, acid nicotinic, acid pimelic, cystein, glycin, valin, leucin, methionin, prolin, acid glutamic, tryptophan, ion amonium và cho thêm muối magie, mangan, sắt, kẽm, đồng. Để dùng hằng ngày, môi trường của Mueller và Miller rất thuận tiện. Môi trường được thay đổi bởi cho thêm pantothetanat, glutanmat và tryptophan (PGT) đáp ứng yêu cầu của các chủng khác nhau. Cũng có những nhóm nhất định của *Corynebacterium* không phát triển trên môi trường này, trừ khi cho thêm thiamin. Một số chủng intermedius thường dùng đã không phát triển trên môi trường PGT và thiamin. Hata và cộng sự đã thu được kết quả tốt khi cho thêm vào môi trường PGT acetat lactat. Trên môi trường này, các chủng intermedius phát triển rất tốt.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Mueller và Cohen đã phát hiện thấy rằng acid oleic có tác dụng làm tăng kích thước của khuẩn lạc trực khuẩn bạch hầu. Để phân lập, xác định tính chất khuẩn lạc trực khuẩn bạch hầu và sản xuất nhiều ngoại độc tố, các môi trường phức hợp đã được sử dụng.

2.4.2. Sự chuyển hóa đường

Trực khuẩn bạch hầu là những vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy ngộ. Chúng lên men glucose dẫn tới sự kìm hãm thậm chí diệt khuẩn trong môi trường lỏng. Sự chuyển hóa đường tạo thành các sản phẩm acid acetic, mormic, propionic và một số acid lactic, succinic và rất ít ethanol. Mặc dù khi sử dụng maltose (hoặc galactose) làm nguồn năng lượng, mức độ kìm hãm của những acid được tạo thành là không xảy ra. Có những bằng chứng cho thấy trực khuẩn bạch hầu đã chuyển hóa glucose theo cả hai con đường (Embden – Meyenhof – Parnas và Pentose phosphat). Hulanicks là người đầu tiên đã tìm ra dấu hiệu của sedoheptulase và sự chuyển dạng của nó thành hexose. Ông đã đưa ra bằng chứng của phosphopentose isomease, epimerase, transketolase và con đường pentose phosphat ở trực khuẩn bạch hầu. Các kết quả này được khẳng định bởi công trình của Zagallo và Wang họ đã sử dụng kỹ thuật radiorespirometric và dùng nguồn carbon năng lượng là glucose hoặc gluconat được gắn với các phân tử carbon khác nhau và kết luận rằng sự sử dụng glucose và gluconat ở *C. xerosis* chủ yếu bằng con đường pentose. Các tác giả này cho biết, sử dụng glucose ở *C. equi* bằng cả hai con đường EMP và PP và hai con đường này tương đương nhau.

2.4.3. Sự chuyển hóa và các chuỗi dài ở polyphosphat

Trong phần kết luận về tế bào, người ta đã nêu lên rằng, các hạt vùi của các chuỗi polyphosphat dài đã được tìm thấy trong các tế bào của các vi khuẩn thuộc nhóm *Corynebacterium–Mycobacterium–Nocardia* như là những kho chứa đựng phosphat. Sali, Mudd và Davis nghiên cứu sự xuất hiện hoặc không của các hạt vùi phosphat trong các tế bào trực khuẩn bạch hầu không phân chia. Các tế bào này ủ với glucose hoặc maltose. Trong các tế bào ủ với glucose các hạt vùi đã giảm dần mà không có sự xuất hiện của phosphat bên ngoài tế bào. Trong các tế bào ủ với maltose các hạt vùi tăng lên đều đặn. Nghiên cứu phân biệt của các thành phần phosphat của các tế bào chứa đựng các hạt vùi phosphat trước và sau khi ủ với glucose hoặc maltose đã chỉ ra rằng sự xuất hiện của glucose ARN – phospho tăng lên ở sự tiêu phí phosphat, trong khi đó với sự xuất hiện của maltose polyphosphat tăng ở sự tiêu phí phospho ARN.

2.5. Hình dạng khuẩn lạc

Mỗi chủng vi khuẩn bạch hầu có lớp protein bề mặt, Lautrop gọi lớp protein

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

này là kháng nguyên K. Các kháng nguyên K này quyết định hình dạng khuẩn lạc của các vi khuẩn. Các thí dụ điển hình của những khuẩn lạc nhẵn (S) và xù xì (R) của phế cầu, *E. coli*, *Shigella* v.v... Mặc dù khuẩn lạc R và S của trực khuẩn bạch hầu đã được biết đến từ lâu, nhưng mãi tới những năm 40 của thế kỷ XX, nhóm nghiên cứu của McLeod mới tiến hành những khảo cứu có tính chất hệ thống và thu được những hiểu biết tổng quát về các khuẩn lạc của gravis, mitis và intermedius.

Nhờ sử dụng mức độ nhiễm độc, các tác giả trên đã tìm hiểu được mối tương quan giữa khuẩn lạc trực khuẩn bạch hầu phân lập từ người bệnh với mức độ nhẹ của bệnh bạch hầu, đó là biovar mitis. Khuẩn lạc bán sù xì (S – R) thường phân lập từ những bệnh nhân nặng, đó là biovar gravis. Còn khuẩn lạc hơi nhẵn thường phân lập từ bệnh nhân nặng vừa, đó là biovar intermedius. Sự biến dị từ khuẩn lạc S – R đã được báo cáo. Khả năng thủy phân tinh bột của gravis thì không rõ, còn một số tính chất riêng biệt khác của các genotype cần được nghiên cứu thêm.

Có những thay đổi các loại kháng nguyên của trực khuẩn bạch hầu. Một số kiến thức về nó là cần thiết cho sự hiểu biết chính xác về bệnh bạch hầu. Ở những người đã được miễn dịch chủ động sau dùng vắc xin bạch hầu hoặc sau nhiễm trùng trong máu có kháng thể tuần hoàn. Các biểu hiện của phản ứng Schick có thể đánh giá được đáp ứng kháng thể. Miễn dịch tạo ra bởi loại kháng nguyên riêng có thể có tác dụng chống đỡ với nhiễm trùng của các chủng trực khuẩn bạch hầu khác hoặc không. Nhưng sự sản xuất ngoại độc tố của trực khuẩn bạch hầu không phụ thuộc vào kháng nguyên K mà phụ thuộc vào gen *tox* (+) của Corynephage. Tất cả ngoại độc tố của trực khuẩn bạch hầu đều thuần nhất về phương diện hóa miễn dịch. Những người sống sót sau khi bị bệnh bạch hầu hoặc sau khi đã dùng vắc xin giải độc tố bạch hầu đều có kháng thể tuần hoàn. Sau khi bị nhiễm trực khuẩn bạch hầu có type kháng nguyên K khác, các cơ thể này đã có miễn dịch chống lại độc tố. Các nhà lâm sàng đã báo cáo sự phát triển của bệnh bạch hầu có thể gặp trong những người có miễn dịch với độc tố bạch hầu (với mức độ kháng thể 0,1 – 05 au/ml). Các báo cáo này cũng được khẳng định bởi các phòng xét nghiệm và phòng thực nghiệm. Tầm quan trọng của miễn dịch kháng vi khuẩn trong dịch tễ bệnh bạch hầu đã được xác định, mặc dù không cho những đánh giá tổng quát.

Cách đây 60 năm, Moron đã chỉ ra rằng ngoài ba loại khuẩn lạc của trực khuẩn bạch hầu đã được công trình của Leeds mô tả, còn có loại khuẩn lạc R và M. Ông cũng cho rằng, có những khó khăn trong sự phân loại trực khuẩn bạch hầu dựa trên khuẩn lạc. Morton còn tìm thấy hình thức qua lọc của trực khuẩn bạch hầu, chúng ta có thể gặp loại này trong các nước lọc ngoại độc tố trực khuẩn bạch hầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.6. Enzym, sắc tố và các sản phẩm đáng quan tâm

2.6.1. Các bacteriocin

Thibaut và Frederiog đã mô tả các bacteriocin được sản xuất bởi trực khuẩn bạch hầu. Krylova và Tashapulatova đã gọi những chất này là các Corynecin. Ngoài thuộc tính ức chế và sự phát triển của chúng, người ta còn dựa vào các chất này để phân loại.

2.6.2. Catalase

Hoạt tính catalase là thuộc tính cần thiết để phân loại trực khuẩn bạch hầu thật hay giả. Đây là cách phân loại dễ dàng của các nhóm vi khuẩn khác nhau trong loài. Robinson chỉ ra rằng các catalase của các con thú dễ dàng tách biệt bởi miễn dịch điện di trên gel tinh bột hoặc polyacrylamit. Herbert đã chứng minh quan điểm chung về sự tinh thể hóa catalase từ các vi khuẩn Gram dương. Sự nghiên cứu so sánh catalase của trực khuẩn bạch hầu đã đưa lại những đóng góp có giá trị. Edward đã tìm ra rằng số lượng catalase của trực khuẩn bạch hầu phát triển ở môi trường lỏng phản ánh biểu đồ phát triển của vi khuẩn, cystinase và H_2S.

Các môi trường được sử dụng rộng rãi hiện nay để phân biệt trực khuẩn bạch hầu thật và giả có khả năng tạo thành H_2S từ cystin hoặc cystein. Khi có K_2FeO_3, H_2S được tạo thành quanh khuẩn lạc dẫn tới vòng màu nâu tối. Tinsdale là người đầu tiên mô tả môi trường tellurit–cystin. Porten đã báo cáo có thể sử dụng môi trường này trên giấy, bà đã dùng môi trường tellurit–cystin cải tiến để phân biệt trực khuẩn bạch hầu độc tố và các diphtheroid. Tác giả đã đi đến kết luận rằng 20% các nuôi cấy (31/159) có các vòng tối nâu, trong số này có 81% (26/32) chủng vi khuẩn bạch hầu độc lực và 19% (6/32) là các chủng trực khuẩn bạch hầu không có ngoại độc tố phản ứng giả. Cystinase là dấu hiệu di truyền hữu ích, mặc dù nó không phải là chỉ thị của toxinogen.

2.6.3. Glycoside hydrolase

Tất cả trực khuẩn bạch hầu có thể thủy phân maltose, nhưng người ta không xác định tính chất của các vi khuẩn này bằng hydrolase glucan. Vấn đề này tương tự với sự thủy phân tinh bột. Những chủng nhất định trực khuẩn bạch hầu có thể thủy phân saccharose. Thực tế này không phải là đánh giá chung và sự lên men saccharose thì vẫn được sử dụng để phân biệt trực khuẩn bạch hầu. Trehalose–1–glucohydrolase chỉ có với các chủng *C. diphtheriae* var. *ulcerans*. Tất nhiên trehalose được tổng hợp bởi tất cả các chủng trực khuẩn bạch hầu và trehalose cũng xuất hiện ở môi trường nuôi cấy *C. xerois*. Không có chủng trực khuẩn bạch hầu thật nào có hoạt tính của galactosidase. Takafumi và Moryjama

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

đã nghiên cứu một số đặc điểm của neuraminidase của các trực khuẩn bạch hầu. Những kết quả này đã được khẳng định và mở rộng bởi Marek Jagielski. Cả hai tác giả này đã tìm thấy có nhiều neuraminidase trong tế bào vi khuẩn nuôi cấy ở môi trường giàu ion sắt hơn là ở các tế bào phát triển trong môi trường nghèo ion này. Moriyama chỉ ra rằng enzym này gắn vào màng tế bào và nó được tạo ra bởi phần lớn các chủng trực khuẩn bạch hầu. Sự phát hiện này được mở rộng ra với các chủng *C. ovis* và *C. ulcerans*.

2.6.4. Enzym hemolysin

Có những serotype nhất định của trực khuẩn bạch hầu sản xuất hemolysin không khuếch tán (gắn tế bào). Nó làm tan hồng cầu chuột lang nhiều hơn hồng cầu thỏ và cừu. Sự làm tan hồng cầu này bị ức chế bởi cystein và thioglycolate. Sự xuất hiện của hemolysin liên quan với hoạt động phát triển của vi khuẩn. Penicillin đã ức chế sự tạo thành của enzym này trong các tế bào sinh sản nhanh và không có tác dụng ở các tế bào không phân chia.

2.7. Sinh vật hóa học

Dựa trên tính chất sinh vật hoá học để phân biệt trực khuẩn bạch hầu và trực khuẩn giả bạch hầu.

Bảng 4.1. Các tính chất sinh vật hóa học của các loài *Corynebacterium*

Loài	Catalase	Nitrate	Urease	Gelatinase	Tạo thành acid từ		
					Glucose	Maltose	Trehalose
C. diphtheriae	+	+	–	–	+	+	–
C. ulcerans	+	–	+	+	+	+	L**
C. hofmannii	+	+	+	–	–	–	–
C. xerosis	+	+	–	–	+	+	–
C. pseudotuberculosis	+	V*	V*	V*	+	+	–
C. equi	+	+	V*	–	–	–	–
C. heamolyticum	–	–	–	–	+	+	V*
JK bacteria	+	–	–	–	L**	L**	L**

V*, thay đổi; L**, lên men chậm

2.8. Sự đề kháng

Trực khuẩn bạch hầu thuộc loại vi khuẩn có khả năng đề kháng cao. Chúng ít nhạy cảm với ánh sáng và nhiệt độ. Chúng đề kháng sulfamide, nhưng nhạy

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cảm với penicillin và kháng sinh có hoạt phổ rộng. Trực khuẩn bạch hầu có thể tồn tại ở đồ chơi và quần áo từ một đến vài tuần. Do đó đồ chơi trẻ em có thể làm lây lan trực khuẩn bạch hầu.

3. PHÂN LOẠI

3.1. Các type huyết thanh học

Protein không bền vững với nhiệt độ được Wong, Tung và Huang mô tả, Cummins cho rằng nó là kháng nguyên bề mặt và Lautrop gọi là kháng nguyên K.

Trước khi khái niệm này được nghiên cứu hệ thống, đã có những bằng chứng hiển nhiên của vai trò kháng nguyên này trong miễn dịch chống vi khuẩn và quá mẫn bạch hầu. Các vai trò này được tách biệt ra từ miễn dịch chống độc tố bạch hầu. Lautrop đã xác định một kháng nguyên bền vững với nhiệt độ (trong 2 giờ). Đó là kháng nguyên O, nó là kháng nguyên chung cho tất cả các chủng trực khuẩn bạch hầu và với các chủng *C. mitis* còn có một kháng nguyên O phụ thêm. Hình như các kháng nguyên O này có sự thay đổi phần arabinogalactan trên vách tế bào vi khuẩn và phân nhóm *Corynebacterium–Mycobacterium–Nocardia*. Các kháng nguyên K đặc hiệu (lớp K bề mặt) là hoàn toàn khác với kháng nguyên O ở một số chủng trực khuẩn bạch hầu, nhưng ở một số chủng khác lại có phản ứng chéo. Chủng PW8, có kháng nguyên K và được Huang ký hiệu là D5. Khi điều trị bằng antitoxin của PW8 những bệnh nhân bị nhiễm trực khuẩn bạch hầu có kháng nguyên K (D5) thì chóng hết trực khuẩn bạch hầu ở họng hơn là những bệnh nhân bị nhiễm trực khuẩn bạch hầu có kháng nguyên K khác. Khi so sánh tỷ lệ chết giữa lô người bệnh bị nhiễm trực khuẩn bạch hầu có kháng nguyên K (D5) và lô bệnh nhân bị nhiễm trực khuẩn bạch hầu kháng nguyên K khác, họ thấy rằng tỷ lệ này như nhau, mặc dù cả hai lô này đều được điều trị bằng SAD (serum antidiphtheria) của PW8. Số tử vong tuyệt đại đa số ở trẻ nhỏ bị bít tắc khí quản và thanh quản bởi màng giả bạch hầu, mà số lượng globulin kháng vi khuẩn chứa đựng trong SAD không đủ để có tác dụng ngăn cản phát triển của màng giả.

3.2. Xác định type bằng Corynebacteriophage

Sarages và Maximescu đã thu thập được 24 Corynebacteriophage. Dùng các phage này họ đã có thể phân loại được 19 type phage của trực khuẩn bạch hầu. Họ công bố rằng có thể định type 75% của 12.000 chủng trực khuẩn bạch hầu bằng hệ thống phage của họ.

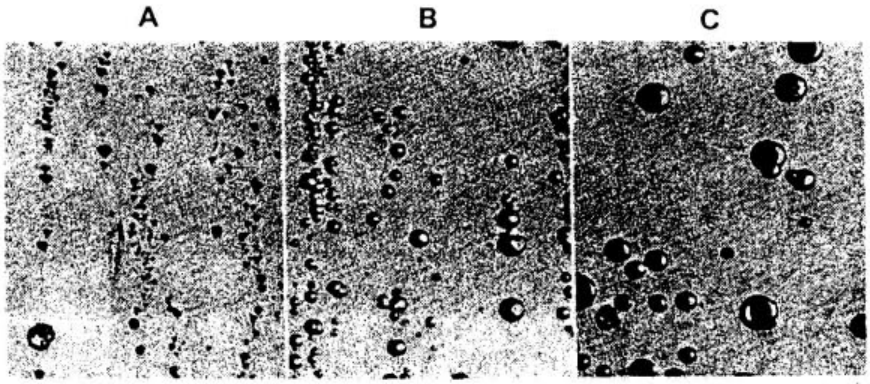
Sự nhạy cảm phage của các type có liên quan với serotype và miễn dịch lysogen, ADN của trực khuẩn bạch hầu chủ và serotype của phage.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.3. Type sinh học (biovar)

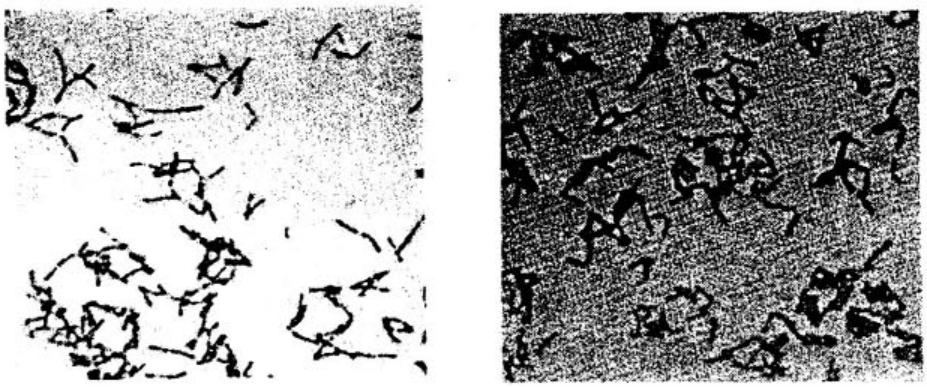
Bảng 4.2. Các đặc tính của 3 biovar vi khuẩn bạch hầu

Loại			Mitis	Intermedius	Gravis
Hình dạng	Kính hiển vi		Thường dài, có nhiều hạt nhiễm sắc với 80% điển hình	Thường phổ biến ở dạng tròn dài với 80% điển hình	Ngắn, nhỏ với 80% dạng điển hình
	Khuẩn lạc	Tellurit	Nhỏ, tròn, nhẵn, nhày dính và màu đen	Nhỏ, hình hộp, màu xám, mọc ở trung tâm	To, R, lồi lên ở trung tâm, xám đen
		Chocolate	Xám, nhẵn, lồi	Dẹt, khô, tạo thành những vùng xanh nhẹ	Dẹt, khô, hơi nhày
	Canh thang		Làm đục, có hạt, xốp, bé	Những hạt bé, đục đều	Hạt nhỏ và thay đổi
Sinh lý	Lên men	Glycogen	–	–	+
		Tinh bột	–	–	+
	Tan hồng cầu		–	–	+



Hình 4.1. Hình ảnh khuẩn lạc của trực khuẩn bạch hầu trên môi trường socola có telluric

A. *C. diphtheriae* biovar mitis; B. *C. diphtheriae* biovar intermedius; C. *C. diphtheriae* biovar gravis



Hình 4.2. Hình tế bào *C. diphtheriae* biovar gravis và *C. diphtheriae* biovar intermedius nhuộm methylen kiềm từ khuẩn lạc trên thạch máu

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Giữa các trực khuẩn bạch hầu độc lực, không có sự khác nhau về kháng nguyên nhưng có sự khác nhau về một số đặc điểm sinh học, trên cơ sở này trực khuẩn bạch hầu được phân thành ba type sinh học là: *C. diphtheriae* biovar gravis, *C. diphtheriae* biovar mitis và *C. diphtheriae* biovar intermedius.

Giữa ba biovar này cũng có sự khác nhau về khả năng gây bệnh. Gravis thường gây dịch bạch hầu lớn, còn mitis thường gây dịch bạch hầu tản phát, nhưng tồn tại dai dẳng. Dịch bạch hầu ở nước ta trong mấy năm gần đây là do biovar mitis. Giữa ba type không khác nhau về ngoại độc tố.

4. NGOẠI ĐỘC TỐ

4.1. Corynebacteriophage và gen *tox* (gen độc tố)

Năm 1951, Freeman đã phát minh ra rằng trực khuẩn bạch hầu không có độc tố trở thành độc tố sau khi bị nhiễm Corynebacteriophage. Sau đó phage này mang tên "β Corynephage". Doman và một số tác giả khác đã khẳng định phát minh này. Người ta đã ghi nhận một số ví dụ của những thay đổi gen vi khuẩn gọi là "lysogenic convert" sau khi phage đã tích hợp gen của nó vào nhiễm sắc thể vi khuẩn như sơ đồ sau:

Gen tộc tố (+) của phage có thể tồn tại và biểu hiện tính trạng ở ba loại *Corynebacterium*:

– *C. diphtheriae + 1 tox (+) → C. diphtheriae (1) tox*$^+$

– *C. ulcerans + 1 tox (+) → C. ulcerans (1) tox*$^+$

– *C. ovis + O tox (+) → C. ovis (O) tox*$^+$

Vi khuẩn chủ không tổng hợp ngoại độc tố → Vi khuẩn chủ trở thành tổng hợp ngoại độc tố.

Sự biểu hiện của gen *tox* trong các loại *Corynebacterium* thường là trực khuẩn bạch hầu và *C. ulceran* gây nhiễm trùng người, còn *C. ovis* gây bệnh nhiễm khuẩn cho cừu, bất cứ khi nào các loại vi khuẩn trên bị nhiễm và tích hợp bởi Corynephage mang gen tox (+).

Không may mắn là nhiều đòi hỏi tìm ra những thay đổi của loại này đã không thu được bằng chứng thật sự vì sự kết hợp của lysogen giả bắt chước lysogen thật phải có ít nhất hai điều kiện:

– Các chủng phage được dùng phải là phage ở ngoài vi khuẩn.

– Cho các vi khuẩn lysogen vào kháng thể của phage mà không ảnh hưởng tới điều kiện lysogen. Matsuda đã chỉ ra rằng β phage chứa ADN. Holmes gần đây đã tìm ra hệ thống giao phối cho β phage liên quan với Corynephage. Ông cũng đã nghiên cứu phage độc tố (+) không liên quan chặt chẽ với β phage.

Mới gần đây, Holmes đã kiểm tra các phage về huyết thanh và hình thái học,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cùng với khả năng sản xuất ngoại độc tố và qua sự tái tổ hợp di truyền như là phương tiện đánh giá sự liên quan của chúng. Và người ta đã khẳng định rằng độc tố dã xác định ở những phage riêng biệt về huyết thanh, hình thái học và không tái tổ hợp về di truyền. Khi nghiên cứu so sánh các phage (khác nhau là có gen độc tố hoặc không) về các tính chất: hiệu quả của sự hấp phụ, thời gian ẩn, sự ổn định khi cất giữ v.v... và gần như người ta không tìm thấy sự khác biệt giữa chúng. Các công trình khác cũng chỉ ra rằng độc tố đã được quyết định bởi các gen của β corynephage.

4.2. Tính ổn định của sự tích hợp prophage độc tố

Mặc dù người ta đã báo cáo rằng các chủng trực khuẩn bạch hầu độc tố có thể trở thành không độc tố do sự mất prophage độc tố, nhưng trong thực tế các chủng trực khuẩn bạch hầu độc tố đã duy trì sự bền độc lực tới 18 năm. Về phương diện này chủng PW8 là đặc biệt lý thú. Nó là vi khuẩn xù xì và không có receptor cho bất cứ Corynephage nào đã biết. Nó không thể tái nhiễm phage khác và không mất độc tố trong 74 năm nuôi cấy liên tục. Gần đây người ta đã kiểm tra 5 chủng PW 8 thu được từ các địa điểm khác nhau trên thế giới và đã tìm thấy rằng chúng đều là những chủng độc tố và lysogenic.

Maximescu và cộng sự khi sử dụng các Corynephage khác nhau đã chỉ ra rằng gen độc tố có thể tồn tại và biểu hiện tính trạng ở các loại vi khuẩn *Corynebacterium* var. ulcerans, *C. ovis*. Phát hiện này đã được khẳng định bởi Goldzimer và Arden.

4.3. Sản phẩm của gen độc tố

Bảng 4.3. Một số tính chất của ngoại độc tố trực khuẩn bạch hầu và các protein liên quan

Protein	Trọng lượng phân tử (khoảng) KDa	Độc tố (MLD/μg)	Hoạt tính enzym (%)**	Bám (gắn)	Số lượng của nửa cysteine
Ngoại độc tố	61	25–30	100	(+)	4
Giải độc tố	61	0	0	–	4
Phân đoạn A	21,15	0	100	–	1
Phân đoạn B	39	0	0	+	3
CRM* 45	45	0	100	–	2
CRM* 176	61	ca. 0,1	8–10	+	4
CRM* 197	61	0	0	+	4

*: các chất có phản ứng huyết thanh chéo; **: ức chế enzym longer factor gây ngăn cản giải phóng các ARN vận chuyển nên protein không tổng hợp tiếp tục được.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Độc tố trực khuẩn bạch hầu là protein đơn giản, nó được sản xuất trực tiếp hoặc gián tiếp bởi gen độc tố. Trọng lượng phân tử của protein này khoảng 61 kDa. Một số tác giả khác công bố trọng lượng phân tử của ngoại độc tố bạch hầu là 60–64 kDa.

Số lượng acid amin của nó không nhiều và nó dễ dàng tinh thể hóa từ môi trường tổng hợp. Ngoài ra không thấy chức năng khác của ngoại độc tố ở trong và ngoài tế bào vi khuẩn (trừ độc tính).

Ngoại độc tố bạch hầu gây chết cho người và động vật với liều lượng 130 ng/kg trọng lượng cơ thể. Các công trình của Lennox và Kaplan bắt đầu làm sáng tỏ tác dụng gây chết của độc tố bạch hầu. Người ta đã thống kê các tế bào động vật có tác dụng và không có tác dụng với ngoại độc tố. Sử dụng các tế bào Hela, Strauss và Hends đã chỉ ra rằng, ở các tế bào Hela bị nhiễm độc, sự hô hấp ái khí và phân hủy glucid tiếp tục với tỷ lệ bình thường trong nhiều giờ, trong khi đó sự tổng hợp protein đã dừng lại rất sớm qua methionin phóng xạ. Các tế bào Hela bị nhiễm độc phát triển trong vòng 4 giờ và 7 giờ sau khi tiếp xúc với độc tố thì bị phá hủy. Vì nhiệt độ thấp đã ức chế sự nhiễm độc của tế bào Hela, nên nó là phương tiện dễ dàng cho các nhà nghiên cứu kiểm tra bước đầu tiên của sự tương tác giữa các độc tố và tế bào. Độc tố đã hấp phụ nhanh vào tế bào sau đó độc tố không có tác dụng trên phosphoryl oxy hóa (oxidative phosphorylation) trong tế bào Hela.

Kato và Pappenheimer (1960) và Kato (1962) đã đưa ra bằng chứng cho tác dụng ngoại độc tố trên sự tổng hợp protein của tế bào động vật có vú. Gollier và Papenheiner đã tìm ra rằng NAD đã cần thiết cho sự ức chế sinh tổng hợp protein của hệ thống tế bào tách rời (tế bào Hela và tế bào lưới của thỏ). Gần đây hơn Collier, Goor và Pappenheimer đã chỉ ra rằng độc tố bất hoạt đặc hiệu enzym transferase II, translocase liên quan trong sự phát triển, trực tiếp ARN thông tin của các chuỗi polypeptide. Năm 1968, Honjo, Nishizuka Hayaishi và Kato đã đưa ra bằng chứng về cơ chế bất hoạt của ngoại độc tố với enzym. Các tác giả này cũng chỉ ra rằng số stoichiometric của nicotinamide đã được giải phóng và phản ứng có thể đảo ngược. Hơn nữa các tác giả còn chỉ ra bằng chứng rằng guanosin triphosphatase phụ thuộc ribosom hoạt động kết hợp với transferase II bị bất hoạt trong cùng phản ứng độc tố làm giảm ADN–ribosylation. Công trình xuất sắc này nêu một khía cạnh rất không sinh lý là phản ứng ADN–ribosyl bình thường ở pH 8, 2 và phản ứng nghịch xảy ra ở pH 5,3.

Collier và Goor đã công bố độc lập nhau rằng ngoại độc tố bạch hầu bao gồm một số loại phân tử. Goor mô tả chuỗi nặng có tốc độ lắng 6,8 S. Gần đây, Relyveld đã nêu ra bằng chứng là chuỗi nặng độc tố của Goor có thể là sản phẩm của phân đoạn sulfat amonium. Collier đã nêu ra là chuỗi nhẹ của độc tố có tốc

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

độ lắng là 2,55S. Phát hiện này của Collier đã được khẳng định bởi Bizzini và cộng sự. Các tác giả này công bố rằng tốc độ lắng của độc tố thì giảm xuống từ 4,2 đến 2,5 sau khi tách disulfit và với phát hiện của Iskierko là độc tố có nhiều đầu tận cùng amin với phân tử lượng 64.000 Dalton. Collier còn nêu ra các bằng chứng gợi ý rằng có thể các tiểu đơn vị không độc tính và nó dẫn tới sự tổng hợp những protein không chức năng. Collier còn công bố rằng các tiểu đơn vị 2,55 có khả năng ức chế phản ứng đặc hiệu giữa độc tố và ngoại độc tố đó.

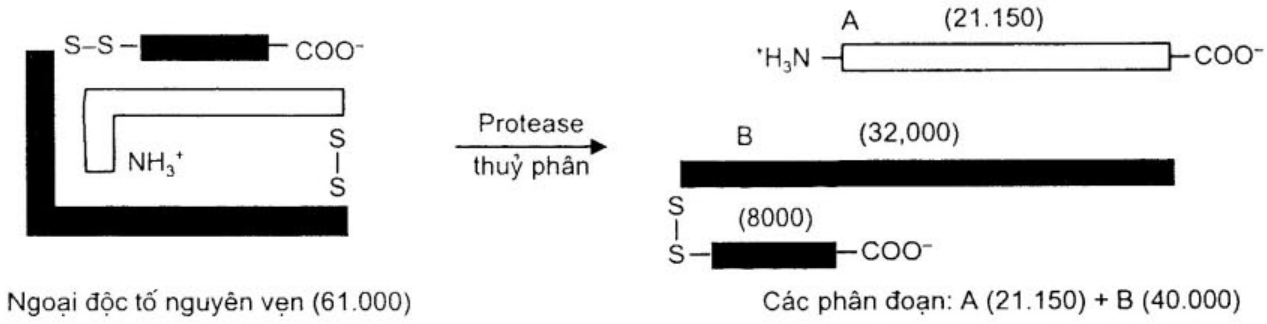
4.4. Sự điều khiển biểu hiện tính trạng của gen độc tố

Các chủng trực khuẩn bạch hầu khác nhau có khả năng sản xuất độc tố rất không giống nhau trong những điều kiện bình thường. Mặc dù tất cả các chủng trên đều mang prophage độc tố dương. Do các vi khuẩn đã kiểm tra việc sản xuất độc tố. Vấn đề thực sự quan trọng là lượng sắt trong tế bào là vi khuẩn. Trong đại đa số các chủng vi khuẩn, lượng độc tố chỉ tăng lên ở giai đoạn cuối cùng của sự phát triển, khi lượng sắt ở môi trường chỉ còn giới hạn và hàm lượng sắt trong tế bào vi khuẩn đã giảm xuống. Nói chung lượng độc tố thu được quyết định bởi sự phát triển của vi khuẩn nhanh như thế nào, sau khi lượng sắt cung cấp đã hết. Ví dụ chủng trực khuẩn bạch hầu PW8 (Park–Williams 8, chủng vẫn dùng để sản xuất vắc xin) khi phát triển ở tỷ lệ hằng định và khối lượng tăng 5–6 lần với lượng sắt dự trữ không còn nữa. Trong quá trình này độc tố được sản xuất ở những tỷ lệ khác nhau tương đương 5% của toàn bộ protein được tổng hợp. Trong môi trường không có Fe và succinat được dùng làm nguồn năng lượng, độc tố được tổng hợp ở tỷ lệ tối đa (khoảng 5 µg cho 10^9 tế bào vi khuẩn trong 1 giờ). Số lượng độc tố ít nhất chiếm 35% toàn bộ protein tổng hợp (khi nó chiếm nhiều gần như toàn bộ protein ngoài tế bào). Điều đó gợi ý rằng các protein này chỉ được tổng hợp trong những điều kiện như thế này. Nếu cho thêm vài µg Fe cho mỗi ml môi trường, sự sản xuất độc tố dừng lại.

4.5. Cấu trúc ngoại độc tố

Bằng điện di gel polyacrylamid – SDS ngoại độc tố là một chuỗi polypeptide có trọng lượng phân tử 61.000 Dalton, được tổng hợp và giải phóng ra môi trường bên ngoài tế bào. Trong những điều kiện thích hợp, việc sản xuất, tinh khiết và tinh thể hóa độc tố là không khó khăn. Độc tố tinh khiết có độc tính cao với nhiều loài, bao gồm: người, chuột lang, thỏ và một số loài chim, mặc dù một số động vật như chuột nhắt, chuột cống và những dòng tế bào tách ra từ chúng ít nhạy cảm với độc tố. Với các loài động vật nhạy cảm liều gây chết là 50–100 ng/kg; 10^8 phân tử độc tố tiêm nội bì gây ra các phản ứng quan sát được trong 48 giờ. Các phân tử độc tố cao bị acid làm mất cấu trúc tự nhiên. Ở pH dưới 5,5 độc tố bị kết tủa, mất độc tính và khi pH trở lại trung tính, độc tố vẫn bị tủa. Ở pH 6 và 53°C độc tố bị kết tủa trong ít phút.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 4.3. Sơ đồ cấu trúc ngoại độc tố bạch hầu

Toàn bộ các vị trí acid amin của ngoại độc tố bạch hầu đã được xác định ở một số phòng thí nghiệm. Mỗi phân tử chứa 2 cystein đầu tận $-NH_2$, disulfide đối diện với vòng cung lộ ra giữ 14 acid amin. Vòng cung này chứa 3 arginin. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, độc tố tinh khiết và đậm đặc có chứa sắt và ít protease thì một lượng khá lớn độc tố đã bị thủy phân. Nếu giữ độc tố ở điều kiện lạnh hoặc đông khô, độc tố sẽ bị giảm phẩm chất ngày một nhiều. Ngay cả sau khi một số liên kết peptide đã bị cắt, độc tố vẫn còn giữ được cấu trúc bậc 3 và độc tính giảm xuống đáng kể với các tế bào nuôi cấy.

Để giảm thiểu hoạt động thủy phân, vi khuẩn cần được nuôi cấy trong những môi trường giàu pepton và các chiết xuất của tổ chức. Người ta có thể thu được độc tố nguyên vẹn khi tinh khiết nhanh ở nhiệt độ thấp.

Cho thiol vào độc tố đã bị phân cắt, dẫn tới sự phá hủy nhanh chóng các cầu disulfide gần đầu tận cùng $-NH_2$ và phân tử được cắt thành hai đoạn A và B. Trọng lượng phân tử của đoạn A là 21.000 và đoạn B là 40.000 Dalton. Cầu disulfide thứ 2 vẫn ở đoạn B và khó thủy phân hơn. Có thể tách các phân đoạn bằng gel lọc trong sodium dodecyl sulfat, guanidin hoặc ure.

Các phân đoạn A và B khác nhau đáng kể về các thuộc tính lý hóa. Trong kháng thể kháng SAD chúng đã không có phản ứng chéo. Kháng thể của phân đoạn A thuần khiết đã không trung hòa hoặc kết tủa được độc tố nguyên vẹn và nó chỉ trung hòa được hoạt tính enzym của phân đoạn A. Kháng thể của những động vật đã được gây miễn dịch bởi độc tố nguyên vẹn đã được formalin hóa chứa đựng rất ít kháng thể chống A. Sau khi xử lý với thiol, độc tố không bị phân cắt mất hoạt tính enzym và hình như là phần lớn chuỗi polypeptide A bị che lấp trong phân tử độc tố nguyên vẹn.

4.6. Những protein đột biến liên quan huyết thanh học với độc tố

Người ta đã phát hiện được một số lượng đáng kể các β–phage mang các gen độc tố đột biến. Các gen này chỉ huy tế bào chủ sản xuất các protein không có độc tính hoặc rất ít độc tính nhưng có kháng nguyên chung với độc tố. Người ta đã sử dụng các protein này để nghiên cứu cơ chế tác dụng và sự sinh tổng hợp của các độc tố.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.7. Hoạt tính enzym của ngoại độc tố bạch hầu

Độc tố bạch hầu ức chế sinh tổng hợp protein trong các nuôi cấy của những tế bào động vật có vú nhạy cảm độc tố và những tế bào tách rời từ các nuôi cấy bởi sự bất hoạt enzym vận chuyển (translocating enzyme, elongation factor 2 + EF_2). Tất cả hoạt tính enzym là do phân đoạn A, ít nhất nó đã xúc tác ba nhóm phản ứng vận chuyển liên quan đến NAD^+

$$NAD^+ + EF - 2^* \xrightarrow{A} ADP - \text{ribosyl } EF_2 + \text{Nicotinamid} + H^+ \quad (1)$$

$$NAD^+ + HOH \xrightarrow{A} ADP - \text{ribosyl} + \text{Nicotinamid} + H^+ \quad (2)$$

$$NAD^+ + \text{toxin} \xrightarrow{A} ADP - \text{ribosyl toxin} + \text{Nicotinamid} + H^+ \quad (3)$$

*EF–2: elonger factor 2

Trên động vật thí nghiệm chỉ phản ứng đầu tiên là quan trọng. Các phản ứng 2 và 3 cần nồng độ cao của độc tố hoặc phân đoạn A của độc tố. Ở pH sinh lý, với nồng độ cao EF_2 và NAD^+, phản ứng 1 đã thực hiện gần như hoàn toàn với K 10^4. Mặc dù nếu NAD^+ được tách ra bởi thẩm tích, nicotinamide cho thêm vào thừa thãi và ở pH thấp, EF–2 tái hoạt từ ADP –ribosyl – EF_2 với sự tồn tại của phân đoạn A. Tương tự như vậy, hệ thống sinh tổng hợp protein chiết xuất từ tế bào Hela bị nhiễm độc hoặc từ cơ tim chuột lang bị nhiễm độc nặng có thể hoạt động khi cho thêm nicotinamid và phân đoạn A. Vì vậy ít nghi ngờ rằng phản ứng 1 đã gây ra tổn thương hóa sinh cơ bản trong nhiễm độc bạch hầu.

Ngoại độc tố và vắc xin

Năm 1888, Roux và Yersin đã tìm ra ngoại độc tố của trực khuẩn bạch hầu và chứng minh được vai trò bệnh sinh của nó. Năm 1923, G. Ramon đã bào chế thành công giải độc tố từ ngoại độc tố xử lý bằng 0,5% formalin ở 37°C trong 2 tháng. Giải độc tố không còn khả năng gây bệnh nhưng còn tính kháng nguyên của ngoại độc tố và được dùng như một vắc xin phòng bệnh bạch hầu rất có hiệu quả. Cho đến nay cả thế giới đều dùng vắc xin này cùng với giải độc tố của uốn ván và ho gà, gọi là vắc xin DPT.

4.8. Ngoại độc tố và ung thư trị liệu

Trong vài thập kỷ qua, người ta đã quan tâm nhiều tới việc dùng độc tố để chống lại các tế bào ung thư mà không độc hại cho các tế bào bình thường. Các độc tố của vi khuẩn, nấm và rắn được dùng vào mục đích này.

Các nghiên cứu so sánh sự nhạy cảm của độc tố với tế bào ung thư và tế bào bình thường. Năm 1969, Lin và cộng sự đã báo cáo rằng dùng liều độc tố gần liều gây độc tiêm vào các chuột nhắt bị u Ehrlich đã làm cho các u này hoại tử. Nếu dùng liều thích hợp độc tố tiêm cho chuột trong vòng 48 giờ sau khi đưa tế bào ung thư vào chuột, những con chuột này sẽ không mắc bệnh ung thư.

Tương tự với nghiên cứu trên, Yoshida đã báo cáo là ngoại độc tố có tác dụng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

điều trị giới hạn trên ung thư người loại sarcoma và lymphoma. Có một số báo cáo khác cũng khẳng định độc tố bạch hầu làm hoại tử u Ehrlich trong khi đó các tế bào bình thường đã không chịu tác dụng của độc tố này. Nhưng cần nhấn mạnh rằng liều điều trị trong các nghiên cứu trên rất gần với liều độc. Do vậy, cần nghiên cứu phương pháp để độc tố tập trung vào các khối u mới có tác dụng trong thực tế.

Độc tố cần được gắn đặc hiệu với tế bào đích. Một số phòng thí nghiệm đã tiến hành gắn độc tố bạch hầu với kháng thể hoặc lectin thực vật. Kháng thể và lectin sẽ đưa độc tố đến tế bào đích là những tế bào ung thư. Người ta đã gắn độc tố vào kháng thể chống virus quai bị và thử nghiệm trên tế bào thận khỉ nuôi cấy virus quai bị bị độc. Sau đó, người ta đã tiến hành những nghiên cứu tương tự với tế bào lympho và tế bào hạch bị chuyển dạng bởi virus SV40. Người ta cũng đã báo cáo rằng các tế bào phôi thai gà bị chuyển dạng bởi virus Rous sarcoma đã nhạy cảm với ngoại độc tố bạch hầu hơn các tế bào không chuyển dạng. Tuy vậy, các kết quả điều trị cũng còn rất hạn chế. Người ta vẫn chưa chứng minh được tác dụng trên là do gắn với chất mang (carrier) chứ không phải do liều lớn độc tố.

4.9. Những vấn đề cần được nghiên cứu về ngoại độc tố bạch hầu

Nhiều vấn đề hấp dẫn về ngoại độc tố cần được nghiên cứu. Đâu là nguồn gốc của gen độc tố? Gen này không cần thiết cho prophage mà cũng chẳng cần cho vi khuẩn chủ. Chỉ một sản phẩm của gen độc tố được biết là chất đặc hiệu với receptor của màng sinh chất tế bào có màng nhân và EF2 – một enzym cần thiết cho các tế bào này. Trước đây, người ta cho rằng gen *tox* có thể từ tế bào có màng nhân tình cờ gắn vào prophage. Nhưng gần đây, người ta lại cho rằng nguồn gốc của gen này là từ vi khuẩn với các lý do sau:

– Ngoại độc tố được tạo ra từ vi khuẩn khác loài *P. aeruginosa* cũng có tác dụng ribosylation – ADP của EF_2 tế bào có màng nhân.

– Tác dụng tương tự của ngoại độc tố bạch hầu với NAD^+ glicohydrolase được tạo ra bởi nhiều loại vi khuẩn.

– Bằng chứng cuối cùng là gen độc tố của prophage thì gắn cạnh vị trí tấn công của nhiễm sắc thể vi khuẩn.

Người ta cũng đang nghiên cứu bản chất protein gắn sắt ức chế sinh tổng hợp độc tố tồn tại trong tế bào trực khuẩn bạch hầu độc và không độc. Nó có chức năng gì trong các tế bào không độc tố mà ở đó không có gen *tox*?

Người ta đã khẳng định rằng ở mức độc phân tử trong các tế bào bị nhiễm độc tố bạch hầu, tổn thương đầu tiên là phân đoạn A xúc tác sự vận chuyển nữa ribosyl ADP từ NAD^+ tới EF_2. Do vậy, EF_2 bị bất hoạt và sự tổng hợp protein ngừng lại. Đã không có bằng chứng về cơ quan đích đặc hiệu với độc tố. Tổn thương được tìm thấy trong phần lớn các tổ chức của các động vật bị nhiễm độc.

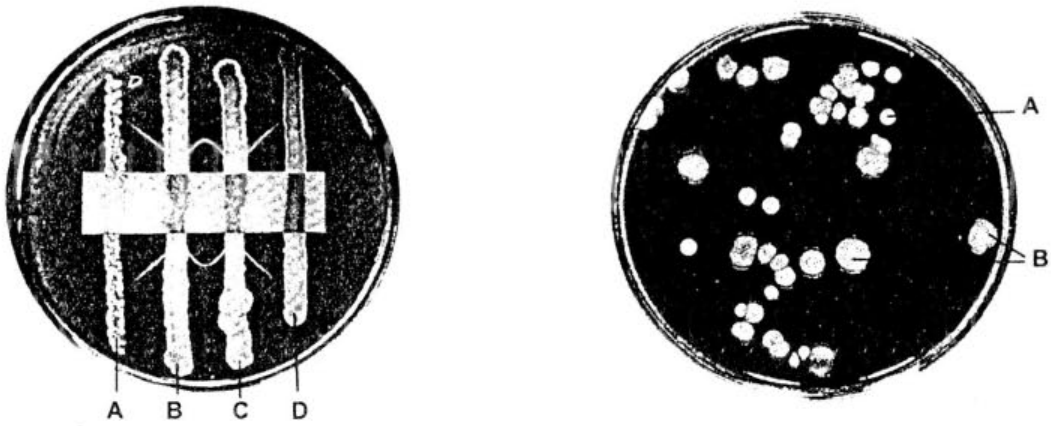
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Gần như người ta không biết về hàng loạt các sự kiện về tổn thương ban đầu ở phân tử dẫn tới cuối cùng là sự thay đổi của chuyển hóa glucid về sự đề kháng với insulin, tổn thương hình dạng và sau này là sự chết của động vật.

Để tác dụng ribosylation–ADP của EF2 trong nguyên sinh chất, phân đoạn A (21.000 Dalton) phải vận chuyển qua màng dilipid và tách khỏi phân tử không hoạt động để xuất hiện phân đoạn B. Phân đoạn này nằm ngoài màng sinh chất. Cơ chế xâm nhập của chuỗi polypeptide A thì đang được nghiên cứu bởi nhiều phòng thí nghiệm. Phân tử độc tố bạch hầu bao gồm ba vùng chức năng rõ rệt. Vùng tận cùng bằng nhóm –COOH ưa nước, đầu tiên tương tác với số lượng giới hạn các phân tử tiếp nhận trên bề mặt của màng sinh chất. Vùng này lại gắn với phân đoạn A tận cùng bằng –NH2 kỵ nước có hoạt tính enzym. Đoạn này gắn vào màng sinh chất trong quá trình xâm nhập. Đến hiện nay người ta vẫn chưa biết bản chất hóa học và vai trò làm thuận lợi cho sự vận chuyển phân đoạn A qua màng của các phân tử tiếp nhận.

5. KHÁNG NGUYÊN VÀ MIỄN DỊCH

Trực khuẩn bạch hầu có hai loại kháng nguyên là kháng nguyên thân (O) và kháng nguyên bề mặt (K). Có thể dựa trên hai kháng nguyên này để định type trực khuẩn bạch hầu. Nhưng giữa các kháng nguyên này và độc lực của trực khuẩn bạch hầu không có sự liên quan. Vì thế, người ta không định loại vi khuẩn theo kháng nguyên.



Hình 4.4. Phản ứng Elek

A, D: Các chủng bạch hầu không sinh ngoại độc tố;
B, C: các chủng bạch cầu sinh ngoại độc tố, giữa chúng và miếng giấy thấm kháng thể chống độc tố có đường kết tủa trắng tạo nên do ngoại độc tố kết hợp với kháng độc tố.

A: Khuẩn lạc S của biovar mitis

B: Khuẩn lạc R của biovar gravis.

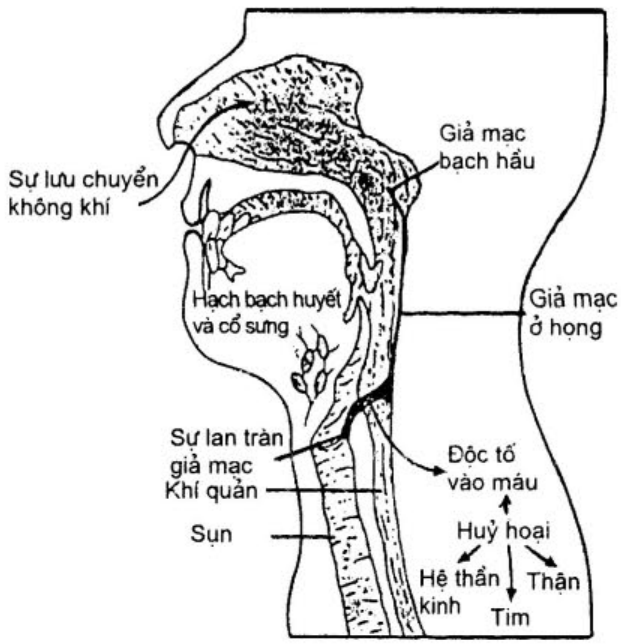
Kháng nguyên K (protein bề mặt) là những kháng nguyên đặc hiệu type của trực khuẩn bạch hầu. Đó là những protein không chịu nhiệt. Sử dụng sơ đồ của Kauffam, Lautrop cho rằng những kháng nguyên protein này quyết định type

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

huyết thanh học của trực khuẩn bạch hầu và gọi là kháng nguyên K. Nhưng sự gắn vào vách kháng nguyên K hãy còn chưa sáng tỏ. Sau khi nhiễm trực khuẩn bạch hầu hoặc sau dùng vắc xin bạch hầu, người ta có được miễn dịch bảo vệ. Đó là những kháng thể trung hòa độc tố. Nó vô hiệu hóa ngoại độc tố, nhưng không ngăn cản được người lành mang vi khuẩn. Do vậy, nếu lơ là việc tiêm phòng vắc xin bạch hầu là dễ dàng xảy ra dịch bệnh.

– Phản ứng Schick: để phát hiện sự miễn dịch (sự mẫn cảm với trực khuẩn bạch hầu) người ta thường dùng phản ứng Schick, đây là phản ứng trung hòa trong da. Tiêm 0,1 ml độc tố bạch hầu (có 1/50 MLD) vào trong da cẳng tay. Phía tay đối diện ta tiêm như trên, nhưng ngoại độc tố đã được hủy bằng nhiệt độ. Sau tiêm 5 ngày nếu tại nơi tiêm có quầng tím đỏ với đường kính từ 1 cm trở lên là phản ứng dương tính. Còn đường kính bé hơn, hoặc không có quầng đỏ là âm tính. Dương tính chứng tỏ cơ thể chưa có miễn dịch với trực khuẩn bạch hầu và âm tính là ngược lại. Nói cách khác, âm tính là cơ thể đã có miễn dịch bảo vệ với trực khuẩn bạch hầu. Phản ứng này được dùng để đánh giá tình trạng miễn dịch bạch hầu ở trong cộng đồng sau khi dùng vắc xin.

6. SINH BỆNH HỌC VÀ LÂM SÀNG BỆNH BẠCH HẦU



Hình 4.5. Sơ đồ gây bệnh của vi khuẩn bạch hầu

6.1. Thí nghiệm trên chuột lang

Nếu tiêm vào dưới da sườn chuột lang một liều canh khuẩn bạch hầu độc lực hoặc dịch lọc nước nuôi cấy trực khuẩn bạch hầu độc lực sẽ gây sưng tụ nơi tiêm trong khoảng 12–18 giờ; động vật ốm và chết trong khoảng tới 18 tới 90 giờ. Có xuất tiết và xuất huyết xuất hiện ở nơi tiêm, xung quanh nơi tiêm. Các hạch

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

bạch huyết lân cận cũng sưng to và xuất huyết. Phúc mạc, màng phổi và màng tim cũng có thể xuất huyết. Các cơ quan trong ổ bụng cũng xuất huyết, đặc biệt là tuyến thượng thận thường sưng to và xuất huyết nặng. Có thể sự thay đổi này là nguyên nhân tử vong. Cơ tim cũng có những thay đổi nhẹ. Nếu bôi trực khuẩn bạch hầu vào hầu họng thỏ, màng giả có thể xuất hiện.

Màng giả là dấu hiệu đầu tiên của nhiễm khuẩn bạch hầu có thể thấy ở người. Nó thường xuất hiện ở hầu họng. Trực khuẩn bạch hầu đã sinh sản tại nơi tổn thương và sản xuất ra ngoại độc tố. Ngoại độc tố xâm nhập vào cơ thể và gây ra tổn thương ở nhiều cơ quan, nhưng chủ yếu là tim và hệ thần kinh. Trực khuẩn bạch hầu không có xu hướng xâm nhập sâu vào cơ quan. Điều này đã được khẳng định khi chẩn đoán cơ thể bệnh vi thể. Không nghi ngờ rằng độc tố bạch hầu đã xâm nhập vào máu rồi tới tim và các cơ quan khác, sau đó gắn vào tế bào của các cơ quan này.

Sự tiếp cận của ngoại độc tố với hệ thống thần kinh bằng đường máu, đường bạch huyết hoặc đường nơron thần kinh thì chưa rõ. Nói chính xác ở hệ thống thần kinh mà ngoại độc tố tác động cũng chưa rõ. Sau này nhiều tác giả có xu hướng không công nhận là có trung tâm tổn thương ở hệ thần kinh, vì cho rằng độc tố không thể vượt qua hàng rào não – máu.

Người ta không tìm được ở bệnh nhân bị liệt nặng và tử vong có trung tâm bị tổn thương, nhưng người ta thấy sự mất myelin ở thần kinh ngoại biên. Ở những động vật thực nghiệm bằng tiêm ngoại độc tố bạch hầu, ngoại độc tố đã được tìm thấy ở gần hết các cơ quan nhưng không tìm thấy ở não. Ở hệ thần kinh sự gắn độc tố vào một số vùng dễ hơn các vùng khác. Sự liệt màn hầu có thể xảy ra với bệnh bạch hầu ngoài miệng. Trên người bị bạch hầu nặng, người ta đã tìm thấy ngoại độc tố ở vùng nhân và không tìm thấy ở vùng cạnh của dây thần kinh X. Phát hiện này nói lên rằng ít nhất đôi khi ngoại độc tố bạch hầu đã vượt qua hàng rào máu–não. Bệnh sinh liệt do bạch hầu ở người thì chưa được hiểu biết đầy đủ.

6.2. Màng giả (giả mạc) bạch hầu

Khi trực khuẩn bạch hầu định cư trên màng nhày miệng, chúng sinh sản ở đây nhưng thường không xâm nhập sâu. Sự tồn tại của nó tại đây đã gây ra phản ứng viêm cấp tính của tổ chức, bề mặt. Ổ viêm rộng ra và các dịch cùng bạch cầu xuất tiết. Các tế bào niêm mạc màng nhày bị hoại tử. Dịch tụ lại và bám vào các tế bào niêm mạc tạo thành những cục đông dính vững chắc vào bề mặt. Các tế bào bạch cầu, các mảnh vỡ tế bào, trực khuẩn bạch hầu, vi sinh vật khác và đôi khi cả các mao mạch nhỏ cũng bám vào đây, màng điển hình có thể dày từ 1–3 mm và khi bóc tách nó để lại bờ nham nhở. Trong giai đoạn sớm và đặc biệt ở những bệnh nhân bạch hầu nhiễm độc nặng màng này thường mỏng. Màng giả thường bám chặt vào thanh quản, khí quản. Vị trí thường gặp của màng giả là

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

mũi hầu, thanh quản và khí quản. Nhưng người ta cũng có thể tìm thấy nó ở bên trên và bên dưới bề mặt của mắt, tai, môi, ngón tay, ngón chân, dạ dày, ruột, âm đạo... *(Xem hình P20 ở Phụ bản).*

Phần lớn những thay đổi trong các nội tạng là không đặc hiệu. Đó là kết quả của sự nhiễm độc máu. Thậm chí các thay đổi này có thể không nhìn thấy cả khi bệnh nhân chết chậm vì liệt. Những tổn thương ở gan, lách và thận chủ yếu do nguyên nhân này. Trong các giai đoạn sớm, các hạch bạch huyết cổ thường sưng to, xuất huyết, phù nề, các tổ chức xung quanh. Trong những trường hợp như vậy trực khuẩn bạch hầu có thể được tìm thấy trong tổ chức bạch huyết và đường bạch huyết xung quanh màn hầu. Những thay đổi ở tuyến thượng thận là đáng quan tâm. Ngược lại với ở chuột lang và các động vật khác, ở người thường ít có thay đổi ở tuyến thượng thận trên đại thể và ngay cả vi thể, mặc dù lượng lipid của vùng vỏ giảm xuống một cách rõ rệt. Hiện nay, vẫn chưa có những công bố về nghiên cứu chức năng của tuyến thượng thận ở bệnh nhân bạch hầu vì ở các nước có thể thực hiện được đề tài này thì bệnh bạch hầu lại ít xảy ra.

6.3. Biểu hiện của tim trong bạch hầu

Những thay đổi về tim thì thường gặp và được phản ánh qua điện tâm đồ. Trong những trường hợp nhiễm độc, tim có thể to và mềm nhẽo, cơ tim thoái hóa mỡ và các bạch cầu xâm nhiễm theo các thể cơ. Hiếm khi có hoại tử nhu mô tim. Nếu người bệnh qua khỏi, sự tăng sinh của tổ chức liên kết với sẹo và xơ hóa sẽ xảy ra. Nếu tim tổn thương nặng, bệnh nhân có thể chết trong thời kỳ hồi phục. Viêm tim ít xảy ra nhưng viêm vách trong tim rất thường gặp và được nhìn thấy khi làm vi thể. Các cục máu đông từ những vùng này có thể là nguyên nhân sự liệt của người trong bệnh bạch hầu.

6.4. Thay đổi của hệ thống thần kinh trong bệnh bạch hầu

Sự thay đổi của hệ thống thần kinh thì không chắc chắn. Ở thần kinh ngoại biên, các màng cứng trung tâm có thể vỡ thành các mảnh nhỏ. Chất béo và các sợi thần kinh có thể thoái hóa. Đây là những tổn thương điển hình ở bệnh nhân liệt do bạch hầu và có thể tìm thấy ở thần kinh mắt, mũi, hầu, thanh quản, tim và cơ chi. Những tổn thương ở nhân thần kinh đã được mô tả nhưng nó không ổn định. Có thể liệt nửa người do xuất huyết đại não.

6.5. Một số đặc điểm lâm sàng bệnh bạch hầu

Nhiễm khuẩn bạch hầu có hai biểu hiện cơ bản đi đôi với nhau:

– Màng giả thường xuất hiện ở niêm mạc hầu họng, thanh khí phế quản hoặc niêm mạc mắt và âm đạo.

– Nhiễm độc do ngoại độc tố của trực khuẩn bạch hầu thường biểu hiện là bệnh nhân rất mệt, mạch nhanh, tim yếu, huyết áp giảm, albumin niệu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tùy thuộc vào mức độ của hai yếu tố trên mà bệnh nhân bạch hầu được chia ra làm ba thể lâm sàng chủ yếu.

Các thể lâm sàng

a) Thể bạch hầu thông thường

Người bệnh thường sốt nhẹ (38°C), khó chịu, da hơi xanh, sổ mũi một hoặc hai bên. Họng hơi đỏ, nhất là ở amydal có các chấm màng giả, bóc đi lại mọc ngay. Nếu người bệnh không được chữa trị kịp thời ở giai đoạn khởi phát này, bệnh sẽ chuyển sang giai đoạn toàn phát với các đặc điểm: màng giả mọc rất nhanh từ một bên amydal lan sang bên kia và có thể bò tới cả thanh quản. Màng giả thường có màu trắng xám, khó bóc và khi bóc để chảy máu, không tan trong nước. Nổi hạch ở dưới hàm, hạch cứng và di động, không đau. Sổ mũi có thể lẫn máu. Trẻ có màng giả bạch hầu rộng thì tắc mũi không thở được. Các dấu hiệu cơ năng không nhiều: trẻ nuốt khó, đôi khi hơi đau, sốt 38,5°C, mạch nhanh, huyết áp giảm, albumin niệu, trẻ xanh xao, mệt.

b) Thể bạch hầu thanh quản

Thể này thường là hậu phát sau thể thường không điều trị kịp thời. Dấu hiệu đầu tiên là ho khan, khản tiếng, mất giọng. Hội chứng này đã được Macfan nhấn mạnh như là dấu hiệu quan trọng và nếu không tiêm SAD sẽ chuyển sang giai đoạn ngạt thở.

Ban đầu, bệnh nhân thỉnh thoảng mới khó thở, về sau khó thở liên tục với các dấu hiệu của khó thở. Khó thở vào nhiều hơn khó thở ra và có các tiếng rít lên khi thở vào. Nguyên nhân khó thở theo Chevalier Jacson là do hiện tượng vận mạch. Soi thanh quản thấy niêm mạc ở đây bị xung huyết, phù nề và đồng thời có thể có co thắt ở các cơ của họng. Do vậy, khi gây mê để mở khí quản thì hết khó thở ngay, nếu không sẽ tiến dần đến giai đoạn ngạt thở. Ở giai đoạn này đứa trẻ yếu dần đi, không giãy giụa nữa, trông như nằm nghỉ làm ta tưởng là bệnh đã bớt. Bệnh nhân thở gấp và thở nông, nhưng tím tái rõ ở mắt và tứ chi. Đôi khi mặt nhợt nhạt, môi tím, mạch nhỏ yếu, mình đẫm mồ hôi, trẻ mê man rồi chết.

c) Thể bạch hầu ác tính

Có thể tiên phát khi người bệnh bị nhiễm một lượng lớn trực khuẩn bạch hầu độc lực và khả năng đề kháng kém. Tuy vậy, thường là thứ phát sau khi bị bạch hầu thường và bạch hầu thanh quản không điều trị kịp thời.

Thời kỳ khởi phát cơ thể âm ỉ như bạch hầu thường gặp nặng ngay: sốt cao, nôn và đau bụng, thời kỳ toàn phát tiếp theo sau vài giờ, đặc biệt là màng giả và nhiễm độc nặng.

– Màng giả chỉ vài giờ lan khắp họng: dày, màu xám, đau, xuất huyết, nặng mùi và bám chặt vào thành họng, niêm mạc xung quanh sưng và chảy máu. Cả hai lỗ mũi chảy mũi máu, loét và có giả mạc.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Các dấu hiệu nhiễm độc biểu hiện rất rõ: xanh nhợt, tím môi và tứ chi, mệt lả, mạch rất nhanh, huyết áp thấp. Gan sưng to, nhiệt độ cao 39–40°C có thể ít sốt hơn. Có thể chảy máu cam, nôn ra máu, đi tiểu ra máu có thể phát ban và nhiều điểm xuất huyết. Có các dấu hiệu loạn nhịp tim và loạn nhịp tim bó His hoặc nếu bị ức chế gây phân ly nhĩ thất.

Tiên lượng thường xấu. Bệnh nhân chết sau 24–36 giờ, dài nhất là 1 tuần, vì xuất huyết và suy nhược kèm theo các biến chứng.

d) Các biến chứng của bệnh bạch hầu

Bệnh bạch hầu có thể dẫn tới nhiều biến chứng. Những biến chứng thường gặp là: liệt, tim và thận.

– Liệt: Bệnh nhân có thể bị liệt màn hầu dẫn đến những rối loạn: nói, nuốt và có thể cả nghe và thở. Dấu hiệu đầu tiên là sặc nước ra đằng mũi. Đổi giọng nói: bệnh nhân nói khẽ, nói giọng mũi và không nói được lâu.

– Liệt cơ mắt dẫn đến không điều tiết được.

– Liệt các chi: điển hình là liệt cả hai chân như tabet ở đây sẽ có biến đổi nước não tủy.

– Thể liệt toàn bộ nhẹ: các dấu hiệu về cảm giác rất rõ, các dấu hiệu về vận động chỉ xuất hiện khi đi.

– Thể liệt toàn bộ đơn sơ: nếu dựa vào phản xạ phải tìm kỹ mới thấy.

– Liệt chi trên, thường xảy ra sau liệt chi dưới.

Tóm tắt cơ chế gây bệnh bạch hầu

– Đường xâm nhập: trực khuẩn bạch hầu lây lan theo đường thở và xâm nhập vào cơ thể bằng các giọt nước bọt, có thể qua đồ chơi của trẻ em.

– Nơi cư trú: trực khuẩn bạch hầu thường ký sinh ở phần trên của đường hô hấp, mà thường gặp nhất là vùng hầu họng. Chúng tạo nên các màng giả ở đây. Một số nước trên thế giới, trực khuẩn bạch hầu có thể xâm nhập vào niêm mạc mắt, âm đạo và da (nơi bị tổn thương) và tạo nên màng giả bạch hầu.

– Tính chất màng giả bạch hầu: màu trắng xám, dai, khó bóc và khi bóc hay chảy máu. Màng giả được tạo thành do fibrin và tế bào viêm. Trực khuẩn bạch hầu sống ở đây và tiết ra ngoại độc tố, ngoại độc tố thấm vào máu và tác động tới toàn thân. Màng giả bạch hầu có thể lan xuống thanh khí quản và gây bít tắc hô hấp thấp.

– Ngoại độc tố bạch hầu: là những glycopotein, trọng lượng phân tử 61.000 Dalton. Nó gồm hai phần: phần B (binding) bám vào màng tế bào cảm thụ, giúp phần tử A (active, mang hoạt tính enzym) chui vào tế bào, ngăn cản sự sinh tổng hợp protein của tế bào, gây nên nhiễm độc toàn thân. Phần A đã ngăn cản giải phóng các ARN vận chuyển, sau khi nó đã đưa các acid amin đến các polyribosom, nên sự tổng hợp protein bị ngăn cản.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Các cơ quan bị tổn thương nặng do ngoại độc tố bạch hầu là tim (nên thường gây biến chứng tim và người bệnh chết), thần kinh ngoại biên (nên có biến chứng liệt), tuyến thượng thận và gan.

7. DỊCH TỄ HỌC BỆNH BẠCH HẦU

Các kiến thức về dịch tễ học bạch hầu không chỉ là phương tiện cho các thầy thuốc để phát hiện dịch bệnh mà còn giúp cho sự tìm thấy nguồn dịch và cách thức lây lan của dịch. Sự hiểu biết này đã đưa tới các phương pháp kiểm tra và ngăn ngừa dịch bệnh. Bạch hầu là một bệnh mà những thông tin của nó là kiểu mẫu để sử dụng giám sát các bệnh dịch của phần trên đường hô hấp.

7.1. Sự phân bố của bệnh bạch hầu theo lứa tuổi

Bệnh bạch hầu xảy ra chủ yếu ở trẻ nhỏ. Sau đẻ một vài tuần, trẻ em có khả năng đề kháng do kháng thể kháng độc tố nhận được từ mẹ qua rau thai, kháng thể thụ động này thường chỉ tồn tại sau khi đẻ 6 tháng. Sau đó sự nhạy cảm của trẻ em với bệnh bạch hầu tăng, nên tỷ lệ mắc bệnh tăng lên. Lứa tuổi càng tăng sự nhạy cảm với bệnh càng giảm. Do miễn dịch chủ động thu được nhờ vắc xin và nhiễm trực khuẩn bạch hầu thể ẩn. Bệnh bạch hầu có thể xảy ra với mọi lứa tuổi, nếu thiếu miễn dịch bạch hầu.

7.2. Theo sự phân bố bệnh bạch hầu theo địa lý

Sự phân bố theo khu vực của bệnh bạch hầu là đặc biệt quan trọng. Theo một số tác giả Mỹ (Youmans và cộng sự 1975) bệnh này thường xảy ra ở phía nam và vùng cực nam Hoa Kỳ và họ giải thích rằng ở vùng này có một số lượng lớn nhân dân không đủ điều kiện sống thích hợp. Sự thiếu vệ sinh đóng vai trò quan trọng vì nó tạo thuận lợi cho sự lan truyền các bệnh đường hô hấp, thêm vào đó một số lượng lớn nhân dân không được dùng vắc xin. Bệnh bạch hầu rất hay xảy ra ở những người gốc Mexico họ sống ở phía nam nước Mỹ. Vùng này do khí hậu ẩm ướt dễ dàng cho sự phát triển của bệnh bạch hầu da. Tổn thương do nhiễm trực khuẩn bạch hầu có thể kéo dài trong giai đoạn bệnh và tiếp tục đào thải trực khuẩn bạch hầu độc lực trong một thời gian dài. Có sự tương quan cao giữa tỷ lệ mang trực khuẩn bạch hầu độc lực ở tỵ hầu và tỷ lệ mắc bệnh bạch hầu trong quần thể dân cư. Bệnh nhân bạch hầu là nguồn lây trực khuẩn bạch hầu nhiều hơn là những người mang trực khuẩn bạch hầu ở miền Nam nước Mỹ.

7.3. Phương thức lây lan của bệnh bạch hầu

Người ta đã ghi nhận rằng, bệnh bạch hầu lây lan bằng những giọt nước bọt từ bệnh nhân hoặc người mang trực khuẩn bạch hầu. Nó lây trực tiếp tới những người cảm nhiễm. Sự lây lan bằng sữa hoặc thức ăn thì rất ít gặp. Sự lây lan bệnh bạch hầu qua đồ chơi hoặc quần áo cũng ít gặp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

7.4. Bản chất của các vụ dịch bạch hầu

Dịch bệnh bạch hầu có thể xảy ra ở nhiều mức độ khác nhau: Các trường hợp tán phát; các vụ dịch bé hoặc những vụ dịch lớn có tính chất vùng. Đa số nguồn lây của các vụ dịch này không rõ, nhưng những điều kiện thuận lợi cho dịch như có những người mang trực khuẩn bạch hầu độc lực, có nhiều người không có miễn dịch bạch hầu và mật độ dân số đông. Kiểu cách của dịch bệnh bạch hầu khác với viêm màng não do não mô cầu thường lác đác. Trong thực tế ở các quần thể dân cư tỷ lệ người mang não mô cầu độc lực cao hơn tỷ lệ người mang trực khuẩn bạch hầu. Viêm màng não do não mô cầu là một bệnh thật sự của những người mang vi khuẩn này. Bệnh bạch hầu chỉ xảy ra ở những cá thể nhạy cảm (thiếu miễn dịch do không được tiêm vắc xin bạch hầu) dẫn tới sự cảm nhiễm trực khuẩn bạch hầu và bị bệnh bạch hầu. Dịch bệnh bạch hầu có thể xảy ra ở bất cứ địa phương nào, nơi không có tỷ lệ miễn dịch với độc tố bạch hầu.

Trong vùng dịch bạch hầu lưu hành, bệnh bạch hầu xuất hiện ở những người không tiêm vắc xin hoặc đã có tiêm vắc xin không đầy đủ. Như vậy vắc xin đã không đủ để ngăn cản sự phát triển của bệnh bạch hầu. Điều này đã được khẳng định từ khi người ta ghi nhận rằng trực khuẩn bạch hầu có khả năng xâm nhập và sinh sản để tạo ra màng giả, độc lập với khả năng sản sinh ngoại độc tố của nó. Tuy vậy, điều đặc biệt quan trọng trong thực tế là tỷ lệ chết cao của bệnh bạch hầu ở vùng kinh tế thấp, phát hiện bệnh chậm và không điều trị kịp thời.

Dịch lưu hành thường xảy ra với những người chưa được tiêm vắc xin bạch hầu. Kinh nghiệm về dịch bệnh bạch hầu đã được rút ra rất đầy đủ qua nghiên cứu vấn đề này ở Na Uy trong những năm chiến tranh thế giới lần thứ 2. Trong thời gian này việc tiêm phòng vắc xin đã không thực hiện được. Do đó một khối lượng lớn dân chúng đã không có được miễn dịch. Trước khi Đức quốc xã xâm lược, hằng năm Na Uy có khoảng 50 trường hợp bị bệnh bạch hầu trong khoảng 3 triệu dân. Trong vòng 2 năm phát xít Đức xâm lược, số bệnh nhân bị bệnh bạch hầu tăng lên 50.000 mỗi năm. Nhưng sự tiếp xúc của người Na Uy với lính Đức, nơi có tỷ lệ mắc bệnh bạch hầu cao, đã dẫn tới sự tăng nhanh bệnh nhân bạch hầu. Kinh nghiệm được rút ra từ một số nước châu Âu về bệnh bạch hầu, cũng tương tự trong những năm 1940. Sự thật bạch hầu là bệnh nhiễm trùng phổ biến nhất ở các nước Tây Âu trong chiến tranh thế giới thứ hai. Điều cũng đáng quan tâm là bạch hầu cũng là bệnh nhiễm khuẩn phổ biến nhất trong binh lính Mỹ chiến đấu ở châu Âu, mặc dù đa số binh lính này đã được tiêm vắc xin. Sự khó khăn về kinh tế và xã hội là điều kiện tốt cho các bệnh nhiễm trùng, trong đó có bệnh bạch hầu.

7.5. Tỷ lệ mắc và miễn dịch bạch hầu

Theo thông báo của nhiều nước, tỷ lệ mắc bệnh bạch hầu liên quan chặt chẽ với việc tiêm vắc xin bạch hầu. Ở Anh và Wales, từ 1915–1942, số lượng bệnh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhân bạch hầu hằng năm là 50.000 và số chết khoảng 4000 người vào những năm đầu và 2500 ở những năm cuối. Sau đó người ta thực hiện tiêm chủng toàn dân và có tác dụng. Năm 1950, số lượng bạch hầu giảm xuống 962 và tử vong khoảng 49 trường hợp; đến năm 1965, số mắc là 25 và không có tử vong. Lứa tuổi mắc cũng tăng lên. Đại chiến thế giới lần thứ hai đã cản trở việc tiêm phòng, dẫn đến khoảng 3 triệu người bị bệnh bạch hầu ở châu Âu trong thời gian này. Số trường hợp bị bạch hầu đã tăng lên rất nhanh.

Tác dụng của gây miễn dịch được quan sát ở những nước khác nhau và những vùng khác nhau ở vùng một nước. Ở Algeri, giữa những năm 1940–1960, hằng năm có khoảng 500–700 trường hợp bạch hầu. Ở Canada với số dân tương tự, những năm 1940, tỷ lệ mắc cao hơn Algeri 5 lần, nhưng năm 1959, còn 38 trường hợp. Ở tỉnh Novara của Italia, tỷ lệ mắc bạch hầu giữa các năm 1952–1956 cao bằng 1/3 của tổng số mắc ở các vùng khác trong cả nước. Ngược lại ở tỉnh Bari của Italia, ban đầu có số lượng bệnh nhân bạch hầu thấp, nhưng đến 1961, tỷ lệ đã mắc tăng cao lên so với cả nước, vì sự khó khăn tiêu chuẩn hóa của việc tiêm phòng ở một vùng rất không thuận lợi. Ở Sao Paulo, một thành phố của Brasil, do sự tiêm phòng thường xuyên không có tác dụng, giữa những năm 1961–1965, có 2218 trường hợp mắc và 155 người chết do bệnh bạch hầu và hơn 1/3 sinh viên Y có phản ứng Schick dương tính. Ở Mỹ, từ năm 1920–1970, tỷ lệ mắc trên 100.000 dân đã giảm xuống rõ rệt (1920, 200; 1930, 60; 1940, 20; 1950, 6; 1970, 1,8), tỷ lệ chết cũng giảm xuống song song với tỷ lệ mắc. Tới các năm 1970, hằng năm số lượng bệnh nhân bạch hầu ở Mỹ chỉ còn dưới 200. Một điều lưu ý là tỷ lệ chết chỉ gặp ở những người không tiêm phòng vắc xin và như vậy việc tiêm phòng không hoàn toàn xóa bỏ được tỷ lệ mắc bạch hầu nhưng nó có tác dụng rất quyết định trong việc giảm tỷ lệ tử vong bạch hầu.

Gây miễn dịch chủ động bằng vắc xin cộng với khuynh hướng chung của các bệnh kinh điển đã làm giảm xuống đáng kể bệnh bạch hầu. Nhưng người ta không thể nghi ngờ tác dụng của tiêm phòng khi so sánh tỷ lệ mắc bạch hầu với độ tiêm phòng trong các quần thể dân cư khác nhau. Người ta cũng không có cơ sở để chứng minh rằng việc tiêm phòng đã loại trừ bạch hầu lâm sàng nhưng làm tăng tỷ lệ mang trực khuẩn bạch hầu. Ở những nước có tỷ lệ tiêm phòng các bệnh bạch hầu đã gần như loại trừ hoàn toàn. Tuy vậy, bệnh bạch hầu vẫn còn lác đác và nó dễ dàng tấn công vào những người vãng lai như là vụ dịch bạch hầu ở Skid Rom, Mỹ. Ngay cả những nước việc tiêm phòng rất tiến bộ, tỷ lệ tiêm vắc xin có thể giảm xuống do sự lơ là đến mức độ nguy hiểm như một số vùng của Úc, Pháp, Anh và Mỹ. Tác dụng đáng quan tâm của tiêm phòng ở người là làm giảm mức độ miễn dịch ở ngựa. Vào những năm 1930 ở Pháp trên 75% ngựa trên 15 tuổi có phản ứng Schick dương tính do sự tiếp xúc với người mang trực khuẩn bạch hầu, số liệu này chỉ còn 5,6% vào năm 1963. Do sự suy giảm kỵ binh ở Pháp, ngựa đã

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phải nhập khẩu từ Algeri và Bồ Đào Nha, tỷ lệ phản ứng Schick âm tính ở đàn ngựa này lại tăng lên trên 40%.

Dịch bệnh bạch hầu có thể xảy ra ở bất cứ ở đâu lơ là tiêm chủng vắc xin bạch hầu.

7.6. Sự thay đổi các biovar dịch tễ của trực khuẩn bạch hầu

Hiện nay, người ta vẫn chưa rõ vì sao sự nhiễm *C. diphtheriae* biovar *gravis* và *C. diphtheriae* biovar *intermedius* thì bệnh bạch hầu thường nặng và biovar này thường lan truyền trong các vụ đại dịch, còn *C. diphtheriae* biovar *mitis* thì thường gây bệnh tản phát và tỷ lệ người mang vi khuẩn ổn định. Nhưng khi các vụ dịch tản phát chuyển thành đại dịch thì *C. diphtheriae* biovar *mitis* chuyển thành *C. diphtheriae* biovar *gravis* hoặc *C. diphtheriae* biovar *intermedius*. Sự thay đổi này kéo theo tỷ cao của số bệnh nhân bạch hầu nặng và tỷ lệ chết. Những trường hợp xuất huyết cũng thường gặp hơn với nhiễm *C. diphtheriae* biovar *gravis* và *C. diphtheriae* biovar *intermedius*. Tỷ lệ chết khoảng 7–8% và số bệnh nhân bị nhiễm *C. diphtheriae* biovar *gravis* hoặc *C. diphtheriae* biovar *intermedius* và trên 2% với số bệnh nhân bị nhiễm *C. diphtheriae* biovar *mitis*. Khi dịch còn lẻ tẻ các chủng *C. diphtheriae* biovar *mitis* sẽ chiếm ưu thế và các chủng không điển hình sẽ xuất hiện.

7.7. Phân loại bằng bacteriophage

Trực khuẩn bạch hầu đã được phân loại bằng phage ít nhất thành 19 type. Loại I, II và III là *mitis*. Loại IV và V là *intermedius* và loại VII là các chủng *gravis* độc lực và không độc lực. Sự phân loại này không hoàn toàn đặc hiệu với các chủng *mitis*. Trong các vùng dịch tễ tỷ lệ mang trực khuẩn bạch hầu tới 25–40% dân cư và tất cả đều thuộc loại *gravis* (theo phage type). Trong khi đó trong thời gian không lưu hành dịch bạch hầu, tỷ lệ mang vi khuẩn chỉ còn 0,5–1,2% và đều là *mitis*. Sự phân loại bằng phage có thể có giá trị trong việc đánh giá đường lây. Sự phân loại bằng phage đã ổn định trong nhiều năm. Tất cả các chủng độc đều ở trạng thái lysogen và có bằng chứng rằng các chủng không sinh độc có thể trở thành sinh độc tố bởi sự tích hợp β–corynephage. Nhưng điều này xảy ra như thế nào và ý nghĩa dịch tễ học của nó thì người ta chưa hoàn toàn rõ.

8. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Bạch hầu là bệnh nguy hiểm và cấp tính nên cần chẩn đoán nhanh.

8.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm là màng giả bạch hầu, hoặc ngoáy họng bằng tăm bông vô trùng khi người bệnh có biểu hiện nhiễm trùng và nhiễm độc (sốt, nhịp tim nhanh và yếu, mặt xanh tái, mệt mỏi, đau họng...).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

8.2. Nhuộm trực tiếp

Thường nhuộm hai tiêu bản, một xanh methylen kiềm (hoặc Albert hay Neisser) để xem hạt nhiễm sắc và hình thể trực khuẩn bạch hầu. Xanh methylen kiềm và phương pháp nhuộm đơn giản và kinh tế hơn nhuộm Albert hay Neisser. Một tiêu bản nhuộm Gram để xem các vi khuẩn khác. Nếu thấy trực khuẩn hình chùy có hạt nhiễm sắc thì rất có ý nghĩa với chẩn đoán bạch hầu.

Nhuộm Gram tẩy cồn kéo dài hai phút

Vì các thuốc nhuộm hạt nhiễm sắc thường không có sẵn không các phòng xét nghiệm vi sinh mà thuốc nhuộm Gram thì bao giờ cũng có trong các phòng xét nghiệm này nên có thể dùng phương nhuộm Gram tẩy cồn kéo dài hai phút (các bước khác giống như nhuộm Gram bình thường). Trên tiêu bản này ta sẽ thấy các trực khuẩn bạch hầu có hình dạng chuỳ hoặc hình vợt bắt màu Gram âm và hạt nhiễm sắc bắt màu đậm hơn thân vi khuẩn. Phương pháp này rất tiện lợi cho các phòng xét nghiệm không thường xuyên phân lập vi khuẩn bạch hầu. Nó thay cho phương pháp nhuộm hạt nhiễm sắc trực khuẩn bạch hầu.

Những dấu hiệu để chẩn đoán sớm bạch hầu như: Người bệnh có biểu hiện nhiễm trùng, nhiễm độc, có màng giả và nhuộm thấy hình thể trực khuẩn bạch hầu. Dựa trên các kết quả chẩn đoán sơ bộ này có thể trả lời ngay cho các bác sĩ điều trị để kịp cứu sống người bệnh, vì bệnh bạch hầu diễn biến rất nhanh.

8.3. Nuôi cấy

Theo phương pháp kinh điển, bệnh phẩm nghi bạch hầu được nuôi cấy trên môi trường huyết thanh đông (Loeffler), sau 12–18 giờ để ở 37°C vi khuẩn bạch hầu có khuẩn lạc trắng, xám, nhỏ; mang nhuộm sẽ nhìn thấy hình thể tế bào vi khuẩn điển hình. Trên môi trường này, liên cầu mọc chậm hơn vi khuẩn bạch hầu. Do môi trường này sản xuất không thuận tiện (phải dùng nhiều huyết thanh) nên hiện nay môi trường trứng được dùng thay thế. Môi trường trứng được sản xuất bằng cách dùng một thể tích trứng (lòng trắng và đỏ) cộng với một thể tích canh thang, được đóng ống như thạch nghiêng và Tyndal. Trên môi trường trứng, trực khuẩn bạch hầu mọc sau 18 giờ, nhưng không tạo thành khuẩn lạc. Để xác định trực khuẩn bạch hầu người ta phải nhuộm mù ba điểm trên bề mặt môi trường. Nếu nhìn thấy hình thể của vi khuẩn bạch hầu là có thể trả lời kết quả sơ bộ. Trên môi trường trứng, hạt nhiễm sắc của trực khuẩn bạch hầu thật to lên rất nhanh theo ngày nuôi cấy còn trực khuẩn giả bạch hầu thì không có sự thay đổi này. Vì vậy, nếu theo dõi sự thay đổi của hạt nhiễm sắc qua một số ngày có thể phân biệt trực khuẩn bạch hầu thật và giả.

– Môi trường Schroer là môi trường chọn lọc, nên việc nhận biết khuẩn lạc trực khuẩn bạch hầu dễ hơn. Đây là môi trường thạch máu có tellurit potassium với nồng độ thấp. Chất này sẽ ức chế các vi khuẩn khác, đặc biệt là liên cầu

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn, và khuẩn lạc của trực khuẩn bạch hầu có màu đen, nhưng thời gian nhìn được khuẩn lạc thường sau 48 giờ nuôi cấy. Đây là môi trường rất thuận lợi để phân lập trực khuẩn bạch hầu. Tính chất khuẩn lạc của trực khuẩn bạch hầu trên môi trường này cho ba biovar là khá rõ.

– Trong các phòng xét nghiệm không chuyên thường không sẵn các môi trường trứng và Schroer. Vì thế môi trường thạch máu thường hay được dùng để phân lập trực khuẩn bạch hầu. Trên môi trường này trực khuẩn bạch hầu tạo thành các khuẩn lạc bé, màu trắng xám và mang theo các đặc điểm khuẩn lạc của ba biovar, nhưng hơi khó phân lập vì có nhiều loại vi khuẩn cùng mọc trên môi trường này, nhất liên cầu khuẩn.

8.4. Sinh vật hóa học (xem mục 1.7)

Dựa trên tính chất sinh vật hoá học có thể xác định trực khuẩn bạch hầu thật và giả. Xác định biovar phải kết hợp với hình dạng khuẩn lạc và hình thể tế bào vi khuẩn. Để xác định trực khuẩn bạch hầu độc lực, cần phải xác định ngoại độc tố của vi khuẩn.

8.5. Xác định độc tố

Để khẳng định trực khuẩn bạch hầu độc lực cần xác định được ngoại độc tố của chúng. Có nhiều kỹ thuật có thể xác định được độc tố. Kinh điển nhất là dùng phản ứng Elek hoặc trung hòa trên chuột lang. Ngày nay, người ta có thể dùng ELISA, ngưng kết hạt, miễn dịch điện di đối lưu, đồng ngưng kết... Phản ứng trung hòa da thỏ hay da chuột lang cũng thường được sử dụng. Chúng tôi đã nghiên cứu và đưa vào ứng dụng phản ứng trung hoà trong da thỏ và đồng ngưng kết cho kết quả rất tốt.

Xác định ngoại độc tố của trực khuẩn bạch hầu chỉ cần thiết khi xuất hiện các bệnh ngoài vụ dịch, còn trong vụ dịch thì không nhất thiết.

9. PHÒNG BỆNH

Biện pháp quan trọng nhất để phòng bệnh bạch hầu là dùng vắc xin giải độc tố bạch hầu thường phối hợp với giải độc tố của vi khuẩn uốn ván và vi khuẩn ho gà và gọi là vắc xin DPT (Diphtheria – Pertussis – Tetanus). Vắc xin này được hấp phụ với phosphat nhôm. Vắc xin này được tiêm chủng cho trẻ em ở tất cả các nước và nếu lơ là tiêm chủng sẽ xảy ra dịch bạch hầu và ho gà khá gay cấn. Ở Việt Nam, vắc xin này nằm trong chương trình tiêm chủng mở rộng và tiêm ba mũi cho trẻ em 3, 4 và 5 tháng tuổi. Tiêm nhắc lại sau mũi thứ ba một năm. Tất cả các mũi đều tiêm 0,5 ml vắc xin vào bắp. Vắc xin được bảo quản ở 2°C đến 8°C.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong trường hợp xảy ra dịch bạch hầu phải nhanh chóng phát hiện dịch. Dập tắt ổ dịch bằng cách điều trị và cách ly bệnh nhân, khử trùng môi trường, hạn chế tập hợp đông trẻ em và có thể điều trị dự phòng cho các đối tượng có nguy cơ cao.

10. ĐIỀU TRỊ

Điều trị bệnh bạch hầu phải kết hợp giữa chống nhiễm trùng và chống nhiễm độc ngoại độc tố vi khuẩn. Thường cần dùng SAD (serum anti–diphtheria) với kháng sinh. Việc sử dụng kịp thời SAD có tác dụng trung hòa ngoại độc tố sớm để cứu sống bệnh nhân, nhất là với những thể bạch hầu nặng. Nhưng cần thiết điều trị kháng sinh để diệt trực khuẩn bạch hầu. Penicillin hoặc erythromycin có tác dụng tốt với trực khuẩn bạch hầu. Đây là một trong những vi khuẩn còn nhạy cảm tốt với kháng sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001.
2. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. Lê Huy Chính, Bùi Khắc Hậu. Sử dụng phản ứng trung hoà trong da để xác định ngoại độc tố vi khuẩn bạch hầu. Y học thực hành. 1986 (263): 36–37.
4. Lê Huy Chính, Nguyễn Hữu Hồng. Phản ứng đồng ngưng kết – Một phương pháp mới để xác định ngoại độc tố vi khuẩn bạch hầu. Y học thực hành. 1986 (256): 44–46.
5. Forbes BA, Sahm DF. Weissfeld AS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Mosby. 11th ed. 2002.

BACLILLUS SUBTILIS

(Ehrenberg 1835) Cohn 1872

Chủng mẫu: ATCC 6051

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Bacillus subtilis thuộc chi *Bacillus,* họ *Bacillaceae.* Chi *Bacillus* là những vi khuẩn có khắp mọi nơi trong tự nhiên, hầu hết không gây bệnh, có một số type *B. subtilis* được sử dụng với mục đích có lợi cho con người. Người ta dùng chủng *Bacillus* sản xuất các loại men tiêu hóa này với mục tiêu chống loạn khuẩn, phục

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hồi khả năng hấp thu của niêm mạc ruột. Bởi vì các loại vi khuẩn dạng này tiết ra một số chất kháng sinh và acid lactic có khả năng lập lại cân bằng sinh thái vi khuẩn ở ruột chống loạn khuẩn ruột. Người ta cũng dùng loại *Bacillus clausii* cũng có tác dụng khôi phục lại sự cân bằng sinh thái vi khuẩn ở ruột, đồng thời có tác dụng chống loạn khuẩn. *Bacillus claudii* cũng có khả năng sản sinh ra một số vitamin nhóm B và sản sinh ra chất đối kháng và khử độc đối với chất gây tiêu chảy.

Trong họ *Bacillaceae,* hai loài có ý nghĩa trong y học là *B. anthracis* (gây bệnh than) và *B. cereus* (có thể gây ra một loại bệnh ngộ độc thực phẩm tương tự như ngộ độc thực phẩm do *Stapylococcus aureus*). Đồng thời cũng có hai loài nổi tiếng làm hỏng thức ăn là *B. subtilis* và *B. coagulans*.

Vào năm 1835, Christian Erenberg phát hiện *Bacillus subtilis* và đặt tên là *Vibrio subtilis*. Gần 30 năm sau, Casimir Davaine đặt tên là *Bacteridium*, sau đó được Ferdinand Cohn xác định thấy là loài trực khuẩn có đầu vuông và đặt tên là *Bacillus subtilis*.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Bacillus sutilis là trực khuẩn Gram dương trong nuôi cấy non. Tuy vậy, đôi khi nuôi cấy thời gian lâu, chúng sẽ trở thành trực khuẩn không bắt màu thuốc nhuộm Gram. Vi khuẩn sinh nha bào, có lông và di động bằng lông của chúng. Nha bào hình elip và thường ở giữa thân vi khuẩn, không làm biến dạng thân vi khuẩn. Sự hình thành nha bào tùy thuộc vào điều kiện môi trường *(Xem hình P21 ở Phụ bản).*

2.2. Sức đề kháng

B. subtilis có sức đề kháng cao khi ở trong môi trường tự nhiên chúng cũng có khả năng sống ký sinh. *B. subtilis* có thể tồn tại trong nhiệt độ nóng như trong thức ăn đã nấu với nhiệt độ cao. Ngũ cốc và các sản phẩm ngũ cốc đã chế biến sẵn như bánh mì có thể có mặt của *B. subtilis* và người ta thấy bánh mì bị hỏng nguyên nhân có phần tham gia của *B. subtilis*, còn loài *B. coagulans* có thể phát triển ở pH 4,2 và gây ra vị chua nặng ở một số thức ăn đóng hộp và bao gồm cả các loại thức ăn có tính acid mà bình thường có thể khống chế sự phát triển của đa số vi khuẩn ở mức thấp nhất.

2.3. Hoá sinh

B. subtilis có men catalase và chúng mọc dễ dàng trên môi trường thạch máu và thạch dinh dưỡng ở nhiệt độ 37°C. *B. subtilis* hóa lỏng gelatin, casein, amidon,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhưng không sử dụng natri citrat, lên men đường glucose, không lên men xylose, không sản sinh urease và lecithinase. Có khả năng gây bệnh cho chuột lang. Nhiều chủng *B. subtilis* có khả năng sản xuất Bacitracin.

2.4. Đặc điểm nuôi cấy

Vi khuẩn *B. subtilis* hiếu khí, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường, nhiệt độ thích hợp là 30°C. Trên môi trường đặc, khuẩn lạc không màu hoặc trắng vàng, đường kính của khuẩn lạc khoảng 5 mm, bờ không đều, khô, xám đục hoặc nhày *(Xem hình P22 ở Phụ bản)*.

3. KHẢ NÁNG GÂY BỆNH

Từ năm 1970, người ta đã ghi nhận khả năng gây bệnh nhiễm trùng của *B. subtilis* như viêm phổi, nhiễm trùng huyết, viêm não, viêm nội tâm mạc, nhiễm trùng hố nách ở những bệnh nhân ung thư... là những bệnh rất nguy hiểm. Bệnh ngộ độc thức ăn cũng có thể gặp do một số chủng nhất định khi ăn phải thức ăn là ngũ cốc, đồ hộp có trực khuẩn *B. subtilis*. Tuy vậy, đa số các chủng không gây bệnh và có thể dùng trong điều trị loạn khuẩn đường ruột.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Bệnh phẩm

Tùy theo loại bệnh mà lấy bệnh phẩm như đờm, máu, nước não tủy... khi ngộ độc thức ăn nghi do *B. subtilis* thì lấy các loại thức ăn làm bằng ngũ cốc.

4.2. Nhuộm

Nhuộm Gram và nhuộm nha bào để quan sát hình thể, tính chất bắt màu và nha bào của trực khuẩn *B. subtilis*.

4.3. Nuôi cấy

Nuôi cấy vào các môi trường thông thường, ủ ấm ở nhiệt độ 30°C, chọn khuẩn lạc điển hình để xác định bằng tính chất sinh vật hóa học.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc phòng

Phòng bệnh chủ yếu vệ sinh an toàn thực phẩm và vệ sinh bệnh viện.

5.2. Nguyên tắc điều trị

Tùy theo thể bệnh mà chọn kháng sinh cho phù hợp. Theo Weber và cộng sự (1981) thì trong bệnh viêm nội tâm mạc do vi khuẩn *B. subtilis,* kháng sinh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cephalosporin và gentamicin vẫn còn tác dụng tốt. Trong bệnh nhiễm khuẩn huyết thì dùng penicillin hoặc cephalosporin. Tuy vậy, nếu phân lập được vi khuẩn và làm kháng sinh đồ thì nên thảo luận với các bác sĩ lâm sàng để có sự lựa chọn kháng sinh hợp lý.

BACILLUS CEREUS

Frankland 1887

Chủng mẫu: ATCC 14579

Bacillus cereus thuộc chi *Bacillus*, họ *Bacillaceae,* cùng với *B. anthracis* là hai loài đóng vai trò quan trọng trong y học. *B. cereus* cùng nhóm với các loài *B. mycoides, B. thuringensis, B. weihenstephanensis*. *B. cereus* có khả năng gây một số bệnh cho người.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

B. cereus là trực khuẩn Gram dương, di động, xếp đôi hoặc thành chuỗi ngắn, không có vỏ và có khả năng hình thành nha bào.

1.2. Khả năng đề kháng

Ở môi trường ngoại cảnh, *B. cereus* có khả năng đề kháng tốt do chúng có nha bào. Chúng có khả năng tồn tại lâu trong các loại ngũ cốc như gạo, ngô, bột mì; trong thực phẩm như bánh, rau, sữa...

1.3. Đặc điểm nuôi cấy

B. cereus có thể phát triển được ở nhiệt độ thấp từ 10–20°C hoặc nhiệt cao hơn (đến 45°C), nhưng nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của chúng là 37°C. Trên thạch máu cừu 5%, *B. cereus* khuẩn lạc có dạng xù xì, làm tan máu kiểu β, lên men đường salicin. Đối với glucose và sucrose thì lên men, không sinh hơi; không lên men đường arabinose, mannitol, xylose và có khả năng phát triển trên môi trường có penicillin nồng độ 10 µg/ml. Chúng có khả năng lên men sữa từ sau 2–3 ngày.

1.4. Độc tố

Năm 1999, Fletcher và Logan đã xác định được một loại độc tố ruột của *B. cereus* gây buồn nôn và nôn (Emetic enterotoxin: ETE) và gần đây (2002), Granun đã xác định được năm loại độc tố ruột (enterotoxin) và một độc tố gây

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nôn (emelic toxin) ở một số bệnh nhân ỉa chảy do ngộ độc thực phẩm bởi *B. cereus*. Trong số độc tố ruột, có một loại độc tố không gây tan máu (NHE – Nonhemolytic enterotoxin).

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Theo Trung tâm kiểm soát và phòng bệnh Hoa Kỳ (CDC), trực khuẩn *B. cereus* được phát hiện gây ngộ độc thực phẩm từ năm 1995, với tỷ lệ chiếm khoảng 2% trong tổng số các bệnh ngộ độc thực phẩm. *B. cereus* có khả năng gây nên ngộ độc thực phẩm với hai dạng: một dạng có thời gian ủ bệnh ngắn và một dạng có thời gian ủ bệnh dài.

Loại ngộ độc thực phẩm bởi *B. cereus* có thời gian ủ bệnh nhanh vào khoảng từ 1–6 giờ tương tự như thời gian ủ bệnh của *Staphylococcus aureus* gây ngộ độc thực phẩm. Đây là loại ngộ độc thực phẩm có triệu chứng chính là buồn nôn và nôn.

Loại ngộ độc thực phẩm bởi *B. cereus* có thời gian ủ bệnh kéo dài khoảng từ 8–16 giờ, triệu chứng đầu tiên là đau bụng và sau đó là đi lỏng. Đi lỏng không nhiều cả về số lần và cả về số lượng phân, nhưng người bệnh rất mệt mỏi. Bệnh tiêu chảy do trực khuẩn *B. cereus* cũng tương tự như bệnh tiêu chảy do *Clostridium perfringens*.

Một điều cũng cần được lưu ý là có khoảng 40% người mang mầm bệnh không triệu chứng đối với trực khuẩn *B. cereus*. Đây là những đối tượng có khả năng gieo rắc mầm bệnh rất lớn, có nguy cơ làm lây nhiễm cho cộng đồng.

Đặc biệt *B. cereus* không gây bệnh cho động vật thực nghiệm.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm là phân lấy từ bệnh nhân nghi ngộ độc thực phẩm do *B. cereus*, trong bệnh phẩm người ta có thể cho thêm 100.000 đơn vị polymyxin B.

3.2. Nhuộm

Nhuộm Gram để quan sát hình thể và tính chất bắt màu và nhuộm nha bào để quan sát dạng nha bào của trực khuẩn *B. cereus*.

3.3. Nuôi cấy

Người ta thường nuôi cấy vào thạch máu cừu 5%; môi trường thạch có trứng, mannitol và có polymyxin B (môi trường MEYP) hoặc môi trường thạch có trứng, mannitol, xanh bromthymol (môi trường PEMBA). Chọn khuẩn lạc điển hình sau đó xác định tính chất sinh vật hóa học với một số loại đường như glucose, mannitol, salicin, arabinose...

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Nguyên tắc phòng bệnh

Phòng bệnh chung: Vệ sinh an toàn thực phẩm, đặc biệt là thực phẩm loại ngũ cốc. Không ăn các loại thực phẩm chưa được tiệt khuẩn.

Phòng bệnh đặc hiệu: hiện nay chưa có vắc xin đặc hiệu.

4.2. Điều trị

Logan và Forsth (2000) đã có thông báo rằng *B. cereus* đã xuất hiện đề kháng với penicillin, ampicillin, cả với cephalosporins và trimethoprim. Tuy vậy, *B. cereus* còn nhạy cảm với imipenem, vancomycin, chloramphenicol, ciprofloxacin, erythromycin, tetracycline và gentamicin. Nếu chưa có điều kiện thử nghiệm kháng sinh đồ thì nên dùng kháng sinh theo phác đồ của Bộ Y tế ban hành. Không dùng kháng sinh loại polymyxin B.

TRỰC KHUẨN THAN
BACILLUS ANTHRACIS

Cohn 1872

Chủng mẫu: ATCC 14578

Năm 1850, Davaine và Rayer phát hiện động vật mắc bệnh than nhưng mãi đến năm 1877, Pasteur và Joubert mới xác định được vai trò của trực khuẩn than. Nuôi cấy thành công trực khuẩn than do Koch thực hiện vào năm 1876. Trực khuẩn than thuộc chi *Bacillus*, họ *Bacillaceae*. Chi *Bacillus* gồm nhiều loài, có ở khắp nơi trong tự nhiên, nhưng chỉ có một số loài gây bệnh cho người như *B. anthracis*, *B. cereus, B. licheniformis, B. megaterium*... Chi *Bacillus* bao gồm các trực khuẩn Gram dương, có nha bào (spore), hiếu khí. Trực khuẩn than có tên khoa học là *Bacillus anthracis.*

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Trực khuẩn than có kích thước lớn từ 1–1,5 × 3–10 μm, đầu vuông, không có lông, không di động, có nha bào, Gram dương, đứng riêng rẽ hoặc xếp thành từng chuỗi. Trong các bệnh phẩm lấy từ động vật ốm hoặc chết do bệnh than thì trực khuẩn than thường có vỏ nhưng trong các môi trường nuôi cấy thông thường trực khuẩn than không tạo vỏ.

Ở ngoại cảnh hoặc trong môi trường nuôi cấy, trực khuẩn than hình thành nha bào rất sớm. Nha bào có hình trứng hoặc hình trụ thường nằm ở giữa thân, đường kính khoảng 1 μm, không làm biến dạng thân vi khuẩn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.2. Nuôi cấy

Trực khuẩn than hiếu khí, rất hiếm khi kỵ khí tùy tiện. Chúng mọc tốt trên các môi trường nuôi cấy thông thường ở nhiệt độ 35°C và pH từ 7–7,4.

Trong môi trường lỏng, chúng phát triển nhanh, đáy ống có cặn bông và nước ở phía trên trong.

Trên môi trường thạch, khuẩn lạc to, màu vàng nhạt hoặc xám đục, khô, xù xì trông giống như búi tóc, bám chắc trên mặt thạch (dạng R), kích thước khoảng từ 3–4 mm. Ở nhiệt độ 20–30°C, với sự có mặt của oxy, thì nha bào sẽ được hình thành. Trên môi trường thạch máu, trực khuẩn than không gây tan máu. Các chủng trực khuẩn than lấy từ môi trường nuôi cấy hoặc từ bệnh phẩm cấy vào môi trường thạch huyết thanh và carbon dioxide chúng sẽ sản sinh ra poly– γ–D–glutamic acid.

Đối với trực khuẩn than thì động vật nhạy cảm nhất là chuột lang, chuột nhắt trắng và thỏ. Các loài động vật này sẽ chết nhanh chóng sau khi tiêm một liều nhỏ canh khuẩn trực khuẩn than.

1.3. Đặc điểm hoá sinh

Trực khuẩn than thủy phân tinh bột, đường glucose, levulose, maltose, saccharose, trehalose và cả salicin. Không lên men lactose, galactose và arabinose. Chúng ly giải protein, hoá lỏng gelatin.

1.4. Khả năng đề kháng

Trực khuẩn than có hai loại: sinh dưỡng và nha bào. Thể sinh dưỡng có sức đề kháng không cao, có thể bị tiêu diệt ở nhiệt độ 60°C trong 30 phút, bị chết ở nhiệt độ 38°C trong 1 giờ và ở nhiệt độ 100°C chỉ cần 5 phút. Chúng cũng dễ bị tiêu diệt bởi các hóa chất sát khuẩn thông thường. Ngược lại ở thể nha bào thì sức đề kháng của trực khuẩn than rất mạnh, có thể sống hằng năm trong điều kiện tự nhiên, có khi tới hơn 20 năm mà khả năng gây bệnh của chúng vẫn còn; nhất là khi nha bào tồn tại trong đất, chúng só thể tồn tại từ 20 – 30 năm. Khả năng chịu nhiệt và đề kháng với chất sát trùng thông thường của nha bào cũng tương đối cao do cấu trúc của vỏ dày và tỷ lệ nước tự do rất thấp (khoảng 40%) các tính chất như thế này đã làm ảnh hưởng không nhỏ cho việc sát trùng nhằm tiêu diệt nha bào trực khuẩn than.

1.5. Độc tố

Độc tố của trực khuẩn than đã được các tác giả Hankin, Marmier, Smith và Keppie nghiên cứu. Theo Smith và Keppie thì độc tố của trực khuẩn than bao gồm hai thành phần: thành phần A là lipoprotein; thành phần B là một protein. Hai thành phần này kết hợp với nhau chặt chẽ, rất khó tách biệt. Độc tố của trực

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn than bao gồm cả nội và ngoại độc tố. Tác dụng của nó gần giống như trực khuẩn Gram âm. Chúng đóng vai trò trong tổng hợp glucid và tham gia vào hệ thống men phosphatase.

Fish và cộng sự đã nghiên cứu độc tố của trực khuẩn than và cho biết rằng độc tố của trực khuẩn than bao gồm ba yếu tố: yếu tố gây phù nề EF (facteur oedemateux), yếu tố kháng nguyên bảo vệ PA (antigène protecteur) và yếu tố gây chết LF (fecteur létal).

1.6. Các loại kháng nguyên

Trực khuẩn than có nhiều loại kháng nguyên. Kháng nguyên vỏ là polypeptide. Một kháng nguyên thân là polyoside và một kháng nguyên phức hợp hoà tan, có tác dụng gây độc và có khả năng gây miễn dịch khi bào chế thành vắc xin để tiêm chủng.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Gây bệnh cho động vật

Trực khuẩn than gây bệnh chủ yếu cho các động vật ăn cỏ, nhưng cũng có thể gây bệnh cho một số loài động vật khác. Cừu, dê, trâu, bò và ngựa là những động vật dễ mắc bệnh than nhất. Đây là một bệnh nhiễm trùng cấp tính, hay gặp thể nhiễm khuẩn huyết và gây tử vong. Sau khi súc vật chết, dù được chôn sâu, nhưng nha bào của chúng có sức đề kháng mạnh và có khả năng tồn tại lâu ở môi trường bên ngoài vì vậy chúng có thể lây lan ngay cả trên mặt đất (do giun, mối dùn, đẩy đất ở dưới sâu lên) làm lây nhiễm cây cỏ. Súc vật ăn phải cỏ sẽ mắc bệnh và chết.

2.2. Gây bệnh cho người

Bệnh than (Anthrax) là một bệnh nhiễm khuẩn cấp tính thường làm tổn thương da, đường hô hấp dưới và đường tiêu hóa. Người bị nhiễm khuẩn trực khuẩn than là do tiếp xúc với các mô, lông và các sản phẩm làm ra từ động vật ăn cỏ, gia súc và một số động vật khác chết do bị bệnh than. Thường hay gặp ba thể:

– Thể da: hay gặp ở công nhân lò sát sinh, công nhân thuộc da, những người có tiếp xúc trực tiếp với xác động vật chết do bệnh than. Vi khuẩn xâm nhập vào da, tại chỗ xâm nhập, xuất hiện nốt phỏng, ở giữa có màu đen do hoại tử, gọi là nốt mủ ác tính. Bệnh tiến triển từ 24 – 36 giờ sau khi vi khuẩn xâm nhập vào da, hậu quả là tổn thương da hoại tử.

– Thể phổi: do người bệnh hít phải nha bào bởi tiếp xúc với không khí bị nhiễm khuẩn, gây nên một loại viêm phổi nặng kèm theo viêm thận, nhiễm độc, có thể dẫn đến nhiễm khuẩn huyết và tử vong.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Thể tiêu hóa: bệnh than có thể xảy ra ở mồm, họng, ruột do ăn phải thực phẩm có trực khuẩn than. Thể này rất nặng, nhưng ít gặp.

2.3. Cơ chế gây bệnh

Sau khi trực khuẩn than xâm nhập vào cơ thể bằng đường da, đường tiêu hoá hoặc đường không khí, những nha bào bắt đầu phát triển và hình thành những trực khuẩn hoạt động, gây nên hiện tượng phù keo các tổ chức và xung huyết các mô. Trực khuẩn than đi tới các hạch lympho, lách rồi đến máu. Ở máu, trực khuẩn than nhân lên nhanh chóng, gây nên nhiễm khuẩn huyết và xâm nhập vào các cơ quan, nhiều nhất là lách, tổ chức phổi.

2.4. Dịch tễ học

Bệnh than là bệnh của động vật lây sang người. Từ nguồn bệnh ở trong đất, xác súc vật chết hoặc do tiếp xúc trực tiếp với động vật bị bệnh hoặc ăn phải vi khuẩn hoặc hít phải không khí có vi khuẩn mà người bị mắc bệnh than. Hầu hết các nước trên thế giới đều coi bệnh than là bệnh nghề nghiệp bởi vì gặp hầu hết ở các đối tượng tiếp xúc với nguồn gây bệnh trong khi làm việc. Các đối tượng có nguy cơ cao mắc bệnh than như công nhân chăn nuôi (trâu, bò, cừu, dê...), công nhân thuộc da, công nhân làm các việc có tiếp xúc trực tiếp với da động vật (đóng giày, sản xuất thắt lưng, túi da...). Do đặc điểm sinh học đặc biệt của trực khuẩn than và khả năng lây lan bởi nha bào của chúng nên người ta rất lo ngại về việc sử dụng trực khuẩn than trong chiến tranh sinh học.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Bệnh phẩm

Tùy thuộc vào từng thể bệnh hoặc theo yêu cầu trong điều tra dịch tễ học mà lấy bệnh phẩm

Thể da

Giai đoạn bọng nước: Khi đang là giai đoạn bọng nước thì dùng bơm, kim tiêm để chọc vào bọng nước hút dịch hoặc tăm bông vô trùng quệt vào chỗ bọng nước đã vỡ hoặc vết loét trên da. Nếu bọng nước chưa vỡ thì cố gắng không làm vỡ.

Giai đoạn đóng vảy: dùng kẹp vô trùng nhấc nhẹ nhàng bên mép vảy lên rồi dùng tăm bông vô trùng nhúng vào nước muối sinh lý đưa vào bên trong lớp vảy để thấm dịch. Bệnh phẩm lấy xong cho vào ống nghiệm vô trùng, đậy kín.

Thể phổi

Lấy đờm hoặc mủ số lượng khoảng 1 ml. Trong trường hợp nghi có nhiễm khuẩn huyết thì lấy máu tĩnh mạch (người lớn lấy 10 ml, trẻ em lấy 5 ml) và cấy vào bình canh thang ngay tại giường bệnh.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thể ruột

Có thể lấy phân để xét nghiệm tìm vi khuẩn. Lấy phân bằng cách dùng tăm bông vô trùng lấy qua đường hậu môn vào trực tràng hoặc lấy 5 g phân. Ngoài ra đối với thể ruột người ta có thể lấy thức ăn của bệnh nhân còn sót lại.

Trừ bệnh phẩm là máu còn tất cả các loại bệnh phẩm sau khi lấy phải cho vào ống nghiệm vô khuẩn, đưa về phòng xét nghiệm vi sinh y học càng sớm càng tốt. Trong trường hợp chưa thể vận chuyển kịp thì phải bảo quản ở nhiệt độ lạnh từ 2–8°C.

3.2. Chẩn đoán trực tiếp

– Nhuộm soi: bệnh phẩm là chất tiết, đờm nhuộm bằng phương pháp Gram, soi kính hiển vi quang học để quan sát vỏ, cách sắp xếp và tính chất bắt màu thuốc nhuộm.

– Dùng kỹ thuật huỳnh quang: Người ta có thể dùng phản ứng huỳnh quang, chất màu huỳnh quang và kháng trực khuẩn than đó được gắn sẵn, cho tiếp xúc với bệnh phẩm (trừ bệnh phẩm là máu) lấy từ bệnh nhân hoặc động vật nghi bị bệnh than, soi trên kính hiển vi huỳnh quang.

– Dùng kỹ thuật sinh học phân tử: Ngày nay nhờ sự phát triển của sinh học phân tử mà người ta có thể dùng kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction) để phát hiện trực khuẩn than một cách chính xác và nhanh chóng.

– Nuôi cấy

Cấy trực tiếp bệnh phẩm lên môi trường canh thang, thạch thường, thạch máu (máu cừu hoặc máu thỏ), ủ ấm ở nhiệt độ 35°C trong thời gian 24 giờ, đọc kết quả.

Trên môi trường canh thang trực khuẩn than phát triển tạo thành vẩn bông và lắng đọng xuống đáy ống nghiệm.

Trên môi trường thạch thường khuẩn lạc có dạng R (Rough), đường kính của khuẩn lạc khoảng từ 3–4 mm, bờ nham nhở, xám đục, khô trông như búi tóc hoặc bờm con sư tử và bám chắc vào mặt thạch.

Trên môi trường thạch máu cừu khuẩn lạc cũng có dạng R, không gây tan máu, nhưng trên môi trường thạch máu thỏ trực khuẩn than có thể gây tan máu.

Từ các khuẩn lạc nghi ngờ sẽ cấy chuyển sang thạch thường ống nghiêng để xác định tính chất sinh vật hóa học và tiêm cho súc vật thí nghiệm. Đối với trực khuẩn than không phát triển trên môi trường Mac Conkey, vì vậy có thể dùng môi trường này để chẩn đoán phân biệt với một số vi khuẩn khác.

Tiêm súc vật thí nghiệm: tùy thuộc vào điều kiện của từng phòng thí nghiệm, có thể động vật thí nghiệm là chuột lang, chuột nhắt trắng hoặc thỏ. Tiêm vào dưới da hoặc vào màng bụng 0,5 ml canh khuẩn với chuột lang; 0,2 ml đối với

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chuột nhắt trắng. Theo dõi và chăm sóc súc vật thí nghiệm thật cẩn thận. Khi chuột ốm hoặc chết sẽ mổ chuột quan sát thấy tổ chức dưới da bị phù nề; hạch sưng to; phổi có nhiều vùng tổn thương...Lấy tạng nghiền và nhuộm Gram để quan sát hình thể. Có thể nhuộm bằng phương pháp nhuộm phình vỏ để quan sát vỏ của trực khuẩn than.

Cấy máu: cấy máu đòi hỏi ở tất cả các trường hợp nghi bệnh than ở người, song kết quả cấy máu thường dương tính chậm, vì vậy cần theo dõi ít nhất là 1 tuần.

3.3. Chẩn đoán gián tiếp

Người ta đó xác định được chất kháng histamin (antihistamin) ở bệnh nhân mắc bệnh than. Shlyakou và cộng sự (1957) bằng cách tiêm vào trong da bệnh nhân (hoặc người đã khỏi bệnh) 0,1 ml chất gây dị ứng (aliergène), sau 24 – 48 giờ, xuất hiện một nốt viêm ban đỏ có đường kính khoảng 8 mm, biểu hiện phản ứng dương tính, kết quả này đồng nghĩa với sự có mặt của kháng thể kháng lại chất gây dị ứng có ở trực khuẩn than.

3.4. Chẩn đoán nhanh trực khuẩn than

Phản ứng hạt trai

Nguyên lý của phản ứng này là người ta dựa vào mức độ nhạy cảm với khang sinh penicilin ở nồng độ thấp của trực khuẩn than. Cấy vi khuẩn nghi là trực khuẩn than vào môi trường canh thang có nồng độ penicilin 0,5 đơn vị/ml, 0,05 đơn vị/ml và môi trường canh thang không có penicillin, ủ ấm canh thang đã cấy trong 3 giờ rồi lấy hỗn dịch ở từng ống canh thang nhỏ lên từng tiêu bản một, đậy la–men (tránh có bọt khí) và soi kính hiển vi quang học có độ phóng đại 400 lần, có thể thấy các hiện tượng sau đây:

Đúng là trực khuẩn than: Tiêu bản được dàn từ canh thang không có penicillin nhuộm bằng phương pháp nhuộm nha bào, nhìn rõ trực khuẩn có nha bào và xếp chuỗi.

Tiêu bản được dàn từ canh thang có penicillin sẽ thấy trực khuẩn hình hạt trai, xếp chuỗi do vi khuẩn bị tác động của penicillin làm phình ra, tạo hình tròn nối tiếp nhau giống các hạt trai trong chuỗi hạt trai.

Các vi khuẩn khác không phải trực khuẩn than sẽ không có hình hạt trai trong môi trường có penicillin.

Phản ứng Ascoli

Đây là phản ứng gây kết tủa vòng hay được dùng nhất trong chẩn đoán nhanh trực khuẩn than. Phản ứng có giá trị cao mỗi khi trong bệnh phẩm cùng chứa các loại kháng nguyên hòa tan. Người ta lấy một mảnh phủ tạng nghiền nhỏ, nát vụn, cho một ít nước muối sinh lý (khoảng 1 g bệnh phẩm cho vào 10 ml

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nước muối sinh lý), đun sôi 5–10 phút, lọc qua giấy lọc lấy nước lọc (có kháng nguyên hòa tan). Nước lọc cho vào ống nghiệm với số lượng 0,1 ml, rồi cho tiếp xúc với 0,2 ml kháng huyết thanh đặc hiệu của trực khuẩn than. Sau 15 phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm, đọc kết quả. Phản ứng dương tính khi ở ranh giới giữa kháng nguyên–kháng huyết thanh xuất hiện vòng trắng đục. Phản ứng âm tính khi giữa ranh giới kháng nguyên–kháng huyết thanh không có vòng trắng đục. Cần lưu ý là phản ứng Ascoli cũng cần phải làm các ống chứng.

Phản ứng kết tủa khuếch tán trong thạch

Nguyên lý của phản ứng này là kháng nguyên trực khuẩn than và kháng thể chống trực khuẩn than khuếch tán trong thạch khi chúng gặp nhau sẽ hình thành đường kết tủa.

Phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp

Nguyên lý của phản ứng này là khi kháng nguyên của trực khuẩn than gặp kháng thể kháng trực khuẩn than đã gắn lên hồng cầu thì hồng cầu ngưng kết lại với nhau tạo thành mạng ngưng kết có thể nhìn thấy được bằng mắt thường. Kháng nguyên ở đây là kháng nguyên hòa tan của trực khuẩn than. Nếu phản ứng dương tính chứng tỏ có nhiễm trực khuẩn than. Đây là một phản ứng hay được dùng trong chẩn đoán nhanh trực khuẩn than bởi có độ nhạy và độ đặc hiệu khá cao.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh chung

Đối với ngành thú y, cần phát hiện sớm các động vật bị bệnh than, cách ly và điều trị kịp thời. Trong trường hợp động vật bị chết, cần chôn sâu, phủ hoá chất có tính sát trùng mạnh như vôi bột, cloramin B; cần phải chôn xa nguồn nước, các bãi cỏ.

Đối với các công nhân lò sát sinh, công nhân thuộc da, đóng giày, cần có bảo hộ lao động tốt và cơ sở làm việc phải đảm bảo vệ sinh môi trường.

Phòng bệnh đặc hiệu

Có hai loại vắc xin phòng bệnh than cho người. Loại vắc xin sống giảm độc lực chứa nha bào của chủng *B. anthracis* không có khả năng sinh vỏ. Đưa vào cơ thể bằng đường tiêm. Hiệu lực bảo vệ cho cơ thể khoảng một năm. Loại vắc xin chứa các kháng nguyên chiết xuất từ môi trường nuôi cấy các chủng *B. anthracis* không có vỏ. Đưa vào cơ thể bằng đường tiêm. Hiệu lực bảo vệ của vắc xin này tương đương với vắc xin sống giảm độc lực.

4.2. Điều trị

Các kháng sinh có tác dụng tốt đối với trực khuẩn than là penicillin, tetracycline.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tác dụng tốt nhất là penicillin. Trong trường hợp vi khuẩn kháng penicillin thì nên chọn kháng sinh khác và nên kết hợp các loại kháng sinh thì kết quả tốt hơn. Tốt nhất là dựa vào phác đồ điều trị của Bộ Y tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agata N, Mori M, Ohta M, et al. A novel dodecadepsipeptide, cereulide, isolated from *Bacillus cereus* causes vacuole formation in Hep–2 veils. FEMS Micrpbiology Letters. 2004 (121): 31–34.
2. Agata N, Ohta M, Mori M and Isobe M. A novel dodecadepsipeptide, cereulide, in an emetic toxin of *Bacillus cereus*. FEMS Microbilogy Letters. 1995 (129): 17–20.
3. Beecher DJ. The *Bacillus cereus* group. In Molecular Medicai Microbiology. M Sussman ed. Academic Press, London, UK. 2001: 1161–1190.
4. Finlay WJJ, Logan NA. *Bacillus cereus* emelic toxin production in relation to dissolve oxygen tension and sporulation. Food. Microbiol. 2002 (19): 423–430.
5. Granum PE. *Bacillus cereus* and food poisoning. In Application and Systematics of *Bacillus* and Relatives. Blackwell Science, Oxford. 2002. pp.37–46.
6. Sirisanthna T and Brown AE. Anthrax of the gastrointestinal tract. Emerg Infect. Dis. 2002 (8): 649– 652.
7. Tumbull PCB, Hutson RA. *Bacillus anthracis* but not always anthracis. J. Appl. Bacteriol. 1992 (72): 21–28.
8. Maley MW, Kociuba K. Prevention of laboratory –acqured brucellosis: Significant side effects of prophylaxis. Clin. Infect. Dis. 2006 (42) 433–4 doi: 10.1086/499112. PMID 16392095.
9. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in chronic active gastritic. Lancet. 1983 (1): 1273–1275.

LISTERIA

Pine 1940

Loài mẫu: *Listeria monocytogenes* (Murray et al. 1926) Pine 1940

1. GIỚI THIỆU

Chi *Listeria* được đặt theo tên của nhà ngoại khoa người Anh, Joseph Lister.

Năm 1918, một loại vi khuẩn tương tự như *Erysipelothrix rhusiopathiae* được phân lập từ dịch não tủy của một quân nhân người Pháp. Chủng vi khuẩn này

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

được lưu giữ tại Viện Pasteur Paris; nhưng phải nhiều năm sau đó, vi khuẩn này mới được định danh là *Listeria monocytogenes*.

Năm 1924, **Murray** và cộng sự, trong quá trình nghiên cứu một dịch bệnh trên các động vật thí nghiệm, đã phân lập được một chủng vi khuẩn từ các hạch lympho của các động vật bị bệnh. Sau đó, ông lấy vi khuẩn này tiêm cho các con khỏe mạnh thì thấy, ở chúng, có hiện tượng tăng bạch cầu đơn nhân (monocytosis), tương tự như bệnh của viên quân nhân người Pháp nói trên; vì vậy, ông đặt tên cho nó là *Bacillus monocytogenes*. Ba năm sau, tại Nam Phi, Pirie – khi đó đang nghiên cứu sự mang *Yersinia pestis* trên chuột – đã phân lập được một vi khuẩn từ gan chuột và ông đặt tên cho nó là *Listerella hepatolytica*. Trực khuẩn này không thể phân biệt được với *Bacillus monocytogenes* và chủng vi khuẩn lưu giữ ở Viện Pasteur Paris. Chính vì vậy, Pirie đã đề xuất một tên mới, chỉ chung các chủng này, là *Listeria monocytogenes*.

Năm 1929, Nyfeldt phân lập được *L. monocytogenes* từ máu một bệnh nhân bị sốt kèm theo viêm hạch và ông tin rằng đó là tác nhân gây bệnh tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng. Tất nhiên, nhiều tác giả khác đã không đồng ý với lập luận của Nyfeldt. Nhiều năm sau đó, những công bố kinh điển về bệnh nhiễm *Listeria* (Listeriosis) trên người, kể cả ở trẻ sơ sinh và người lớn, cho thấy những bằng chứng giống như trong y văn nhưng có những tranh luận rằng, khả năng truyền bệnh từ động vật sang người là cực kỳ hiếm.

Năm 1950, những nghiên cứu đầu tiên, thực sự mang tính hệ thống về nhiễm *Listeria* trên người đã được thực hiện; tuy nhiên phải mất thêm ba thập kỷ nữa, sau hàng loạt các báo cáo dịch được công bố mới thấy, nghiên cứu về *L. monocytogenes* từ chỗ tương đối bế tắc đã trở nên sáng sủa hơn. Từ đó tới nay, chủ đề này đã thu hút được sự quan tâm nghiên cứu của nhiều chuyên ngành, không chỉ bởi vì tầm quan trọng của *L. monocytogenes* với sức khỏe cộng đồng, mà còn vì, vi khuẩn này đã trở thành một mẫu hình nghiên cứu thực nghiệm cho hiện tượng ký sinh nội bào không bắt buộc.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Đặc điểm chung của chi *Listeria*

Mối liên quan giữa các loài trong chi *Listeria* là chủ đề được tranh luận nhiều nhất. Ban đầu, chi này được cho là một thành viên của họ *Corynebacteriaceae* bởi vì các đặc điểm hình thái học và sau đó các nghiên cứu phân loại hóa học lại cho thấy các loài *Listeria* tương đối khác biệt so với *Corynebacteriaceae*. Cho đến năm 1984, trình tự từng phần với 16S rRNA đã khẳng định chính xác vị trí trên cây di truyền (phylogenetic tree) của chi *Listeria* trong nhóm *Clostridium–Bacillus–Lactobacillus*, với *Brochothrix thermosphacta* là gần nhất.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chi *Listeria* ban đầu được mô tả là đơn type với duy nhất một thành viên là *L. monocytogenes*. Những năm sau này, thêm bảy loài khác được xác định: *L. ivanovii* (trước đây gọi là *L. monocytogenes* serovar 5), *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. murrayi*, *L. grayi* and *L. denitrificans*. *Listeria denitrificans* được phân loại lại là *Jonesia denitrificans*. *Listeria murrayi* và *L. grayi* từng được cho là có khác biệt rõ với các loài *Listeria* khác để đảm bảo cho sự thành lập một chi mới, *Murrcya*, nhưng ngày nay đã được xếp lại thành một loài duy nhất *L. grayi*. Gần đây, *L. ivanovii* được chia thành hai subspecies: subsp. *ivanovii* và subsp. *londoniensis*. Trong số các loài không thuộc "*monocytogenes*" chỉ duy nhất *L. ivanovii* được xác định là tác nhân gây bệnh trên người.

2.2. Cấu trúc di truyền

Genome của *L. monocytogenes* và *L. innocua* được giải trình tự có độ dài là 2,94 Mbp với 2583 khung đọc mở (open-reading frame) và mol% G+C là 39. *Listeria innocua* có genome dài 3,01 Mbp với 2973 khung đọc mở và thành phần mol% G+C là 37. Một điều đáng chú ý là nhiều protein được mã hóa bởi vi khuẩn này mang độ tương đồng rất cao so với *Bacillus subtilis*. *Listeria monocytogenes* có mức độ đa dạng bất thường ở nhiều quần thể, do vậy, chúng có tới 331 gen mã hóa cho các protein vận chuyển khác nhau (11,6% trong số tất cả các gen dự kiến) và 209 các vị trí điều hòa quá trình dịch mã được tìm thấy trên loại vi khuẩn này.

Khoảng 0–79% các chủng *L. monocytogenes* có chứa plasmid với các kích cỡ khác nhau. Mặc dù hầu hết các plasmid này ở dạng ẩn, sự đề kháng với cadmium là hiện tượng phụ thuộc plasmid và các plasmid đặc hiệu cho hiện tượng đề kháng với một hoặc nhiều loại kháng sinh đã được ghi nhận. Plasmid thường thấy trong các chủng *L. monocytogenes* thuộc nhóm huyết thanh 1 (serogroup 1).

2.3. Đặc điểm hình thái và kháng nguyên

Các loài *Listeria* là trực khuẩn Gram dương có kích thước ngắn (0,4–0,5 x 0,5–2,0 μm). Chúng mọc trên các môi trường nuôi cấy không acid, không sinh nha bào. Ở 20°C, chúng di động bằng lông mọc xung quanh thân (peritrichous flagella), nhưng sự di động không quan sát được ở môi trường nuôi cấy 37°C. Chúng là vi khuẩn kỵ khí không bắt buộc và có thể mọc trên một khoảng nhiệt độ dao động rộng từ 0–45°C (tối ưu là 30–36°C), mặc dù tốc độ mọc ở nhiệt độ thấp là chậm. Chúng cũng mọc trên một khoảng pH dao động rộng, một số chủng có thể mọc ở pH 9,6, nhưng đạt điều kiện tối ưu ở môi trường trung tính hoặc pH hơi kiềm. Các đặc điểm sinh hóa và đặc tính quan trọng khác được liệt kê ở bảng 4.4 và 4.5.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 4.4. Phân biệt các loài *Listeria*

Loại test	*L. monocytogenes*	*L. innocua*	*L. seeligeri*	*L. ivanovii*	*L. welshimeri*	*L. grayi*	
						Subsp. *grayi*	Subsp. *murrayi*
Tan máu beta (β)	+	–	+	+	–	–	–
CAMP test với:							
S. aureus	+	–	W	–	–	–	–
R. equi	W	–	–	+	–	–	–
Khử nitrate	–	–	–	–	–	–	+
Acid từ:							
D–Mannitol	–	–	–	–	+	+	+
L–Rhamnose	+	V	–	–	–	–	V
D–Xylose	–	–	+	+	–	–	–
α–Methyl–D–glucoside	+	+	+	+	V	V	V
α–Methyl–D–mannoside	+	+	–	V[a]	V	V	V
D–Ribose	–	–	–	V[a,b]	+	+	+
D–Tagatose	–	–	–	–	–	–	–

+, ≥ 90% các chủng dương tính; –, ≤ 10% các chủng dương tính; V, 11–89% các chủng dương tính; w, dương tính yếu.

[a]subsp. *ivanovii* âm tính, subsp. *londoniensis* dương tính.

[b]subsp. *ivanovii* dương tính, subsp. *londoniensis* âm tính.

Bảng 4.5. Phân biệt các loài *Listeria* và *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Test	*Listeria* spp	*E. rhusiopathiae*
Catalase	+	–
Oxidase	–	–
Di động ở:		
20°C	+	–
30°C	–	–
Mọc ở 4°C	+	–
Tan máu	β/ không tan máu	α/ không tan máu
Tạo H_2S	–	+
Thủy phân aesculin	+	–
Indole	–	–
Voges–Proskauer	+	–
Urease	–	–
Vancomycin	Nhạy	Kháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Kháng nguyên chính của các loài *Listeria* là kháng nguyên thân (O) và kháng nguyên lông (H). Quy trình định type huyết thanh hiện nay dựa trên các kháng nguyên này đã phân loại được 6 nhóm huyết thanh (1/2, 3, 4, 5, 6 và 7) và phân loại sâu hơn thành các serovar cho tất cả cá loài trừ *L. grayu* và *L. invanoii*. Trong khi *L. invanoii* và *L. welshimeri* có thể được phân biệt với *L. monocytogenes* bằng định type huyết thanh thì các loài khác có thể có chung một hoặc nhiều kháng nguyên trùng với *L. monocytogenes*. Ví dụ, một số chủng *L. seeligeri* có thể không phân biệt được về mặt kháng nguyên so với các chủng thuộc *L. monocytogenes* ở nhóm huyết thanh 1/2. Cũng cần lưu ý rằng, mặc dù có 13 serovar của *L. monocytogenes* mới được xác định hiện nay, trong khi hơn 90% các chủng phân lập trên lâm sàng chỉ thuộc về ba serovar – 1/2a, 1/2b và 4b, điều này làm hạn chế giá trị của kỹ thuật này trong các nghiên cứu dịch tễ học.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Sinh bệnh học

Ngoài các trường hợp cực kỳ hiếm gặp khi nhiễm trực tiếp qua đường da hoặc đường kết mạc, hầu hết ở người trưởng thành, vi khuẩn xâm nhập qua đường tiêu hóa. Với thai nhi, nhiễm *Listeria* hầu hết xảy ra qua đường máu và chỉ ít trường hợp qua quá trình sinh đẻ. Các trường hợp khởi nhiễm *Listeria* muộn ở trẻ mới sinh là do quá trình lây truyền trực tiếp hoặc gián tiếp từ người sang người.

Mặc dù có ý kiến về việc đồng nhiễm với các vi khuẩn khác ở đường tiêu hóa có thể là yếu tố thuận lợi cho việc xâm nhập của *L. monocytogenes* qua đường ruột, hiện nay, người ta biết rằng, vi khuẩn này có thể tự "chỉ định" các tế bào động vật có vú, bao gồm cả các loại đại thực bào không chuyên trách (non–professional phagocytes) thu nhận (uptake) nó. Sự biểu hiện của các protein phối hợp bề mặt tế bào, trong đó internalin (Inl) A và B đã được phân tích nhiều nhất, là yếu tố quan trọng trong quá trình này. Một protein khác (p60), sản phẩm của gen *iap*, gần đây được đổi tên thành cwhA (cell–wall hydrolase), ban đầu được cho là có vai trò quan trọng trong quá trình trên, tuy nhiên tới nay nhiều bằng chứng cho thấy vai trò của protein này đối với khả năng xâm nhập của vi khuẩn là không nhiều.

Sau khi thâm nhập vào trong tế bào vật chủ, vi khuẩn ly giải màng của không bào thực bào (phagosomal vacuoles). Hiện tượng ly giải này được kích hoạt bởi kháng nguyên listeriolysin O, một chất tiêu huyết có liên quan đến các độc tố tạo lỗ phụ thuộc cholesterol khác (cholesterol–dependent pore–forming toxins, CDTX) giống như streptolysin O. Hai phospholipase, PlcA và B, cũng được cho là có vai trò quan trọng trong việc cho phép *L. monocytogenes* thoát ra ngoài không bào. Sau khi được tự do trong bào tương của tế bào vật chủ, protein ActA kích

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thích sự tổng hợp và lắng đọng của actin gây nên sự hình thành một đuôi actin ở một cực của vi khuẩn, và phát triển thành một cấu trúc giống hình giả que lên các tế bào bên cạnh tại vị trí đó sẽ bị thực bào phá hủy. Vi khuẩn thoát khỏi không bào qua sản phẩm của lysteriolysis và PclA và B. Các gen độc lực quan trọng của *L. monocytogenes* nằm ở vị trí đảo (island) gây bệnh 8,2 kb, LIPI, và được điều hòa dịch mã bằng các sản phẩm của gen *prfA* (PrfA). PrfA cũng điều hòa một phần sự biểu hiện của internalin A và B có vị trí ở một island gây bệnh riêng biệt khác.

Liều gây bệnh tối thiểu của *L. monocytogenes* trên người vẫn chưa được xác định, mặc dù đếm số lượng vi khuẩn từ bệnh phẩm máu cho thấy hầu hết các ca bệnh điển hình thường vượt quá 10^6 CFU g^{-1}. Sự khác biệt được giả định giữa các loài về độc lực đã được xác định, ví dụ, các chủng *L. monocytogenes* trên người phối hợp với các cá thể mang vi khuẩn không triệu chứng có biểu hiện một protein InlA bị cắt cụt. Kết quả so sánh genome cũng phát hiện thấy các gen đặc hiệu cho serovar, là cấu trúc cho phép tìm hiểu sâu hơn sự khác biệt về độc lực và cũng giúp giải thích tại sao hầu hết các trường hợp nhiễm *Listeria* trên người thường có nguyên nhân do serovar 4b.

3.2. Dịch tễ học

Môi trường

Listeria monocytogenes có thể tìm thấy từ rất nhiều nguồn khác nhau bao gồm cả bụi đất và nước thải. Mặc dù nhiều tác giả cho rằng *L. monocytogenes* trong đất và cấy cối có nguồn gốc từ ô nhiễm phân động vật, Weis và Seeliger (1976) cho rằng vi khuẩn được phân lập với số lượng nhiều nhất từ cây cối và đất từ các vùng không trồng trọt.

Listeria monocytogenes có thể tồn tại trong một thời gian dài trong môi trường. Nó có thể tồn tại tới 1500 ngày trong một số loại đất và có thể tồn lưu và nhân lên trong nước, có thể được phân lập từ nước bề mặt kênh rạch và hồ ao cũng như các vùng cửa sông. Vi khuẩn cũng có thể được phân lập từ rơm rạ hoặc nước thải đã được xử lý. Khi được phun rải trên các vùng đất nông nghiệp, số lượng *L. monocytogenes* không giảm đáng kể theo thời gian, điều này cho thấy nguy cơ mùa màng trồng trên đất tưới nước thải có thể bị nhiễm vi khuẩn. Tương tự như vậy, môi trường nước có thể nhiễm khuẩn do tập quán thải phân bón động vật hoặc phân người ở một số quốc gia.

Listeria monocytogenes cũng có thể được tìm thấy trong các thiết bị sản xuất thức ăn và các hệ thống tiêu thụ. Sự hình thành một lớp mỏng nơi vi khuẩn cư ngụ có thể là một yếu tố quan trọng. Vi khuẩn cũng có thể được phân lập từ môi trường trong nhà, nhưng mối liên quan của nó với Listeriosis trên người vẫn chưa được làm rõ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thực phẩm

Từ khi phát hiện thấy *Listeria* truyền qua thực phẩm, chỉ có một số ít loại thực phẩm không cần kiểm tra vi sinh có nhiễm *L. monocytogenes*. Các nghiên cứu nhằm xác định mức độ nhiễm *Listeria* của một sản phẩm thực phẩm nào đó thường cho các kết quả khác nhau. Lý do của hiện tượng này là khá phức tạp và cần được xem xét, ít nhất là một phần, như địa lý, mùa và các sự biến đổi khác cũng như sự khác biệt trong việc sử dụng các protocol để phân lập vi khuẩn. Những khác biệt rõ ràng về kỹ thuật thí nghiệm cũng là nguyên nhân của sự sai khác về kết quả xét nghiệm như tốc độ mọc, khả năng tồn tại và chịu nhiệt của *L. monocytogenes* trong thực phẩm.

Bệnh nhiễm *Listeria* trên người cũng có liên quan đến tiêu thụ gia cầm. Những kết quả theo dõi gần đây cho thấy, hơn 62% các mẫu thịt gà chưa nấu chín có thể bị nhiễm khuẩn. Tỷ lệ nhiễm *L. monocytogenes* ở thịt gà đã nấu chín, như dự đoán, thấp hơn các sản phẩm sống; tuy vậy các báo cáo dịch và các nghiên cứu bệnh chứng chỉ ra rằng thịt gà nấu chín cũng có khả năng gây bệnh Listeriosis trên người. Các sản phẩm thịt khác, kể cả nấu chín và sống, cũng có thể bị nhiễm khuẩn.

Listeria monocytogenes cũng được tìm thấy trong rất nhiều loại thực phẩm khác như pa tê, sau (kể cả loại salad đóng sẵn), hải sản đặc biệt thịt cua và cá hun khói, và trong cả các loại thực phẩm đông lạnh thương mại. Nhiễm khuẩn ở thực phẩm nấu sẵn cũng có thể xảy ra ở các loại thức ăn bán lẻ.

Sự mang vi khuẩn ở động vật và người

Ít nhất 50 loài động vật trong tự nhiên, sở thú và vật nuôi trong nhà và chim được xác định là vật chứa *L. monocytogenes*. Tỷ lệ nguồn phán mang vi khuẩn ở gia súc, cừu và dê biến đổi khác nhau nhưng có thể rất cao, thậm chí ở những bầy đàn không có biểu hiện mắc bệnh Listeriosis.

Truyền bệnh Listeriosis qua đường âm đạo cũng đã được nghiên cứu tuy nhiên dường như hiện tượng này cũng chỉ là một phần của bệnh cảnh nhiễm *Listeria* truyền từ mẹ qua thai nhi.

Gây bệnh cho người

Những trường hợp đầu tiên được giả định bị nhiễm *Listeria* qua đường thức ăn được công bố rất sớm, từ năm 1951. Những công bố tương tự tiếp tục được đưa ra trong hai thập kỷ tiếp theo, tuy nhiên không gây được quan tâm và tác động nhiều từ cộng đồng nghiên cứu khoa học và y học. Cho đến một vụ dịch lớn xảy ra năm 1980, nhiều nghiên cứu dịch tễ học hệ thống về nhiễm *L. monocytogenes* mới bắt đầu được tiến hành. Các nghiên cứu này cho kết quả tương tự là tỷ lệ mắc mới bệnh nhiễm *Listeria* có khuynh hướng gia tăng. Tuy nhiên, tồn tại một vấn đề vẫn chưa được làm rõ đó là hiện tượng này có đại diện cho một sự gia tăng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thực sự hay chỉ đơn thuần là nguyên nhân của sự nhận thức chú ý nhiều hơn về bệnh này ở các bác sĩ lâm sàng, các nhà vi sinh và các cơ quan quản lý y tế dự phòng. Có thể không có nghi ngờ về sự cải thiện trong các kỹ thuật chẩn đoán và hệ thống theo dõi và báo cáo dịch, nhưng đa số các cơ quan quản lý và các nhà chức trách tin tưởng rằng có sự gia tăng thật sự về số lượng các trường hợp nhiễm bệnh này.

Listeria monocytogenes là tác nhân gây bệnh qua thực phẩm

Bằng chứng về việc thực phẩm nhiễm khuẩn là đường truyền bệnh chủ yếu của *L. monocytogenes* xuất phát từ ba nguồn: điều tra các vụ dịch, các nghiên cứu bệnh chứng và các báo cáo về trường hợp mắc bệnh.

Các nghiên cứu bệnh chứng hoặc các báo cáo dịch về bệnh nhiễm *Listeria* trên người đã quy nguồn gốc gây bệnh là do những loại thực phẩm bị nhiễm khuẩn khác nhau như pho mát mềm hoặc gia cầm chưa nấu chín. Điều tra các trường hợp mắc bệnh rải rác thường gặp khó khăn do bệnh *Listeria* lây qua đường thức ăn thường có thời kỳ ủ bệnh rất dài so với các vi khuẩn khác gây bệnh qua đường thức ăn.

Trái ngược với bệnh Listeriosis kinh điển lây nhiễm qua đường thức ăn, ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy *L. monocytogenes* có thể gây hội chứng viêm đường tiêu hóa tự hồi phục có sốt với thời gian ủ bệnh ngắn (điển hình là 24 giờ). Những thực phẩm nghi ngờ gây ra hội chứng này của bệnh Listeriosis gồm thịt gà tây, ngô ngọt và sa lát cá hồi, sữa chocolate, cá hun khói và thịt bò muối.

Chưa có bằng chứng thuyết phục về hiện tượng lây nhiễm từ người sang người xảy ra bên ngoài các cơ sở bệnh viện, nhưng nhiễm trùng bệnh viện do *L. monocytogenes* đã được ghi nhận nhiều, đặc biệt tại các đơn vị chăm sóc trẻ sơ sinh. Đường lây truyền có thể qua thiết bị trợ sức, nhiệt kế hậu môn và dầu khoáng bôi lên da trẻ sơ sinh. Trong các vụ dịch khác, sự lây truyền bệnh từ các nhân viên y tế hoặc sản phụ đã được ghi nhận. Lây nhiễm trong bệnh viện do *Listeria* có thể có nguồn gốc thực phẩm.

Hiếm khi gặp các trường hợp lây bệnh Listeriosis qua động vật và nếu gặp thì thường có biểu hiện lâm sàng khác biệt so với các hội chứng kinh điển của bệnh này và có thể kèm theo các tổn thương trên da, viêm kết mạc và viêm phổi. Chưa có bằng chứng thuyết phục về việc lây truyền bệnh nhiễm *L. monocytogenes* qua đường tình dục. Lây truyền qua đường truyền máu, mặc dù về lý thuyết có khả năng xảy ra, chưa được ghi nhận trên thực tế.

Dịch tễ học phân tử L. monocytogenes

Các hệ thống typing thông thường có nhiều hạn chế như phương pháp định type huyết thanh (có khả năng phân biệt thấp) và typing bằng thực khuẩn thể (bacteriophage). Do vậy, các kỹ thuật sinh học phân tử đã được ứng dụng và có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

đóng góp quan trọng trong việc tìm hiểu, nghiên cứu về bệnh do *L. monocytogenes* gây ra. Các phương pháp như phân tích RFLP (restriction fragment length polymorphism), các kỹ thuật dựa trên PCR như RAPD (random amplification of polymorphic DNA), MEE (multilocus enzyme electrophoresis) và PFGE (pulsed–field gel electrophoresis); trong đó, PFGE thường được coi là tiêu chuẩn vàng trong phương pháp định type *L. monocytogenes*. Hệ thống giám sát sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử được dùng để điều tra các vụ dịch, các cụm nhiễm bệnh (cluster) chưa xác định được và để phân biệt giữa nhiễm *Listeria* tái phát (relapsing) hay tái nhiễm (recurring).

3.3. Bệnh cảnh lâm sàng

Nhiễm Listeria ở phụ nữ mang thai

Hội chứng này xuất hiện trong khoảng một phần ba các trường hợp nhiễm *Listeria* mặc dù tỷ lệ này có thể cao hơn nhiều trong các đợt dịch. Mặc dù được cho là xảy ra phổ biến nhất trong ba tháng cuối của thai kỳ, bệnh nhiễm *Listeria* ở các giai đoạn sớm của thai kỳ cũng được ghi nhận. Tuy nhiên, do những trường hợp hỏng thai sớm thường không được điều tra cặn kẽ, số lượng các trường hợp bệnh trong ba tháng đầu thai kỳ cũng được dự đoán là thấp hơn thực tế.

Nhiễm khuẩn huyết là biểu hiện hay gặp nhất trong bệnh nhiễm *Listeria* ở thai phụ và điển hình phối hợp với các dấu hiệu giả cúm như sốt, đau đầu và đau cơ. Dấu hiệu đau vùng thắt lưng có thể gợi ý một nhiễm khuẩn đường tiết niệu. Có tới 45% các trường hợp phụ nữ mang thai không biểu hiện triệu chứng trong lần nhiễm khuẩn đầu tiên trước khi bị sảy thai hoặc thai chết lưu.

Những nghi ngờ về nhiễm *Listeria* đường thai sản là nguyên nhân gây sảy thai liên tục được được đưa ra từ hơn 40 năm trước, nhưng vẫn chưa có một bằng chứng cụ thể để chứng minh hiện tượng này.

Bằng chứng về việc nhiễm khuẩn huyết *L. monocytogenes* không được điều trị ở phụ nữ mang thai không nhất thiết sẽ dẫn tới lây truyền bệnh cho thai nhi ngày càng được củng cố, đặc biệt nếu liệu pháp kháng sinh thích hợp được sử dụng.

Nhiễm Listeria ở trẻ sơ sinh

Gần giống như các trường hợp nhiễm khuẩn liên cầu nhóm B ở trẻ sơ sinh, nhiễm *Listeria* ở trẻ sơ sinh có thể được chia thành hai nhóm khởi phát sớm và muộn. Khởi phát sớm là có biểu hiện nhiễm khuẩn trong vòng 5 ngày, nhất là khoảng 48 giờ sau khi sinh. Bệnh khởi phát muộn thì phát bệnh sau 5 ngày từ khi sinh, trung bình là 14 ngày. Tỷ lệ tử vong cao tới 60% cho nhóm khởi phát sớm và 25% cho nhóm khởi phát muộn.

Đa số các trường hợp bệnh khởi phát sớm bị truyền nhiễm *L. monocytogenes* từ trong tử cung qua nguồn vi khuẩn trong máu của mẹ. Nhiễm khuẩn từ âm đạo là cực kỳ hiếm gặp. Biểu hiện kinh điển của bệnh khởi phát sớm là bệnh u

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hạt nhiễm khuẩn trẻ sơ sinh với đặc tính là có u hạt rải rác ở một số cơ quan nội tạng. Mặc dù biểu hiện điển hình hơn của dạng bệnh này là nhiễm khuẩn huyết kèm theo viêm phổi và viêm màng não. Có thể có ban sần và ban dạng gờ nhú. Trên thực tế thường khó phân biệt giữa nhiễm bệnh Listeriosis khởi phát sớm và các thể khác của nhiễm khuẩn trẻ sơ sinh trên các bệnh cảnh lâm sàng đơn độc.

Trái ngược với thể khởi phát sớm của bệnh này, trẻ sơ sinh có khởi phát muộn thường biểu hiện khỏe mạnh lúc mới sinh. Người ta cho rằng trẻ sơ sinh bị vi khuẩn ngay từ lúc sinh, nhưng do các yếu tố chưa biết nào đó, việc khởi phát bệnh bị chậm lại. Cũng giống như vậy, nhưng các trường hợp nhiễm khuẩn do nhiễm trùng bệnh viện xảy ra sau khi trẻ được sinh ra đã được ghi nhận trong nhiều báo cáo về các nhóm nhiễm *Listeria* khởi phát muộn. Bệnh khởi phát muộn hay có viêm màng não hoặc viêm não–màng não (ở 90% các trường hợp). Khởi phát muộn thường âm thầm hơn so với thể bệnh khởi phát sớm với những triệu chứng thường gặp như trẻ bú kém hoặc bỏ bú, khó chịu và sốt.

Nhiễm Listeria ở người trưởng thành

Nhiễm *Listeria* ở người trưởng thành thường gặp trên các bệnh cảnh suy giảm miễn dịch, đặc biệt khi hệ miễn dịch tế bào bị suy giảm như trong u hệ lympho, các liệu pháp điều trị chống thải ghép trong ghép cơ quan tạng đặc và ghép tủy xương tự thân hoặc cùng loài, khi đó bệnh xảy ra điển hình dưới dạng một biến chứng muộn. Ngay trong thời kỳ đầu của đại dịch AIDS, *L. monocytogenes* không được coi là tác nhân gây bệnh quan trọng với bệnh nhân nhiễm HIV, và có một số ý kiến giải thích khá thuyết phục cho hiện tượng này như hoạt tính kháng *Listeria* của cotrimoxazole được dùng trong điều trị dự phòng nhiễm *Pneumocystis jiroveci* trước đó. Những nghiên cứu gần đây lại cho thấy, nhiễm *Listeria* xảy ra ở bệnh nhân dương tính với HIV cao hơn 150–300 lần so với nhóm đối chứng. Những bệnh mạn tính khác như nghiện rượu và tiểu đường cũng là điều kiện thuận lợi cho nhiễm *L. monocytogenes*.

Nhiễm *Listeria* tiến triển ở người trưởng thành có thể được xếp thành ba nhóm tùy theo vào biểu hiện lâm sàng: bệnh liên quan đến hệ thống thần kinh trung ương (CNS) chiếm khoảng 75% các trường hợp, nhiễm khuẩn huyết nguyên phát và nhóm các loại khác bao gồm phổ rộng các loại nhiễm trùng tại chỗ.

Nhiễm khuẩn hệ thần kinh

Viêm màng não có hoặc không có dấu hiệu thần kinh cục bộ là thể hay gặp nhất của nhiễm *Listeria* hệ thần kinh trung ương. Giống như các trường hợp viêm màng não mủ khác, viêm màng não do *Listeria* thường khởi phát cấp tính với sốt cao, cứng gáy và sợ ánh sáng, nhưng có thêm các rối loạn vận động như run rẩy hoặc mất khả năng điều hòa. Co giật cũng thường hay xuất hiện hơn so với các thể khác của viêm màng não.

Thể không có viêm màng não hay gặp nhất của nhiễm *Listeria* hệ thần kinh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trung ương là viêm não, thường hay ảnh hưởng nhất đến vùng não sau. Thể này có tiến triển theo kiểu hai thì điển hình: tiền triệu không đặc hiệu như đau đầu, buồn nôn, nôn và sốt; tiếp đó là liệt dây thần kinh không đối xứng tiến triển, các dấu hiệu tiểu não hoặc liệt nhẹ nửa người và suy giảm ý thức. Tiên lượng bệnh xấu, tỷ lệ di chứng thần kinh cao ở các trường hợp sống sót. Nguồn gốc nhiễm khuẩn thần kinh là từ nhiễm khuẩn huyết, không có bằng chứng cho thấy là lây bệnh từ những vị trí nhiễm bệnh khác.

Nhiễm khuẩn huyết

Nhiễm khuẩn huyết nguyên phát là biểu hiện hay gặp thứ hai trong nhiễm *Listeria* tiến triển ở người lớn tuổi không mang thai, khoảng 25–50% các trường hợp. Không có các đặc điểm lâm sàng phân biệt cho thể bệnh nhiễm *Listeria* này. Bệnh nhân có thể bị tụt huyết áp nặng với bệnh cảnh lâm sàng tương tự như trong shock nội độc tố vi khuẩn Gram âm, là trường hợp có thể kèm theo hội chứng suy giảm hô hấp ở người lớn.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Chẩn đoán nhiễm *Listeria* chỉ dựa trên bệnh cảnh lâm sàng thường khó khăn một phần là do ít triệu chứng và dấu hiệu bệnh nếu có, và một phần là do đây là một nhiễm trùng hiếm gặp và thường ít được chú ý trong chẩn đoán phân biệt.

4.1. Phát hiện trực tiếp *L. monocytogenes* trên bệnh phẩm lâm sàng

Nhuộm Gram bệnh phẩm lấy từ các vùng bình thường vô khuẩn có thể gợi ý chẩn đoán nhiễm *Listeria*. Các trực khuẩn Gram dương ngắn có thể ở bên trong hoặc bên ngoài tế bào, nhưng cần chú ý là vi khuẩn này có thể có lông, có hình cầu hoặc thậm chí là Gram âm, đặc biệt trong dịch não tủy lấy từ các bệnh nhân viêm màng não đã được điều trị một phần. Cũng cần chú ý rằng, phân tích hoá sinh dịch não tủy có thể không cho kết quả viêm mủ điển hình; có tới 30% các trường hợp không có biểu hiện giảm glucose dịch não tủy và không tăng hoặc thậm chí không có bạch cầu đa nhân.

Có rất nhiều hệ thống phát hiện kháng nguyên của *Listeria* hiện có trên thị trường như ELISA hay ngưng kết latex thụ động ngược (reversed passive latex agglutination) hay ADN sử dụng kỹ thuật lai dựa trên PCR, nhưng những kỹ thuật này được phát triển chỉ để phát hiện các loài *Listeria* trong thực phẩm và có rất ít kinh nghiệm sử dụng các phương pháp này cho chẩn đoán cận lâm sàng.

4.2. Phân lập *L. monocytogenes* từ các bệnh phẩm lâm sàng

L. monocytogenes dễ dàng được phân lập từ bệnh phẩm lấy từ các vùng vốn dĩ vô khuẩn (dịch não tuỷ, dịch khớp...). Vi khuẩn mọc trên hầu hết các môi trường không chọn lọc thông thường sau 24–48 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thạch máu được ưa dùng hơn bởi vì *L. monocytogenes* gây tan máu β, mặc dù cần chú ý rằng có các chủng không gây tan máu, tuy hiếm gặp *(Xem hình P23 ở Phụ bản)*. Phân lập *L. monocytogenes* từ bệnh phẩm lâm sàng (hoặc thực phẩm hay môi trường) thường hay bị nhiễm với các vi hệ đối kháng do vậy cần dùng loại môi trường nuôi cấy phân biệt chọn lọc như thạch Oxford hay PALCAM (polymyxin acriflavine lithium chloride ceftazidime individual aesculin mannitol), cả hai hiện đều có trên thị trường. Trên các môi trường nuôi cấy này, các khuẩn lạc của *Listeria* có màu đen (có thể lan tỏa rộng trên toàn bộ môi trường). Trừ các trường hợp ít gặp như *L. grayi*, các loài *Listeria* đều không lên men đường mannitol và đặc tính này được sử dụng trong thạch PALCAM có mannitol/phenol. Một số loại thạch tạo màu hiện có trên thị trường dùng cho phân lập các loài *Listeria*, tuy nhiên, kinh nghiệm sử dụng những loại sản phẩm này bên ngoài các labo vi sinh thực phẩm còn hạn chế. Bệnh phẩm lâm sàng hoặc thực phẩm nhiễm bệnh cũng có thể được ủ để tăng sinh như canh thang Fraser hay canh thang đệm, giàu chất dinh dưỡng cho *Listeria*, trước khi cấy chuyển lên một môi trường chọn lọc/phân biệt. Phương pháp bổ sung chất dinh dưỡng cho các bệnh phẩm ở 4°C hiện nay không còn được sử dụng.

4.3. Xác định *L. monocytogenes*

L. monocytogenes có thể bị định danh nhầm thành bạch hầu ở các labo lâm sàng, việc này có thể dẫn đến việc vứt bỏ chủng vi khuẩn đã phân lập được vì bị coi là bệnh phẩm bị bội nhiễm. Các vùng tan máu β có thể không rõ rệt ở lần kiểm tra đầu tiên và cần phải lấy khuẩn lạc khỏi đĩa cấy để có thể quan sát thấy được vùng này. Hơn nữa, *L. monocytogenes* có thể phản ứng chéo với các kháng nguyên có trong một số các kit trên thị trường dùng để phân nhóm liên cầu tan máu β. Các test kiểm tra di động đôi khi được tiến hành chỉ ở 20°C mà không kiểm tra đồng thời sự mất di động ở nhiệt độ 37°C. Cần lưu ý rằng chỉ một số ít trong quần thể di động có khả năng bộc lộ đặc điểm được gọi là di động kiểu lá quay (tumbling leaf motility) khi quan sát ở tiêu bản soi tươi. Rất hiếm khi test catalase âm tính.

Mặc dù việc xác định đặc tính sinh hóa các loài *Listeria* bằng các kỹ thuật sinh hóa thông thường hoặc các kỹ thuật khác mô tả ở bảng 4.4 và 4.5 có thể được thực hiện tốt trong hầu hết các labo lâm sàng, một số hệ thống xác định vi khuẩn hiện có trên thị trường có thể được sử dụng như API *Listeria*. Những hệ thống này ban đầu được thiết kế dùng cho các labo vi sinh thực phẩm và ít khi được sử dụng trong phân lập *L. monocytogenes* trên lâm sàng, do vậy chẩn đoán phòng thí nghiệm thường quy cần căn cứ vào tính hiệu quả kinh tế để áp dụng từng loại phương pháp trên. Tuy nhiên, nhiều hướng dẫn thường được sử dụng (API CORYNE) hoặc các hệ thống xác định tự động (VITEK 2) hay được dùng trong các labo lâm sàng cũng có khả năng xác định các chủng *Listeria* nghi ngờ ở

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

mức độ loài, mặc dù các test bổ sung cần được thực hiện để hoàn chỉnh quá trình định danh vi khuẩn.

Test CAMP (Christie Atkins và Munch–Petersen), ban đầu được sử dụng để xác định *Streptococcus agalactiae*, được cải tiến để dùng trong xác định đặc điểm các loài *Listeria*. Test này dựa trên sự hợp đồng tan huyết giữa các chủng nuôi cấy của *L. monocytogenes* và *Staphylococcus aureus, L. ivanovii* và *Rhodococcus equi*. Trong thử nghiệm này, *S. aureus* hoặc *R. equi* được cấy thành một đường trên thạch máu cừu và chủng *Listeria* tan huyết β, sau đó, được cấy thành đường vuông góc với đường cấy *S. aureus* hoặc *R. equi*. Các đĩa cấy được ủ ở 37°C trong 24–48 giờ. Với *L. invanovii* và *R. equi*, vùng tan huyết hình đầu mũi tên dễ dàng được quan sát. Với *S. aureus* và *L. monocytogenes* (cũng có thể là *L. seeligeri*), tan huyết hợp đồng cũng có thể xảy ra tuy nhiên ít rõ ràng hơn và có thể quan sát thấy một vùng ít sắc nét hơn. Cần lưu ý rằng để thử nghiệm này thành công nên sử dụng loại thạch máu cừu vừa mới được chuẩn bị. Nên rửa hồng cầu hai lần bằng đệm phosphat để loại bỏ các chất ức chế tan máu trước khi sử dụng. Không phải tất cả các chủng *S. aureus* và *R. equi* đều thích hợp với test CAMP, và các chủng mẫu được khuyến cáo là NCTC 1803 hoặc NCTC 7428 (ATCC 49444) và NCTC 1621 (ATCC 6939). Tương tự như vậy, các chủng *L. monocytogenes* đã được xác định (và các chủng khác nếu có) nên được sử dụng làm đối chứng. Cuối cùng, cần ghi nhận rằng một số chủng *L. monocytogenes* cũng có thể cho kết quả dương tính với phản ứng CAMP với cả *S. aureus* và *R. equi*, mặc dù hiện tượng tan huyết hợp đồng được quan sát thấy với trường hợp sau thường ít xảy ra hơn so với *L. ivanovii*. Một đặc điểm có giá trị gợi ý cao là di động ở 4°C, hình thành hình chiếc ô ở dưới bề mặt ống thạch mềm.

5. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Mặc dù trên *in vitro* cho thấy còn nhạy cảm với nhiều thuốc (trừ cephalosporin và fosfomycin), kết quả điều trị bằng liệu pháp kháng sinh trong bệnh nhiễm *Listeria* tiến triển thường không tốt, một phần do sự chậm chễ trong việc bắt đầu điều trị bằng kháng sinh thích hợp khi chưa đưa ra được chẩn đoán sớm trong quá trình bệnh và một phần do nhiều bệnh nhân có tình trạng suy giảm miễn dịch. Hơn nữa, *L. monocytogenes* là một loại vi khuẩn ký sinh nội tế bào không bắt buộc, và nhiều thuốc kháng sinh có khả năng thâm nhập bên trong tế bào kém. Thậm chí nếu có thể thâm nhập được, các thuốc này có thể không ổn định hoặc giảm hoạt tính trong điều kiện môi trường này.

Khả năng thâm nhập nội bào kém và nhiều ý kiến cho rằng các β–lactam chỉ có khả năng kìm khuẩn đối với *L. monocytogenes,* nhưng các aminopenicillins, amoxicillin và ampicillin được cho là các thuốc thích hợp trong các trường hợp Listeriosis xâm nhiễm, mặc dù phải dùng ở liều cao hơn so với bình thường

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(8–12 g/ngày, chia hai lần). Nhiều tác giả khuyến cáo nên sử dụng thêm một aminoglycoside, như gentamicin 5–7 mg/kg/ngày. Các mô hình động vật thực nghiệm sử dụng ampicilin gắn liposomal hoặc phân tử nano cũng cho các kết quả khả quan mặc dù hiện tượng này cần được đánh giá lại trên lâm sàng.

Thời gian tối ưu của liệu pháp kháng sinh cho bệnh Listeriosis vẫn chưa được xác định; điều này phụ thuộc nhiều vào các biểu hiện lâm sàng khác nhau và các điều kiện thuận lợi để gây bệnh, nhưng nói chung được khuyến cáo tối thiểu là 2 tuần trong nhiễm khuẩn nguyên phát và nhiễm *Listeria* ở phụ nữ mang thai; ít nhất 3 tuần với viêm màng não và bệnh ở trẻ sơ sinh. Liệu trình ngắn hơn có thể làm bệnh tái phát. Viêm màng trong tim có thể cần được điều trị tới 6 tuần.

Với những bệnh nhân không dung nạp với ampicillin +/– aminoglycoside, cotrimoxazole được coi là liệu pháp thay thế chấp nhận được.

Việc lựa chọn kháng sinh cho bệnh nhân trong trường hợp không dung nạp với cả ampicillin và cotrimoxazole là một vấn đề khó khăn. Điều trị bằng vancomycin cũng cho kết quả kém, và mặc dù các thuốc khác như carbapenem, fluoroquinolone thế hệ mới hơn, linezolid và quinupristin/dalfopristin có hoạt tính tốt trên *in vitro* chống lại *L. monocytogenes,* nhưng kinh nghiệm với những thuốc này trên lâm sàng vẫn còn rất hạn chế.

Kháng kháng sinh mắc phải ở các chủng phân lập trên lâm sàng tương đối hiếm gặp, mặc dù kháng tetracycline ở các chủng mang gen *tet*M đã được ghi nhận với khả năng kháng thuốc qua plasmid. Với nhiều loại kháng sinh khác, cơ chế đề kháng qua trung gian plasnid cũng đã được ghi nhận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gillespie SH and Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd.; 2nd ed, 2006.
2. Krieg NR, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Volume 1. 1984.
3. Murray PR, et al. Manual of Clinical Microbiology. ASM, 8th ed, Volume 1, 2, 2003.
4. Nancy Jo Trun, et al. Fundamental Bacterial Genetics. Wiley–Blackwell; 1st ed, 2003.
5. Peter HA, Sneath, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Volume 2. 1986.
6. Volk WA, et al. Essential of Medical Microbiology. Lippincott–Raven. 5th ed, 1996.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

MYCOBACTERIUM

Chi *Mycobacterium* bao gồm những trực khuẩn kháng cồn, kháng acid. Vì thế chúng được gọi là những vi khuẩn "kháng cồn kháng toan". Chúng có thể tồn tại trong môi trường có nồng độ cồn và acid nhất định. Chúng không bị mất màu khi tẩy bằng cồn và acid loãng ở tiêu bản nhuộm Ziehl – Neelsen. Các trực khuẩn thuộc họ này phần lớn là không gây bệnh và sống trong tự nhiên. Có hai loại vi khuẩn gây bệnh là trực khuẩn lao và trực khuẩn phong (hủi). Ngoài hai loại này ra, một số *Mycobacterium* không điển hình (atypical *Mycobacterium*) cũng có khi gây bệnh, nhưng rất hiếm gặp. Hiện nay, điều đáng quan tâm là đang xảy ra đại dịch thế kỷ HIV/AIDS, trong số những bệnh nhân AIDS có khoảng 1/2 là có biểu hiện bệnh lao, vì khả năng đề kháng của cơ thể họ bị suy giảm nên bệnh lao dễ xuất hiện và vi khuẩn lao thường kháng thuốc rất mạnh.

ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA GIỐNG *MYCOBACTERIUM*

Mycobaterium là các vi khuẩn hiếu khí hoặc vi hiếu khí, thường có dạng trực khuẩn, đứng rải rác. Tế bào vi khuẩn có tính kháng cồn, kháng acid ở một vài giai đoạn phát triển. *Mycobaterium* được coi là vi khuẩn Gram dương mặc dù không bắt màu Gram một cách rõ ràng, catalase dương, sinh acid từ đường, có hoạt tính oxidase.

Vách peptidoglycan có chứa N–glycolat–muramic nhiều meso–diaminopimelic acid, arabinose và galactose, chứa nhiều acid béo bão hoà 10–methyloctadecanoic acid, diphosphatidyl glycerol, phosphatidyl ethanolamime, phosphatidylinositol, dihydrogen menaquinon với 9 isopren và mycolic acid chứa 60–90 nguyên tử carbon. Tỷ lệ G+C của ADN thay đổi từ 61–71mol%. Chi *Mycobacterium* bao gồm nhiều loài hoại sinh, gây bệnh cơ hội và gây bệnh thực sự. Loài đại diện của chi là *M. tuberculosis*.

Tiêu chuẩn tối thiểu để xếp một loài vi khuẩn thuộc vào chi *Mycobacterium* (ủy ban Phân loại Vi khuẩn Quốc tế viết tắt là ICBS) đưa ra là:

- Kháng cồn, kháng acid.
- Có mycolic acid chứa 60 – 90 nguyên tử carbon, tách ra từ C_{12} – C_{26} bằng nhiệt phân.
- Tỷ lệ G+C từ 61 – 71 mol%.

Bảng 4.6. Các loài *Mycobacterium* gây bệnh

Danh pháp Quốc tế	Tên thường gọi
M. tuberculosis	Trực khuẩn lao người (human tubercle bacillus)
M. bovis	Trực khuẩn lao bò (bovine tubercle bacillus)
M. chenolei	Trực khuẩn lao rùa biển (turtle tubercle bacillus)
M. fortuitum	Trực khuẩn lao ếch (frog tubercle bacillus)
M. microti	Trực khuẩn lao chuột đồng (voletubercle bacillus)
M. avium	Trực khuẩn lao chim (avian tubercle bacillus)

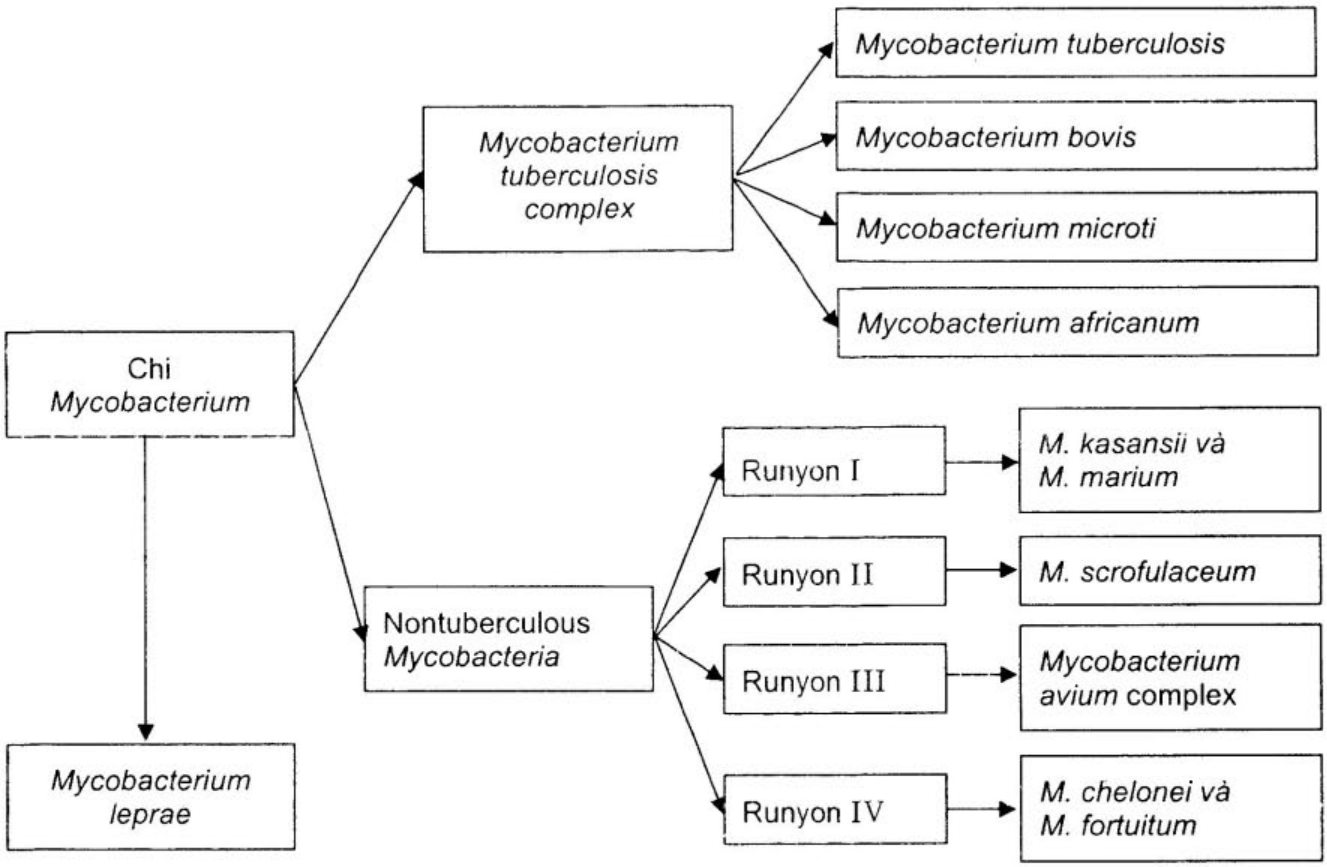
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Số loài của chi *Mycobacterium* ngày một tăng, đến năm 1995, số loài đã tăng lên tới 71. Năm 1986, trong Bergey's manual đã phân loại *Mycobacterium* gây bệnh quan trọng thành bốn loài: *M. tuberculosis, M. africanum, M. bovis* và *M. microti.*

Phân tích về kháng nguyên, về ADN và acid mycolic đã cho thấy rằng *M. tuberculosis, M. africanum, M. bovis* và *M. microti* được tiến hoá từ một loài duy nhất và gần đây được đặt tên là *Mycobacterium tuberculosis* complex. Đây là nhóm gây bệnh quan trọng nhất trong chi *Mycobacterium.* Ba loài đầu gây bệnh cho người, còn loài *M. microti* chỉ gây bệnh cho chuột lang. Tất cả bốn thành viên của nhóm đều có tính gây bệnh bắt buộc và không mọc hoặc mọc rất kém ở nhiệt độ dưới 30°C hoặc trên 37°C. Khác với các loài còn lại, *M. africanum* có đặc điểm trung gian giữa *M. tuberculosis* và *M. bovis. M. microti* có độc lực yếu nhất với người. Vì vậy đã được dùng làm vắc xin cho kết quả tương tự vắc xin BCG.

Cả bốn loài vi khuẩn trên đều có một đoạn gen chung là IS6110. Đoạn gen này không có ở các loài *Mycobacterium* khác. Gần đây, người ta thấy ở một số chủng *M. tuberculosis* thiếu đoạn gen IS6110.

Trong các phòng thí nghiệm vi sinh lâm sàng, việc chẩn đoán xác định, phân biệt *M. tuberculosis* với các loài khác chỉ cần dựa vào ba tính chất hoá sinh cơ bản là: niacin, nitrat và catalase ở 68°C. Nhưng người ta dựa vào niacin đầu tiên. Hầu hết các loài *M. tuberculosis* có niacin dương tính và không cần hai thử nghiệm còn lại. Nếu niacin âm tính thì cần thử nghiệm nitrat và calatase.



Sơ đồ phân loại các loài của chi *Mycobacterium*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

TRỰC KHUẨN LAO

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

(Zopt 1883) Lehmann và Neumann 1896

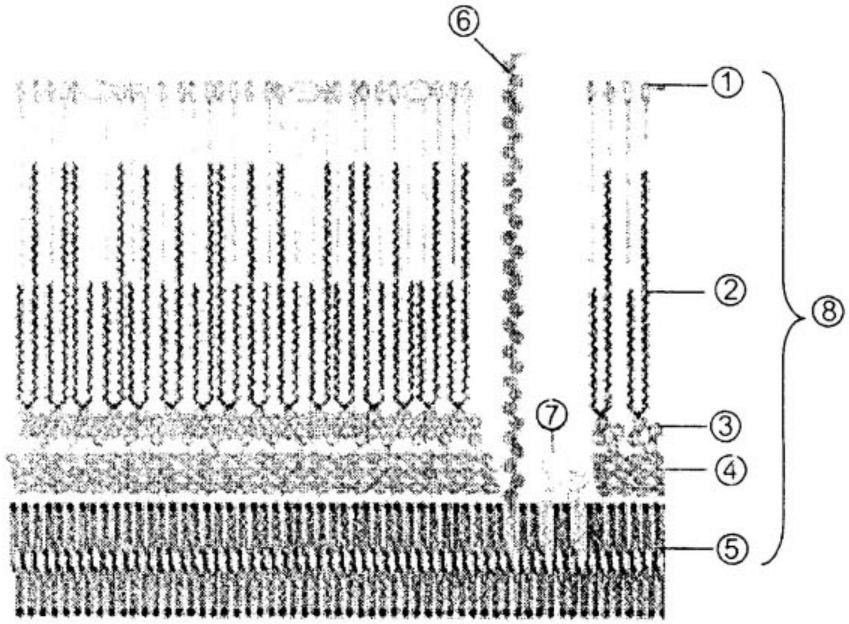
Chủng mẫu: ATCC 27294

Trực khuẩn lao được *Robert Koch* mô tả năm 1882.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể

Vi khuẩn lao là những trực khuẩn mảnh, kích thước khoảng 0,5 x 2–6 µm. Chúng không có vỏ, không có lông và không có nha bào. Trong bệnh phẩm, trực khuẩn lao thường dùng thành từng đám nối đầu vào nhau. Nhuộm Ziehl–Neelsen vi khuẩn có màu đỏ, còn nhuộm Gram vi khuẩn có màu tím *(Xem hình P24 ở Phụ bản)*.



Hình 4.6. Cấu trúc vách tế bào vi khuẩn lao

1. Lớp lipid bên ngoài; 2. Lớp acid mycolic; 3. Lớp polysaccharide (arabinogalactan).
4. Lớp peptidoglycan; 5. Lớp màng plasma; 6. Lớp lipoarabinomannan (LAM);
7. Lớp phosphatidylinositol mannoside; 8. Lớp khung vách tế bào

1.2. Nuôi cấy

Trực khuẩn lao thuộc loại hiếu khí. Chúng phát triển rất chậm, thường 1 – 2 tháng mới tạo được khuẩn lạc trên môi trường. Trên môi trường đặc Loeweinstein (gồm chủ yếu khoai tây, huyết thanh và asparagin) trực khuẩn lao mọc thành khuẩn lạc dạng R *(Xem hình P25 ở Phụ bản)*. Trong môi trường

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

lỏng Sauton (là môi trường tổng hợp) trực khuẩn lao mọc thành váng và lắng cặn. Hiện nay, để giảm bớt thời gian nuôi cấy, người ta thường dùng môi trường lỏng BBL MGIT; thời gian trung bình cần thiết để xác định vi khuẩn lao chỉ cần 13 ngày.

1.3. Phân loại

Gây bệnh lao cho người gồm có *M. tuberculosis* (trực khuẩn lao người), *M. bovis* (trực khuẩn lao bò) và *M. avium* (trực khuẩn lao chim). Chúng được phân biệt với nhau bằng các tính chất sau:

Bảng 4.7. Tính chất của các *Mycobacterium*

Tính chất	Màu khuẩn lạc	Nhiệt độ thích hợp	Thời gian mọc	Gây bệnh cho chuột lang	Gây bệnh cho người
M. tuberculosis	Vàng	37°C	30 ngày	++	++
M. bovis	Trắng	37°C	30 ngày	+	+
M. avium	Hồng	40°C	10 ngày	–	–
Mycobacteria không gây bệnh	Trắng	20°C	2–3 ngày	–	–

1.4. Sự đề kháng

Trực khuẩn lao thuộc loại có khả năng đề kháng tương đối cao với các yếu tố lý hoá, so với các vi khuẩn không nha bào khác.

Trong đờm ẩm chúng có thể sống được một tháng, trong sữa chúng có thể sống được nhiều tuần. Với kháng sinh và hoá trị liệu, trực khuẩn lao ngày càng kháng lại streptomycin, ethambutol, INH, rifampicin. Vi khuẩn lao kháng thuốc ban đầu đang là vấn đề nổi cộm. Việt Nam là nước có tỷ lệ vi khuẩn lao kháng thuốc ban đầu cao thứ 4 trên thế giới (theo WHO 1997).

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Cơ chế bệnh sinh

Trực khuẩn lao thường xâm nhập theo đường thở qua các giọt nước bọt và gây nên lao phổi (90% tổng số lao). Chúng cũng có thể xâm nhập vào đường tiêu hoá (qua sữa bò tươi) và gây nên lao dạ dày, ruột. Lao hạch gặp nhiều thứ 2 sau lao phổi. Từ các cơ quan bị lao ban đầu (phổi, đường ruột...), trực khuẩn lao theo đường máu và bạch huyết đến tất cả các cơ quan và gây lao ở các bộ phận khác nhau của cơ thể (lao hạch, lao màng não, lao thận, lao xương...).

Cơ chế bệnh sinh của bệnh lao hiện nay chưa rõ hoàn toàn. Vi khuẩn này không có nội và ngoại độc tố. Người ta chưa xác định được yếu tố độc lực của trực

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn lao. Nhưng có lẽ nó là một tập hợp của nhiều yếu tố, trong đó yếu tố sợi (cord factor) và lớp sáp ở vách tế bào trực khuẩn có ý nghĩa rất quan trọng.

Các chủng vi khuẩn lao độc lực có chứa đựng nhiều yếu tố sợi mà bản chất hoá học là 6,6'–dimycolyl trehalose. Yếu tố sợi này làm cho vi khuẩn lao gắn với nhau thành bó sợi. Khi làm mất yếu tố sợi, vi khuẩn lao giảm độc lực.

Các bằng chứng cho thấy *M. tuberculosis* lây qua đường thở theo những giọt nước bọt bé (do ho hoặc hắt hơi). Vi khuẩn ở lại phế nang và tiến triển thành viêm phế quản–phổi gần như không triệu chứng. Từ nơi cư trú trên, vi khuẩn lao đến hệ bạch huyết lân cận. Sau đó theo đường máu đến các cơ quan khác. Trong đa số trường hợp, người bệnh qua khỏi và hình thành các nang lao. Nếu sau đó nang lao vỡ ra, vi khuẩn lao lây nhiễm rộng, sinh sản và phát triển và bệnh lao xuất hiện.

2.2. Miễn dịch

Sau khi khỏi bệnh lao, người bệnh có cả miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào. Nhưng kháng thể không có vai trò bảo vệ. Trực khuẩn lao sau khi đã bị kết hợp bởi kháng thể và bị bắt bởi đại thực bào, vẫn không bị tiêu hoá. Chúng chỉ bị tiêu hoá sau khi đại thực bào đã được hoạt hoá bởi các lymphokin. Như vậy trong bệnh lao, miễn dịch tế bào tạo nên khả năng bảo vệ. Mặc dù hiện tượng Koch đã được phát hiện từ 1886 – hiện tượng dị ứng lao – nhưng lúc đó chưa ai chứng minh được miễn dịch tế bào. Đến năm 1942, Lansteiner và cộng sự mới chứng minh được miễn dịch bảo vệ trong bệnh lao không phải là kháng thể mà là các tế bào bạch cầu (chủ yếu là các tế bào lympho T). Từ đó cụm từ *miễn dịch qua trung gian tế bào* mới được biết đến.

Phản ứng tuberculin: là một loại test nội bì để đánh giá miễn dịch lao. Bản chất của nó là một phản ứng quá mẫn muộn. Nước ta và nhiều nước khác thường dùng phản ứng *Mantoux* để đánh giá miễn dịch lao. Trong phản ứng này kháng nguyên là tuberculin đã được tinh chế và chuẩn hoá. Tuberculin là một sản phẩm chuyển hoá của vi khuẩn lao. *Mantoux* dương tính là cơ thể có miễn dịch đối với lao, còn âm tính là ngược lại. Phản ứng này chỉ dùng để chẩn đoán lao ở trẻ em và là một test tham khảo khi chẩn đoán lao ở người lớn. Phản ứng *Mantoux* được dùng để đánh giá miễn dịch sau tiêm vắc xin BCG và miễn dịch tế bào.

Tiêm 5 đơn vị tuberculin tinh chế (5 IU PPD/0,1ml NaCl 0,9%) vào trong da mặt ngoài trước cẳng tay. 72 giờ sau tiêm, đọc kết quả. Nếu tại nơi tiêm xuất hiện một dát đỏ (nổi cục đỏ) đường kính từ 1 cm trở lên là phản ứng dương tính, tức là cơ thể đã có miễn dịch với vi khuẩn lao. Còn đường kính bé hơn là phản ứng âm tính, cơ thể chưa đầy đủ miễn dịch với vi khuẩn lao. Có một số người bị bệnh lao nhưng cơ thể suy giảm miễn dịch thì phản ứng này cũng âm tính, đang bị bệnh lao rất nặng và cơ thể bị suy kiệt, phản ứng cũng âm tính.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Việc nuôi cấy *M. tuberculosis* gặp nhiều khó khăn vì chúng mọc rất chậm. Gần đây nhờ các tiến bộ trong khoa học kỹ thuật, nhiều phương pháp mới đã được sử dụng vào mục đích phát hiện và phân loại các *M. tuberculosis*. Dưới đây là các phương pháp chủ yếu.

4.1. Kỹ thuật nhuộm soi trực tiếp

Nhuộm soi trực tiếp từ bệnh phẩm lao gồm các phương pháp nhuộm Zielh–Neelsen, nhuộm huỳnh quang với thuốc nhuộm auramin hoặc thuốc nhuộm rhodamin. Đây là các kỹ thuật đơn giản, nhanh và rẻ tiền. Phương pháp này được áp dụng nhiều trong các tuyến y tế, nhất là tuyến cơ sở. Độ nhạy phụ thuộc vào các loại bệnh phẩm và lượng vi khuẩn có trong bệnh phẩm. Kết quả thu được tốt nhất với các bệnh phẩm đường hô hấp: đờm, dịch phế quản... Độ nhạy thay đổi từ 46–78% và độ đặc hiệu tới gần 100%. Độ nhạy có thể tăng lên một cách đáng kể nếu ly tâm bệnh phẩm.

Nhuộm soi trực tiếp không định danh được vi khuẩn mà phải nuôi cấy phân lập, nhất là để phân biệt với các loại *Mycobacterium tuberculosis* và để làm kháng sinh đồ.

4.2. Nuôi cấy

Nuôi cấy phân lập xác định vi khuẩn và làm kháng sinh đồ là phương pháp có độ chính xác cao nhất. Các bệnh phẩm thường được nuôi cấy là đờm (lao phổi), dịch não tuỷ hoặc dịch màng phổi, nước tiểu (lao thận). Phân lập *M. tuberculosis* từ đờm dựa vào khả năng đề kháng của *M. tuberculosis* với acid (chlohydric acid, sulfuric acid...). Khi xử lý bằng acid, đờm nhày sẽ lỏng ra, thuần nhất và các tạp khuẩn bị tiêu diệt, trong khi đa số *M. tuberculosis* còn sống. Song nồng độ acid quá cao cũng làm chết cả *M. tuberculosis*, gây âm tính giả. Khử tạp khuẩn không cần thiết đối với các dịch được lấy một cách vô khuẩn như dịch não tuỷ, dịch chọc hút hạch... các dịch này được ủ trực tiếp vào môi trường nuôi cấy.

Có hai loại môi trường nuôi cấy:

– Môi trường đặc bao gồm các môi trường như: LJ, Ogawa, Kudoh, Coletsos, môi trường thạch Middlebrook 7H10 *(Xem hình P26 ở Phụ bản)*.

– Môi trường lỏng Sauton, Middlebrook, canh thang Kirchner.

Hầu như các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng dùng môi trường đặc để nuôi cấy *M. tuberculosis*. Vì sự phát triển chậm của *M. tuberculosis*, bằng phương pháp nuôi cấy thông thường cần ít nhất 4 tuần mới có thể nhìn thấy khuẩn lạc. Vấn đề đặt ra là cần có những kỹ thuật nuôi cấy nhanh hơn để đáp ứng với yêu cầu của lâm sàng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Những kỹ thuật nuôi cấy nhanh được kể là:

- Kỹ thuật BACTEC (Dùng đồng vị phóng xạ có độ nhạy cao),

- Các kỹ thuật Septi–check AFB; BacT/Alert; ESP–II;MB/ BactT^{TM}, BBL MGIT460, 960 (không dùng đồng vị phóng xạ, độ nhạy thấp hơn so với dùng đồng vị phóng xạ).

4.3. Định danh sau nuôi cấy

Phương pháp định danh thông thường bao gồm xác định tốc độ mọc, nhiệt độ mọc, hình thái khuẩn lạc, sự sinh sắc tố, các tính chất sinh vật hoá học và sự nhạy cảm với thuốc chống lao như P–nitrobenzoic acid, thiacetazone. Những thử nghiệm này đòi hỏi phải kéo dài thời gian thêm 2 – 4 tuần nữa.

Một ứng dụng mới để định danh *Mycobacterium* là dùng các mẫu dò nucleic acid (Probe) lai ghép đặc hiệu với ARN và ADN của *Mycobacteria*. Sản phẩm thương mại đầu tiên được đưa ra bởi Gen–Probe (SADNiego, Ca., USA) vào năm 1987 để định danh *M. tuberculosis*. Đây là kỹ thuật có độ nhạy và đặc hiệu cao.

4.4. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Để PCR có thể áp dụng chẩn đoán bệnh lao, đoạn ADN đích cần phải được xác định. Đích phổ biến nhất để nhân lên là đoạn trình tự IS6110 chỉ có ở *Mycobacteria* thuộc *M. tuberculosis*. Đây không phải trên nhiễm sắc thể mà là ở transposon, chức năng chưa biết rõ, có thể nhân lên hoặc hợp nhất với gen của vật chủ. Với mục đích của kỹ thuật PCR, chức năng của đoạn ADN không quan trọng mà quan trọng là nó phải đặc hiệu với vi khuẩn nghiên cứu. Sau khi phát hiện IS6110 ở *M. tuberculosis*, người ta còn tìm thấy IS6110 ở *M. africanum, M. bovis, M. microti* nhưng không tìm thấy ở các loài *Mycobacteria* khác. Vì vậy, IS6110 được dùng như một ADN đích hữu hiệu. *M. bovis* thường chỉ có một IS6110 còn *M. tuberculosis* thường có nhiều IS6110.

Kết quả PCR cũng nhanh, có thể thu được trong vòng 24–48 giờ kể từ khi nhận bệnh phẩm. Độ nhạy thay đổi từ 74 – 91% và độ đặc hiệu từ 95 – 100% nếu dùng nuôi cấy *M. tuberculosis* làm tiêu chuẩn vàng.

4.5. Xác định kháng thể

Chẩn đoán huyết thanh học bệnh lao vẫn là mối quan tâm lớn của các nhà nghiên cứu vì những lợi ích của nó trong các trường hợp không có bệnh phẩm chứa vi khuẩn gây bệnh, trong chẩn đoán lao trẻ em, lao ngoài phổi. Hơn nữa, so với các kỹ thuật khuếch đại acid nucleic, các kỹ thuật huyết thanh học đơn giản, rẻ hơn và dễ thực hiện hơn.

Các kháng thể được xác định nằm trong ba loại globulin miễn dịch IgG, IgM

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và IgA. IgM thường thấy với hiệu giá thấp, khó định lượng. IgA có hiệu giá tương dương với IgG nhưng có xu hướng giảm nhanh, khó định lượng. Vì thế, IgG là kháng thể thường được xác định. Tuy nhiên, IgM ngày càng được quan tâm nhiều hơn vì đối với kháng nguyên polysaccharide chỉ duy nhất có IgM được sinh ra trong đáp ứng miễn dịch, còn đối với kháng nguyên protein, IgM là kháng thể đầu tiên được tạo ra, nó đặc trưng cho giai đoạn sớm của bệnh, liên quan đến lao sơ nhiễm và rất có giá trị trong chẩn đoán lao trẻ em.

Sự xác định kháng thể kháng *M. tuberculosis* trong huyết thanh đã cho những kết quả hứa hẹn. Nhưng một vấn đề đặt ra là độ đặc hiệu thấp đối với các kỹ thuật dùng kháng nguyên thô. Kết quả dương tính giả cũng có thể xảy ra do phản ứng chéo với kháng nguyên *M. tuberculosis* của môi trường và của các vi khuẩn khác.

Kháng nguyên tinh khiết được chiết tách từ chủng *M. tuberculosis* bằng các kỹ thuật như sắc ký trao đổi ion (ion–exchange chromotography), lọc gen (gene filtration), tập trung đẳng điện tích (iso–electric focusing), điện di (electrophoresis), sắc ký ái lực (affinity chromotography)... hoặc từ chủng *E. coli* biểu lộ kháng nguyên của *M. tuberculosis*. Sử dụng kháng nguyên tinh khiết này làm tăng độ đặc hiệu của các kỹ thuật xác định kháng thể. Tuy nhiên, chất lượng của kháng nguyên tinh khiết tạo ra từ các kỹ thuật phức tạp trên rất thay đổi.

Hiệu quả sử dụng các kháng nguyên trong kỹ thuật ELISA:

Kháng nguyên	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
38 kDa	48–89	98–100
30 kDa	62–78	97–100
16 kDa	24–71	97–99
Lipoarbinomannan	26–81	92–100
A60	71–100	77–75

Tuy nhiên, các kết quả đưa ra khác nhau còn phụ thuộc vào giá trị tới hạn (cut off value) của nồng độ IgG mà mỗi tác giả lựa chọn trong nghiên cứu của mình. A60 là kháng nguyên chung cho *M. tuberculosis* và *M. bovis,* nó được sử dụng để đánh giá mức độ đáp ứng miễn dịch (trong bệnh lao hoặc sau dùng vắc xin BCG) và chẩn đoán lao ngoài phổi cho kết quả khả quan.

4.6. Phát hiện kháng nguyên vi khuẩn lao trong bệnh phẩm

Nhiều tác giả đã dùng kỹ thuật ELISA để xác định kháng nguyên *Mycobacteria* trong bệnh phẩm đờm, dịch não tuỷ, dịch màng phổi và dịch màng bụng. Nhưng kỹ thuật này có độ đặc hiệu thấp vì dùng kháng thể đa dòng. Có thể dùng kháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thể đơn dòng để xác định kháng nguyên *M. tuberculosis* trong huyết thanh nhân cho độ đặc hiệu cao.

Phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động dùng hồng cầu cừu gắn với kháng thể đơn dòng Lipoarabinomanan (LAM) xác định kháng nguyên ở dịch não tuỷ của bệnh nhân lao màng não có độ nhạy cao. Nhưng có một số trường hợp dương tính giả được tìm thấy ở nhóm chứng viêm màng não mủ.

Sada và cộng sự dùng kỹ thuật "đồng ngưng kết" qua protein A của *Staphylococcus aureus* gắn với kháng thể thỏ kháng LAM có độ nhạy cao và không tìm thấy dương tính giả ở nhóm chứng là bệnh nhân bệnh phổi ngoài lao nhưng bảo quản khó.

Kỹ thuật ngưng kết thụ động dùng hạt latex gắn với thành phần kết hợp với kháng nguyên của kháng thể thỏ kháng *M. tuberculosis* cũng đã được dùng để xác định kháng nguyên *M. tuberculosis* ở dịch não tuỷ trẻ em lao màng não. Cambiaso và cộng sự đã dùng mảnh F $(ab')_2$ kháng *M. bovis* BCG gắn với hạt latex. Những kỹ thuật này đang trong giai đoạn nghiên cứu và chưa được dùng trong vi sinh lâm sàng.

4.7. Các phản ứng da

Thử nghiệm tiêm trong da với PPD (phản ứng Mantoux) là thử nghiệm đơn giản thường dùng để xác định nhiễm lao, nhưng không phân biệt được giữa lao tiến triển, nhiễm trùng từ trước hoặc đã tiêm vắc xin. Test da có giá trị ở những vùng có độ lưu hành lao thấp, BCG vắc xin không được tiêm hàng loạt. Test âm tính giả cũng có xảy ra do suy giảm miễn dịch.

Nhiều nghiên cứu tập trung vào việc phát triển một kỹ thuật đặc hiệu hơn nhờ có các kháng nguyên tinh khiết:

– Kháng nguyên của *M. tuberculosis* có trọng lượng phân tử 38 kD gây phản ứng da dương tính ở chuột lang đã tiêm BCG. Kháng nguyên này đặc hiệu hơn PPD và là một trong những kháng nguyên có triển vọng nhất trong kỹ thuật phản ứng da.

– Một số protein và peptide khác chiết xuất từ *M. tuberculosis* và *M. bovis*, BCG cũng gây ra phản ứng quá mẫn muộn ở động vật thử nghiệm như 10 kDa protein, 18 kDa protein và 24 kDa protein.

4.8. Ứng dụng các kỹ thuật trong phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng

Ngày nay việc chẩn đoán vi khuẩn học bệnh lao vẫn chủ yếu là xác định AFB (Acid Fast Bacilli) bằng nhuộm soi, định danh chủng nuôi cấy bằng các tính chất vật hoá học. Nhuộm soi dễ nhất và nhanh nhất nhưng hạn chế về độ nhạy (≥ 100.000 vi khuẩn/1ml bệnh phẩm mới phát hiện được) và không thể định danh.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phương pháp nuôi cấy giảm xuống còn 2 tuần, thích hợp với làm kháng sinh đồ. Nuôi cấy để định danh là quan trọng. Tuy nhiên, ngay ở những nơi có tỷ lệ nhiễm HIV cao thì *M. tuberculosis* vẫn là nhiễm trùng phổ biến nhất. Kỹ thuật xác định kháng nguyên, kháng thể vẫn chưa được ứng dụng rộng rãi trong các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng.

Kết hợp sự nhanh của nhuộm soi, sự nhạy của nuôi cấy rất có giá trị đối với lâm sàng. Kỹ thuật khuếch đại ADN, ARN sẽ ngày càng được ứng dụng.

5. PHÒNG BỆNH

Quan trọng là tiêm vắc xin BCG *(Bacillus Calmette Guerin).* Calmette và Guerin đã nuôi cấy trực khuẩn lao bò rất nhiều lần trên môi trường có mật bò, làm cho trực khuẩn này mất khả năng gây bệnh, nhưng vẫn còn sống và gây được miễn dịch tốt.

Vắc xin BCG dùng ở nước ta là vắc xin sống, cần bảo quản lạnh và tiêm cho trẻ trong năm đầu tiên, tiêm trong da cánh tay trái với liều lượng 0,1 ml (0,05 mg BCG) và tiêm 1 lần. Vắc xin này có thể gây ra một số phản ứng phụ: tại nơi tiêm có nốt phồng màu hồng, toàn thân người hơi sốt. Bình thường các phản ứng phụ này qua đi sau vài ba ngày. Vì vậy, đang có những nghiên cứu giảm liều lượng vắc xin xuống còn 0,025 mg/ml vẫn gây miễn dịch tốt và ít phản ứng phụ.

Hiện nay cả thế giới đều dùng vắc xin này. Chúng ta hiện dùng cho trẻ em tiêm trong chương trình tiêm chủng mở rộng. Với thiếu niên và người trưởng thành, chỉ dùng vắc xin này khi Mantoux âm tính.

Lao là một bệnh mang tính xã hội và phụ thuộc vào mức sống, nên muốn chống được bệnh lao cần phải nâng cao mức sống và cải thiện điều kiện lao động của người nghèo.

Bệnh lao là bệnh lây truyền, vì vậy để phòng chống bệnh lao, vẫn phải tuân theo nguyên tắc dịch tễ học là tiêu diệt nguồn lây, ngăn cản đường lây và bảo vệ khối cảm thụ. Đối với những người cảm thụ là gây miễn dịch bảo vệ và nâng cao mức sống. Đối với nguồn lây, cần phát hiện sớm và điều trị triệt để. Đối với đường lây cần ngăn cản, hạn chế tiếp xúc không cần thiết giữa bệnh nhân lao và những người xung quanh.

6. ĐIỀU TRỊ BỆNH LAO

Điều trị bệnh là là một vấn đề không ít khó khăn vì bệnh lao thường xảy ra ở các bệnh nhân nghèo, nhất là mắc cùng các bệnh khác (AIDS, tiểu đường...), và vì lao là một bệnh mạn tính, vi khuẩn lao gây bệnh nội tế bào và sinh sản rất chậm. Mức độ kháng thuốc của vi khuẩn lao khá cao.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

6.1. Cơ sở vi khuẩn học và dược lý trong điều trị bệnh lao

6.1.1. Cơ sở vi khuẩn học

Số lượng vi khuẩn lao và đột biến kháng thuốc

Theo quy luật tự nhiên, trong quá trình phát triển, khi số lượng vi khuẩn lao đến một mức nhất định thì có một số vi khuẩn xuất hiện đột biến kháng thuốc. Sự đột biến kháng thuốc xảy ra với tất cả các thuốc chống lao. Một quần thể vi khuẩn lao trong tự nhiên, khi phát triển đến một số lượng lớn đều có biểu hiện đột biến kháng thuốc. Quần thể càng lớn thì khả năng có vi khuẩn lao đột biến kháng thuốc tự nhiên càng cao. Tỷ lệ vi khuẩn lao kháng thuốc tự nhiên khác nhau tuỳ theo từng loại thuốc đặc hiệu, hiện nay người ta thấy tỷ lệ đó như sau: Rifampicin $1/10^8$; Isoniazid $1/10^6$; Streptomycin $1/10^5$; Ethambutol $1/10^5$. Do vậy, một nguyên tắc rất quan trọng trong điều trị là phải phối hợp nhiều thuốc chống lao để chống hiện tượng kháng thuốc của vi khuẩn lao.

Khác với đa số vi khuẩn khác có thời gian nhân đôi ngắn (từ vài phút đến vài giờ) *M. tuberculosis* có thời gian nhân lên chậm (30–22 giờ). Chính vì vậy, điều trị lao đòi hỏi phải kéo dài trong nhiều tháng. Thời gian điều trị kéo dài đòi hỏi sự kiên trì theo đúng phác đồ của cả bệnh nhân và thầy thuốc, nếu không tuân thủ, sẽ dẫn đến sự chọn lọc chủng kháng thuốc.

Tác dụng của thuốc trong các tổn thương lao

Người ta chia quần thể vi khuẩn lao trong các tổn thương lao ra làm bốn nhóm:

– Nhóm A: Gồm những vi khuẩn lao đang phát triển mạnh. Đây là nhóm có số lượng vi khuẩn lao lớn, khu trú ở vách hang lao có đủ O_2, có pH trung tính, thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn lao nằm ngoài tế bào. Nhóm này tuy lớn nhưng bị diệt nhanh bởi các thuốc đặc hiệu như rifampicin, streptomycin, isoniazid.

– Nhóm B: số lượng vi khuẩn lao ít hơn nhóm A. Vi khuẩn lao cũng nằm ngoài tế bào, ở vách hang lao nhưng sâu hơn có pH trung tính, áp suất O_2 thấp nên phát triển chậm, chỉ chuyển hoá mạnh từng đợt ngắn khoảng một giờ. Do đó chỉ rifampicin có tác dụng nhanh mới có đủ thời giờ để diệt, còn isoniazid thì ít tác dụng vì tiếp xúc không đủ thời gian, streptomycin thì không có tác dụng.

– Nhóm C: Nhóm này bao gồm những vi khuẩn lao đã bị các tế bào thực bào thôn tính, vi khuẩn lao nằm trong tế bào, có độ pH toan nên vi khuẩn lao phát triển chậm. Chỉ có pyrazinamide có tác dụng trong môi trường toan mới có tác dụng diệt khuẩn mạnh. Rifampicin cũng có tác dụng nhất định, isoniazid rất ít tác dụng, còn streptomycin thì không có tác dụng với vi khuẩn lao này.

– Nhóm D: Gồm những vi khuẩn lao ở trong đại thực bào, hoàn toàn không chuyển hoá, không phát triển gọi là vi khuẩn "ngủ", không có một thuốc đặc hiệu

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nào có tác dụng. Nhưng người ta thấy số lượng nhóm này không lớn và khả năng miễn dịch của cơ thể có thể tiêu diệt được.

6.1.2. Cơ chế tác dụng của các thuốc chống lao

- Rifampicin ức chế sự tổng hợp các acid nucleic của vi khuẩn lao, hình thành một chất phức hợp với ARN polymerase làm cho enzym này không còn khả năng khởi động sự tổng hợp các mạch ARN mới.

- Streptomycin, kanamycin, viomycin ức chế sự tổng hợp protein bằng cách gắn vào các ribosome 30S.

- Isoniazid và ethionamide huỷ màng trực khuẩn làm mất tính kháng toan của vi khuẩn lao, ức chế sự tổng hợp polysaccharide của màng trực khuẩn, trong đó có acid mycolic.

- Pyrazinamide là một thuốc có tác dụng diệt khuẩn, nhưng hiện nay cơ chế tác dụng chưa được biết rõ.

Liều lượng thuốc và nồng độ thuốc

Tác dụng của thuốc phụ thuộc vào nồng độ đạt được trong huyết thanh và trong tổn thương. Các nồng độ này liên quan trực tiếp đến liều lượng thuốc và cách dùng thuốc. Trong huyết thanh có hai loại nồng độ:

- Nồng độ huyết thanh tối đa (hay đỉnh huyết thanh) phụ thuộc tuỳ theo từng thuốc, sự dị hoá và liều lượng thuốc. Nồng độ này thường đạt được khoảng 3 giờ sau khi thuốc vào cơ thể. Để đạt được đỉnh huyết thanh cao nhất, nên uống thuốc vào lúc đói và uống các thứ thuốc cùng một lúc, để hạn chế lượng thuốc gắn với protein trong máu.

- Nồng độ ức chế tối thiểu là nồng độ thấp nhất của từng loại thuốc có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn lao. So sánh nồng độ huyết thanh tối đa với nồng độ ức chế tối thiểu người ta có một hệ số gọi là "hệ số vượt". Hệ số vượt càng lớn thì tác dụng thuốc càng mạnh. Muốn đạt được tác dụng diệt khuẩn thì hệ số vượt của thuốc phải ít nhất là 20 trong môi trường lỏng.

Nồng độ thuốc đạt được trong tổn thương là rất quan trọng vì là nơi thuốc tác dụng trực tiếp đến vi khuẩn lao. Tỷ số nồng độ thuốc trong tổn thương và nồng độ trong huyết thanh phụ thuộc vào loại thuốc và loại tổn thương.

Trong khi dùng thuốc phối hợp, liều lượng về tác dụng giữa các thuốc phải là liều đủ tác dụng vì không có sự cộng hợp về tác dụng giữa các thuốc phối hợp. Không thể vì phối hợp mà có thể giảm liều các thuốc.

Thời gian tiềm tàng

Thời gian tiềm tàng là thời gian từ sau khi tiếp xúc với thuốc cho tới khi vi khuẩn có thể sinh sản phát triển trở lại được trong môi trường không có thuốc kháng sinh. Thời gian tiềm tàng thay đổi tuỳ theo từng loại thuốc, nồng độ thuốc

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và thời gian tiếp xúc với vi khuẩn lao. Nghiên cứu thời gian tiềm tàng người ta biết được thuốc nào có thể dùng cách quãng. Có thuốc đặc trị không có thời gian tiềm tàng.

6.2. Nguyên tắc điều trị lao và các thuốc chống lao

6.2.1. Nguyên tắc điều trị

Trên cơ sở vi khuẩn học của vi khuẩn lao và dược tính của thuốc chống lao, các nguyên tắc cơ bản trong điều trị bệnh lao được đề ra là:

– Phối hợp thuốc trong công thức điều trị: giai đoạn tấn công nên phối hợp từ ba thuốc trở lên, giai đoạn duy trì nên dùng hai thuốc trở lên. Sự phối hợp phải đáp ứng được yêu cầu giảm nhanh số lượng vi khuẩn để hạn chế đột biến kháng thuốc.

– Điều trị đủ thời gian: Thời gian điều trị phải đủ để diệt hết vi khuẩn lao ở sâu trong các tổn thương, những vi khuẩn nằm trong tế bào sinh sản chậm, và những trạng thái đặc biệt ít chịu tác dụng của thuốc. Thời gian điều trị tuỳ thuộc vào quy định của các công thức thường từ 6 tháng đến 1 năm hoặc hơn.

– Dùng thuốc phải đủ liều, đều đặn: Sử dụng thuốc theo từng phác đồ điều trị cụ thể.

– Mỗi phác đồ điều trị bệnh lao phải chia làm hai giai đoạn: giai đoạn tấn công và giai đoạn củng cố. Giai đoạn tấn công nên phối hợp bốn loại thuốc chống lao, thời gian kéo dài từ 2 đến 3 tháng nhằm mục đích giảm nhanh số lượng vi khuẩn lao trong các tổn thương để hạn chế đột biến kháng thuốc và nguy cơ tái phát, làm âm tính hoá nhanh vi khuẩn lao trong đờm để hạn chế lây lan trong cộng đồng. Giai đoạn củng cố thường từ 4 đến 6 tháng tiếp theo, số lượng thuốc có thể dùng ít hơn (≥ 2 thuốc) trong đó phải có ít nhất một thuốc có tác dụng diệt khuẩn. Điều trị củng cố nhằm tiêu diệt hết các vi khuẩn lao còn lại trong tổn thương để tránh tái phát.

6.2.2. Các thuốc chống lao

Hiện nay trong thực tế, người ta sử dụng năm thuốc là Isoniazid (H), Rifampicin (R), Ethambutol (E), Streptomycin (S) và Pyrazinamide (Z) để đưa vào công thức điều trị lao, đây là những thuốc hiệu quả nhất và cũng ít độc tính, được gọi là các thuốc chống lao hàng đầu. Các thuốc còn lại là những thuốc hàng thứ hai, nói chung các thuốc này có tác dụng kém hơn lại có độc tính cao, không được dùng trong các phác đồ điều trị lao, nhưng được sử dụng trong các trường hợp điều trị thất bại do các vi khuẩn kháng lại các thuốc chống lao hàng đầu.

Phân loại dựa vào cách tác động của thuốc

– Ức chế tổng hợp vách tế bào: isoniazid; cycloserine

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Ức chế tổng hợp protein: streptomycin; kanamycin; viomycin; capreomycin; tuberactinomycin.

– Ức chế tổng hợp acid nucleic: rifampicin; ethambutol?

– Chống chuyển hoá: paraaminosalicylic acid, ethambutol?

Phân loại các thuốc chống lao theo mức độ tác dụng

Thuốc chống lao	*Tác dụng của thuốc*
Rifampicin (R)	Diệt khuẩn
Isoniazid (H)	Diệt khuẩn
Pyrazinamide (Z)	Diệt khuẩn
Streptomycin (S)	Diệt khuẩn
Ethambutol (E)	Diệt khuẩn
Thiacetazone (T)	Kìm khuẩn

6.2.3. Chiến lược hoá trị liệu ngắn ngày có kiểm soát (DOTS) và hiệu quả hạn chế vi khuẩn lao kháng thuốc

Hoá trị liệu ngắn ngày có kiểm soát hay gọi tắt là DOTS (Directly Observed Treatment Short Course) là công thức điều trị: 2SHRZ/6HE (2 tháng tấn công dùng 4 thuốc SHRZ và 6 tháng duy trì dùng HE).

Hoá trị liệu ngắn ngày có nhiều ưu điểm vì giai đoạn tấn công dùng phối hợp bốn loại thuốc chống lao. Điều này làm cho số lượng vi khuẩn tại tổn thương giảm đi nhanh chóng. Khi vi khuẩn giảm nhanh thì khả năng đột biến kháng thuốc của vi khuẩn bị giảm hoặc không còn nữa. Kết quả điều trị bệnh lao khỏi là 90%. Năm 1999, WHO đã nhận định "DOTS được coi là phát minh quan trọng nhất cho chương trình chống lao ở các quốc gia. Chiến lược DOTS đạt kết quả hơn bất cứ chiến lược chống lao nào đã có từ trước đến nay. Chỉ có DOTS mới giảm được tỷ lệ bệnh lao kháng thuốc và mới ngăn chặn được bệnh lao. Khi áp dụng chiến lược DOTS, cứ 10 bệnh nhân lao thì 9 người khỏi bệnh hoàn toàn và lâu dài. Nếu sử dụng DOTS chữa khỏi cho 85% bệnh nhân lao được phát hiện vào năm 2010 thì ít nhất 1/4 số bệnh nhân lao và 1/4 số chết do lao có thể tránh được trong hai thập niên tới".

6.3. Vấn đề kháng thuốc của vi khuẩn lao

Cấu trúc gen của *M. tuberculosis* cũng ảnh hưởng đến kháng thuốc. *M. tuberculosis* chỉ có operon mã hóa 16S và 23S ARN ribosom, trong khi ở các vi khuẩn khác thường có nhiều operon ARN (*E. coli* có 7 operon, *M. smegmatis* có 2 operon). Vì thế đột biến của gen này của *M. tuberculosis* dễ biểu hiện ngay thành tính trạng, còn ở các vi khuẩn khác thì khó hơn. Nhưng cho đến nay vẫn

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chưa tìm thấy plasmid và hiện tượng lan truyền kháng thuốc bằng plasmid ở *M. tuberculosis*.

Ở những bệnh nhân bị lao phổi, số lượng vi khuẩn lao trong các hang lao đường kính 2 cm khoảng 10^8. Do vậy những vi khuẩn kháng thuốc (vi khuẩn có đột biến) tiến triển trong một môi trường không có thuốc kháng sinh, nhưng chúng bị lấn át bởi một số lượng lớn các vi khuẩn nhạy cảm. Sự có mặt của kháng sinh tạo ra một áp lực chọn lọc thích hợp với những vi khuẩn kháng thuốc, chúng nhân lên và trở thành chủ yếu, đặc biệt ở bệnh nhân có chứa một số lượng lớn vi khuẩn, ví dụ những bệnh nhân với những hang lao rộng.

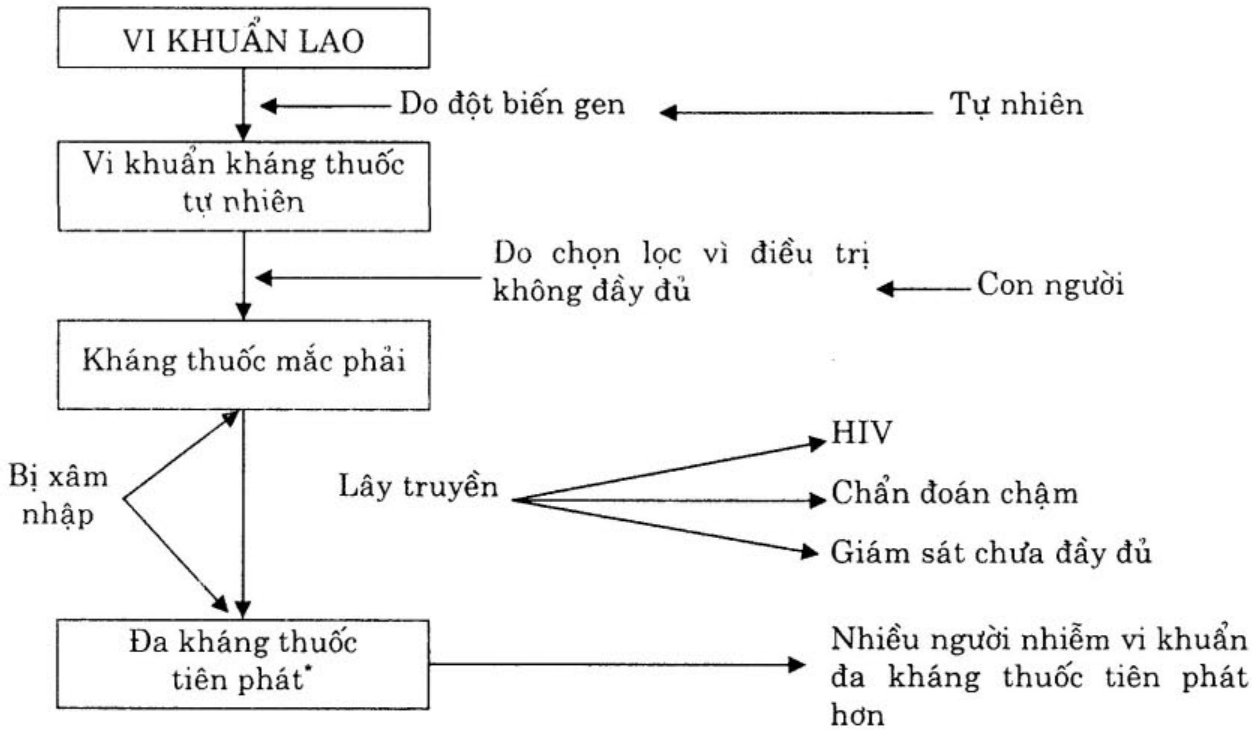
Gần đây có sự thay đổi về thuật ngữ trong việc phân loại kháng thuốc của vi khuẩn lao. Cách phân loại cũ được dùng trước đây như sau:

Kháng thuốc ban đầu

Vi khuẩn kháng thuốc lao xuất hiện ở bệnh nhân chưa hề dùng thuốc chữa lao bao giờ. Những bệnh nhân này nhiễm vi khuẩn lao lúc đầu từ các bệnh nhân khác có vi khuẩn lao đã bị kháng thuốc.

Kháng thuốc mắc phải

Vi khuẩn lao xuất hiện kháng thuốc trong quá trình điều trị bằng thuốc lao ít nhất là trên 1 tháng. Do bệnh nhân dùng thuốc chống lao không đúng quy cách, không đúng phác đồ, không đảm bảo đủ liều lượng, không đủ thời gian...



Sơ đồ giải thích đa kháng thuốc của vi khuẩn lao

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

TRỰC KHUẨN PHONG

Mycobacterium leprae (Hansen 1880) Lehmann và Neumann 1896

Trực khuẩn này được Hansen phát hiện năm 1874 ở Novergia, vì vậy, trực khuẩn phong còn có tên là trực khuẩn Hansen.

Bệnh phong (còn có tên là bệnh hủi hoặc bệnh cùi) trước đây gặp khắp thế giới, nhưng hiện nay chỉ còn ở vùng nhiệt đới và ôn đới, nơi có điều kiện sống thấp.

Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới năm 2003, trên toàn cầu có 634.311 bệnh nhân đang điều trị phong bằng đa hoá trị liệu, trong đó số nhiễm mới trong 2003 là 620.672 người. Khu vực Đông Nam châu Á là nơi có số lượng bệnh nhân phong cao nhất (520.632 người nhiễm mới).

Theo thống kê của Viện Da liễu Việt Nam, từ khi áp dụng đa hoá trị liệu, đến cuối năm 2003, đã phát hiện được 45.799 bệnh nhân phong mới và đã điều trị khỏi cho 57.412 người. Tỷ lệ lưu hành bệnh phong đã giảm từ 6,78/10 000 năm 1983, xuống còn 0,15/10.000 năm 2003.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể và bắt màu

Trực khuẩn phong có hình dạng như trực khuẩn lao, nhưng mập hơn và kháng cồn kháng acid ít hơn *(Xem hình P27 ở Phụ bản)*.

1.2. Nuôi cấy

Trực khuẩn hủi chưa nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Khi tiêm truyền vào chuột Hamster, trực khuẩn hủi sinh sản nhanh tại chỗ tiêm. Nhờ vậy người ta có thể giữ được chủng hủi để nghiên cứu.

2. GÂY BỆNH

Trực khuẩn hủi gây bệnh tự nhiên cho người. Chúng xâm nhập chủ yếu qua đường da, nhưng có thể đi qua đường niêm mạc.

Thời gian ủ bệnh rất dài (thường 2, 3 năm, có trường hợp tới 40 năm).

Bệnh hủi có ba thể lâm sàng: hủi củ (nhẹ nhất), hủi ác tính (nặng nhất) và hủi bất định (thể trung gian).

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

Người ta có thể dùng phương pháp huyết thanh học. Nhưng thường dùng nhất là lấy bệnh phẩm để nhuộm Ziehl–Neelsen.

Bệnh phẩm: Thường dùng là tăm bông ngoáy lỗ mũi, nhưng cũng có thể sinh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thiết củ hủi. Trong tiêu bản ngoáy mũi, thường thấy trực khuẩn hủi đứng thành từng đám như bó củi.

Trong thể hủi ác tính, trực khuẩn hủi còn có trong máu, nước tiểu và niêm mạc hầu họng.

Phản ứng Mitsuda: test này dùng để đánh giá và tiên lượng bệnh hủi. Bản chất và cách tiến hành giống như phản ứng Mantoux. Kháng nguyên là nước nghiền củ hủi. Mitsuda dương tính ở thể hủi cả âm tính ở thể hủi ác tính, ở thể bất định có thể dương hoặc âm tính.

4. PHÒNG BỆNH

Với hủi ác tính cần cách ly. Có thể điều trị bệnh nhân hủi tại gia đình hoặc trong các trại điều dưỡng hủi. Trước đây nhân dân ta thường có quan niệm không đúng và cô lập các bệnh nhân hủi.

5. ĐIỀU TRỊ

Bệnh nhân hủi có thể hoàn toàn điều trị được. Có nhiều thuốc điều trị hủi, nhưng công hiệu nhất là DDS (diamino–diphenyl–sulfon).

MYCOBACTERIUM KHÔNG ĐIỂN HÌNH

Một số loài Mycobacterium có những đặc điểm không điển hình, chúng khác với M. tuberculosis về một số phương diện. Ví dụ, các Mycobacterium không điển hình phân bố rộng rãi trong môi trường và không gây bệnh cho chuột lang, còn M. tuberculosis chỉ thấy ở cơ thể con người và có độc lực với chuột lang.

Các *Mycobacteria* không điển hình được chia thành bốn nhóm dựa trên thời gian phát triển ở môi trường và tạo thành sắc tố trong tối hoặc sáng.

Phân loại *Mycobacterium* không điển hình của Rynyon:

Nhóm I. Sinh sắc tố ngoài ánh sáng (photochromogens)

Tạo nên sắc tố màu vàng cam trong ánh sáng. *M. kansasii* gây bệnh phổi giống với lao phổi về lâm sàng. Kháng nguyên của chúng rất giống với *M. tuberculosis* và do vậy bệnh nhân thường có phản ứng tuberculin dương tính. Người ta chưa rõ sự cư trú của chúng trong thiên nhiên, nhưng chúng gây bệnh chủ yếu ở các bang miền tây và Texas của Mỹ.

Nhóm II. Sinh sắc tố trong tối (scotochromogens)

Chúng tạo thành sắc tố chủ yếu trong tối. *M. scrofulaceum* gây bệnh tràng nhạc ở cổ (viêm hạch vùng cổ), thường gặp ở trẻ em. Các vi khuẩn này xâm nhập

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

qua hầu họng và gây viêm các hạch vùng họng và cổ. Nhóm vi khuẩn này thường tồn tại ở nước, nhưng cũng có thể sống ở đường thở như những vi khuẩn hoại sinh.

Nhóm III. Không sinh sắc tố (nonchromogens)

Các *Mycobacterium* nhóm III không tạo thành (hoặc tạo rất ít) sắc tố màu vàng chanh trong tối. *M. avium* và *M. intracellulare* gộp thành nhóm này và rất khó phân biệt chúng bằng các test chuẩn. Chúng gây nên bệnh phổi mà lâm sàng rất khó phân biệt với lao, đặc biệt ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch như AIDS. Nhóm vi khuẩn này phân bố rộng rãi trong thiên nhiên (đất và nước), đặc biệt ở miền Nam nước Mỹ. Chúng thường kháng thuốc rất mạnh và cần phải phối hợp tới 6 loại kháng sinh và hóa trị liệu để điều trị.

Nhóm IV. Các *Mycobacterium* phát triển nhanh

Nhóm này bao gồm các *Mycobacterium* phát triển nhanh và tạo thành khuẩn lạc dưới 7 ngày. *M. fotuitum* và *M. chelonae* là hai loại rất giống nhau tạo nên nhóm này. Chúng là những vi khuẩn hoại sinh, thường tìm thấy ở đất và nước. Chúng ít gây bệnh cho người, trừ những người suy giảm khả năng đề kháng. Chúng cũng kháng thuốc rất mạnh.

Nhóm	Tốc độ phát triển	Tạo sắc tố trong		Loài tiêu biểu
		Tối	Sáng	
I	Chậm	–	+	*M. kansasii, M. marinum*
II	Chậm	+	–/+	*M. scrofulaceum*
III	Chậm	–	–	*M. avium, M. intracellulare*
IV	Nhanh	–	–	*M. fortuitum, M. chelonae*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Huy Chính. Nghiên cứu so sánh các thành phần kháng nguyên của *Mycobacterium*, Mycophage và lysogen *Mycobacteriu*. Luận án PTS. 1981.
2. Dương Thị Lương. Tình hình kháng thuốc của vi khuẩn lao phân lập được từ bệnh nhân lao phổi ở Viện Lao và bệnh phổi năm 1985–1993. Luận văn tốt nghiệp BSCKII. Đại học Y Hà Nội. 1994.
3. Nguyễn Văn Hưng. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của *Mycobacterium tuberculosis* phân lập tại Viện Lao và bệnh phổi 9/1994–10/1996. Luận án TS. y học. Đại học Y Hà Nội. 2001.
4. Trần Văn Sáng. Vi khuẩn Lao kháng thuốc và cách phòng, điều trị. Nhà xuất bản Y học. 1998: 5–12.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ACTINOMYCETES HIẾU KHÍ

Actinomycetes bao gồm nhóm các vi khuẩn hỗn tạp, trong đó chỉ có rất ít loài có khả năng gây bệnh cho người. Các vi khuẩn trong nhóm này được phân loại dựa vào các đặc điểm hình thái học. Đó là nhóm gồm các vi khuẩn Gram dương, phát triển ở dạng tế bào có sợi chia nhánh như sợi nấm. Mặc dù các vi khuẩn này đã từng được cho là một dạng của sợi nấm không hoàn chỉnh nhưng chúng thực sự là các vi khuẩn thuộc Prokaryote. Chúng có mối liên quan mật thiết với các vi khuẩn thuộc chi *Corynebacterium* và *Mycobacterium*. Về mặt cấu trúc, các *Mycobacterium* có acid mycolic chuỗi dài nằm trong vách tế bào nên có khả năng kháng cồn, kháng acid. Một số chủng *Corynebacteria* cũng có chứa acid mycolic chuỗi ngắn và có thể kháng cồn kháng acid trong điều kiện nuôi cấy thích hợp. Còn các vi khuẩn thuộc chi *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, và *Tsukamurella* trong nhóm *Actinomycetes* cũng có chứa acid mycolic chuỗi trung bình nên cũng có biểu hiện kháng cồn kháng acid ở các mức độ khác nhau.

Vi khuẩn trong nhóm *Actinomycetes* có tầm quan trọng nhất trong y học là các loài *Nocardia*.

NOCARDIA SPP.

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Edmond Nocard là một bác sĩ thú y làm việc trên đảo Guadeloupe đã mô tả vi sinh vật dạng sợi gây bệnh loét da ở bò. Vào năm sau đó, vi sinh vật này được đặt tên là *Nocardia farcinia* cho dù sau này nó được biết là một loài *Mycobacterium*. Vi sinh vật mà Nocard đã phân lập được có thể chính là *Mycobacterium farcinoges*. Ca bệnh nhiễm *Nocardia* ở người lần đầu tiên đã được ghi nhận một năm sau đó ở bệnh nhân người châu Phi bị viêm phổi và áp xe não, chủng vi khuẩn phân lập được là *Nocardia asteroides*. Loài *Nocardia transvalensis* được phân lập ở bệnh nhân người châu Phi bị bệnh bàn chân Madura. Nhiễm trùng do *Nocardia* rất hiếm gặp ở những người bình thường mà chủ yếu hay gặp ở bệnh nhân bị HIV hoặc dùng các thuốc ức chế miễn dịch.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Đặc điểm hình thái và sinh lý

Nocardia là các trực khuẩn dạng sợi phân nhánh, Gram dương, hiếu khí, không di động, catalase dương. Các sợi đứt ra tạo nên các trực khuẩn hoặc các cầu trực khuẩn. Vách tế bào chứa acid meso–diaminopimelic, arabinose, và galactose.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các vi khuẩn này đề kháng tự nhiên với lysozyme. Tỷ lệ mol% G+C trong khoảng từ 64 đến 72. Cũng giống như các thành viên trong nhóm *Mycobacterium–Corynebacterium–Nocardia* (CMN), các loài trong chi *Nocardia* có chứa acid mycolic trong vách tế bào. Các chuỗi acid béo có số carbon nằm trong khoảng từ 44 đến 60 quy định đặc tính kháng cồn kháng acid yếu, chỉ biểu hiện trên môi trường chứa lipid thích hợp.

2.2. Phân loại học

Trong cây hệ thống phát sinh loài xây dựng dựa trình tự của gen mã hóa cho 16S rRNA, *Nocardia* có liên quan gần với *Mycobacterium, Corynebacterium, Gordona* và *Tsukamurella*. Có ít nhất 25 loài *Nocardia* đã được biết đến. Một số tác giả cho rằng *N. asteroides* được chia thành năm loài dựa trên phân tích trình tự của gen mã hóa cho 16S rRNA. Các loài mới vẫn được phát hiện được bổ sung dần vào chi *Nocardia*.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Sinh bệnh học

Các thí nghiệm trên chuột thiếu hụt tế bào lympho T và trên người thiếu hụt miễn dịch cho thấy vai trò quan trọng của miễn dịch tế bào trong chống nhiễm trùng *Nocardia*.

Kháng nguyên của Nocardia

Trong các giai đoạn khác nhau của sự phát triển, các thành phần vách tế bào thay đổi một cách đáng kể, các yếu tố độc lực của cũng thay đổi khác biệt rõ rệt. Ở giai đoạn tăng theo hàm số mũ, vi khuẩn có độc lực cao hơn so với ở giai đoạn dừng tối đa. Trong vách tế bào vi khuẩn có chứa một số kháng nguyên tương tự với các yếu tố đóng vai trò khả năng gây bệnh ở *Mycobacteria*, đó là tuberculostearic acid, và trehalose 6–6 dimycolate (yếu tố sợi). Yếu tố sợi có vai trò quan trọng trong việc làm giảm khả năng hòa màng của phagosome và lysosome. *Nocardia* còn có enzym superoxide dismutase trên bề mặt tế bào vi khuẩn giúp bảo vệ vi khuẩn không bị tác dụng gây độc của các gốc superoxide. Một số nghiên cứu còn cho rằng, tính chất gây tan máu cũng là một yếu tố độc lực trong các chủng *N. asteroides*, *N. brasiliensis* và *N. otidiscaviarum*.

Sự tương tác với các tế bào thực bào

Các *Nocardia* bị thực bào bởi các đại thực bào. Hầu hết các vi khuẩn sẽ bị đại thực bào tiêu diệt. Một số có thể tồn tại ở dạng L (L–form) và có khả năng nhân lên. Chính điều này có thể lý giải cho sự xuất hiện tái nhiễm trùng sau khi đã điều trị thành công. Dạng L–form có khả năng tạo ra tình trạng nhiễm trùng gây chết ở chuột. *N. asteroides* có độc lực có khả năng ức chế sự hòa màng của

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phagosome và lysosome. Khả năng này có được là nhờ yếu tố sợi có trong vách tế bào. Người ta thấy rằng các chủng độc lực có khả năng ức chế sự acid hóa của phagosome còn các chủng không có độc lực không có khả năng này. Cách thức này cũng tương tự như *Mycobacterium tuberculosis*. *Nocardia* còn có khả năng sử dụng phosphatase acid như là nguồn carbon nên ức chế được một cách hiệu quả của enzym gây độc này của đại thực bào.

3.2. Dịch tễ học

Nocardia là các vi sinh vật tồn tại trong môi trường, được tìm thấy trong đất và cây cối. Chúng có vai trò nhất định trong quá trình phân rã các chất hữu cơ của cây cối. *Nocardia* cũng được tìm thấy trong môi trường nước biển, nước sạch, thậm chí ngay trong nước máy cũng có mặt của *Nocardia*. *N. asteroides* rất phổ biến ở các nước ôn đới còn *N. brasiliensis* lại thường thấy ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới. Các chủng *Nocardia* phân lập được trên người có thể là căn nguyên gây bệnh thực sự, cũng có thể là do bội nhiễm hoặc chỉ là thành viên cư trú trên người. Một nghiên cứu được tiến hành ở Australia cho thấy chỉ có khoảng 20% các chủng phân lập được có ý nghĩa lâm sàng.

3.3. Nhiễm trùng ở động vật

Nocardia có khả năng gây nhiễm trùng ở rất nhiều loài động vật như trâu bò, ngựa, chó và lợn. Nhiễm trùng *Nocardia* gây viêm tuyến vú ở bò, làm giảm sản lượng sữa. Các nhiễm trùng ở ngựa hiếm gặp hơn và nếu xảy ra thường là dạng viêm phế quản phổi và có thể đưa đến tình trạng nhiễm trùng lan tỏa toàn thân. Hội chứng này thường gặp ở ngựa non thiếu hụt miễn dịch hoặc ở những con ngựa trưởng thành có tăng adrenalin thứ phát do u tuyến yên. Các áp xe tại chỗ rất hiếm gặp.

3.4. Nhiễm trùng ở người

Người thường được cho rằng rất hiếm bị mắc các bệnh nhiễm trùng do *Nocardia*. Song một số nghiên cứu gần đây cho thấy tỷ lệ nhiễm trùng *Nocardia* bị ước tính quá thấp so với thực tế. Hiện nay, số lượng các bệnh nhân suy giảm miễn dịch tăng lên nhiều dẫn đến số lượng các bệnh nhân nhiễm khuẩn *Nocardia* cũng tăng lên. Các thành viên trong chi *Nocardia* có thể đóng vai trò như tác nhân gây bệnh thực sự cũng có thể là các tác nhân gây bệnh cơ hội. Các nhiễm trùng cơ hội đặc biệt hay gặp ở người có cấy ghép mô, cơ quan, ở những người HIV dương tính.

Ở những người suy giảm miễn dịch, các nhiễm trùng ngoài da thường do *N. asteroides, N. brasiliensis,* và *N. otisdiscavitarum*. Có rất nhiều hội chứng nhiễm trùng da đã được mô tả như nhiễm trùng hạch lympho dưới da, áp xe da. "Nấm" chân là một nhiễm trùng dưới da dạng u hạt ở bàn chân. Bệnh thường gặp ở các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nước nhiệt đới do đi giày thường xuyên. Tác nhân gây bệnh là các *Actinomycetes* hiếu khí như *N. brasiliensis, Actinomadura madurae, Streptomyces somaliensis* và các loài *Nocardia* khác. Nhiễm trùng mắt thường thứ phát sau tổn thương giác mạc, đeo kính áp tròng không sạch, hoặc sau phẫu thuật mắt. Nhiễm trùng này có thể dẫn đến viêm loét giác mạc, sau đó có thể dẫn đến viêm toàn bộ mắt.

Ở các bệnh nhân suy giảm miễn dịch, sự cư trú của các *Nocardia* ở trên đường hô hấp không phải là hiếm gặp. Các vi khuẩn này cư trú có thể gây ra các nhiễm trùng nhẹ tự khỏi. *N. asteroides* là căn nguyên có thể gây ra các bệnh nhiễm trùng hô hấp xâm nhập như viêm phổi thể bán cấp và viêm phổi mạn tính. Điều kiện thuận lợi cho các bệnh cảnh này là chức năng của đường hô hấp đã tổn thương và suy giảm do các bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh xơ hóa phổi, lao đã hồi phục, hoặc ở những bệnh nhân bị đàn áp miễn dịch như nhiễm HIV, dùng liệu pháp steroid lâu ngày.

Các nhiễm trùng lan tỏa có thể gặp ở mọi bệnh nhân nhưng thường hay gặp nhất ở các bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Những bệnh nhân bị nhiễm trùng lan tỏa thường có tiên lượng xấu. Đây là biến chứng muộn của nhiễm trùng mà bất kỳ loài *Nocardia* nào cũng có thể gây ra. Các nhiễm trùng lan tỏa có thể đưa đến các tổn thương thứ phát ở não và mắt. Nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương ở dạng áp xe não hay viêm màng não do *Nocardia* rất hiếm khi xảy ra.

3.5. Nhiễm trùng *Nocardia* ở bệnh nhân HIV

Nhiễm trùng *Nocardia* ở bệnh nhân HIV hiếm gặp hơn rất nhiều so với các nhiễm trùng *Pneumocystis jiroveci* và *Toxoplasma gondii*. Nguyên nhân của hiện tượng này có thể là do cơ chế đề kháng không phụ thuộc vào tế bào lympho T đóng vai trò quan trọng hơn nhiều trong đề kháng chống nhiễm trùng *Nocardia*. *N. asteroides* là căn nguyên hay gặp nhất trong số các loài *Nocardia* ở bệnh nhân HIV.

3.6. Các đặc điểm lâm sàng

Mặc dù các loài *Nocardia* đôi khi có thể phân lập được trên người khỏe mạnh song chúng không được coi là thành viên của vi hệ bình thường.

Bệnh phổi

Căn nguyên chủ yếu của các nhiễm trùng phổi do *Nocardia* là *N. asteriodes*. Ca bệnh đầu tiên được Flexner ghi nhận ở bệnh nhân Mỹ vào năm 1898. Đặc điểm bệnh học của bệnh phổi do *Nocardia* là các tổn thương có mủ như áp xe phổi, nhưng cũng có thể có dạng u hạt viêm. Các đặc điểm lâm sàng và X quang rất đa dạng và không đặc hiệu khiến cho việc chẩn đoán gặp rất nhiều khó khăn nếu không dùng các biện pháp kỹ thuật can thiệp để lấy bệnh phẩm. Ở các trường hợp nhiễm trùng thông thường, có một hay nhiều ổ áp xe hình thành và

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hình thành các hốc giống như trong lao phổi. Bệnh phổi do *Nocardia* có thể gần giống như các bệnh phổi ác tính, các nhiễm trùng phổi do *Actinomycete* khác hay do nấm. Độc lực của *N. brasiliensis* mạnh hơn nhiều so với *N. asteriodes* nên có thể gây nên các nhiễm trùng phổi tiên phát ở người khỏe mạnh.

Các biểu hiện lâm sàng ở phổi có thể ở dạng thâm nhiễm nhẹ, lan tỏa hết một thùy phổi hoặc thậm chí đông đặc nhiều thùy phổi. Có thể biểu hiện viêm phổi thùy đơn độc, tràn dịch màng phổi. Trong nhiều trường hợp, chẩn đoán chỉ được khẳng định sau mổ tử thi nuôi cấy và phân lập được *Nocardia*. Từ phổi, các vi khuẩn *Nocardia* có thể theo dòng máu lan tràn đi khắp cơ thể gây nhiễm trùng mọi cơ quan, song nhiễm trùng ở não và thận là phổ biến nhất. Không giống như bệnh actinomycosis và lao, nhiễm trùng *Nocardia* rất hiếm khi gặp hiện tượng xương bị phá hủy.

Nhiễm trùng ở da

Nhiễm trùng *Nocardia* ở da tiên phát thường do *Nocardia* xâm nhập được qua vị trí da bị tổn thương. Các tổn thương nhiễm trùng sẽ hóa mủ và có thể đưa đến tình trạng viêm mô tế bào hoặc viêm da mủ. Mặc dù các nhiễm trùng da thường khu trú và có thể tự khỏi nhưng chúng cũng có thể tiến triển và lan theo mạch bạch huyết gây viêm các hạch bạch huyết dưới da. Dạng nhiễm trùng này rất hay gặp do căn nguyên *N. brasiliensis*. Các tổn thương nhiễm trùng da do *Nocardia* rất giống với các tổn thương do *S. aureus* gây ra nên chỉ có thể khẳng định căn nguyên gây bệnh bằng các bằng chứng vi sinh học. Các nhiễm trùng da thường thấy ở Mỹ, Australia, rất hiếm khi gặp ở châu Âu.

Các nhiễm trùng có thể hình thành dạng khối u giống như u nấm (mycetoma). Bản chất là các nhiễm trùng mạn tính dưới da trong đó khối áp xe to lên phá hủy cấu trúc mô mềm và thậm chí phá hủy cả xương. Các nhiễm trùng này cuối cùng vỡ ra ngoài da. Ở vùng châu Phi xích đạo, các u nấm chủ yếu do *Actinomadua pellitieri* và *Streptomyces somaliensis* còn ở Mexico lại chủ yếu do *N. brasiliensis*. U nấm thường thấy ở các nước đang phát triển, rất hiếm khi thấy ở châu Âu và Bắc Mỹ. Một điều đặc biệt quan trọng là cần chẩn đoán phân biệt được u nấm do *Actinomycete* với u nấm thực sự do nấm. U nấm do nấm đòi hỏi phải điều trị cắt bỏ hoàn toàn còn u nấm do *Actinomycete* đáp ứng rất tốt với điều trị nội khoa tích cực và có thể phẫu thuật bảo tồn.

Bàn chân Madura là một nhiễm trùng mô hạt mạn tính của xương và mô mềm hình thành dạng u nấm và gây biến dạng nặng nề. Bệnh này thường gặp ở vùng Sudan, Bắc Phi và vùng bờ biển phía tây Ấn Độ, chủ yếu ở những người hay đi chân trần dễ bị nhiễm trùng các vi sinh vật tồn tại trong đất qua các tổn thương ở bàn chân. Căn nguyên chủ yếu của bệnh này là *N. madurae* nhưng cũng có thể do các căn nguyên *Nocardia* khác hay do nấm.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nhiễm trùng hệ thống

Các thương tổn do nhiễm trùng *Nocardia* ở phổi hoặc ở các vị trí khác trên cơ thể thường xâm lấn vào các mao mạch máu. Trong nhiễm trùng hệ thống do *Nocardia*, các vi khuẩn *Nocardia* gây bệnh giống như các vi khuẩn sinh mủ làm cho quá trình nhiễm trùng tiến triển nặng nề. Nhiễm trùng hệ thống thần kinh trung ương rất hay gặp nhưng thường khởi phát thầm lặng nên gây khó khăn cho việc chẩn đoán sớm và điều trị hiệu quả. Nhiễm trùng hệ thần kinh thường ở dạng áp xe não, rất dễ nhầm lẫn với áp xe do vi khuẩn, nấm hoặc do *Toxoplasma*.

3.7. Đặc điểm lâm sàng của các bệnh do các *Nocardia* khác

N. farcinica mặc dù khá giống với *N. asteroides* nhưng vẫn có những điểm khác biệt với *N. asteroides*. Nó có đặc điểm nổi bật là xu hướng gây nhiễm trùng hệ thống ở cả những người khỏe mạnh và cả ở những người suy giảm miễn dịch và khả năng đề kháng tự nhiên với rất nhiều kháng sinh. *N. farcinica* có thể gây nên các loại bệnh khác nhau như áp xe não, nhiễm trùng phổi và nhiễm trùng da.

N. transvalensis thường gây viêm phổi hoặc các bệnh nhiễm trùng lan tỏa ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch trầm trọng. Nó cũng có thể là căn nguyên của bệnh u nấm.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Thường quy chẩn đoán ở các phòng xét nghiệm rất khó phát hiện và chẩn đoán được *Nocardia*. Một trong những nguyên nhân gây khó khăn cho việc chẩn đoán *Nocardia* là do chúng mọc rất chậm khi mới nuôi cấy phân lập.

4.1. Bệnh phẩm

Ở các nước ôn đới, đường hô hấp là đường vào phổ biến nhất của các nhiễm trùng do các *Actinomycetes* hiếu khí. Do vậy, đờm là bệnh phẩm đường hô hấp dễ lấy nhất. Mẫu đờm nên lấy trong vài buổi sáng sớm liên tiếp để có thể phát hiện được sự có mặt của vi khuẩn. Phát hiện được sự có mặt của các *Actinomycetes* hiếu khí trong nhiều loại bệnh phẩm khác nhau có thể khẳng định được chắc chắn hơn vai trò gây bệnh của chủng vi khuẩn phân lập được. Rất khó phân lập được *Nocardia* trong bệnh phẩm đờm kể cả trong những trường hợp bị viêm phổi vì số lượng vi khuẩn có mặt trong bệnh phẩm rất ít hoặc do tạp nhiễm nhiều loại vi khuẩn khác nhau trong bệnh phẩm lấn át sự phát triển của các chủng *Nocardia* mọc chậm. Bệnh phẩm được lấy bằng cách hút dịch phế quản, sinh thiết phổi hoặc thậm chí chọc dò có thể được chỉ định khi cần thiết để giúp cho việc chẩn đoán xác định.

Các chất tiết từ mủ hoặc từ các u nấm có thể được hút bằng bơm tiêm và chuyển đến phòng xét nghiệm để quan sát đại thể, nhuộm soi, và nuôi cấy phân

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

lập. Trong trường hợp nhiễm trùng da lan tỏa hoặc tổn thương nhỏ thứ phát sau chấn thương, mảnh sinh thiết da rất có giá trị cho chẩn đoán.

Ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch, nhiễm trùng các *Actinomycete* hiếu khí, đặc biệt là *Nocardia* rất hay lan tỏa tới các cơ quan. Mảnh sinh thiết hoặc dịch hút rất có ý nghĩa cho việc đánh giá sự có mặt của vi khuẩn này. Các dịch cơ thể sau khi hút ra, phải đựng trong các tube vô khuẩn và chuyển ngay đến phòng xét nghiệm. Rất hiếm khi phân lập được *Nocardia* trong mẫu dịch não tủy ngay cả khi tổn thương não rất rõ ràng bởi vì các vi khuẩn này nằm trong các ổ áp xe não. Hiện nay, có rất nhiều hệ thống cấy máu hỗ trợ tốt cho sự phát triển của các loài *Nocardia*. Khi nghi ngờ các *Actinomycetes* hiếu khí gây nhiễm trùng huyết liên quan đến đặt catheter, cần cắt một đoạn đầu catheter gửi đến phòng xét nghiệm để nuôi cấy phân lập.

Trong mọi trường hợp nghi ngờ nhiễm trùng do các *Actinomycetes* hiếu khí, các phòng xét nghiệm cần đặc biệt chú ý đến khâu lấy bệnh phẩm, phương pháp nhuộm soi và môi trường cũng như điều kiện, thời gian nuôi cấy thích hợp để phân lập và chẩn đoán được các loài vi khuẩn này.

4.2. Chẩn đoán trực tiếp

Nhuộm soi cẩn thận các bệnh phẩm nghi ngờ có sự có mặt của các *Actinomycetes* hiếu khí rất quan trọng cho việc định hướng nuôi cấy phân lập và xác định căn nguyên. Hơn nữa, phát hiện được sự có mặt của vi khuẩn trực tiếp trên tiêu bản nhuộm soi bệnh phẩm có thể giúp cho việc phiên giải kết quả nuôi cấy.

Tiêu bản nhuộm soi có thể được làm trực tiếp từ bệnh phẩm đờm, dịch dẫn lưu, dịch hút. Tuy nhiên, bệnh phẩm dịch như dịch hút phế quản, các dịch cơ thể bình thường vô khuẩn thường mật độ vi khuẩn không nhiều nên cần ly tâm lấy cặn để dàn tiêu bản và nuôi cấy. Các mảnh bệnh phẩm mô có thể nghiền nhỏ trước khi làm tiêu bản. Có hai phương pháp nhuộm rất quan trọng cần tiến hành là nhuộm Gram và nhuộm kháng cồn acid cải tiến. Quan sát mô bệnh học các mảnh mô đã cố định bằng phương pháp nhuộm đặc biệt có thể cho thấy sự có mặt của vi khuẩn.

Nhuộm soi trực tiếp từ bệnh phẩm cho thấy đặc tính kháng cồn, kháng acid của vi khuẩn rõ ràng và chính xác hơn so với nhuộm từ khuẩn lạc sau nuôi cấy bằng phương pháp nhuộm acid–fast cải tiến. Trong phương pháp nhuộm acid–fast cải tiến: dùng H_2SO_4 1% có tính chất tẩy màu nhẹ hơn so với HCl 3% được sử dụng trong phương pháp nhuộm các *Mycobacteria*. Vì rất khó chuẩn hóa phương pháp nhuộm này nên cần tiến hành nhuộm song song chứng dương và chứng âm cùng mẫu bệnh phẩm. Có thể sử dụng *Streptomyces* làm chứng âm và *Nocardia* làm chứng dương. Cần đánh giá chất lượng của tiêu bản nhuộm trước khi đọc kết quả. *Gordonia, Nocardia, Rhodococcus,* và *Tsukamurella* kháng cồn kháng acid một phần.

Cần đánh giá kỹ lưỡng sự có mặt của tế bào trong bệnh phẩm. Các vi khuẩn

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

kháng acid hoặc vi khuẩn Gram dương bị thực bào đôi khi có thể quan sát thấy trong các tế bào đại thực bào và các tế bào đơn nhân. Trên tiêu bản nhuộm có thể thấy hình ảnh này là các hạt kháng acid đậm trong đám các trực khuẩn kháng yếu hoặc không kháng acid.

Nếu trong trường hợp nghi ngờ nhiễm *Actinomycetes*, dịch hút cần trải trên mặt đĩa petri để quan sát sự có mặt của các hạt nhỏ có trong bệnh phẩm. Nếu có các hạt nhỏ này, cần nghiền nát để dàn tiêu bản quan sát.

Gần đây, Couble đã công bố phương pháp trực tiếp chẩn đoán *Nocardia* có trong các bệnh phẩm lâm sàng bằng PCR cùng với các mẫu dò DNA (ADN probe) với gen đích là 16S rRNA. Khi áp dụng phương pháp này phân tích 18 mẫu bệnh phẩm nuôi cấy *Nocardia* dương tính đều cho kết quả dương tính. Các mẫu bệnh phẩm chứa *M. tuberculosis* đều cho kết quả âm tính khi thử nghiệm bằng phương pháp này. Tuy vậy giá trị của phương pháp này cho áp dụng trong thực hành chẩn đoán hằng ngày cần được đánh giá thêm.

4.3. Nuôi cấy

Các môi trường dùng để nuôi cấy phân lập các loài *Actinomycetes* hiếu khí bao gồm thạch máu *(Xem hình P28 ở Phụ bản)*, thạch chocolate, thạch BHI, thạch Sabouraud dextrose và môi trường Lowenstein–Jensen. *Dermatophilus congolensis* có thể không mọc được trên môi trường thạch Sabouraud dextrose và môi trường Lowenstein–Jensen. Môi trường BCYE (Buffered charcoal yeast extract agar) đặc biệt phù hợp cho các loài *Nocardia (Xem hình P29 ở Phụ bản)*. Các bệnh phẩm lấy từ các vị trí vô khuẩn hay các dịch vô khuẩn đã ly tâm có thể nuôi cấy trực tiếp ngay vào các môi trường nuôi cấy. Các bệnh phẩm đường hô hấp, ở da, và ở các vị trí khác có nguy cơ tạp nhiễm như các u nấm cần được nuôi cấy thêm trên các môi trường chọn lọc như môi trường Thayer Martin cải tiến và môi trường BCYE chọn lọc (có chứa polymycin B, anisomycin, và vancomycin hoặc cefamandole). Môi trường Sabouraud có chloramphenicol không nên dùng, vì nó ức chế sự phát triển của một số loài *Nocardia*. Môi trường đặc biệt để phân lập *R. equi* là Mueller–Hinton có thêm ceftazidime và novobiocin.

Nuôi cấy phân lập các *Actinomycetes* hiếu khí cần tiến hành giống như nuôi cấy phân lập nấm. Cần 2 đĩa môi trường BCYE cho các bệnh phẩm lấy ở vị trí vô khuẩn hoặc BCYE chọn lọc cho các bệnh phẩm có nguy cơ tạp nhiễm. Một đĩa nuôi cấy ở $30^{o}C$, đĩa còn lại ở $35^{o}C$ trong môi trường hiếu khí. Tuy nhiên, cần lưu ý là các loài *Streptomyces* có thể phát triển tốt hơn ở $25^{o}C$ và *D. congolensis* tạo dạng sợi bề mặt khi nuôi cấy ở môi trường giàu CO_2. Tất cả các đĩa nuôi cấy cần được theo dõi ít nhất 2 tuần, tốt nhất là trong khoảng 3 tuần và dán chặt để chống khô thạch.

Quy trình xử lý bệnh phẩm tạp nhiễm bằng môi trường pH thấp rất hiệu quả cho các bệnh phẩm nghi ngờ có chứa *Nocardia*. Pha loãng bệnh phẩm trong HCl 0,2 M – KCl 0,2 M ở pH 2,2 theo tỷ lệ 1:10, trộn đều rồi để trong vòng 3 đến 5 phút. Sau đó, bệnh phẩm được nuôi cấy trên môi trường chọn lọc và không chọn lọc.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các bệnh phẩm máu nghi ngờ có *Actinomycetes* hiếu khí có thể nuôi cấy trong các hệ thống cấy máu như phương pháp cấy máu hai chai kinh điển, nuôi cấy ở chai hai pha, hệ thống cấy máu sử dụng chất phóng xạ hoặc không phóng xạ để phát hiện, hoặc hệ thống ly tâm ly giải. Sử dụng các hệ thống cấy máu khác nhau đều có thể phân lập được các *Actinomycetes* sau khoảng 3 đến 19 ngày nuôi cấy. Các nghiên cứu sử dụng các hệ thống cấy máu thế hệ mới hơn đưa ra khuyến cáo rằng không cần thiết nuôi cấy lâu hơn thời gian trên. Tuy vậy, các nghiên cứu này không khẳng định rằng có thể rút ngắn hơn thời gian nuôi cấy cho dù đã sử dụng hệ thống cấy máu thế hệ mới. Nếu có khả năng nhiễm khuẩn huyết do một trong số các căn nguyên thuộc *Actinomycetes* hiếu khí thì nên làm luôn cấy máu tìm nấm hoặc cấy chuyển đến cùng trong trường hợp không thể kéo dài thời hạn nuôi cấy phân lập thêm nữa.

Các mẫu nuôi cấy từ các loại bệnh phẩm khác nhau nên được kiểm tra hằng ngày trong tuần đầu tiên và sau đó kiểm tra hàng tuần. Khi quan sát khuẩn lạc nên dùng kính hiển vi 3 chiều hay còn gọi là kính hiển vi nhìn nổi để có thể phát hiện và quan sát được các khuẩn lạc có kích thước nhỏ. Quan sát như vậy đặc biệt có ý nghĩa quan trọng cho những trường hợp bệnh phẩm tạp nhiễm với các vi khuẩn thuộc vi hệ bình thường vì các *Actinomycete* hiếu khí rất dễ dàng bị lấn lướt bởi các vi khuẩn mọc nhanh. Cũng cần lưu ý thêm khi quan sát trên môi trường Lowenstein–Jensen hoặc môi trường Middlebrook nuôi cấy các *Mycobacterium* và trên đĩa BCYE nuôi cấy *Legionella* vì *Nocardia* và các loài *Actinomycete* hiếu khí đều có thể mọc trên các môi trường này.

4.4. Xác định

Đặc điểm hình thái học

Nhuộm soi

Các tiêu bản nhuộm Gram và nhuộm kháng cồn kháng acid cải tiến là bước đầu tiên định hướng cho quá trình xác định. Cần quan sát trên nhiều vi trường để xác định được hình thái điển hình và đôi khi có thể phát hiện được các dạng chia nhánh hiếm gặp. Cần chú ý phân biệt để không nhầm lẫn hình ảnh hai vi khuẩn xếp vuông góc với nhau với hình ảnh chia nhánh thực sự. Bởi vì rất khó nhận định được kết quả nhuộm soi kháng cồn kháng acid cải tiến nên quan sát hình thái trên tiêu bản chỉ nên sơ bộ tham khảo và cần kết hợp với kết quả của các thử nghiệm khác.

Lam kính nuôi cấy

Lam kính nuôi cấy được dùng để đánh giá hình thái của sự phát triển một cách chủ động. Nuôi cấy vi khuẩn trên bề mặt một khối thạch nhỏ rồi phủ một lam kính lên trên đó. Lam kính nuôi cấy được ủ trong môi trường ẩm ở 25°C trong khoảng 2 đến 3 tuần và được kiểm tra đều đặn. Dạng sợi sinh dưỡng (sợi nền) mọc ngay bên dưới bề mặt thạch. *Gordonia* và *Tsukamurella* hầu như rất ít hoặc không

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

có chia nhánh, trong khi nhánh của *Actinomadura, Nocardia* và *Streptomyces* thì rất nhiều. Dạng sợi sinh dưỡng của *Amycolata, Amycolatopsis*, và *Nocardia* phân mảnh thành dạng trực khuẩn, cầu khuẩn hoặc hình vuông. Các sợi sinh dưỡng của của *Actinomadura* và *Streptomyces* phân mảnh rất ít hoặc không hề phân mảnh. Dạng sinh trưởng của *Rhodococcus* thường xuất hiện ban đầu ở dạng trực khuẩn ngắn hoặc sẽ giữ nguyên hình thái này hoặc tiến triển thành dạng sợi nhỏ chia đơn hoặc đa nhánh. Các khuẩn lạc của *Rhodococcus* bản thân nó là một khối của các cầu khuẩn hoặc cầu trực khuẩn. Sợi sinh dưỡng của *D. congolensis* đặc trưng cho chi này với các sợi dài, thon nhọn, chia nhánh ở đầu tận cùng ở góc phải với các vách ngăn hình thành trong các mặt phẳng ngang và dọc.

Hình thái khuẩn lạc

Hình thái khuẩn lạc của các *Actinomycetes* hiếu khí trong các chi khác nhau đều rất khác nhau, thậm chí ngay trong cùng một loài, các chủng khác nhau cũng có thể có hình thái khuẩn lạc khác nhau. Yếu tố môi trường nuôi cấy như môi trường, nhiệt độ, thông khí, sự có mặt của CO_2, thời gian nuôi cấy có ảnh hưởng đến kích thước, sự ổn định của khuẩn lạc và sự hình thành sợi. Một số loài sinh sắc tố hòa tan có thể khác nhau giữa chủng này với chủng khác.

Hình thái sợi bề mặt (sợi sinh sản)

Sợi bề mặt mọc từ bề mặt của khuẩn lạc hướng ra ngoài không khí thường xuất hiện sau 7 đến 14 ngày nuôi cấy. *Nocardia* và *Streptomyces* hình thành rất nhiều sợi bề mặt nên làm cho bề mặt khuẩn lạc có dạng bột hoặc dạng nhung mịn. Rất hiếm chủng *Nocardia* không có hoặc chỉ có sợi bề mặt thưa thớt. Sự hình thành các sợi bề mặt của *Actinomadura, Amycolata,* và *Amycolatopsis* rất thay đổi. *Rhodococcus* có thể rất hiếm thấy có các sợi bề mặt. Trong các chi kháng acid một phần, chỉ duy nhất *Nocardia* thường xuyên hình thành các sợi bề mặt. Sự có mặt của bào tử cùng với số lượng và sự sắp xếp các sợi bề mặt có thể dùng để định danh chi.

Định danh bằng các tính chất sinh vật hóa học

Những điểm hạn chế

Khi một số lượng đáng kể các *Actinomycetes* hiếu khí tăng lên, chỉ sử dụng một số lượng hạn chế các tính chất sinh vật hóa học sẽ không thể định danh chính xác ở mức độ loài, thậm chí ngay cả ở mức độ chi. Trong trường hợp cần định danh chính xác tên của chủng nào đó phân lập được ở bệnh nhân cần phải gửi đến các phòng xét nghiệm tiêu chuẩn để định danh bằng phương pháp sinh học phân tử.

Xác định tên chi

Để xác định một chủng chưa biết thuộc chi nào, cần quan sát các đặc điểm của khuẩn lạc, đặc biệt là sự có mặt của các sợi bề mặt. *Nocardia* và *Streptomyces* thường có các sợi bề mặt, các chi khác không thường xuyên phân lập được cũng có đặc điểm hình thái như vậy. Nhuộm và đọc tiêu bản nhuộm kháng cồn kháng acid cải tiến cẩn thận có thể giúp phân biệt *Nocardia* với các chi khác.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cả *Nocardia* và *Tsukamurella* kháng cồn kháng acid đều đề kháng với lysozyme và mọc tốt trên môi trường canh thang lysozyme. Tuy nhiên, chỉ có *Nocardia* có các sợi bề mặt. *Gordonia* có khả năng mọc khác nhau trong môi trường canh thang lysozyme nhưng không có các sợi bề mặt. Lysozyme xúc tác cho quá trình thủy phân một số polysaccharide có trong vách tế bào làm cho vách tế bào bị suy yếu. Berd khuyến cáo sử dụng nuôi cấy một lượng nhỏ canh khuẩn trong canh thang glycerol có chứa 0,005% lysozyme và đồng thời nuôi cấy song song với một ống canh thang glycerol không chứa lysozyme để làm chứng. Sau 4 tuần nuôi cấy, tất cả các chủng *Nocardia* đều đề kháng với lysozyme trừ 10 chủng thuộc phức hợp loài *N. brevicatena*.

Xác định tên loài

Tính chất sinh vật hóa học

Có thể dựa vào các tính chất sinh vật hóa học và kiểu cách đề kháng với kháng sinh của các loài *Nocardia* ở các bảng 4.8 và 4.9 dưới đây để xác định các loài *Nocardia* thường gặp.

Bảng 4.8. Kiểu cách kháng kháng sinh điển hình của các loài *Nocardia*

Kháng sinh	*N. abscessus*	*N. brasiliensis*	*N. cyriacigeorgica*	*N. farcinia*	Phức hợp *N. nova*	*N. otidiscaviarum*	*N. pseudobrasiliensis*	Phức hợp *N. transvalensis*
Amoxicillin–clavulanic acid	S	S	R	–	R	R	R	–
Amikacin	S	–	–	S	–	S	–	R
Ampicillin	S	R	R	R	S	R	R	–
Carbenicillin	S	S	–	–	R	R	S	–
Cefamadole	–	R	–	R	–	–	R	–
Ceftriaxone	S	–	S	R	–	R	–	–
Ciprofloxacin	R	R	R	S	–	S	S	S
Clarithromycin	R	R	R	R	S	–	S	R
Erythromycin	R	–	–	R	S	–	–	R
Gentamicin	–	–	–	R	–	S	–	R
Imipenem	R	–	–	S	–	R	–	S
Kanamycin	–	R	–	–	–	S	R	R
Linezolid	S	S	S	S	S	S	S	S
Minocycline	–	S	–	–	–	–	R	–
Sulfamethoxazole	S	S	–	S	–	S	S	–

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 4.9. Các tính chất sinh vật hóa học của các loài *Nocardia* gây bệnh cho người

Loài	Mọc ở 45°C	Sinh			Ly giải						Sử dụng			
		Arylsulfates	Nitrate reductase	Urease	Adenine	Casein	Esculin	Hypoxanthine	Tyrosine	Xanthine	Acetamide	Citrate	L–Rhamnose	D–Sorbitol
N. abscessus	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–
N. africana	+	+	–	–	–	+	–	–	–	–	NA	–	–	–
N. aobensis	–	NA	NA	+	–	–	NA	–	–	–	NA	–	–	–
N. asiatica	–	–	+	V	–	–	–	–	–	–	NA	+	+	–
N. beijingensis	–	NA	NA	+	–	–	–	–	–	+	NA	+	+	+
N. brasilienssis	–	–	+	+	–	+	+	+	+	–	–	+	–	–
N. brevicatena	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
N. carnea	–	NA	+	–	–	–	+	–	–	–	NA	–	–	+
N. cyriacigeorgica	+	NA	+	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–
N. farcinica	+	–	–	+	–	–	+	–	–	–	+	–	+	–
N. kruczakiae	+	+	NA	NA	–	–	+	–	–	–	–	+	–	–
N. mexicana	–	–	NA	+	+	–	NA	+	–/W	–	NA	NA	+	+
N. niigatensis	–	NA	NA	V	–	–	NA	W	–	–	NA	–	–	–
N. nova	–	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
N. otidisscaviarum	V	NA	+	+	–	–	+	+	–	+	–	–	–	–
N. paucivoran	+	NA	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
N. pseudobrasiliensis	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–	NA	+	–	–
Phức hợp N. transvalensis	V	–	+	+	–	–	+	+	–	–	–	+	–	V
N. veterana	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–f	–

NA, không có giá trị; V, không ổn định; W, yếu

Định danh bằng phương pháp sinh học phân tử

Phương pháp sinh học phân tử hiện nay là phương pháp duy nhất có thể định danh chính xác các chủng *Actinomycetes* hiếu khí. Phương pháp này còn rút ngắn thời gian chẩn đoán hơn nhiều so với các phương pháp chẩn đoán kinh điển dựa vào các tính chất sinh vật hóa học.

PCR và phân tích bằng các enzym cắt hạn chế REA

– Dùng kỹ thuật PCR khuếch đại gen 16S rRNA có thể xác định được chi *Actinomyces*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– PCR cùng với REA có thể sử dụng để chẩn đoán cho các loài *Nocardia* thường gặp. Các gen được sử dụng trong kỹ thuật REA là 16S rRNA và *hsp* (heat shock protein gene).

Các phương pháp sinh học phân tử khác

– Kỹ thuật ribotyping đã được sử dụng để chẩn đoán các chủng thuộc loài *N. farcinica* và để phân biệt 4 thành viên trong phức hợp *N. asteroides*.

– Sử dụng phương pháp phân tích đa hình ADN khuếch đại ngẫu nhiên bằng PCR (PCR--randomly amplified polymorphism DNA – RAPD) có thể xác định được một số loài *Nocardia*.

– Kỹ thuật dùng mẫu dò ADN rất có giá trị trong xác định các loài *Streptomyces*.

– Giải trình tự gen là một công cụ rất hiệu quả cho việc xác định các loài *Actinomycetes*. Phân tích trình tự của gen 16S rRNA có thể xác định được ở mức độ loài của các thành viên của gần hết các chi *Actinomycetes* hiếu khí.

– Phân tích vùng gen rất biến đổi gần đầu 5' của gen 16S rRNA với độ dài khoảng 500 bp cũng đủ để xác định rất nhiều chủng nghi ngờ *Nocardia*.

– Phân tích các gen khác như *sec*A1 (preprotein translocase gene) của 31 loài *Nocardia* cho thấy trình tự của gen này có mức độ biến đổi lớn hơn so với gen 16S rRNA nên nó có năng lực phân biệt cao hơn so với gen 16S rRNA. Hơn nữa, khi sử dụng các gen mã hóa cho protein để phân tích, có thể dịch chuyển các trình tự của nucleotide sang trình tự của các acid amin, do vậy giúp loại trừ được sự không đồng nhất của các chủng trong cùng một loài.

– Lai ADN–ADN mặc dù còn thiếu sự tiêu chuẩn hóa song kỹ thuật này vẫn rất có giá trị để phân biệt các loài với nhau khi mức độ tương đồng về trình tự gen của các loài này rất cao.

Phương pháp huyết thanh học chẩn đoán

Phương pháp huyết thanh học xác định sự có mặt của kháng thể kháng *Nocardia* có độ nhạy và độ đặc hiệu đều thấp. Rất nhiều các phương pháp cũng như các kháng nguyên khác nhau đã được thử nghiệm và đánh giá như miễn dịch khuếch tán, cố định bổ thể, ELISA, thấm miễn dịch. Dịch nuôi cấy không có tế bào, các dịch nghiền tế bào, cũng như các phân tử protein trọng lượng lớn đã được thử nghiệm làm kháng nguyên. Tuy nhiên, hầu hết các phương pháp đều cho phản ứng chéo với kháng thể kháng *M. tuberculosis*. Phản ứng chéo này là một vấn đề rất đáng ngại vì bệnh lao là một trong những bệnh cần chẩn đoán phân biệt ở những bệnh nhân nghi ngờ nhiễm *Nocardia* ở phổi hoặc ở hệ thần kinh trung ương. Hơn nữa, các kỹ thuật miễn dịch cũng không đủ nhạy để phát hiện được kháng thể ở những bệnh nhân suy giảm đáp ứng miễn dịch mà đây là những đối tượng có nguy cơ cao mắc các nhiễm trùng do *Nocardia*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

5.1. Kháng sinh đồ

Phương pháp làm kháng sinh đồ cho các *Actinomycetes* hiếu khí được CLSI khuyến cáo là pha loãng trong canh thang trong các giếng nhỏ. Ngoài áp dụng cho *Nocardia*, với các chi khác như *Rhodococcus*, giá trị của phương pháp làm kháng sinh đồ này còn đang được bàn luận. Nuôi cấy vi khuẩn ở 37°C trong khoảng từ 3 đến 5 ngày trong điều kiện hiếu khí. Cả giá trị MIC và kết quả phiên giải từ giá trị MIC đều nên thông báo.

Nên tiến hành làm kháng sinh đồ cho tất cả các chủng *Actinomycetes* hiếu khí nghi ngờ là căn nguyên gây bệnh và đặc biệt là các chủng phân lập được ở những bệnh nhân không sử dụng được sulfonamide. Các phòng xét nghiệm không thường xuyên làm kháng sinh đồ theo phương pháp này được khuyến cáo là không nên tiến hành làm mà nên gửi đến các phòng xét nghiệm chuẩn có kinh nghiệm. Các kháng sinh được khuyến cáo cho thử nghiệm bao gồm amikacin, amoxicillin–clavulanic acid, ceftriaxone, ciprofloxacin, clarithromycin, imipenem, linezolid, minocycline, sulfamethoxazole hoặc trimethoprim–sulfamethoxazole, và tobramycin. Các kháng sinh khác có thể thử nghiệm như cefepim, cefotaxime, doxycycline, hoặc moxifloxacin và gentamicin. Hầu hết các chủng *Nocardia* nhạy cảm với trimethoprim–sulfamethoxazole nên phải rất cẩn thận khi khẳng định một chủng *Nocardia* nào đó đề kháng với kháng sinh này. Cũng tương tự như vậy, hầu hết, không phải tất cả, các chủng *Nocardia* đều nhạy cảm với linezolid trong thử nghiệm in vitro.

5.2. Phòng bệnh

Các loài *Nocardia* phân bố rộng khắp trong đất nên việc kiểm soát chống nhiễm trùng các loài này rất khó khăn. Các nhiễm trùng ngoài da thường do chấn thương và vết thương bị nhiễm đất bẩn. Do vậy, các vết thương cần được làm sạch và cắt lọc. Sử dụng các kháng sinh dự phòng có thể không hiệu quả vì các vi khuẩn này kháng hầu hết với các kháng sinh uống thông thường.

Lây truyền từ người sang người rất hiếm gặp mặc dù đã có hai báo cáo về dịch nhiễm trùng bệnh viện ở những bệnh nhân ghép thận.

CÁC ACTINOMYCETES KHÁC

1. *ACTINOMADURA*

Chi *Actinomadura* có khoảng 57 loài đã được đặt tên. Hình thể vi khuẩn và hình thái khuẩn lạc rất giống với các vi khuẩn thuộc chi *Streptomyces*. Dưới kính

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hiển vi, các vi khuẩn có dạng trực khuẩn Gram dương ngắn, mảnh và chia nhánh. Các vi khuẩn này âm tính với phương pháp nhuộm cồn acid cải tiến. Khuẩn lạc nhăn nheo, có thể có các sợi bề mặt, và màu sắc của khuẩn lạc rất khác nhau ở các chủng khác nhau. Vách tế bào của các vi khuẩn thuộc chi này có chứa đường madurose giống với các thành viên của chi *Dermatophilus*. Bệnh cảnh lâm sàng do *Acyinomadura* gây ra thường là dạng u nấm, đặc biệt hay gặp ở bàn chân (bàn chân Madura). Đường dẫn lưu rất hay có mặt trong các tổn thương u nấm. Các hạt bản chất là do vi khuẩn tụ đám hoặc các vi khuẩn lạc có thể nhìn thấy trong dịch tiết từ tổn thương. Các vi khuẩn trong chi này rất hiếm khi gây ra các bệnh cảnh nhiễm trùng khác. Chỉ có ba loài duy nhất là căn nguyên gây bệnh: *A. latina, A. madura*, và *A. pelletieri*, trong đó *A. madura* là hay gặp nhất.

2. *AMYCOLATA* và *AMYCOLATOPSIS*

Lechevalier đã đặt tên chi *Amycolata* và *Amycolatopsis* cho các vi khuẩn Gram dương gần giống vi khuẩn *Nocardia*. Các vi khuẩn trong hai chi này thường sinh các sợi bề mặt. Loài *Nocardia orientalis* đã được chuyển sang chi *Amycolatopsis*. Hiện nay, chi *Amycolata* có 4 loài còn chi *Amycolatopsis* gồm có 26 loài. Dựa trên phân tích trình tự của 16S rRNA, chi *Amycolata* và chi *Pseudonocardia* nên gộp lại thành chi *Pseudonocardia*. Cho đến nay, chưa có một loài nào trong chi này được công bố là căn nguyên gây nhiễm trùng ở người.

3. *DERMATOPHILUS*

Chi này chỉ gồm có hai loài. Đây là chi khác biệt nhất với các chi khác thuộc nhóm *Actinomycete* hiếu khí. Về mặt di truyền học, chi *Dermatophilus* được xếp vào bộ phụ *Micrococcineae*, trong khi đó, *Actinomycetes* hiếu khí gây bệnh cho người chủ yếu được xếp vào bộ phụ *Corynebacterineae*. Khuẩn lạc của *Dermatophilus* nhăn nheo, đục, tan máu β, có màu từ vàng đến da cam tùy theo thời gian nuôi cấy. Các sợi bề mặt có thể được tạo ra nếu nuôi cấy trong điều kiện khí trường giàu CO_2. Vi khuẩn cũng thuộc loại kỵ khí tùy tiện. Hình thể dưới kính hiển vi của vi khuẩn thuộc chi này rất khác thường và ấn tượng. Vi khuẩn chia nhánh với các sợi nhánh có đường kính khoảng 0,6–1,0 μm, có vách ngăn dọc và cả vách ngăn ngang. Các vi khuẩn này bắt màu Gram dương nhưng âm tính với phương pháp nhuộm cồn acid cải tiến. Các tế bào hình cầu có thể phát triển thành các động bào tử có khả năng di động trong điều kiện môi trường thích hợp. *D. congolensis* gây viêm da ở rất nhiều loài động vật như gia súc, ngựa, dê, cừu nhưng rất hiếm khi gây nhiễm trùng cho người. Ở người, vi khuẩn này gây rất nhiều kiểu nhiễm trùng da như các tổn thương da tróc vảy và xuất tiết, mụn mủ, tiêu da dạng hốc, tưa lưỡi có lông. Các dạng vi khuẩn hình cầu và sợi có thể nhìn thấy rất rõ trong các bệnh phẩm mô. Mặc dù chưa có liệu pháp điều trị tối ưu nhưng rất may là các nhiễm trùng có thể tự khỏi được.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. *DIETZIA*

Loài *Dietzia maris* được chuyển từ chi *Rhodococcus* sang dựa trên sự khác biệt về tính chất hóa học và trình tự của gen 16S rRNA. Hiện nay, chi này gồm có ba loài. Các loài này rất hiếm khi chia nhánh mà thường xuất hiện ở dạng cầu hoặc trực khuẩn kháng cồn kháng acid trong phương pháp nhuộm cồn acid cải tiến. Chỉ có *D. maris* là căn nguyên duy nhất gây bệnh cho người. Trong một ca bệnh được công bố, *D. maris* được phân lập ở máu và catheter nội mạch nhưng chủng này lại âm tính trên tiêu bản nhuộm Kinyoun mặc dù nó thực sự phải dương tính. Trong một ca bệnh khác, chủng vi khuẩn này được phân lập ở bệnh nhân bị nhiễm trùng ở mông nhưng phân tích trình tự của gen 16S rRNA chỉ thấy có 98% tương đồng với *D. maris*.

5. *GORDONIA*

Gần đây, các đặc điểm sinh học của *Gordonia* đã được xem xét lại. Khuẩn lạc có màu da cam điển hình và nhăn nheo. Trên tiêu bản nhuộm, *Gordonia* có dạng giống vi khuẩn *Corynebacterium*, không phân nhánh. Hình ảnh này rất dễ nhầm lẫn với các thành phần vi khuẩn thuộc vi hệ bình thường ở miệng trong các mẫu bệnh phẩm đờm. Chi *Gordonia* lần đầu tiên được Tsukamura mô tả, nhưng sau đó Stackebrandt đã mô tả lại năm 1988 bao gồm các loài có chứa các phân tử mycolic acid chiều dài khoảng 46 đến 66 nguyên tử carbon và một phân tử menaquinone có 9 đơn vị isoprene. *Gordonia* và *Rhodococcus* có thể phân biệt được bằng trình tự 16S rRNA. Hiện nay, có khoảng 19 loài thuộc chi *Gordonia*. Đã có một số ca bệnh nhiễm trùng huyết, nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương, bệnh phổi, và nhiễm trùng mô mềm do *Gordonia* được ghi nhận. Tuy nhiên, các căn nguyên này được chẩn đoán chính xác đến đâu thì chưa đánh giá được vì kỹ thuật cũng như các tiêu chuẩn chẩn đoán vi khuẩn thuộc chi này khác nhau rất nhiều trong các báo cáo. Khi một chủng *Actinomycete* nào đó không thể xác định được chính xác thuộc loài nào thì được cho là thuộc một loài của chi *Gordonia*.

6. *NOCARDIOPSIS*

Chi *Nocardiopsis* lần đầu tiên được Meyer mô tả, khi phát hiện vi khuẩn mang tên *Actinomadura dassonvillei* rất khác với các thành viên khác trong chi *Actinomadura* về tính chất hóa học, và các đặc điểm về khuẩn lạc. Vách tế bào của *A. dassonivillei* không chứa madurose. Các sợi dinh dưỡng có mặt trong tế bào vi khuẩn dạng cầu khuẩn, các sợi bề mặt có ở các bào tử. Khuẩn lạc của vi khuẩn này nhăn nheo và xếp nếp, các sợi bề mặt có thể rất thưa thớt hoặc rất nhiều. Cho đến nay, trong chi *Nocardiopsis* có khoảng 27 loài đã được đặt tên. Gần như tất cả các ca nhiễm trùng hiếm gặp do *Nocardiopsis* đều có căn nguyên là loài *N. dassonvillei*. Chỉ có một vài ca u nấm, nhiễm trùng huyết, nhiễm trùng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phổi, viêm kết mạc và nhiễm trùng da do *N. dassonvillei* được công bố. Tuy nhiên, đặc điểm chi tiết về bệnh cảnh lâm sàng của các ca bệnh này cũng không được mô tả rõ.

7. *RHODOCOCCUS*

Các loài trong chi *Rhodococcus* có xu hướng hình thành khuẩn lạc nhày bóng, nếu để lâu ngày, khuẩn lạc trở nên xù xì hơn và sinh sắc tố đậm hơn. Màu sắc khuẩn lạc có thể từ không màu đến vàng, đỏ. Ở 37°C, sau 24 giờ nuôi cấy, đường kính khuẩn lạc cũng chỉ có khoảng 1 mm. Các sợi bề mặt thường không thể quan sát được bằng mắt thường nhưng có thể quan sát được dưới kính hiển vi. Trên tiêu bản nhuộm soi, vi khuẩn trong chi *Rhodococcus* có hình thái cầu khuẩn hoặc trực khuẩn tùy thuộc từng loài, từng loại bệnh phẩm, từng giai đoạn phát triển của vi khuẩn, có thể nằm trong đại thực bào. *Rhodococcus* là các vi khuẩn hiếu khí, không di động, catalase dương tính, kháng cồn kháng acid khi nhuộm bằng phương pháp nhuộm cồn acid cải tiến. Tuy nhiên, khi đánh giá kết quả nhuộm kháng cồn acid cần xem xét cẩn thận vì chỉ có một phần nhỏ của tế bào giữ màu. Các mẫu tiêu bản làm từ khuẩn lạc nuôi cấy trên môi trường thạch trypticase soy có 5% máu cừu hoặc thạch chocolate thường cho kết quả nhuộm kháng cồn acid âm tính. Một đặc điểm rất quan trong của chi *Rhodococcus* cũng như chi *Gordonia* là chúng rất dễ bị nhầm với các vi khuẩn thuộc vi hệ bình thường trong miệng do chúng có hình thái chi như *Corynebacterium* khi nhuộm Gram và chúng thường không sinh sắc tố trong những vài ngày đầu tiên nuôi cấy. Trong chi này có khoảng 34 loài đã được biết đến. Căn nguyên gây bệnh chủ yếu trong chi này là loài *R. equi*. Loài này từ lâu đã được biết là tác nhân gây nhiễm trùng phổi ở ngựa. Ca bệnh đầu tiên ở người xảy ra ở một bệnh nhân dùng steroid liều cao bị áp xe phổi. Bệnh nhân này có một thời gian ngắn làm việc tại trại ngựa và bị nhiễm phân ngựa trước khi khởi phát bệnh. Hít phải vi khuẩn được cho là đường lây bệnh chủ yếu ở ngựa và cũng có thể là cơ chế chính của các nhiễm trùng ở người. Vi khuẩn cũng có thể lây truyền theo đường tiêu hóa. Hầu hết các bệnh nhân bị nhiễm trùng *R. equi* đều là những bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch, trong đó 2/3 bệnh nhân bị HIV/AIDS. Mọi vị trí trên cơ thể đều có thể bị nhiễm trùng nhưng hay gặp nhất vẫn là ở phổi. Liệu pháp phối hợp kháng sinh thường được áp dụng cho các trường hợp nhiễm trùng *R. equi*. Các kháng sinh hay dùng gồm có aminoglycoside, erythromycin, imipenem, quinolone, rifampin, và vancomycin. Đã xuất hiện một số chủng kháng rifampin do đột biến gen *rpo*B.

8. *STREPTOMYCES*

Các loài trong chi này là các trực khuẩn Gram dương, có chia nhánh. Các nhánh có thể phân thành các đoạn nhỏ. Thành viên của chi này cho kết quả âm tính với phương pháp nhuộm cồn acid cải tiến. Hình thái khuẩn lạc giống như

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

của các loài *Nocardia*. Chúng thường có các sợi bề mặt. Phân loại học ở mức độ chi và loài của nhóm các *Streptomyces* có đến gần 517 loài là một vấn đề còn rất khó khăn. Thông tin của nhiều loài trong chi này được giữ bí mật vì lý do thương mại của các sản phẩm mà chúng có thể tổng hợp được. Các dạng nhiễm trùng thường gặp do *Streptomyces* là u nấm. Căn nguyên phổ biến nhất là *S. somaliensis*.

9. *TSUKAMURELLA*

Tên của chi này được đặt theo tên của nhà vi sinh vật học Michio Tsukamura. Chi này bao gồm các loài vi khuẩn có chứa chuỗi mycolic acid dài từ 62 đến 78 nguyên tử carbon và các phân tử menaquinon dạng MK–9 chiếm chủ yếu trong vách tế bào. Các loài này có dạng trực khuẩn dài, mảnh, thẳng hoặc hơi cong nhẹ, Gram dương và kháng cồn kháng acid. Khuẩn lạc thường nhỏ, có thể bóng hoặc xù xì nhưng không sinh các sợi bề mặt. Màu sắc khuẩn lạc có thể từ hơi trắng đến da cam. Chủng chuẩn của chi này là *T. paurometabola* trước kia được gọi là *Corynebacterium paurometabolum*. Có khoảng 8 loài thuộc chi này đã được xác định. Có rất nhiều các dạng nhiễm trùng khác nhau liên quan đến các loài khác nhau trong chi này. *T. inchonensis* có thể gây nhiễm trùng phổi, viêm màng não, viêm phúc mạc, và các áp xe dưới da. Một số loài khác có thể gây nhiễm trùng huyết, viêm phổi, viêm kết mạc...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agterof MJ, van der Bruggen T, Tersmette M, ter Borg EJ, van den Bosch JM, Biesma DH. Nocardiosis: a case series and a mini review of clinical and microbiological features. Neth J Med. 2007 (65): 199–202.
2. Brown–Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ Jr. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. Based on current molecular taxonomy. Clin Microbiol Rev. 2006 (19): 259–282.
3. Conville PS, Witebsky FG. *Nocardia, Rhodococcus, Gordonia, Actinomadura, Streptomyces*, and Other Aerobic *Actinomycetes*. In Manual of Clinical Microbiology. Murray PR, et al., eds. 9th ed, 2007. ASM Press. Washington DC.
4. Gillespie AH. Aerobic *Actinomycetes*. In Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Gillespie SH, Hawhey PM, eds. 2nd ed, 2006: 183–189. John Wiley & Sons Ltd, England.
5. McNeil MM, Brown JM. The medical important aerobic *Actinomycetes*: epidemiology and microbiology. Clin. Microbiol. Rev. 1994 (7): 357–417.
6. Saubolle MA. Sussland D. Nocardiosis: review of clinical and laboratory experience. J Clin Microbiol. 2003 (41): 4497–4501.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 5

VI KHUẨN GRAM ÂM

HỌ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT

Enterobacteriaceae

GIỚI THIỆU VỀ HỌ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT

Họ vi khuẩn đường ruột (*Enterobacteriaceae*) là một họ vi khuẩn rất đông đảo. Các thành viên của họ này phân bố rộng rãi trên người, các loài động vật, thực vật và ngoài môi trường. Nơi thường gặp nhất là ruột người và các loài động vật, từ tiết túc đến voi, đây cũng là nguồn gốc của từ "đường ruột" trong thuật ngữ tên họ của chúng (*Entero*–ruột, *bacteri*–vikhuẩn, *aceae*–họ). Nhưng các thành viên của họ vi khuẩn đường ruột có thể gặp ở nhiều nơi khác ngoài ruột và ở ruột còn có đông đúc các thành viên của nhiều họ vi khuẩn khác.

Một vi khuẩn được xếp vào họ vi khuẩn đường ruột khi nó có các tính chất sau:

Trực khuẩn Gram âm, hiếu khí hoặc kỵ khí tuỳ ngộ, không có men oxidase, lên men đường glucose (sinh hơi hoặc không), khử nitrat thành nitrit, có thể di động hoặc không, nhưng nếu di động thì có nhiều lông ở xung quanh thân, không sinh nha bào.

Họ vi khuẩn đường ruột có tầm quan trọng bậc nhất trong y học bởi có nhiều thành viên có khả năng gây bệnh ở người, trong đó có những thành viên có thể gây dịch. Chúng chiếm tới 80% các vi khuẩn Gram âm gây bệnh ở người. Chúng có thể gây rất nhiều bệnh khác nhau, hầu như với tất cả các cơ quan, các mô của cơ thể. Bất cứ bệnh phẩm lâm sàng nào cũng có thể phân lập được thành viên của họ vi khuẩn đường ruột. Tuy nhiên, 95% các chủng phân lập được từ các bệnh phẩm lâm sàng tập trung vào 10 chi với khoảng 20 loài. Một nghiên cứu đã cho thấy trong số 97 loài phân lập được, 99% tập trung vào 23 loài, chỉ có 1% cho 74 loài còn lại.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC

1.1. Hình thái

Tất cả các vi khuẩn thuộc họ *Enterobacteriaceae* đều là trực khuẩn Gram âm *(Xem hình P30 ở Phụ bản)*. Kích thước trung bình 2–4 µm x 0,4–0,6 µm. Một số loài hình thể không ổn định, nuôi cấy lâu có thể đa hình thái. Những vi khuẩn di động thì có nhiều lông phân bố ở khắp xung quanh tế bào. Các thành viên của họ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

vi khuẩn đường ruột không bao giờ sinh nha bào. Một số có vỏ, có thể dày đủ để quan sát được bằng kính hiển vi quang học thông thường, hoặc chỉ là lớp rất mỏng bao ngoài vách phải quan sát bằng kính hiển vi điện tử.

1.2. Tính chất nuôi cấy

Các thành viên của họ vi khuẩn đường ruột có thể mọc được trên các môi trường nuôi cấy thông thường.

Trong môi trường lỏng có thể lắng cặn hoặc làm đục môi trường, cũng có thể vừa làm đục môi trường vừa có cặn ở dưới đáy ống; có thể phát triển thành váng trên bề mặt.

Trên môi trường đặc có ba dạng khuẩn lạc:

– Dạng S: khuẩn lạc tròn, bờ đều, nhẵn bóng.

– Dạng R: mặt khô, xù xì thường gặp khi nuôi cấy giữ chủng.

– Dạng M: khuẩn lạc nhày. Kích thước lớn hơn khuẩn lạc dạng S, các khuẩn lạc thường có xu hướng hoà vào nhau. Hình thức phát triển này gặp ở những vi khuẩn có khả năng hình thành vỏ.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

Những tính chất sau đây thường được xác định khi chẩn đoán vi khuẩn đường ruột:

– Di động hoặc không di động. Kỹ thuật vi sinh lâm sàng thông thường chỉ cho biết vi khuẩn có di động hay không. Trong trường hợp vi khuẩn có di động cũng không biết được tính chất phân bố lông của chúng.

– Lên men hoặc không lên men một số loại đường. Hai loại đường hay được xác định nhất là glucose và lactose. Nếu vi khuẩn không lên men đường glucose thì không thuộc họ vi khuẩn đường ruột. Thử nghiệm với lactose cho phép chia vi khuẩn đường ruột làm hai loại: lên men và không lên men lactose.

– Sinh hơi hay không sinh hơi khi lên men đường.

– Có hay không có một số enzym. Ba enzym thường được xác định nhất là oxidase, urease và tryptophanase (sinh indole), trong đó, nếu oxidase dương tính thì không thuộc họ vi khuẩn đường ruột.

– Khả năng sinh ra sulfua hydro (H_2S) khi dị hoá protein, acid amin hoặc các dẫn chất có lưu huỳnh.

– Phát triển được hay không phát triển được trên một số môi trường tổng hợp tối thiểu, trong đó khả năng sử dụng citrate là nguồn cung cấp carbon duy nhất có trong môi trường Simmons thường được thử nghiệm nhất.

Dựa vào các tính chất chung của họ vi khuẩn đường ruột, ta có thể loại trừ hoặc xếp một vi khuẩn nào đó vào họ này. Ngoài các tính chất đó, nhiều tính chất sinh vật hoá học khác được dùng tuỳ theo điều kiện của phòng xét nghiệm và mức độ cần định danh.

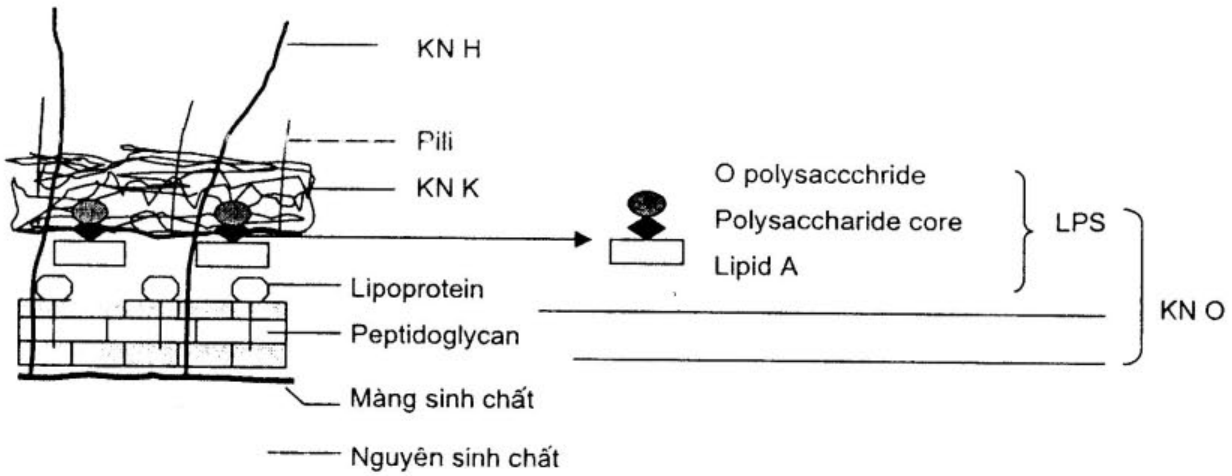
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.4. Sức đề kháng

Vì không có khả năng sinh nha bào nên các thành viên của họ vi khuẩn đường ruột không có sức đề kháng cao với những điều kiện lý hoá đặc biệt của môi trường. Chúng dễ bị tiêu diệt ở nhiệt độ sôi 100^{0}C và bởi các hoá chất sát khuẩn thông thường. Tuy nhiên sức đề kháng không giống nhau. Trong các vi khuẩn đường ruột gây bệnh cho người, một số rất dễ chết khi ra khỏi cơ thể. Số khác có thể sống nhiều ngày đến nhiều tuần, nhất là trong môi trường ẩm và nhiệt độ thấp, đây là yếu tố thuận lợi để cho các vi khuẩn này lan truyền. Những vi khuẩn có vỏ có sức đề kháng cao hơn vì vỏ giữ được nước.

1.5. Cấu trúc kháng nguyên

Họ vi khuẩn đường ruột có rất nhiều loại kháng nguyên, gồm những kháng nguyên là thành phần cấu trúc tế bào vi khuẩn và các kháng nguyên ngoại tiết. Trong các kháng nguyên là thành phần cấu trúc, ba nhóm được nghiên cứu và có ứng dụng nhiều nhất là kháng nguyên O, kháng nguyên H và kháng nguyên K (Hình 5.1).



Hình 5.1. Các kháng nguyên là thành phần cấu trúc tế bào của vi khuẩn đường ruột

1.5.1. Kháng nguyên O

Kháng nguyên O là kháng nguyên thân của vi khuẩn. Đây là thành phần kháng nguyên của vách tế bào. Kháng nguyên O là một phức hợp gồm lipopolysaccharide (LPS), lipoprotein và peptidoglycan. LPS là kháng nguyên vách chủ yếu của vi khuẩn đường ruột và chính là nội độc tố. Kháng nguyên O không bị phá huỷ ở 100°C trong hai giờ hoặc trong cồn 50%, nhưng bị mất tính kháng nguyên khi xử lý bằng formol 0,5%.

Những vi khuẩn không có kháng nguyên K thì kháng nguyên O nằm ở lớp ngoài cùng. Khi kháng nguyên O gặp kháng huyết thanh tương ứng sẽ xảy ra phản ứng ngưng kết, gọi là "hiện tượng ngưng kết O" với các hạt ngưng kết nhỏ, lắc khó tan. Những vi khuẩn có kháng nguyên K, hiện tượng ngưng kết O có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thể bị che lấp nếu kháng nguyên này che phủ hết kháng nguyên O. Kháng nguyên O có tính đặc hiệu cao, nó thường được sử dụng để phân loại vi khuẩn. Dựa vào kháng nguyên O, người ta có thể chia một loài vi khuẩn thành nhiều type huyết thanh.

1.5.2. Kháng nguyên H

Kháng nguyên H là kháng nguyên lông của tế bào vi khuẩn, nên chỉ có ở những vi khuẩn có lông.

Kháng nguyên H có bản chất là protein, dễ bị phá huỷ ở 100°C hoặc trong cồn 50% nhưng không bị phá hủy bởi formol 0,5%.

Kháng nguyên H khi gặp kháng thể tương ứng sẽ xảy ra "hiện tượng ngưng kết H" với các hạt to hơn và khi lắc dễ tan hơn so với các hạt trong hiện tượng ngưng kết O. Những vi khuẩn có lông thì có khả năng di động nhưng khi cho tiếp xúc với kháng thể H tương ứng sẽ trở thành không di động.

Kháng nguyên O và kháng nguyên H có thể được sản xuất riêng để phát hiện riêng biệt các kháng thể tương ứng. Để có kháng nguyên O, người ta cho vi khuẩn vào cồn 50%, kháng nguyên H sẽ bị phá huỷ, kháng nguyên O vẫn tồn tại. Để có kháng nguyên H người ta cho vi khuẩn vào formol 0,5% thì kháng nguyên O sẽ bị phá huỷ, kháng nguyên H vẫn nguyên vẹn.

1.5.3. Kháng nguyên K

Kháng nguyên K là kháng nguyên vỏ hoặc màng bọc nằm ở bên ngoài kháng nguyên thân. Bản chất hoá học là protein hoặc polysaccharide. Nó có thể dưới dạng một lớp vỏ dày, quan sát được bằng kính hiển vi quang học thông thường (như ở *Klebsiella*) hoặc dưới dạng một lớp rất mỏng chỉ có thể quan sát được bằng kính hiển vi điện tử (như kháng nguyên Vi ở *S. typhi*).

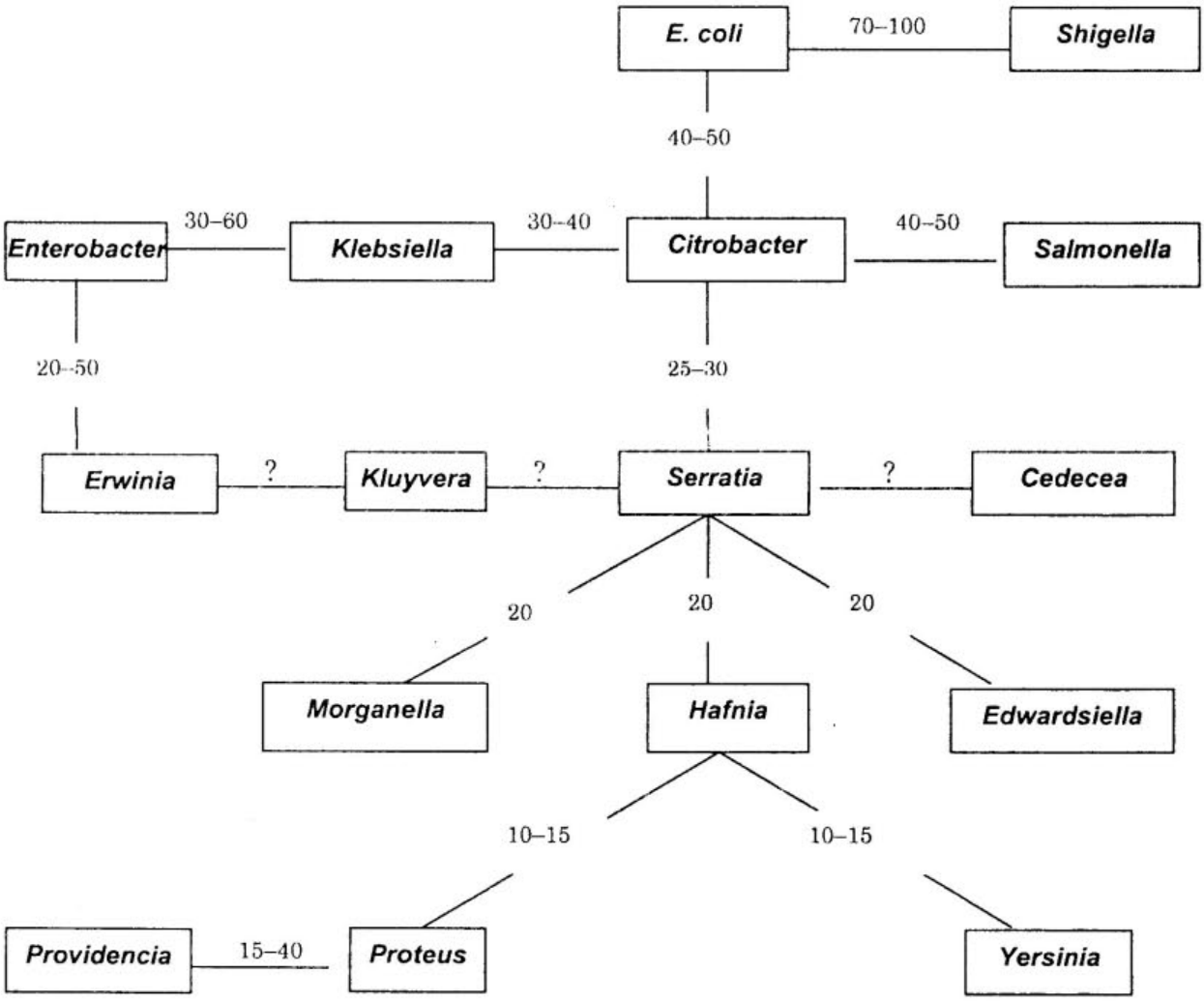
Kháng nguyên K nếu che phủ hoàn toàn kháng nguyên O sẽ ngăn cách không cho kháng thể O gắn với các quyết định kháng nguyên, làm cho hiện tượng ngưng kết O không xảy ra. Trong trường hợp này muốn phát hiện kháng nguyên O cần phải phá huỷ kháng nguyên K (xử lý ở 100°C trong 20 phút) hoặc vi khuẩn phải được nuôi cấy trong điều kiện không sinh ra được kháng nguyên này.

1.6. Phân loại

Vấn đề phân loại *Enterobacteriaceae* đã từng được tranh luận rất nhiều. Ngoài cách phân loại của Bergey còn có nhiều cách phân loại khác, như cách phân loại của Tiểu ban về *Enterobacteriaceae* thuộc Hội Vi sinh học quốc tế năm 1958, chia họ này thành 12 chi; cách phân loại của Kauffmann, năm 1966, chia *Enterobacteriaceae* thành 3 tộc và 12 chi, cách phân loại của Ewing, năm 1986, chia *Enterobacteriaceae* thành 8 tộc và 14 chi.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tộc I: *Escherichieae:* Chi I: *Escherichia*
Chi II: *Shigella*
Tộc II: *Edwardsielleae:* Chi I: *Edwardsiella*
Tộc III: *Salmonelleae:* Chi I: *Salmonella*
Tộc IV: *Citrobactereae:* Chi I: *Citrobacter*
Tộc V: *Klebsielleae:* Chi I: *Klebsiella*
Chi II: *Enterobacter*
Chi III: *Hafnia*
Chi IV: *Serratia*
Tộc VI: *Proteeae:* Chi I: *Proteus*
Chi II: *Morganella*
Chi III: *Providencia*
Tộc VII: *Yersinieae:* Chi I: *Yersinia*
Tộc VIII: *Erwinieae:* Chi I: *Erwinia*



Sơ đồ mối liên quan về cấu trúc ADN giữa các thành viên *Enterobacteriaceae* – các số chỉ tỷ lệ % giống nhau giữa hai loại vi khuẩn (?, chưa có thông tin)
(Theo Bergey's Manual, 1984, thêm hai chi, *Kluyvera* và *Cedecae*, so với phân loại của Ewing).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Các yếu tố độc lực chính

2.1.1. Khả năng bám vào tế bào cơ thể chủ

Như tất cả các vi sinh vật gây bệnh khác, khả năng bám vào tế bào cơ thể chủ là yếu tố đầu tiên không thể thiếu được để vi khuẩn đường ruột có thể gây bệnh. Để vi khuẩn bám vào tế bào, chúng phải có các pili hoặc/và các protein bề mặt đặc hiệu với các thụ thể tương ứng trên bề mặt tế bào.

2.1.2. Khả năng xâm nhập

Đây là yếu tố quyết định độc lực của nhiều vi khuẩn đường ruột. Có sự xâm nhập của vi khuẩn vào mô chắc chắn có quá trình nhiễm trùng đã xảy ra. Tuy nhiên có những vi khuẩn chỉ cần bám trên bề mặt biểu mô ruột, phát triển và sinh ngoại độc tố.

2.1.3. Các độc tố

Các vi khuẩn đường ruột có khả năng gây bệnh đều có nội độc tố. Bản chất hoá học của nội độc tố là lipopolysaccharide (LPS) của vách tế bào (xem mục 1.5.1). Nội độc tố có khối lượng phân tử từ 100.000 đến 500.000 Dalton. Cấu trúc gồm ba phần: O polysaccharide, polysaccharide lõi và lipid A. Nội độc tố chỉ được giải phóng khi vi khuẩn bị ly giải.

Tuy tính độc không cao bằng ngoại độc tố nhưng nội độc tố cũng rất độc (chỉ cần 0,05 mg nội độc tố đủ giết chết chuột nhắt sau 24 giờ). Nội độc tố có thể gây ra tình trạng sốc. Sốc nhiễm trùng nếu không được điều trị tích cực kịp thời, dễ chuyển thành sốc không hồi phục đưa đến tử vong. Nội độc tố là chất có khả năng gây sốt. Nội độc tố không bị mất tính độc ở 100°C trong 30 phút, vì vậy những thức ăn bị nhiễm vi khuẩn đường ruột sau khi nấu chín chỉ mất khả năng gây nhiễm trùng nhưng vẫn còn khả năng gây nhiễm độc, nếu vi khuẩn đã phát triển trong thức ăn với số lượng đủ lớn.

Một số thành viên của họ vi khuẩn đường ruột có khả năng sinh ra ngoại độc tố như *S. dysenteriae* type 1 (Shiga), *E. coli* loại ETEC (Enterotoxigenic *E. coli*). Ngoại độc tố của *S. dysenteriae* type 1 làm cho bệnh lỵ nặng thêm rất nhiều; ngoại độc tố LT (Labile Toxin) của ETEC rất giống với độc tố LT của vi khuẩn tả và là yếu tố quyết định độc lực của vi khuẩn này.

2.1.4. Các gen độc lực

Những nghiên cứu sâu về di truyền học đã phát hiện được nhiều gen độc lực (virulence–associated gens) kiểm soát khả năng gây bệnh của vi khuẩn đường ruột. Nhiều gen độc lực của vi khuẩn đường ruột nằm trên những cấu trúc di

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

truyền động như các plasmid, bacteriophages và các đảo bệnh sinh (PAIs – pathogenicity islands). Vi khuẩn có các gen độc lực do đột biến và do quá trình lan truyền ngang giữa các vi khuẩn khác nhau. Đây chính là nguyên nhân dẫn đến sự xuất hiện thêm các type gây bệnh (pathotype).

2.2. Vị trí gây bệnh

Các thành viên của họ vi khuẩn đường ruột có thể gây nhiều bệnh ở nhiều cơ quan khác nhau. Chúng đứng đầu trong các căn nguyên vi khuẩn gây nhiễm khuẩn đường tiêu hoá (80%), nhiễm khuẩn đường tiết niệu (khoảng 70%), nhiễm khuẩn huyết (50%). Chúng cũng là căn nguyên thường gặp trong viêm đường mật, viêm phổi ở trẻ nhỏ (nhất là trẻ sơ sinh). Chúng có thể gây viêm màng não, nhiễm khuẩn trong ngoại khoa, nhiễm khuẩn trong bỏng...

Bảng 5.1. Các vị trí gây bệnh thường gặp nhất của vi khuẩn đường ruột

Thứ tự	Vị trí	Vi khuẩn thường gặp
1	Đường tiêu hoá	*Salmonella, Shigella, Escherichia, Yersinia*
2	Đường tiết niệu	*Escherichia, Proteus, Klebsiella, Morganella*
3	Máu	*Escherichia, Klebsiella, Enterobacter*
4	Đường hô hấp dưới	*Klebsiella, Enterobacter, Escherichia*
5	Thần kinh	*Escherichia, Klebsiella*
6	Hạch	*Yersinia*

Những vị trí bị nhiễm trùng do vi khuẩn đường ruột và các vi khuẩn căn nguyên tương ứng, (gặp với tỷ lệ cao hơn những vị trí khác) được liệt kê ở bảng 5.1.

2.3. Cơ chế gây bệnh

Cơ chế gây bệnh của vi khuẩn đường ruột ở các cơ quan khác nhau có những điểm rất khác nhau. Trong các bệnh do vi khuẩn đường ruột thì nhiễm khuẩn đường tiêu hoá chiếm tỷ lệ cao nhất và cơ chế gây bệnh cũng được nghiên cứu nhiều nhất. Căn cứ vào cơ chế gây bệnh đường tiêu hoá – yếu tố quyết định độc lực (hoặc yếu tố độc lực chủ yếu) – có thể chia vi khuẩn đường ruột thành 3 nhóm:

– Các vi khuẩn gây bệnh chủ yếu bằng khả năng xâm nhập vào biểu mô.

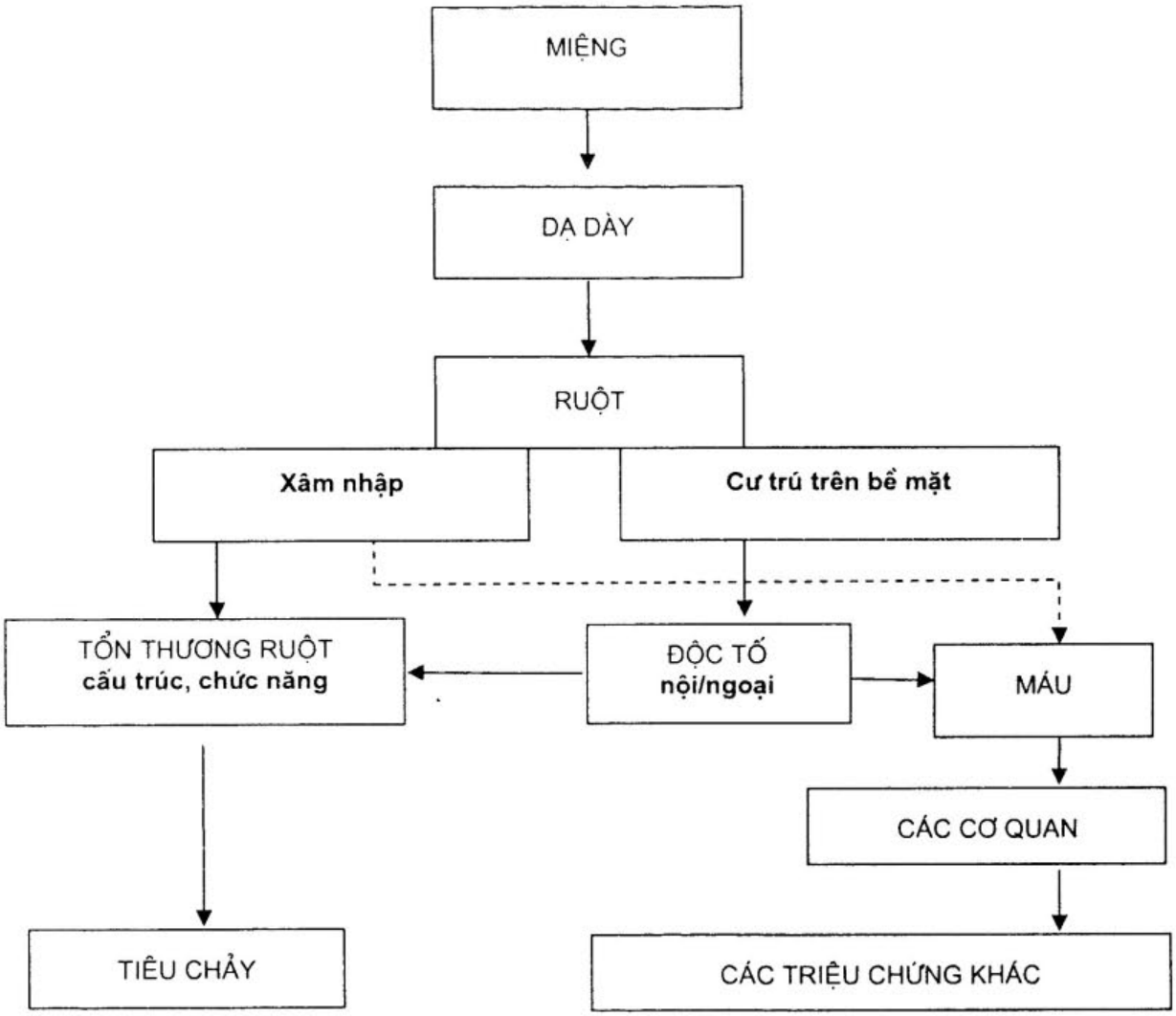
– Các vi khuẩn gây bệnh chủ yếu bằng ngoại độc tố.

– Các vi khuẩn gây bệnh chủ yếu bằng nội độc tố.

Tuy nhiên không phải *Enterobacteriaceae* gây bệnh nào cũng có thể xếp một cách dễ dàng, hoàn toàn thoả đáng vào một trong ba nhóm trên.

Sơ đồ dưới đây giới thiệu khái quát về cơ chế gây bệnh đường tiêu hoá của các vi khuẩn đường ruột.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Sơ đồ khái quát cơ chế gây bệnh đường ruột của *Enterobacteriaceae*

2.3.1. Gây bệnh chủ yếu bằng khả năng xâm nhập vào biểu mô

Các vi khuẩn này xâm nhập vào biểu mô đường tiêu hoá, gây ra những tổn thương tại chỗ như hoại tử tế bào, loét niêm mạc, xuất huyết niêm mạc. Hai đại biểu điển hình nhất của nhóm này là *Shigella* và EIEC (Enteroinvasive *Escherichia coli)*. Hai vi khuẩn này có cơ chế gây bệnh giống nhau, đều gây ra hội chứng lỵ, vì vậy ngày nay chúng ta nói bệnh lỵ trực khuẩn có thể do *Shigella* hoặc EIEC.

2.3.2. Gây bệnh chủ yếu bằng ngoại độc tố

Đại biểu điển hình cho những vi khuẩn đường ruột gây bệnh chủ yếu bằng ngoại độc tố là ETEC. Yếu tố quyết định độc lực của ETEC là độc ruột LT (heat lable toxin/thermolabile toxin – độc tố bị bất hoạt bởi nhiệt) và ST (heat stable toxin – độc tố vững bền với nhiệt).

2.3.3. Gây bệnh chủ yếu bằng nội độc tố

Nội độc tố của những vi khuẩn này có thể tác động chủ yếu ở đường tiêu hoá hoặc vào máu tác động lên nhiều cơ quan khác nhau.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Đại biểu điển hình cho nhóm này là các *Salmonella* gây bệnh thương hàn và các *Salmonella* gây nhiễm khuẩn nhiễm độc thức ăn.

3. DỊCH TỄ HỌC NHIỄM KHUẨN ĐƯỜNG TIÊU HÓA DO *ENTEROBACTERIACEAE*

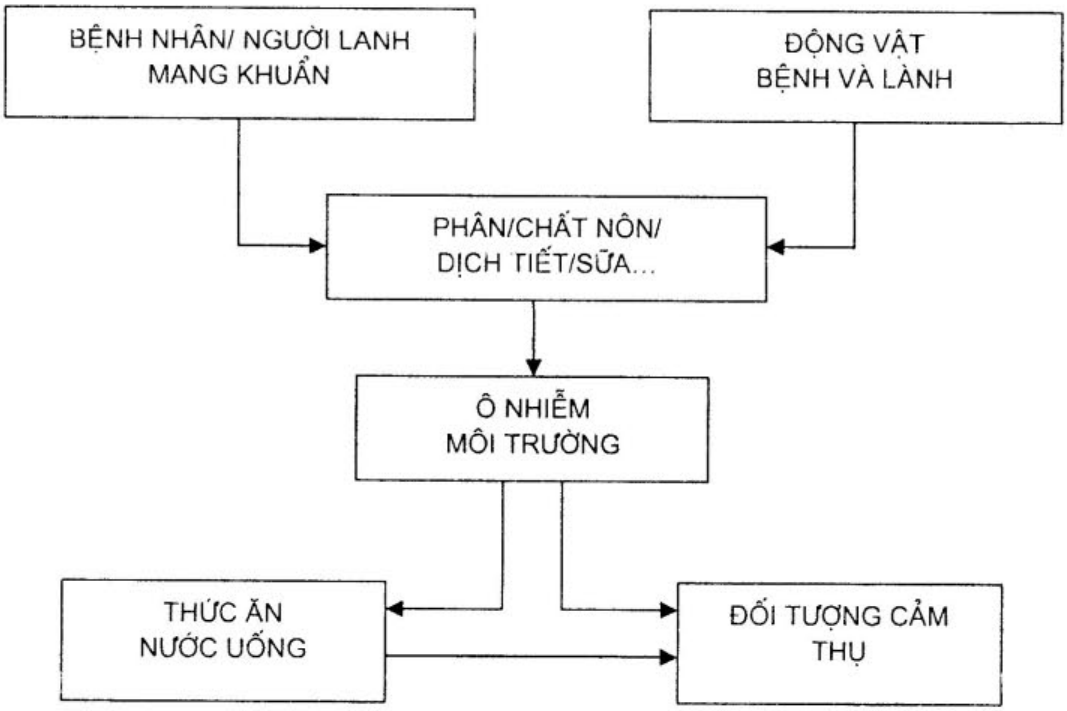
3.1. Nguồn lây

Nguồn lây các *Enterobacteriaceae* gây bệnh có thể là người bệnh, người bình thường mang vi khuẩn gây bệnh, động vật bệnh và lành.

Vi khuẩn chủ yếu được đào thải ra ngoài theo phân và chất nôn. Bệnh nhân bắt đầu đào thải vi khuẩn từ thời kỳ ủ bệnh. Đến thời kỳ toàn phát một số lượng lớn vi khuẩn được đào thải theo phân và chất nôn. Sau khi khỏi bệnh vi khuẩn vẫn có thể tiếp tục được đào thải theo phân (thời gian khác nhau tuỳ bệnh).

Người mang mầm bệnh không triệu chứng tuy đào thải số lượng vi khuẩn nhỏ hơn người bệnh nhưng nguy hiểm vì khó phát hiện và họ vẫn tham gia các hoạt động bình thường trong cộng đồng nên dễ làm bệnh lan tràn thầm lặng. Trong các vụ dịch, mối nguy hiểm này tăng lên vì tỷ lệ người lành mang vi khuẩn cao hơn hẳn người mắc bệnh.

Một số vi khuẩn đường ruột có thể lây từ động vật sang người, trong đó thường gặp hơn cả là *Salmonella* và *Yersinia pestis*.



Sơ đồ dây chuyền dịch tễ các bệnh đường tiêu hoá do vi khuẩn đường ruột

3.2. Đường lây

Vi khuẩn gây bệnh xâm nhập vào đường tiêu hoá bằng hai đường chủ yếu: gián tiếp qua thức ăn nước uống và trực tiếp vào miệng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.2.1. Do thức ăn hoặc nước uống bị nhiễm khuẩn

Đây là đường chủ yếu trong nhiễm khuẩn đường tiêu hoá. Thức ăn được xác định là yếu tố trung gian truyền bệnh đường tiêu hoá quan trọng nhất. Trong thức ăn giữ ở nhiệt độ xấp xỉ 30°C (nhiệt độ bình thường) nhiều vi khuẩn có thể sống được từ 1 đến 5 ngày, nếu ở nhiệt độ 5 – 10°C (ngăn dưới tủ lạnh) vi khuẩn tả có thể sống một vài tuần.

3.2.2. Vi khuẩn trực tiếp vào miệng

Một số lý do khác nhau có thể đưa vi khuẩn trực tiếp từ môi trường, dụng cụ nhiễm vi khuẩn vào miệng: trẻ em mút tay, ngậm đồ chơi, người tắm ở nguồn nước bị ô nhiễm (do phóng uế bừa bãi, giặt/rửa đồ dùng của bệnh nhân). Nước (bao gồm cả nước ăn và nước sinh hoạt) giữ một vai trò đặc biệt trong quá trình truyền các bệnh nhiễm khuẩn đường tiêu hoá. Trong bệnh viện lây truyền trực tiếp có thể xảy ra đối với nhân viên y tế và người chăm sóc bệnh nhân.

3.2.3. Đối tượng cảm thụ

Hầu hết các bệnh nhiễm khuẩn do *Enterobacteriaceae* có thể xảy ra đối với mọi lứa tuổi. Tại những khu vực có bệnh lưu hành thì tỷ lệ mắc bệnh ở trẻ em thường cao hơn người lớn.

Những yếu tố thuận lợi cho sự phát sinh nhiễm khuẩn đường tiêu hoá thường được nói đến là suy giảm chức năng đường tiêu hoá nói riêng (nhất là giảm tiết dịch dạ dày), suy giảm miễn dịch nói chung, chế độ ăn uống không đúng, rối loạn hệ vi khuẩn đường ruột (thường sau sử dụng kháng sinh).

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Phương pháp chẩn đoán trực tiếp

Là phương pháp chủ yếu, được sử dụng trong chẩn đoán tất cả các bệnh nhiễm khuẩn do *Enterobacteriaceae*.

4.1.1. Bệnh phẩm

Các loại bệnh phẩm thường được lấy để chẩn đoán trực tiếp nhiễm khuẩn đường tiêu hoá là phân, chất nôn và thức ăn, nước uống. Những trường hợp nghi nhiễm khuẩn máu thì bệnh phẩm là máu để cấy máu. Để điều tra dịch tễ học còn có thể tiến hành xét nghiệm mẫu nước sinh hoạt. Các bệnh ngoài ruột tuỳ bệnh mà lấy bệnh phẩm thích hợp: đờm cho nhiễm khuẩn đường hô hấp dưới, nước não tuỷ cho viêm màng não, nước tiểu cho nhiễm khuẩn đường tiết niệu,... Trong các loại bệnh phẩm nêu trên, bệnh phẩm phân chiếm tỷ lệ cao nhất.

Cách lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm phân.

Bệnh phẩm cần được lấy sớm ngay từ giai đoạn đầu của bệnh, tốt nhất là

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trước khi sử dụng kháng sinh. Có hai cách lấy bệnh phẩm: lấy sau khi bệnh nhân đi ngoài ra bô và lấy từ trực tràng.

– Lấy bệnh phẩm phân từ trong bô

Chuẩn bị ống nghiệm đựng que bông đã sấy hấp vô trùng. Cho bệnh nhân đi ngoài vào bô đã tráng nước sôi (không dùng thuốc sát trùng). Dùng que bông lấy bệnh phẩm ở chỗ có biểu hiện bệnh lý (nhày, máu, mảnh vụn niêm mạc) bằng cách đặt đầu bông vào đó và xoay. Cho que bông vào ống nghiệm, nút kín gửi ngay đến phòng xét nghiệm. Có thể lấy khoảng 1 g phân cho vào lọ (đã được sấy hấp vô trùng hoặc đã được tráng nước sôi) gửi tới phòng xét nghiệm.

– Lấy bệnh phẩm từ trực tràng

Chuẩn bị ống nghiệm đựng que bông đã sấy hấp vô trùng (bông phải được quấn đúng kỹ thuật để cố định chắc chắn ở đầu que). Làm ẩm đầu bông bằng nước muối sinh lý vô trùng hoặc bằng môi trường vận chuyển (không dùng chất dầu mỡ). Cho bệnh nhân nằm nghiêng chân dưới duỗi, chân trên co sát vào bụng, trẻ nhỏ thì được bế như cho đi ngoài. Ấn đầu bông qua cơ thắt trực tràng, xoay que bông rồi rút ra (thấy có vệt phân bám vào đầu bông là được). Cho que bông vào ống nghiệm, nút chặt, gửi ngay đến phòng xét nghiệm. Trường hợp bệnh phẩm chưa được cấy ngay, phải được giữ ở 4°C.

Bệnh phẩm cần được xét nghiệm càng sớm càng tốt, chậm nhất không quá 2 giờ. Nếu gửi bệnh phẩm đi xa phải cho vào môi trường vận chuyển. Môi trường Cary – Blair thường được dùng nhất. Khi cần vận chuyển đi xa, bệnh phẩm phải được đựng trong lọ có nút không rỉ nước, có đệm và vỏ bọc đảm bảo không bị vỡ trong quá trình vận chuyển.

4.1.2. Các phương pháp chẩn đoán nhanh

Soi tươi, nhuộm soi

Nói chung soi tươi ít có giá trị trong chẩn đoán *Enterobacteriaceae*.

Đối với tiêu bản làm từ phân:

– Nhuộm xanh methylen quan sát bạch cầu. Nhiều bạch cầu (hầu hết là bạch cầu đa nhân) trong những bệnh do vi khuẩn xâm nhập biểu mô ruột như *Shigella,* EIEC, *Salmonella*. Rất ít bạch cầu trong trường hợp mắc bệnh do các vi khuẩn không xâm nhập biểu mô ruột như ETEC.

– Nhuộm Gram quan sát hình thể tính chất bắt màu của vi khuẩn. Phân bình thường sẽ thấy đa số là trực khuẩn Gram âm. Khi loạn khuẩn thấy ít, thậm chí không thấy trực khuẩn Gram âm, thấy nhiều cầu khuẩn Gram dương, trực khuẩn Gram dương và nấm men.

Đối với tiêu bản làm từ cặn ly tâm nước tiểu hoặc nước não tuỷ: quan sát vi khuẩn và bạch cầu đa nhân. Khi cặn nước tiểu không thấy bạch cầu, các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng thường không chỉ định nuôi cấy vi khuẩn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

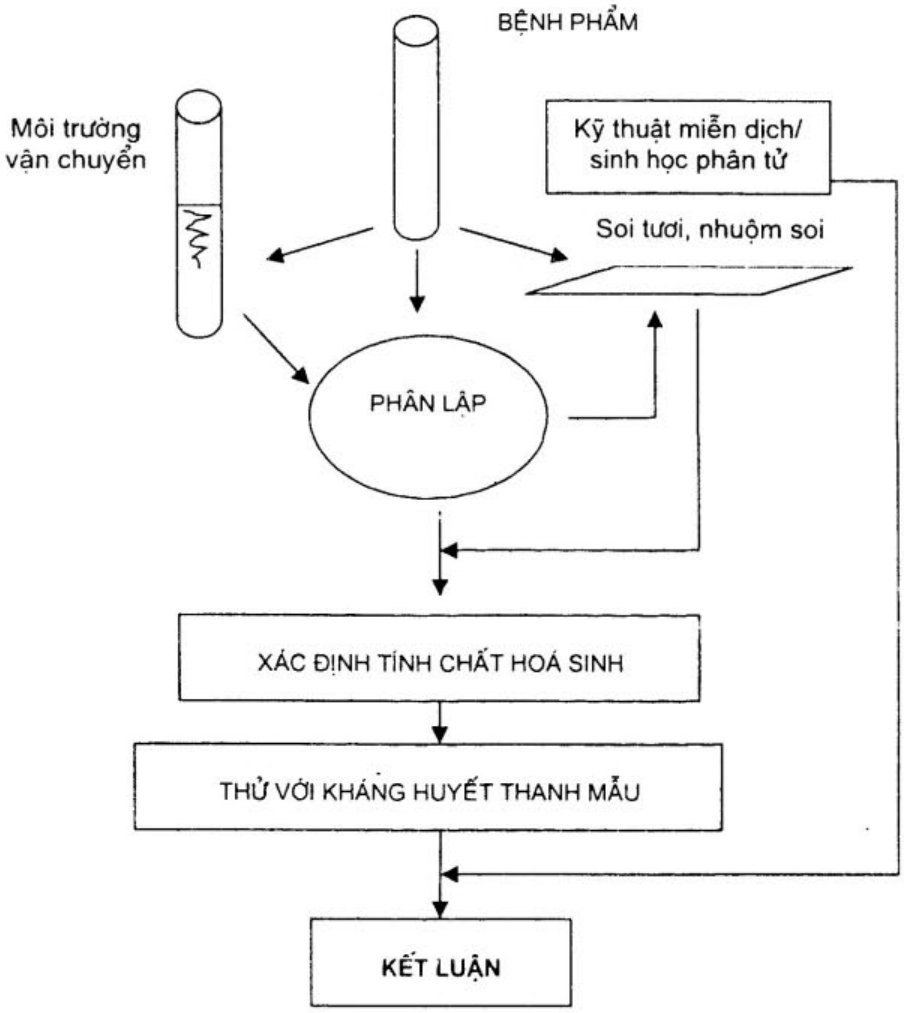
Phương pháp miễn dịch học

Phương pháp thường được sử dụng là ngưng kết thụ động tìm kháng nguyên của vi khuẩn trong dịch não tuỷ. Nguyên lý của phương pháp này là: các kháng thể được gắn lên thể mang (nền mượn – thường là latex), khi trộn bệnh phẩm có kháng nguyên tương ứng thì hiện tượng ngưng kết sẽ xảy ra. Phương pháp này có tính đặc hiệu cao và cho kết quả rất nhanh.

4.1.3. Nuôi cấy phân lập

Bệnh phẩm được cấy lên môi trường phân lập thích hợp. Những bệnh phẩm có bội nhiễm (như phân, đờm) được cấy lên hai loại môi trường (có và không có chất ức chế chọn lọc). Những bệnh phẩm không bị bội nhiễm (như dịch não tuỷ) chỉ cần cấy lên môi trường không có chất ức chế. Cấy máu chỉ tiến hành khi nghi có nhiễm khuẩn máu.

Sau khi đã phân lập được vi khuẩn thuần nhất sẽ tiến hành định danh bằng cách xác định tính chất hoá sinh và làm phản ứng với kháng huyết thanh mẫu (huyết thanh có kháng thể đã biết tên).



Giản đồ quy trình xét nghiệm tìm *Enterobacteriaceae*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bộ thử nghiệm tính chất sinh học API 20E cho độ tin cậy rất cao trong xác định tên loài vi khuẩn đường ruột từ lâu đã có trên thương trường, vẫn được nhiều phòng xét nghiệm sử dụng.

Khi kết quả cấy máu hoặc nước não tuỷ dương tính có thể kết luận chắc chắn bệnh nhân mắc bệnh. Chỉ riêng cấy phân dương tính, chưa cho phép kết luận chắc chắn mắc bệnh vì người lành có thể mang vi khuẩn có khả năng gây bệnh. Ngoài giá trị chẩn đoán, cấy phân có thể giúp điều tra người lành mang khuẩn và theo dõi sự đào thải tiếp tục vi khuẩn sau khi đã điều trị khỏi bệnh.

4.1.4. Phương pháp sinh học phân tử

Trong những năm gần đây, phương pháp sinh học phân tử đã được áp dụng trong chẩn đoán các bệnh nhiễm trùng nói chung và nhiễm khuẩn đường ruột nói riêng, trong đó kỹ thuật khuếch đại gen PCR (polymerase chain reaction) được sử dụng nhiều hơn cả.

Phương pháp sinh học phân tử giúp định danh vi khuẩn sau khi đã phân lập hoặc xác định sự có mặt chất liệu di truyền của vi khuẩn trong bệnh phẩm, có thể đạt tới độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Chẩn đoán gián tiếp là tìm kháng thể đặc hiệu trong huyết thanh, vì vậy còn được gọi là chẩn đoán huyết thanh học. Phương pháp huyết thanh học không được sử dụng nhiều trong chẩn đoán các bệnh nhiễm khuẩn do *Enterobacteriaceae*. Phản ứng Widal trong chẩn đoán bệnh thương hàn và phản ứng ngưng kết thụ động trong chẩn đoán dịch hạch là những kỹ thuật huyết thanh được sử dụng nhiều hơn cả.

Ngoài giá trị chẩn đoán, phương pháp huyết thanh học còn được sử dụng trong điều tra dịch tễ học, xác định tỷ lệ người mang kháng thể kháng lại một vi khuẩn nào đó.

5. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

5.1. Điều trị

5.1.1. Sử dụng kháng sinh hợp lý

Tuỳ loại vi khuẩn căn nguyên mà chọn kháng sinh thích hợp. Hiện nay nhiều vi khuẩn đường ruột đã có tỷ lệ đề kháng cao với các kháng sinh thông thường. Đối với những vi khuẩn này việc lựa chon kháng sinh nên dựa trên kết quả kháng sinh đồ. Khi chờ kết quả kháng sinh đồ hoặc ở những cơ sở không làm được kháng sinh đồ, thầy thuốc cần cập nhất thông tin giám sát tính kháng thuốc của vi khuẩn để chỉ định kháng sinh điều trị.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.1.2. Điều trị triệu chứng

Tuỳ bệnh nhiễm khuẩn và tình trạng cụ thể của bệnh nhân mà có chỉ định điều trị triệu chứng thích hợp. Trong trường hợp tiêu chảy, quan trọng nhất là bù nước, điện giải bằng đường uống hoặc truyền tĩnh mạch.

5.2. Phòng bệnh

5.2.1. Phương pháp phòng bệnh không đặc hiệu

Trong các loại nhiễm trùng do *Enterobacteriaceae,* nhiễm khuẩn đường tiêu hoá và nhiễm trùng bệnh viện là hai nhóm bệnh chiếm tỷ lệ cao nhất, vì vậy trong phòng bệnh chủ yếu là thực hiện các biện pháp ngăn ngừa hai nhóm bệnh này. Các biện pháp phòng chống nhiễm khuẩn bệnh viện được trình bày cụ thể ở một bài riêng. Dưới đây là các biện chính để phòng nhiễm khuẩn đường tiêu hoá:

– Thực hiện các biện pháp vệ sinh an toàn thực phẩm cho cộng đồng. Kiểm tra các cơ sở giết mổ cung cấp thịt cho thị trường. Đối với cá nhân, thực hiện vệ sinh ăn uống: ăn chín, uống nước đã đun sôi, rửa tay trước khi ăn, diệt ruồi.

– Quản lý, xử lý phân.

– Cung cấp và sử dụng nước sạch. Xử lý tốt nước thải.

– Phát hiện người lành mang vi khuẩn, đặc biệt là những người có liên quan trực tiếp đến ăn uống của tập thể, như cấp dưỡng ở các cơ quan, chế biến thức ăn, phục vụ ở các cửa hàng ăn uống...

– Chẩn đoán sớm và cách ly bệnh nhân kịp thời, xử lý chất thải của bệnh nhân. Đối với súc vật bị bệnh: chữa triệt để hoặc tiêu huỷ.

5.2.2. Phương pháp phòng bệnh đặc hiệu

Đối với các bệnh nhiễm khuẩn do *Enterobacteriaceae*, hiện nay mới chỉ có vắc xin phòng thương hàn. Một số loại vắc xin khác, trong đó có vắc xin phòng bệnh lỵ trực khuẩn và *E. coli* vẫn đang trong giai đoạn thử nghiệm.

ESCHERICHIA COLI

(Migula 1895) Castellani và Chalmers 1919

Chủng mẫu: ATCC 11775

Escherichia coli do Theodore Escherich (1857–1911), một nhà vi khuẩn học người Áo, phát hiện lần đầu tiên năm 1885. Chi *Escherichia* thuộc họ vi khuẩn đường ruột. Trong các loài thuộc chi này, *E. coli* được chọn làm điển hình và có vai trò quan trọng nhất trong y học.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

E. coli là một trong những thành viên chính của hệ vi khuẩn bình thường ở ruột nhưng cũng là căn nguyên của nhiều bệnh nhiễm trùng, trong đó có những bệnh nó là căn nguyên đứng đầu.

E. coli đã được sử dụng làm mô hình nghiên cứu về sinh học phân tử trong lĩnh vực vi sinh học nói riêng và sinh học nói chung. *E. coli* K12 là vi khuẩn được sử dụng làm mô hình nghiên cứu nhiều nhất. Nhiều thành tựu về di truyền học, hoá sinh học đã thu được trên cơ sở nghiên cứu vi khuẩn này. Ngày nay *E. coli* cũng được sử dụng nhiều trong công nghệ sinh học.

Mặc dù *E. coli* là loài vi khuẩn được nghiên cứu sâu nhất, cho đến nay nó vẫn tiếp tục được quan tâm nghiên cứu, với rất nhiều phát hiện mới ở tầm phân tử đặc biệt về cơ chế bệnh sinh của các type gây bệnh (pathotype).

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

E. coli là trực khuẩn Gram âm. Kích thước trung bình từ 2 đến 3 μm x 0,5 μm; trong những điều kiện không thích hợp (ví dụ trong môi trường có kháng sinh) vi khuẩn có thể rất dài như sợi chỉ. Rất ít chủng *E. coli* có vỏ, nhưng hầu hết có lông và có khả năng di động.

1.2. Tính chất nuôi cấy

E. coli phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Một số có thể phát triển trên môi trường tổng hợp rất nghèo chất dinh dưỡng. Hiếu kỵ khí tuỳ ngộ. Có thể phát triển ở nhiệt độ từ 5 – 40°C. Nhiệt độ thích hợp xung quanh 37°C.

Trong điều kiện thích hợp *E. coli* phát triển rất nhanh, thời gian thế hệ chỉ khoảng 20 đến 30 phút. Cấy vào môi trường lỏng (như canh thang) sau 3 đến 4 giờ đã làm đục nhẹ môi trường, sau 24 giờ làm đục đều; sau hai ngày trên mặt môi trường có váng mỏng. Những ngày sau, dưới đáy ống có thể thấy lắng cặn. *E. coli* không mọc trên canh thang selenit.

Trên môi trường thạch thường, sau khoảng 8 đến 10 giờ, dùng kính lúp đã có thể quan sát được khuẩn lạc. Sau 24 giờ khuẩn lạc khoảng 1,5 mm. Hình thái khuẩn lạc điển hình dạng S, nhưng cũng có thể gặp dạng R, hoặc M. Trên môi trường phân lập, tuỳ theo chất chỉ thị màu, *E. coli* có khuẩn lạc màu vàng (như trên thạch lactose) hoặc màu đỏ (như trên thạch MacConkey). Không mọc được trên môi trường SS.

Một số loại *E. coli* có tính chất nuôi cấy riêng có giá trị trong sàng lọc nhanh, như EAEC tạo thành váng đặc trưng khi nuôi cấy trên canh thang Muller–Hinton.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.3. Tính chất hoá sinh

E. coli có khả năng lên men nhiều loại đường và có sinh hơi. Hầu hết *E. coli* đều lên men lactose và sinh hơi, trừ *E. coli* trơ (inactive) (trong đó có EIEC) không hoặc lên men rất chậm. Một số chi khác trong họ vi khuẩn đường ruột cũng có khả năng lên men nhanh lactose (như *Klebsiella, Enterobacter, Serratia và Citrobacter*) được gộp vào một nhóm vi khuẩn có tên chung là *coliform*.

E. coli có khả năng sinh indole. Không sinh H_2S. Không sử dụng được nguồn carbon của citrate trong môi trường Simmons. Có decarboxylase, vì vậy có khả năng khử carboxyl của lysin, ornithin, arginin và acid glutamic. Betagalactosidase dương tính. Thử nghiệm VP (Voges Proskauer) sau 24 h âm tính, sau 48 giờ có thể dương tính.

Bảng 5.2. Tính chất hoá sinh của một số loài thuộc chi *Escherichia*

Thử nghiệm	Các loài						
	E. coli (bình thường)	*E. coli* (inactive)	*E. blattae*	*E. fergusonii*	*E. hermannii*	*E. vulneris*	*E. albertii*
ONPG	+	T	–	T	+	+	–
Indole	+	T	–	+	+	–	–
Đỏ methyl	+	+	+	+	+	+	?
Voges–Proskauer	–	–	–	–	–	–	–
Citrate (Simmons)	–	–	T	T	–	–	–
Lysine decarboxylase	T	T	+	+	–	T	+
Arginine dihydrolase	T	–	–	–	–	T	–
Ornithine decarboxylase	T	T	+	+	+	–	+
Di động	+	–	–	+	+	+	–
D–Glucose acid	+	+	+	+	+	+	+
D–Glucose sinh hơi	+	–	+	+	+	+	+
Lactose	+	T	–	–	T	T	–
Sucrose	T	T	–	–	T	–	–
D–Mannitol	+	+	–	+	+	+	+
Adonitol	–	–	–	+	–	–	–
Cellobiose	–	–	–	+	+	+	–
D–Sorbitol	+	T	–	–	–	–	–
D–Arabitol	–	–	–	–	–	–	–
L–Ramnose	T	T	+	+	+	+	–
Sinh sắc tố vàng	–	–	–	–	+	T	–

ONPG: Ortho–nitrophenyl–beta–D–galactopyranoside; +: > 90% dương tính; T: 10–90% dương tính; –: < 10% dương tính.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.4. Kháng nguyên

Kháng nguyên O: người ta đã biết tới gần 160 yếu tố kháng nguyên O của *E. coli*.

Kháng nguyên K: Khoảng 100 yếu tố kháng nguyên K đã được xác định và được chia thành ba loại: A, B và L, trong đó A dưới dạng vỏ quan sát được bằng kính hiển vi quang học thông thường, B và L dưới dạng màng rất mỏng chỉ có thể quan sát được nhờ kính hiển vi điện tử.

Kháng nguyên H: hơn 50 yếu tố kháng nguyên H đã được xác định.

1.5. Phân loại

Dựa vào cấu trúc kháng nguyên, *E. coli* được chia thành các type huyết thanh. Với sự tổ hợp của các yếu tố kháng nguyên O, K và H sẽ có rất nhiều type huyết thanh khác nhau. Mỗi type huyết thanh được ký hiệu bằng kháng nguyên O và K, ví dụ O86B7 (yếu tố kháng nguyên O số 86, yếu tố kháng nguyên K số 7 loại B).

Dựa vào vị trí gây bệnh các *E. coli* có khả năng gây bệnh ở người được chia thành 2 nhóm: thứ nhất là nhóm gây bệnh đường ruột (IPEC–intestinal pathogenic *E. coli*) hay *E. coli* gây tiêu chảy (DEC–Diarrheagenic *E. coli*), thứ hai là nhóm gây bệnh ngoài đường ruột (ExPEC – extraintestinal pathogenic *E. coli*).

– Các loại *E. coli* gây bệnh đường ruột (IPEC) đã được biết đến gồm:

EPEC (Enteropathogenic *E. coli*): *E. coli* gây bệnh đường ruột

ETEC (Enterotoxigenic *E. coli*): *E. coli* sinh độc tố ruột

EIEC (Enteroinvasive *E. coli*): *E. coli* xâm nhập ruột

EAEC (Enteroaggregative *E. coli*) *E. coli* ngưng tập ruột

DAEC (Diffusely adherent *E. coli*) *E. coli* bám dính phân tán

EHEC (Enterohaemorrhagic *E. coli*): *E. coli* gây xuất huyết ruột

– Hai loại *E. coli* gây bệnh ngoài đường ruột quan trọng nhất là:

MAEC (Meningitidis–associated *E. coli*): *E. coli* gây viêm màng não

UPEC (Uropathogenic *E. coli*): *E. coli* gây nhiễm khuẩn đường tiết niệu

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

E. coli là thành viên thuộc vi hệ bình thường của đường tiêu hoá, chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các vi khuẩn hiếu khí (khoảng 80%). Tuy nhiên, *E. coli* cũng là một vi khuẩn gây bệnh quan trọng, nó đứng đầu trong các vi khuẩn gây tiêu chảy, viêm đường tiết niệu, viêm đường mật; đứng hàng đầu trong các căn nguyên gây nhiễm khuẩn huyết. *E. coli* là căn nguyên thường gặp trong viêm màng não, viêm phổi ở trẻ mới sinh. *E. coli* còn gặp trong nhiễm trùng ngoại khoa, nhiễm trùng trong bỏng. Theo báo cáo của chương trình quốc gia giám sát tính kháng thuốc của các vi khuẩn gây bệnh thường gặp (1988 – 1994) thì *E. coli*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

đứng thứ hai (sau *S. aureus*) về tỷ lệ phân lập được (tính chung tất cả các loại bệnh phẩm) ở nước ta.

Những type huyết thanh có khả năng gây bệnh thường gặp trên lâm sàng là: O111B4, O86B7, O126B16, O55B5, O119B4, O127B8, 026B6, O25B15, O128B12.

Cơ chế gây bệnh của *E. coli* khác nhau tuỳ loại.

ETEC – *E. coli* sinh độc tố ruột

Hai yếu tố độc lực quyết định khả năng gây bệnh của ETEC là: khả năng bám dính vào niêm mạc ruột và sản xuất độc tố ruột. Khả năng bám và cư trú trên tế bào biểu mô ruột non là điều kiện đầu tiên để có thể gây bệnh. Khả năng này có vai trò của kháng nguyên CFA (colonisation factor antigen) được mã hoá bởi gen trên plasmid.

Quyết định khả năng gây tiêu chảy của ETEC là độc tố ruột. Có hai loại độc tố ruột: loại không chịu nhiệt LT (heat labile toxin) và loại chịu nhiệt ST (heat stable toxin). Một chủng *E. coli* có thể sinh một trong hai hoặc cả hai độc tố đó.

Độc tố ruột LT là ngoại độc tố, gồm hai loại LT I được mã hoá bởi gen trên plasmid và LT II được mã hoá bởi gen trên nhiễm sắc thể. LT I và LT II có cấu trúc và cơ chế tác động giống nhau và giống với độc tố ruột của vi khuẩn tả. Cấu tạo của LT gồm 1 tiểu phần A (active) với phân tử lượng 25.000 Dalton và năm tiểu phần B (binding) với phân tử lượng 11.500 Dalton. LT bám vào thụ thể GM1 của tế bào biểu mô ruột non nhờ tiểu phần B. Tiểu phần A được đẩy vào tế bào biểu mô hoạt hoá enzym adenylate cyclase làm tăng AMP vòng (cAMP–cyclic adenosine monophosphate), dẫn đến làm giảm hấp thu Na^+, tăng tiết ion Cl^-. Hậu quả của quá trình này là áp lực thẩm thấu trong lòng ruột tăng, nước được kéo từ tế bào ra lòng ruột gây tiêu chảy.

Độc tố chịu nhiệt ST có trọng lượng phân tử xấp xỉ 5000 Dalton. ST tác động lên ruột bằng sự hoạt hoá enzym guanylate cyclase làm tăng GMP vòng (cGMP–cyclic guanosine monophosphate). GMP vòng gây rối loạn chuyển hoá nước và điện giải giống như AMP vòng. ST còn làm mất hoặc làm teo một phần nhung mao của tế bào biểu mô ruột. Người ta đã nói đến ST–I và ST–II. ST–I gồm ST–Ia và ST–Ib. Hầu hết các chủng sản xuất ra ST–Ib phân lập được từ người, còn ST–Ia thì hầu hết từ động vật hoặc các thức ăn có nguồn gốc động vật. Chưa gặp các chủng sinh ST–II gây tiêu chảy ở người.

Tiêu chảy do ETEC thường khởi phát đột ngột, phân toàn nước không có nhày, máu.

EIEC – *E. coli* xâm nhập ruột

EIEC gây bệnh chủ yếu do khả năng xâm nhập vào niêm mạc đại tràng. Khả năng xâm nhập được mã hoá bởi gen trên plasmid 140 MDa. Các gen trên plasmid này mã hoá cho các kháng nguyên xâm nhập (IpaA đến IpaD, Ipa – Invasion plasmid antigen). EIEC cho kết quả (+) tính trong thử nghiệm khả năng gây viêm kết giác mạc chuột lang (thử nghiệm Sereny). EIEC còn có khả

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

năng sản xuất độc tố ruột giống một số *Shigela*. Gen mã hoá cho độc tố này có tên là *sen* (*Shigella* enterotoxin). Cơ chế gây bệnh giống vi khuẩn lỵ. Vì vậy trong y văn hiện nay viết căn nguyên gây bệnh lỵ trực khuẩn (bacillary dysentery) gồm *Shigella* và EIEC. EIEC xâm nhập vào trong tế bào biểu mô đại tràng, làm tiêu các túi thực bào và nhân lên trong bào tương, phá huỷ tế bào rồi xâm lấn sang các tế bào khác. Tổn thương chính là loét hoại tử niêm mạc đại tràng. Triệu chứng lâm sàng điển hình là đi ngoài phân ít, có lẫn nhày máu.

EAEC – *E. coli* bám dính kết tập ruột

EAEC thường gây tiêu chảy kéo dài hoặc mạn tính, nhất là ở trẻ em. Nó cũng là một trong những căn nguyên quan trọng của nhiễm khuẩn đường tiêu hoá ở khách du lịch. Cơ chế bệnh sinh trong tiêu chảy do EAEC vẫn chưa được sáng tỏ hoàn toàn. Những yếu tố độc lực chính của EAEC được nói đến gồm các diềm bám dính kết tập AAF (aggregative adhesion fimbriae), yếu tố điều hoà bám dính kết tập aggR, protein Pet và độc tố EAST–1 (enteroaggregative heat-stable toxin–1). Diềm bám dính kết tập được cho là yếu tố quyết định độc lực. Ba loại AAF đã được nói đến là AAF/I, AAF/II và AAF/III, trong đó loại I và II có cấu trúc bó, loại III có dạng sợi riêng biệt. Các AAF tạo nên kiểu bám dính hình chồng gạch trên tế bào Hep–2. Yếu tố aggR có vai trò điều hoà sự biểu hiện của các AAF. Protein Pet được tiết qua màng ngoài vi khuẩn, gây tích tụ dịch và gây độc cho biểu mô tiêu hoá. EAST–1 có khả năng phá huỷ tế bào biểu mô. Ngoài các yếu tố độc lực nêu trên EAEC còn tiết ra một protein có khả năng làm tan máu và làm mất thăng bằng vận chuyển ion qua màng.

Các yếu tố độc lực nêu trên của EAEC phần lớn được mã hoá bởi các gen nằm trên plasmid có phân tử lượng 60 MDa. Một số yếu tố độc lực được mã hoá bởi các gen trên nhiễm sắc thể đang được nghiên cứu.

Khi nuôi cấy trên canh thang Muller–Hinton, EAEC tạo thành váng đặc trưng. Tính chất này được dùng để sàng lọc nhanh các chủng *E. coli* thuộc loại EAEC.

Bảng 5.3. Tóm tắt các đặc điểm liên quan đến khả năng gây bệnh của các *E. coli* gây bệnh đường ruột

Loại *E. coli*	Gen độc lực hoặc yếu tố độc lực	Cơ chế gây bệnh	Đặc điểm lâm sàng
EPEC	Plasmid 50–70 MDa (EAF): mã hoá BFP (bundle–forming pilus), Per (plasmid–encoded regulator) và Ler (LEE–encoded regulator. PAI nhiễm sắc thể (LEE)	Bám dính tại chỗ nhờ BFP	Các tổn thương A/E
	TTSS gồm: intimin (eaeA), các protein tiết; Tir, EspA, EspB, EspD, EspF, EspG và MAP (mitochondria–associated protein)	Tổn thương mô A/E	Tiêu chảy cấp
	EAST–1		
	CDT (Cytolethal distending toxin)		

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Loại *E. coli*	Gen độc lực hoặc yếu tố độc lực	Cơ chế gây bệnh	Đặc điểm lâm sàng
ETEC	Các CFA mã hoá bởi plasmid: CFA–I (fimbriae cứng), CFA–III (tạo bó), CFA–II và CFA–IV (fimbriae mềm) và pili dài liên quan với type IV Độc tố chịu nhiệt LT I và LT II (mã hoá bởi plasmid) Độc tố vững bền với nhiệt STa và STb (mã hoá bởi plasmid và transposon)	Bám vào niêm mạc ruột non (CFA I–IV) và sản xuất các độc tố ruột LTI, LTII, STa, STb Hoạt hoá adenylate cyclase – Tăng cAMP – Giảm hấp thu Na^+/ tăng tiết Cl^- – Tiêu chảy Hoạt hoá guanylate cyclase – Tăng cGMP – tiết chloride và/hoặc giảm hấp thu NaCl – Tiêu chảy	Tiêu chảy cấp, phân thường toàn nước không có nhày máu
EIEC	Các gen trên plasmid 140 MDa mã hoá các kháng nguyên xâm nhập (invasion plasmid antigen) IPaA – IpaD	Vi khuẩn bám và xâm nhập vào biểu mô đại tràng, nhân lên gây viêm loét hoại tử niêm mạc đại tràng	Hội chứng lỵ trực khuẩn
EAEC	Diêm bám dính kết tập AAF (aggregative adhesion fimbriae) Yếu tố điều hoà bám dính kết tập aggR Protein Pet. Độc tố EAST–1 (enteroaggregative heat–stable toxin–1 Protein làm tan máu và làm mất thăng bằng vận chuyển ion qua màng	AAF tạo nên kiểu bám dính hình chồng gạch. aggR điều hoà sự biểu hiện của AAF Pet gây tích tụ dịch và gây độc cho biểu mô tiêu hoá EAST–1 phá huỷ tế bào biểu mô. Protein làm tan máu và làm mất thăng bằng vận chuyển ion qua màng	Tiêu chảy kéo dài
EHEC/ VTEC	Plasmid 60 MDa mã hoá haemolysin, LCT, EspP PAI nhiễm sắc thể Độc tố Shiga (Stx1, Stx2 và Stx2v) mã hoá bởi các gen trên nhiễm sắc thể	Độc tố Shiga: – huỷ hoại các vi nhung mao hấp thu của tế bào biểu mô ruột, – ức chế quá trình tổng hợp protein của tế bào biểu mô đại tràng, dẫn đến làm chết tế bào, – gây hội chứng HUS	Tiêu chảy ra máu (do xuất huyết đại tràng)
DAEC	Các yếu tố bám dính Afa/Dr (AIDA) EAST–1 Các gen *set* (enterotoxin) Có thể có TTSS với *esc*	Afa/Dr gây bám dính phân tán EAST–1 phá huỷ tế bào biểu mô	Tiêu chảy phân thường không có máu

EHEC – *E. coli* gây xuất huyết ruột

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

EHEC còn được gọi là *E. coli* sinh độc tố Shiga. Yếu tố độc lực chính của EHEC là độc tố Stx (Shiga toxin) hay độc tố gây độc đối với tế bào Vero VT (verocytotoxin) vì vậy loại này thuộc nhóm có tên là VTEC – Verocytotoxin *E. coli*). Hiện nay, có ba loại Stx do EHEC sinh ra đã được xác định là Stx1, Stx2 và Stx2v. Các độc tố này được mã hoá bởi các gen của prophage tích hợp trên nhiễm sắc thể.

Độc tố Shiga huỷ hoại chọn lọc các vi nhung mao hấp thu của tế bào biểu mô ruột. Nó cũng xâm nhập vào trong tế bào biểu mô đại tràng, ức chế quá trình tổng hợp protein dẫn đến làm chết tế bào. Hậu quả là viêm đại tràng xuất huyết, gây tiêu chảy phân như máu. Những trường hợp hoại tử nặng có thể gây thủng ruột.

Stx còn có thể gây hội chứng tăng urê huyết tan máu (HUS – haemorrhagic uremic syndrome). Stx vào máu đến thận gây tổn thương tế bào biểu mô tiểu cầu thận, làm hẹp và tắc mao mạch tiểu cầu thận. Hậu quả của quá trình này là mức lọc của thận suy giảm, bệnh nhân bị suy thận cấp.

EPEC – *E. coli* gây bệnh đường ruột

EPEC được bắt đầu nghiên cứu rất sớm, từ những năm 1940. EPEC bám dính vào niêm mạc ruột gây ra tổn thương đặc trưng là sự phá huỷ vi nhung mao ở riềm bàn chải của niêm mạc ruột. Loại vi khuẩn này có vai trò rất quan trọng trong viêm dạ dày ruột gây tiêu chảy ở trẻ em.

DAEC – *E. coli* bám dính phân tán

DAEC là type gây bệnh được mô tả tương đối gần đây. Nó được xác định là một type gây bệnh riêng vì không có các gen độc lực đặc trưng của các type khác, đã được mô tả trước.

Khác với các *E. coli* gây bệnh đường ruột (IPEC), các *E. coli* gây bệnh ngoài đường ruột (ExPEC) là những vi khuẩn gây bệnh cơ hội khi "lạc chỗ". Chúng có thể là thành viên của hệ vi khuẩn bình thường ở ruột nhưng khi vào máu, vào dịch não tuỷ, vào đường tiết niệu thì trở nên gây bệnh, nhất là ở những người có cơ chế đề kháng bị suy giảm. Tuy nhiên đã xác định được những gen độc lực của những ExPEC thường gặp trong các nhiễm trùng ngoài đường ruột.

MAEC có kháng nguyên vỏ có liên quan về mặt hoá học và miễn dịch với polysaccharide nhóm B của *Neisseria meningitidis*. Cho đến nay, hiểu biết về sự nhạy cảm của trẻ sơ sinh với loại *E. coli* này chưa đầy đủ. Nhiều tác giả cho rằng có sự liên quan chủ yếu đến cơ địa của trẻ. Theo kết quả của nhiều nghiên cứu, tới 80% các trường hợp viêm màng não ở trẻ sơ sinh do *E. coli*.

UPEC là nguyên nhân chủ yếu của nhiễm trùng đường tiết niệu. Yếu tố độc lực quan trọng của UPEC là P–pili. Nhờ pili này, *E. coli* có thể gắn đặc hiệu vào kháng nguyên P, là một trong các kháng nguyên nhóm máu. Ngoài ra nó còn có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

một số yếu tố độc lực khác cũng tham gia vào cơ chế gây bệnh. Các nhóm huyết thanh hay gặp là O1, O2, O4, O6, O7, và O75. Các chủng có kháng nguyên K1, K2, K3, K5, K12, K13 là hay gặp nhất. Những vi khuẩn này thường có các gen mã hoá cho các yếu tố độc lực như yếu tố bám dính, vỏ, các độc tố.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm khác nhau tuỳ bệnh: là phân với nhiễm khuẩn đường tiêu hóa, nước tiểu với nhiễm khuẩn đường tiết niệu, máu nếu là nhiễm khuẩn máu...

Quy trình chẩn đoán trực tiếp *E. coli* cơ bản giống với quy trình chẩn đoán các vi khuẩn đường ruột.

Có thể làm tiêu bản soi trực tiếp đối với một số loại bệnh phẩm như cặn ly tâm nước tiểu hoặc nước não tuỷ.

Đối với viêm màng não mủ có thể phát hiện kháng nguyên đặc hiệu của vi khuẩn bằng phản ứng ngưng kết latex, dễ làm, cho kết quả rất nhanh và độ tin cậy rất cao. Nguyên lý của phản ứng này như sau: các hạt latex có gắn kháng thể kháng *E. coli* gây bệnh được trộn với dịch não tuỷ, nếu trong bệnh phẩm có kháng nguyên đặc hiệu của *E. coli* thì phản ứng sẽ dương tính. Đó là phản ứng ngưng kết thụ động.

Phương pháp chẩn đoán chủ yếu nhất là nuôi cấy phân lập. Bệnh phẩm phân được cấy trên môi trường phân lập có chất ức chế chọn lọc như DCL, Endo. Nước tiểu giữa dòng được tiến hành cấy đếm trên môi trường đặc, trước đây thường sử dụng thạch thường, hiện nay có môi trường uriselect vừa có giá trị cấy đếm, vừa có khả năng định danh. Tiến hành cấy máu khi nghi có nhiễm khuẩn máu.

Sau khi đã phân lập được vi khuẩn thuần nhất thì xác định tính chất sinh vật hoá học và định tên bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các kháng huyết thanh mẫu.

Để xác định các *E. coli* sinh độc tố người ta có thể sử dụng nhiều phương pháp khác nhau như phương pháp quai ruột, phương pháp thử nghiệm trên tế bào nuôi, phương pháp đồng nhưng kết, ELISA...

Kỹ thuật khuếch đại gen PCR cũng đã được áp dụng trong chẩn đoán *E. coli*. Ở nước ta hiện nay chủ yếu mới sử dụng PCR trong định danh sau khi vi khuẩn đã được phân lập thuần nhất. Các kỹ thuật PCR xác định *E. coli* trực tiếp từ bệnh phẩm đang được nghiên cứu phát triển.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Trên thực tế phương pháp huyết thanh học không được sử dụng để chẩn đoán các nhiễm khuẩn do *E. coli*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

4.1. Điều trị

E. coli thuộc vào các vi khuẩn có tỷ lệ kháng thuốc cao, nhất là các chủng phân lập được từ nước tiểu, vì vậy cần phải làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp.

Ngoài việc sử dụng kháng sinh, một số việc khác rất có giá trị trong điều trị như bồi phụ nước, điện giải trong trường hợp ỉa chảy (việc này nhiều khi có vai trò quyết định để cứu sống bệnh nhân), giải quyết các cản trở trên đường tiết niệu, rút ống thông sớm nếu có thể được.

4.2. Phòng bệnh

Hiện nay chưa có phương pháp phòng bệnh đặc hiệu. Để đề phòng nhiễm khuẩn đường tiêu hoá do *E. coli*, thực hiện các biện pháp phòng bệnh chung không đặc hiệu giống như đối với các vi khuẩn đường ruột khác.

Thực hiện các biện pháp ngăn ngừa nhiễm trùng bệnh viện vì *E. coli* là một trong các vi khuẩn gây bệnh cơ hội quan trọng.

Để phòng nhiễm khuẩn đường tiết niệu do *E. coli*: thực hiện vệ sinh vùng hậu môn và bộ phận sinh dục ngoài, thực hiện nghiêm túc nguyên tắc vô trùng khi phải tiến hành thăm dò hoặc đặt thông đường tiết niệu. Điều trị loại trừ các yếu tố nguy cơ khác.

SALMONELLA

Lignieres 1900

Salmolella là một trong những chi quan trọng nhất thuộc họ vi khuẩn đường ruột. Đến nay hơn 2500 type huyết thanh *Salmonella* đã được xác định.

Những *Salmonella* gây bệnh ở người thường được xếp thành hai loại: (i) các *Salmonella* gây bệnh thương hàn và (ii) các *Salmonella* gây bệnh khác (quan trọng nhất là gây nhiễm trùng nhiễm độc thức ăn).

S. typhi vẫn là vi khuẩn được quan tâm nhiều nhất, không những do vai trò gây bệnh mà còn do nó gắn liền với những mốc lịch sử quan trọng trong quá trình nghiên cứu về *Salmonella* nói chung và bệnh thương hàn nói riêng.

Bệnh thương hàn đã được biết đến từ rất lâu. Y văn thế giới ghi nhận rằng Bretonneau là người đầu tiên mô tả bệnh này vào năm 1820.

Karl Josept Eberth (1835–1926), một nhà giải phẫu và vi khuẩn học người Đức năm 1880 đã chỉ ra vi khuẩn là căn nguyên của bệnh thương hàn.

Năm 1880, Georg Gaffky (1850–1918), cũng là nhà vi khuẩn học người Đức, đã mô tả hình ảnh vi khuẩn quan sát được trên tiêu bản làm từ hạch của bệnh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhân bị chết vì bệnh thương hàn và ông cũng là người đầu tiên phân lập được *S. typhi* vào năm 1884.

Năm 1896, Widal chứng minh rằng huyết thanh của bệnh nhân thương hàn có khả năng làm ngưng kết *S. typhi*. Đây là cơ sở cho việc áp dụng phương pháp chẩn đoán huyết thanh học. Để ghi nhớ công lao của Widal, các nhà vi sinh đã lấy tên ông đặt cho phản ứng ngưng kết phát hiện kháng thể chống vi khuẩn thương hàn trong huyết thanh – phản ứng Widal.

Năm 1917, Felix đã mô tả kháng nguyên thân và kháng nguyên lông của *Salmonella*, đặt cơ sở cho phương pháp phân tích kháng nguyên của vi khuẩn.

Năm 1935, Reilly đã tiến hành nghiên cứu về cơ chế bệnh sinh của bệnh thương hàn. Ông chứng minh rằng phản ứng của hệ thần kinh thực vật có vai trò trong việc gây ra những tổn thương ở ruột như gây loét mảng peyer.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC

1.1. Hình thái

Salmonella là trực khuẩn Gram âm, kích thước trung bình 2–3 x 0,5–1,0 µm, có nhiều lông ở xung quanh thân, trừ *S. gallinarum* và *S. pullorum*).

1.2. Tính chất nuôi cấy

Hiếu kỵ khí tuỳ ngộ. Phát triển được trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Trên môi trường thích hợp sau 24 giờ khuẩn lạc có kích thước trung bình 2–4 mm. Có thể mọc trên một số môi trường có chất ức chế chọn lọc như DCA (deoxycholate citrate agar) và XLD (xylose lysine deoxycholate). Mức độ ức chế các vi khuẩn khác của XLD thấp hơn DCA nên thường được chọn khi muốn phân lập cả *Shigella*. Trong môi trường XLD có lysine và ba loại đường: xylose, lactose và sucrose. Trên môi trường này khuẩn lạc *Salmonella* thường màu đỏ (ngoại trừ loại không lên men xylose hoặc không khử carboxyl của lysine), ở giữa có màu đen (ngoại trừ loại không sinh H_2S).

1.3. Tính chất hoá sinh

Salmonella không lên men lactose, lên men đường glucose thường sinh hơi. Thường không lên men sucrose, salicin và inositol. Sử dụng được citrate ở môi trường Simmons. Catalase (+), oxidase (–). Lysine decarboxylase (+). Hầu hết sinh H_2S. Không sinh các men: urease, lipase và deoxyribonuclease. ONPG (–), RM (+), VP (–).

Tuy nhiên, không phải bất kỳ *Salmonella* nào cũng có đầy đủ các tính chất trên. Những ngoại lệ đã được xác định là: *S. typhi* lên men đường glucose không sinh hơi và citrate Simmons (–); *S. paratyphi A* cho kết quả thử citrate Simmons

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(–), lysine decarboxylase (–). Hầu hết các chủng *S. paratyphi A* và một số chủng *S. choleraesuis* không sinh H_2S; *S. arizona* lên men lactose (tuy có chậm) và ONPG (–). Khoảng 5% các chủng *Salmonella* có khả năng sinh bacteriocin chống lại *E. coli, Shigella* và ngay cả một số chủng *Salmonella* khác.

1.4. Kháng nguyên

1.4.1. Kháng nguyên O

Kauffmann và White là những người đã nghiên cứu một cách hệ thống cấu trúc kháng nguyên O của *Salmonella*. Các tác giả đã chỉ ra gần 70 yếu tố kháng nguyên O khác nhau. Mỗi nhóm mang một yếu tố kháng nguyên đặc hiệu nhóm. Mỗi type huyết thanh mang một số yếu tố khác nhau.

1.4.2. Kháng nguyên H

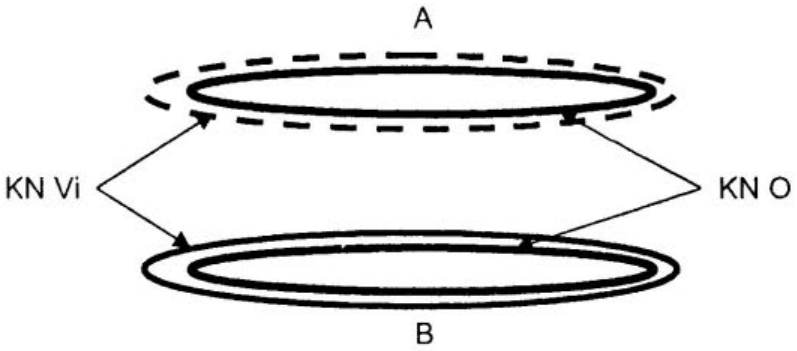
Hầu hết *Salmonella* đều có kháng nguyên H trừ *S. gallinarum* và *S. pullorum*. Kháng nguyên H của *Salmonella* có thể có tính đặc hiệu đơn hoặc kép. Những *Salmonella* có kháng nguyên H mang tính đặc hiệu đơn khi gặp kháng huyết thanh tương ứng sẽ mất khả năng di động. Thí dụ: *S. typhi* chỉ có kháng nguyên H gọi là *d*; *S. paratyphi* A chỉ có một kháng nguyên H gọi là *a*. Một số *Salmonella* có kháng nguyên H mang tính đặc hiệu kép, khi nuôi cấy trong môi trường có kháng huyết thanh tương ứng với kháng nguyên H này thì nó vẫn di động và biểu hiện tính đặc hiệu của kháng nguyên H kia. Thí dụ: *S. paratyphi* B khi mới phân lập thì chỉ bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng *b*. Nếu chúng được nuôi cấy vào thạch mềm có huyết thanh kháng *b* thì chúng vẫn di động, lúc này chúng không bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng *b* nữa, nhưng lại bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng *1, 2*. Nếu ta lại cấy vi khuẩn vào môi có huyết thanh kháng *1, 2* thì vi khuẩn vẫn di động và ta lại có vi khuẩn bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng *b*. Ta nói kháng nguyên H của *S. paratyphi* B có 2 pha: pha *b* và pha *1, 2*. Khi nuôi cấy *S. paratyphi* B thành một lớp thì quần thể vi khuẩn thường có cả hai loại: kháng nguyên H mang tính đặc hiệu *b* và kháng nguyên H mang tính đặc hiệu *1, 2*. Huyền dịch vi khuẩn này bị ngưng kết bởi cả huyết thanh kháng *b* và huyết thanh kháng *1, 2*. Chúng chỉ mất khả năng di động khi nuôi cấy trong môi trường có huyết thanh kháng *b* và kháng *1, 2*.

1.4.3. Kháng nguyên K

Kháng nguyên K chỉ có ở *S. typhi* và *S. paratyphi* C và được gọi là kháng nguyên Vi (Virulence). Kháng nguyên Vi có bản chất là polysaccharide của *N*–acetylglucosamine uronic acid, dưới dạng một lớp rất mỏng không quan sát được bằng kính hiển vi quang học thông thường. Tuy vậy, kháng nguyên Vi có thể bao phủ kín kháng nguyên O *(Hình 5.3.B)*, trong trường hợp này vi khuẩn sẽ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

không ngưng kết mặc dù trộn với kháng huyết thanh O đặc hiệu. Muốn cho hiện tượng ngưng kết O xuất hiện, cần phải đun huyền dịch vi khuẩn 100°C trong 20 phút để tách kháng nguyên K ra khỏi tế bào.



Hình 5.3. Kháng nguyên Vi bao phủ kháng nguyên O không hoàn toàn (A) và bao phủ hoàn toàn (B)

Công thức kháng nguyên của một *Salmonella* được viết tuần tự: đầu tiên là các yếu tố kháng nguyên O và kháng nguyên Vi (nếu có), tiếp đến là kháng nguyên H pha 1, cuối cùng là kháng nguyên H pha 2. Ba nhóm đó cách nhau bằng dấu hai chấm, các yếu tố trong một nhóm cách nhau bởi dấu phảy. Ví dụ: công thức kháng nguyên của *S. typhi* là 9,12,[Vi]:d:– ; của *S. paratyphi A* là 1,2,12:a:[1,5]. Yếu tố gạch dưới được mã hoá bởi gen của prophage (như O1 của *S. paratyphi A*), yếu tố trong ngoặc vuông [ ] có thể có hoặc không (như kháng nguyên Vi của *S. typhi,* yếu tố 1 và 2 thuộc kháng nguyên H pha 2 của *S. paratyphi A*), dấu (–) là không có (như kháng nguyên H của *S. typhi* không có pha 2).

1.5. Phân loại

Lúc đầu, các loài *Salmonella* được đặt tên theo hội chứng lâm sàng mà chúng gây ra như *S. typhi* và các *S. paratyphi* A, B, C (typhoid = bệnh thương hàn, para = "phó"), hoặc theo vật chủ như *S. typhimurium* gây bệnh ở chuột (murine = chuột). Về sau, người ta thấy rằng, một loài *Salmonella* có thể gây ra một số hội chứng và có thể phân lập được ở nhiều loài động vật khác nhau. Vì những lý do đó các loài mới phát hiện được đặt theo tên địa phương mà ở đó lần đầu tiên nó được phân lập như *S. teheran, S. congo, S. london.*

Salmonella đã từng được chia thành các chi phụ (subgenus) và nhiều loài (species). Mỗi loài lại có thể được chia thành các loài phụ (subspecies). Ví dụ loài *Salmonella enterica* được chia thành sáu loài phụ gồm *S. enterica, S. salamae, S. arizonae, S. diarizonae, S. houtenae* và *S. indica.* Với cách phân loại này, *S. enteritidis* (tên vẫn được gọi tắt) có tên đầy đủ là *S. enterica* loài phụ *enterica* type huyết thanh enteritidis PT4 (phage type). Để giảm bớt sự phức tạp, trong các phần còn lại của mục *Salmonella* chúng tôi gọi một vi khuẩn được viết bằng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hai chữ bắt đầu bằng chữ *Salmonella* là một loại *Salmonella* – nó có thể là loài, loài phụ hay một type huyết thanh.

Bằng các kỹ thuật sinh học phân tử hiện đại, những nghiên cứu sâu về cấu trúc ADN có thể cho phép xếp tất cả các *Salmonella* vào một loài duy nhất! Mặc dù ý kiến này đã từng được nêu nhưng nó không được chấp nhận vì cách phân loại truyền thống đã được sử dụng quá quen và vẫn có ý nghĩa thực tiễn của nó.

Dựa vào cấu trúc kháng nguyên, chủ yếu kháng nguyên O và kháng nguyên H, *Salmonella* được chia thành các nhóm và các type huyết thanh (serovar). Đến nay, đã xác định được trên 2500 type huyết thanh *Salmonella*.

Salmonella được xếp thành các nhóm từ A đến Z, ngoài hơn hai mươi nhóm đó còn có các *Salmonella* từ O51 đến O67. Có nhóm chỉ gồm các *Salmonella* mang một thành phần kháng nguyên O như nhóm A chung O2 – còn gọi là nhóm O2 (A), nhóm B chung O4 – nhóm O4 (B). Có nhóm gồm các *Salmonella* mang trên một thành phần kháng nguyên O, được chia thành các nhóm nhỏ như nhóm C chia thành C1–C4: C1 chung O6 và O7, C2 chung O6 và O8, C3 chung O8, C4 chung O6, O7 và O14; nhóm D chia thành D1–D3: D1 chung O9 và O12, D2 chung O9 và O46, D3 chung O1, 9, 12, (46) và 27;...

Bảng 5.4. Công thức kháng nguyên của một số loại *Salmonella*

Loại *Salmonella*	Kháng nguyên O		Kháng nguyên H	
	Nhóm	Yếu tố	Pha 1	Pha 2
S. paratyphi A	A	1, 2, 12	a	[1, 5]
S. paratyphi B	B	1, 4, [5], 12	b	1, 2
S. typhimurium	B	1, 4, [5], 12	i	1, 2
S. paratyphi C	C1	6, 7, [Vi]	c	1, 5
S. choleraesuis	C1	6, 7,	[c]	1, 5
S. typhi	D1	9, 12, [Vi]	d	–
S. enteritidis	D1	1, 9, 12	g, m	[1, 7]

1.6. Miễn dịch

Sau khi mắc bệnh thương hàn, trong huyết thanh bệnh nhân có các kháng thể chống lại kháng nguyên O, H (và cả kháng nguyên Vi đối với những trường hợp do *S. typhi* và *S. paratyphi* C). Tuy nhiên, ngày nay người ta thấy vai trò bảo vệ của các kháng thể trong huyết thanh không đầy đủ. Kháng thể lớp IgA trong dịch tiết tại chỗ có vai trò rất quan trọng trong cơ chế bảo vệ.

Người ta cũng có những bằng chứng về miễn dịch qua trung gian tế bào chống *Salmonella*. Tế bào lympho ở tổ chức bạch huyết tại ruột có khả năng đề kháng tự nhiên đối với *Salmonella*. Cơ chế đề kháng kiểu ADCC (Antibody Dependent Cell–mediated Cytotoxicity) cũng đã được nói đến.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Các loại *Salmonella* gây bệnh thường gặp

Tuỳ theo từng loại, *Salmonella* có thể chỉ gây bệnh cho người (như *S. typhi, S. paratyphi* A, *S. sendai*...), chỉ gây bệnh cho động vật (như *S. abortusovis, S. typhisuis, S. gallinarum*...), nhưng cũng có thể vừa gây bệnh cho người vừa gây bệnh cho động vật (như *S. enteritidis, S. typhimurium, S. choleraesuis*...). Theo công bố của WHO (1998), hằng năm trên thế giới có khoảng 17 triệu người mắc bệnh thương hàn với khoảng 600.000 người chết. Nhiễm trùng nhiễm độc thức ăn do *Salmonella* là bệnh thường gặp, ngay cả ở các nước phát triển – ở Anh tới thập niên cuối của thế kỷ vừa qua, hằng năm vẫn có hàng vạn người mắc bệnh.

Những *Salmonella* có khả năng gây bệnh cho người được quan tâm nhiều hơn cả là:

– *S. typhi*: Chỉ gây bệnh cho người. Là vi khuẩn quan trọng nhất trong các căn nguyên gây bệnh thương hàn.

– *S. paratyphi* A: Chỉ gây bệnh cho người. Là một trong các căn nguyên gây bệnh thương hàn. Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn này ở nước ta đứng sau *S. typhi*.

– *S. paratyphi* B: Chủ yếu gây bệnh ở người, là một trong các căn nguyên gây bệnh thương hàn. Có thể gây bệnh cho động vật. Tại các nước châu Âu tỷ lệ phân lập được vi khuẩn này cao hơn ở nước ta.

– *S. paratyphi* C: Vừa có khả năng gây bệnh thương hàn vừa có khả năng gây viêm dạ dày–ruột và nhiễm khuẩn huyết. Thường gặp ở các nước đông nam châu Á.

– *S. enteritidis* và *S. typhimurium*: vừa có khả năng gây bệnh cho người vừa có khả năng gây bệnh cho động vật. Có thể gặp ở các nước khác nhau trên thế giới. Chúng là nguyên nhân chủ yếu của bệnh nhiễm trùng nhiễm độc thức ăn do *Salmonella*.

– *S. choleraesuis*: Là căn nguyên thường gặp trong các nhiễm khuẩn huyết do *Salmonella* ở nước ta.

2.2. Cơ chế gây bệnh

2.2.1. Cơ chế gây bệnh thương hàn

Bệnh thương hàn do *S. typhi* và các *S. paratyphi* A, B, C gây ra. Các yếu tố độc lực chính của vi khuẩn thương hàn gồm khả năng bám và xâm nhập vào tế bào chủ, khả năng xâm nhập và nhân lên trong đại thực bào và nội độc tố. LPS không chỉ mang nội độc tố của vi khuẩn, nó còn được xác định là có thể giúp vi khuẩn chống lại tác động do sự hoạt hoá bổ thể. Kháng nguyên Vi có ở *S. typhi* và *S. paratyphi C* là yếu tố độc lực quan trọng. Những chủng vi khuẩn thương hàn không có kháng nguyên Vi thì số lượng cần thiết để gây bệnh cao hơn nhiều

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

so với những chủng có kháng nguyên này. Kháng thể chống kháng nguyên Vi có hiệu lực bảo vệ cơ thể. Ở *S. typhi*, kháng nguyên Vi được mã hoá bởi các gen nằm trên SPI–7 (*Salmonella* pathogenicity island–7).

Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hoá do thức ăn, nước uống bị nhiễm bẩn. Số lượng vi khuẩn đủ để có thể gây bệnh khoảng 10^5 đến 10^7.

Trước hết vi khuẩn phải vượt qua rào cản dạ dày. Mặc dù vi khuẩn thương hàn có khả năng đề kháng với acid của dạ dày (và pH acid của phagosom) nhờ có gen *art* (acid response tolerance), nhưng ở những người dịch dạ dày thiểu toan thì số lượng vi khuẩn cần thiết để gây nhiễm trùng giảm đi rõ rệt. Ở những người bình thường, vi khuẩn thương hàn không thể tồn tại lâu ở dạ dày, nuôi cấy dịch dạ dày thường âm tính sau 30 phút.

Vi khuẩn xuống ruột non rồi nhân lên ở đó, nhưng trong tuần đầu chỉ có ít vi khuẩn được đào thải theo phân và cấy phân dương tính trong 5 ngày đầu không có nghĩa là bệnh thương hàn sẽ xảy ra.

Đại thực bào có một vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh. Từ ruột non vi khuẩn thương hàn vào hạch mạc treo ruột nhờ các tế bào M, một loại đại thực bào của mảng Peyer. Sau đó vi khuẩn theo đường bạch huyết và máu gây nhiễm trùng toàn thân. Với tác động của một lượng nhỏ nội độc tố thương hàn, các tế bào võng nội mô tăng sinh, biến đổi để làm chức năng thực bào, "tiếp nhận" vi khuẩn thương hàn. Vi khuẩn nhân lên trong các tế bào của hệ thống võng nội mô. Đây là khoảng thời gian tương ứng với thời kỳ ủ bệnh.

Sau khoảng 1 tuần, nhiễm khuẩn huyết thứ phát xuất hiện. Vi khuẩn qua gan theo đường mật xuống xâm nhập lại vào ruột non, tiếp tục nhân lên ở các mảng Peyer. Từ máu, vi khuẩn đến lách và các cơ quan khác. Tới thận, một số vi khuẩn được đào thải ra ngoài theo nước tiểu.

Tại ruột vi khuẩn chết và giải phóng nội độc tố. Nội độc tố kích thích thần kinh giao cảm ở ruột gây ra hoại tử chảy máu và có thể gây thủng ruột, vị trí tổn thương thường ở các mảng peyer. Đây là biến chứng hay gặp ở bệnh nhân ăn sớm khi chưa bình phục, nhất là các thức ăn cứng.

Nội độc tố theo máu lên kích thích trung tâm thần kinh thực vật ở não thất ba. Giai đoạn toàn phát bệnh nhân sốt cao, biểu đồ thân nhiệt "hình cao nguyên". Thân nhiệt tăng nhưng nhịp tim không tăng hoặc tăng ít gây ra hiện tượng "mạch và nhiệt độ phân ly".

Thời kỳ chưa có điều trị bằng kháng sinh, sau khoảng 1 tuần ủ bệnh, diễn biến lâm sàng điển hình của bệnh thương hàn trải qua 4 giai đoạn, mỗi giai đoạn khoảng 1 tuần. Triệu chứng lâm sàng nổi bật ở mỗi giai đoạn là: tuần thứ nhất với nhiệt độ tăng cao; tuần thứ hai với đau bụng, gan lách to và sự xuất hiện các nốt hồng trên da; tuần thứ ba có thể thêm các biến chứng như xuất huyết, thủng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ruột; tuần thứ tư bệnh nhân sẽ hồi phục nếu không bị biến chứng nguy hiểm hoặc tử vong.

Bệnh nhân thường có đau đầu, buồn nôn hoặc nôn, chướng bụng, tiêu chảy. Khoảng 50% bệnh nhân có thể sờ thấy gan lách dưới bờ sườn. Những trường hợp nặng thường có dấu hiệu ly bì, có thể hôn mê, trụy tim mạch, không được chữa trị kịp thời có thể dẫn đến tử vong. Những biến chứng khác như viêm phổi cấp, viêm màng não, viêm gan, viêm tuỷ xương cũng có thể gặp.

Những bệnh nhân qua khỏi, có khoảng 5–10% vẫn tiếp tục thải vi khuẩn qua phân trong giai đoạn hồi phục và 1–4% trở thành người mang khuẩn lâu dài do vi khuẩn vẫn tồn tại ở túi mật. Tình trạng này có thể kéo dài nhiều năm. Họ trở thành nguồn truyền bệnh rất nguy hiểm.

2.2.2. Cơ chế gây nhiễm khuẩn và nhiễm độc thức ăn

Bệnh thường xảy ra do ăn phải thức ăn bị nhiễm *Salmonella*, nhưng có thể lây truyền trực tiếp – Một nghiên cứu ở Anh (1992–2000) cho thấy lây trực tiếp chiếm tới 86% các trường hợp nhiễm trùng bệnh viện do *Salmonella*. Căn nguyên thường gặp nhất là *S. enteritidis* và *S. typhimurium*.

Vi khuẩn xâm nhập qua biểu mô ruột non nhờ các tế bào M của mảng Peyer. Trên bộ gen của *Salmonella* có năm đảo bệnh lý, SPI (*Salmonella* pathogenicity islands). Hầu hết các gen kiểm soát sự xâm nhập của *Salmonella* vào các tế bào M nằm trên SPI–1 và mã hoá cho hệ thống tiết type III làm nhiệm vụ đưa các protein từ tế bào vi khuẩn sang tế bào cơ thể chủ. Bằng cách đó bốn protein mã hoá bởi các gen trên SPI–1 gồm SopE, SipA, SipC và StpP được chuyển sang tế bào chủ, làm biến đổi tế bào chủ đảm bảo cho sự tồn tại của vi khuẩn trong phagosom. Các protein mã hoá bởi các gen trên SPI–2 có tác dụng ức chế các chất diệt khuẩn có trong lysosom của tế bào chủ và cản trở hoạt động nội bào, như làm giảm lượng NADPH oxidase rất cần thiết cho sự sản xuất các hợp chất kháng khuẩn.

Nhiều *Salmonella*, như *S. typhimurium, S. choleraesuis, S. dublin, S. virchow* có các plasmid mang các gen độc lực *spv (Salmonella* plasmid virulence). Các gen *spv* định vị trên một regulon gồm gen điều hoà *spv*R và bốn gen cấu trúc là *spv*A, *spv*B, *spv*C và *spv*D. Sự biểu hiện của các gen *spv* được điều hoà bởi các pha phát triển của vi khuẩn. Ở đầu pha phát triển theo hàm số mũ, khi môi trường nuôi cấy còn dư thừa thì các gen này không biểu hiện. Sự biểu hiện của các gen *spv* (*spvA* biểu hiện sớm nhất) tăng dần lên cùng với mức độ cạn kiệt của môi trường, bắt đầu từ cuối pha phát triển theo hàm số mũ. Các gen *spv* giúp tăng cường sự phát triển của *Salmonella* trong đại thực bào và các tế bào thực bào không chuyên nghiệp.

Sự huỷ hoại của đại thực bào và các tế bào biểu mô lân cận, sự chết của vi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn giải phóng nội độc tố đã gây nên những tổn thương cho cơ thể chủ và tạo nên các triệu chứng lâm sàng.

Thời gian ủ bệnh trung bình từ 10 đến 48 giờ. Đây là điểm khác biệt rất cơ bản so với nhiễm độc thức ăn do tụ cầu – thời gian ủ bệnh rất ngắn, chỉ hai ba giờ. Sau thời gian ủ bệnh, bệnh nhân thường có sốt, nôn, đau bụng và tiêu chảy. Mức độ sốt và đau bụng khác nhau tuỳ từng bệnh nhân. Tiêu chảy phân thường không có nhày và máu.

Ở người lớn, thường chỉ có biểu hiện bệnh lý đường tiêu hoá. Ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ có thể gây ra tình trạng nhiễm trùng hệ thống rất nặng. Bệnh nhi có thể bị nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não, viêm xương... Có thể gây ra các vụ dịch trong bệnh viện. Ở những người nhiễm HIV/AIDS nguy cơ mắc bệnh tăng gấp hàng chục đến hàng trăm lần.

Ở những người vốn khoẻ mạnh, nhiễm trùng nhiễm độc thức ăn do *Salmonella* thường kéo dài từ 2 đến 5 ngày rồi tự khỏi. Sau khi hết các triệu chứng lâm sàng, nhiều người vẫn tiếp tục đào thải vi khuẩn theo phân, có thể tới 3 tháng; khoảng 1–3% có thể kéo kéo dài tới trên 1 năm.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Nhuộm soi trực tiếp từ bệnh phẩm

Nhuộm soi vi khuẩn trực tiếp từ phân ít có giá trị trong chẩn đoán *Salmonella*. Thường chỉ tiến hành nhuộm đếm mật độ bạch cầu đa nhân để định hướng chẩn đoán. Trong nhiễm trùng do *Salmonlla*, mật độ bạch cầu đa nhân khoảng 20 trên một vi trường (với độ phóng đại x 400).

3.1.2. Cấy máu

Cấy máu được tiến hành lúc bệnh nhân đang sốt cao. Nên lấy máu trước khi điều trị kháng sinh. Lấy 5 đến 10 ml máu tĩnh mạch cấy vào canh thang (thường dùng canh thang có mật bò), ủ ở 37°C. Vi khuẩn thương hàn thường mọc sau 24 đến 48 giờ.

Khi thấy có vi khuẩn mọc, tiến hành nhuộm Gram, xem hình thể và tính chất bắt màu. Cấy chuyển sang môi trường đặc không có chất ức chế, quan sát tính chất khuẩn lạc. Kiểm tra tính chất sinh vật hoá học. Cuối cùng xác định công thức kháng nguyên bằng kháng huyết thanh mẫu.

Đánh giá kết quả phản ứng với kháng huyết thanh mẫu như sau:

– *S. typhi* sẽ bị ngưng kết bởi các kháng huyết thanh: Vi, O: D và H: d. Nếu vi khuẩn chỉ ngưng kết với kháng huyết thanh O:D, không ngưng kết với các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

kháng huyết thanh Vi và H: d thì chỉ kết luận là *Salmonella* nhóm D. Vi khuẩn ngưng kết với kháng huyết thanh Vi có thể không ngưng kết với kháng huyết thanh O: D vì kháng nguyên Vi ngăn cản. Trong trường hợp này cần đun huyền dịch vi khuẩn ở 100°C trong 20 phút rồi thử lại.

– *S. paratyphi* A: sẽ ngưng kết bởi các kháng huyết thanh O: A và H: a. Nếu chỉ ngưng kết với kháng huyết thanh O: A nhưng không ngưng kết với kháng huyết thanh H: a thì chỉ kết luận là *Salmonella* nhóm A.

– Nếu vi khuẩn ngưng kết với O: B, làm phản ứng với các kháng huyết thanh H: b và H: i. Nếu ngưng kết với H: b vi khuẩn có thể là *S. wien* hoặc *S. paratyphi* B. Có thể phân biệt hai loài này bằng kháng huyết thanh H hai pha: *S. wien* sẽ dương tính với 1, w còn *S. paratyphi* B dương tính với 1, 2. Nếu vi khuẩn ngưng kết với H: i thì đó là *S. typhimurium*. Nếu chỉ ngưng kết với kháng huyết thanh O: B nhưng không ngưng kết với cả H: b và H: i thì kết luận là *Salmonella* nhóm B.

– Nếu vi khuẩn ngưng kết với các kháng huyết thanh O: C và Vi thì kết luận là *S. paratyphi* C. Nếu chỉ ngưng kết với O: C thì kết luận là *Salmonella* nhóm C.

Nếu chưa điều trị kháng sinh, ở tuần lễ đầu, tỷ lệ cấy máu dương tính tới 90%, tuần thứ 2 khoảng 70 – 80%; tuần thứ 3 khoảng 40 – 60%. Cấy máu dương tính cho phép ta xác định chắc chắn bệnh nhân mắc bệnh thương hàn.

3.1.3. Cấy phân

Trong phân có rất nhiều loại vi khuẩn, vì vậy bệnh phẩm cần được cấy vào môi trường có chất ức chế chọn lọc như môi trường SS (*Salmonella – Shigella*), môi trường DCA (Deoxycholate Citrate Agar), XLD (Xylose Lysine Deoxycholate Agar).... Trong những môi trường này có đường lactose và chỉ thị màu giúp cho việc phân biệt vi khuẩn lên men và không lên men lactose. Để tránh bỏ sót những trường hợp phân có ít mầm bệnh, về nguyên tắc ngoài việc cấy vào môi trường có ức chế chọn lọc, cần được cấy vào cả môi trường không có chất ức chế. Trong điều tra người lành mang vi khuẩn còn phải cấy vào môi trường tăng sinh trước khi cấy lên môi trường phân lập.

Sau khi vi khuẩn mọc, chọn khuẩn lạc nghi ngờ nhuộm soi, xác định tính chất sinh vật hoá học, xác định tính chất kháng nguyên (xem mục 3.1.2 cấy máu).

Chỉ riêng cấy phân dù phân lập được vi khuẩn cũng không cho phép xác định chắc chắn bệnh nhân mắc bệnh vì người lành cũng có thể mang vi khuẩn thương hàn.

Cấy phân ngoài mục đích chẩn đoán bệnh còn có giá trị kiểm tra sau khi bệnh nhân đã hết các triệu chứng lâm sàng có còn tiếp tục đào thải vi khuẩn nữa hay không. Cấy phân còn là phương pháp để phát hiện người lành mang vi khuẩn.

3.1.4. Phân lập vi khuẩn từ thực phẩm và nước

Để xác định nguồn gốc các vụ dịch do *Salmonella* còn tiến hành xét nghiệm

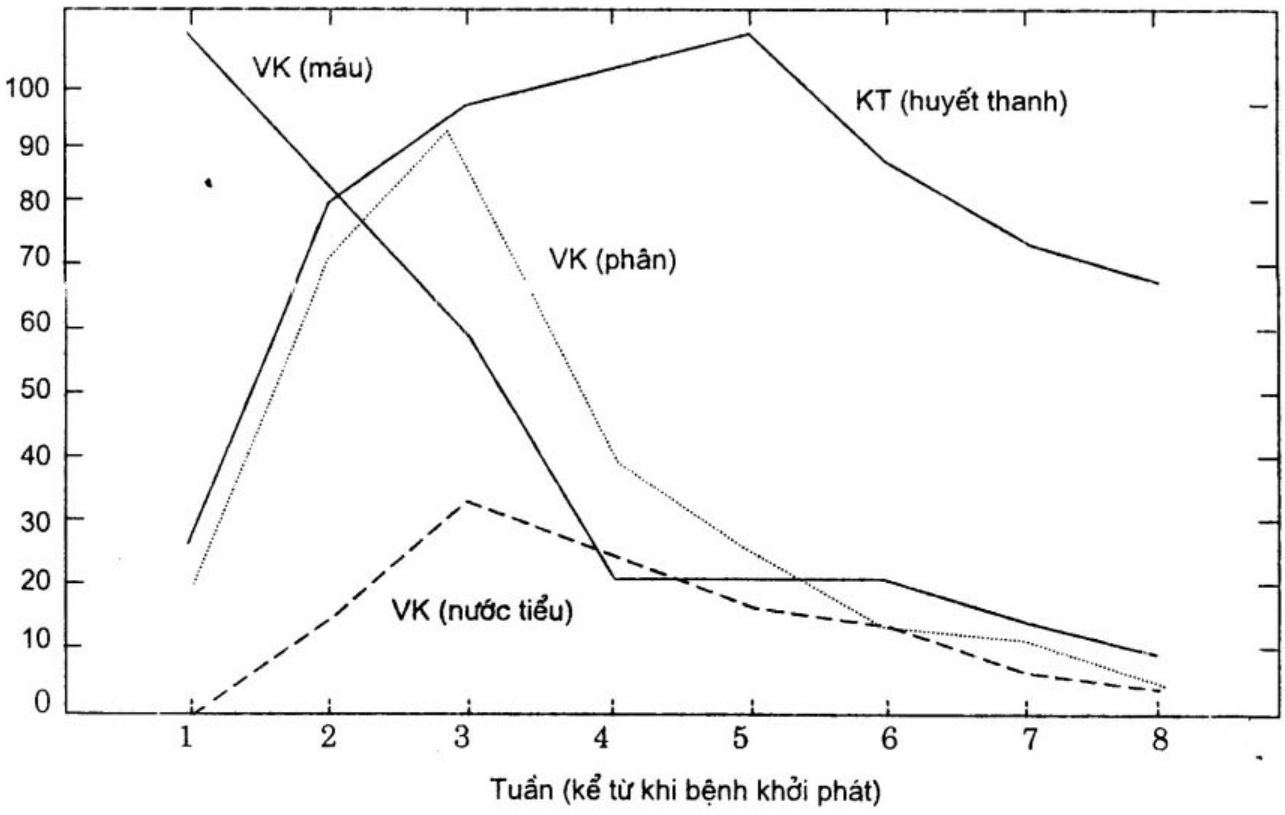
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các mẫu thực phẩm và nước uống nghi ngờ. Nguồn nước sinh hoạt đôi khi cũng được xét nghiệm.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tiến hành phản ứng Widal để xác định kháng thể trong huyết thanh. Sau khi nhiễm *Salmonella* 7 – 10 ngày, trong máu sẽ xuất hiện kháng thể kháng O, sau 12 – 14 ngày xuất hiện kháng thể H. Thời gian tồn tại kháng thể trong máu trung bình là 3 tháng đối với kháng thể O và 1 đến 2 năm đối với kháng thể H.

Phản ứng Widal là phản ứng ngưng kết. Huyết thanh bệnh nhân được pha loãng thành nhiều đậm độ khác nhau, trộn riêng biệt với kháng nguyên O và kháng nguyên H để xác định hiệu giá kháng thể kháng O và kháng H. Trong giai đoạn đầu có thể chỉ thấy kháng thể O. Đến giai đoạn toàn phát sẽ thấy cả kháng thể O và H. Phản ứng cần được làm 2 lần để xác định động lực kháng thể: lần đầu làm ở tuần thứ nhất, lần 2 làm ở tuần thứ 2 của bệnh. Việc phân tích kết quả xét nghiệm lần thứ nhất nhiều khi rất khó và thường không cho phép ta kết luận chắc chắn. Vì vậy việc chẩn đoán phải căn cứ vào động lực kháng thể sau khi có kết quả xét nghiệm lần 2. Nhược điểm của phương pháp chẩn đoán gián tiếp là cho kết quả chậm.



Biểu đồ tỷ lệ (%) phân lập được vi khuẩn thương hàn trong máu, phân, nước tiểu và hiệu giá kháng thể ngưng kết trong huyết thanh của bệnh nhân (VK = Vi khuẩn, KT = Kháng thể)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

4.1. Điều trị

Những kháng sinh thường được dùng để điều trị *Salmonella* là chloramphenicol và ampicillin. Trước đây, chloramphenicol là loại kháng sinh có hiệu lực gần như tuyệt đối trong điều trị các *Salmonella* nói chung và các *Salmonella* gây bệnh thương hàn nói riêng. Hiện nay, tỷ lệ *Salmonella* kháng thuốc ngày càng tăng. *S. typhi* đa kháng thuốc lần đầu tiên được nói đến vào thập niên 60 của thế kỷ trước ở Mexico. Ngày nay đã xuất hiện nhiều loại *Salmonella* kháng đa thuốc, ở nhiều khu vực khác nhau trên thế giới, trong đó có nước ta. Ở nước ta, những năm gần đây đã xuất hiện những vụ dịch thương hàn do vi khuẩn kháng thuốc gây nên. Việc chọn kháng sinh điều trị tốt nhất là dựa trên kết quả kháng sinh đồ.

Trong trường hợp không có điều kiện làm kháng sinh đồ hoặc chưa có kết quả kháng sinh đồ, để điều trị *Salmonella* ở người lớn, những kháng sinh thường được lựa chọn thuộc nhóm quinolone như ciprofloxacin và ofloxacin; ở trẻ em thường được thay bằng các cephalosporin thế hệ 3 như cefotaxime.

Trong điều trị thương hàn, việc chỉ định kháng sinh theo đường tiêm là rất cần thiết. Với nhiễm trùng nhiễm độc thức ăn, đa số các trường hợp chỉ cần uống kháng sinh là đủ. Những người mang khuẩn cũng cần được điều trị, nhất là những người có liên quan trực tiếp đến dịch vụ ăn uống cộng đồng. Với những người mang khuẩn sau khi điều trị khỏi, việc cấy lại phân làm kháng sinh đồ là rất cần thiết.

4.2. Phòng bệnh

4.2.1. Phương pháp phòng bệnh không đặc hiệu

Những biện pháp chủ yếu là:

– Quản lý, xử lý phân. Cung cấp và sử dụng nước sạch. Thực hiện vệ sinh ăn uống: ăn chín, uống nước đã được đun sôi, rửa tay trước khi ăn, diệt ruồi.

– Phát hiện người lành mang vi khuẩn, đặc biệt lưu ý ở những người có liên quan trực tiếp đến ăn uống của tập thể, như những người cấp dưỡng ở các cơ quan, chế biến thức ăn, phục vụ ở các cửa hàng ăn uống.

– Kiểm tra điều kiện vệ sinh ở các trang trại. Trứng và thịt gia cầm nhiễm *Salmonella* là nguyên nhân nhiễm trùng nhiễm độc thức ăn thường gặp. Đối với súc vật bị bệnh: chữa triệt để hoặc tiêu huỷ. Kiểm tra các cơ sở giết mổ cung cấp thịt cho thị trường.

– Chẩn đoán sớm và cách ly bệnh nhân kịp thời, xử lý chất thải của bệnh nhân.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.2.2. Phương pháp phòng bệnh đặc hiệu

Trước đây ở nước ta sử dụng rộng rãi vắc xin TAB. Đây là loại vắc xin chết, 1 ml chứa khoảng 1 tỷ *S. typhi*, 250 triệu *S. paratyphi* A và 250 triệu *S. paratyphi* B. Vắc xin TAB được đưa vào cơ thể bằng đường tiêm, chủ yếu tạo miễn dịch dịch thể, hiệu lực bảo vệ không cao và chỉ kéo dài được khoảng 6 tháng.

Vắc xin sống giảm độc lực đầu tiên được sản xuất từ chủng *S. typhi* Ty 2. Chủng vi khuẩn này được tạo ra bằng phương pháp gây đa đột biến, trong đó có gen mã hoá cho enzym galE làm cho vi khuẩn không tạo được O polysaccharide.

Vắc xin tinh chế chỉ chứa kháng nguyên Vi của *Salmonella* đã được đã được sản xuất và sử dụng khá rộng rãi. Kháng nguyên Vi vừa là yếu tố độc lực, vừa là kháng nguyên bảo vệ (protective antigen). Vi chống lại thực bào bằng cách ngăn cản sự opsonin hoá của kháng thể kháng O và ức chế bổ thể, giúp vi khuẩn tồn tại trong máu. Kháng nguyên Vi kích thích cơ thể sản xuất kháng thể chống *S. typhi* – tác nhân gây bệnh thương hàn quan trọng nhất, và *S. paratyphi* C. Một loại vắc xin Vi mới có sự liên hợp với giải độc tố A của *P. aeruginosa*, rEPA (recombinant *Pseudomonas aeruginosa*).

Hiện nay ở nước ta có hai loại vắc xin đang được sử dụng: vắc xin polysaccharide tinh chế và vắc xin sống giảm độc lực.

Vắc xin polysaccharide được sản xuất từ kháng nguyên Vi của *Salmonella typhi* (loại do Pháp sản xuất có tên là Typhim Vi). Vắc xin này được dùng cho trẻ trên 2 tuổi và người lớn. Tiêm dưới da hoặc tiêm bắp 1 liều 0,5 ml. Hiệu quả phòng bệnh sau khi tiêm khoảng 2 đến 3 tuần, hiệu lực bảo vệ kéo dài ít nhất 3 năm.

Vắc xin sống giảm độc lực được sản xuất từ *Salmonella typhi* Ty 21a. Loại vắc xin ta nhập của Hàn Quốc có tên là Zerotypeh. Vắc xin này được dùng cho trẻ từ 3 tháng tuổi trở lên. Uống 3 lần cách nhau 1 ngày, nên uống trước bữa ăn 1 giờ. Không uông vắc xin trong thời gian đang sử dụng kháng sinh.

SHIGELLA

Castellani và Chalmers 1919

Bệnh lỵ đã được biết đến từ rất lâu. Hippocrate đã mô tả bệnh này với đặc điểm đi ngoài nhiều lần, phân có nhày và máu; thường xuất hiện vào mùa xuân, gặp nhiều hơn vào mùa hè; có thể gây thành dịch. Tuy nhiên, phải đến cuối thế kỷ XIX, căn nguyên của bệnh lỵ mới được xác định với việc tìm ra amip năm 1875 và *Shigella* năm 1898. Đó là cơ sở đầu tiên cơ bản nhất để ngày nay chúng ta phân định rõ ràng hai loại bệnh lỵ là lỵ amip và lỵ trực khuẩn.

Shigella là tác nhân gây ra bệnh lỵ trực khuẩn. Đây là một bệnh rất hay gặp ở nước ta, có thể rải rác thường xuyên hoặc gây thành các vụ dịch địa phương.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Shigella đã được Chantemesse mô tả từ năm 1888. Kiyoshi Shiga (1870–1957), nhà vi khuẩn học người Nhật, phân lập được vi khuẩn lỵ lần đầu tiên năm 1898, vi khuẩn này về sau mang tên là *Shigella shiga (Shigella dysenteriae* type 1). Năm 1900, Flexner và Strong đã phân lập được một tác nhân gây bệnh lỵ trực khuẩn có những tính chất khác với vi khuẩn do Shiga phân lập, vi khuẩn này về sau mang tên là *S. flexneri*. *Shigella sonnei* được phân lập lần đầu tiên năm 1904, nhưng phải đến năm 1915 mới được công nhận là căn nguyên gây bệnh lỵ trực khuẩn sau khi Sonne chứng minh vai trò gây bệnh của nó.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Shigella là trực khuẩn nhỏ, bắt màu Gram âm, dài từ 1–3 μm, khi mới nuôi cấy có dạng cầu trực khuẩn. *Shigella* không có lông, không có vỏ và không sinh nha bào. Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây cho thấy *Shigella* không có lông nhưng vẫn mang gen mã hoá cho lông, trong điều kiện nuôi cấy đặc biệt sẽ thể hiện kiểu hình có lông và có khả năng di động.

1.2. Tính chất nuôi cấy

Như các vi khuẩn đường ruột khác, *Shigella* là vi khuẩn hiếu kỵ khí tuỳ ngộ, nhưng phát triển rất tốt trong điều kiện hiếu khí. Trên môi trường đặc thích hợp tạo thành khuẩn lạc tròn, lồi, bờ đều, trong và có đường kính khoảng 2 mm sau 24 giờ. Trên môi trường phân lập có lactose, khuẩn lạc vẫn không màu.

Shigella phát triển kém trên một số môi trường ức chế chọn lọc như môi trường DCA (deoxycholate citrate agar), XLD (xylose lysine deoxycholate). Vì vậy, để phân lập *Shigella* phải sử dụng cả môi trường không có chất ức chế như MacConkey, thạch lactose–xanh bromothymol. Trên môi trường DCA, khuẩn lạc thường nhỏ, không màu hoặc hồng nhạt. Trên môi trường XLD khuẩn lạc có màu hồng hoặc đỏ, một số ít trường hợp xung quanh có màu hồng hoặc vàng. Trên môi trường MacConkey và thạch lactose–xanh bromothymol khuẩn lạc thường to hơn và không màu do không lên men lactose.

1.3. Tính chất hoá sinh

Tất cả các *Shigella* đều lên men đường glucose, hầu hết không sinh hơi. Các *Shigella* không lên men lactose trừ *S. sonnei* có khả năng lên men đường này nhưng chậm, sau từ 2 ngày đến 2 tuần. Các *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* và *Shigella sonnei* có khả năng lên men mannitol, *S. dysenteriae* không có khả năng này. *Shigella* không sinh H_2S, không sử dụng được citrate trong môi trường Simmons, không sinh indole. Một số tính chất hoá sinh điển hình của các loài *Shigella* được nêu ở bảng 5.5.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.5. Một số tính chất hoá sinh điển hình của các loài *Shigella*

Loài	Indole	LDC	ODC	Di động	ONPG	Lên men mannitol
S. dysenteriae	–/+*	–	–	–	–	–
S. flexneri	–	–	–	–	–	+
S. boydii	–	–	–	–	–	+
S sonnei	–	–	+	–	+	+

LDC: lysine decarboxylase; ODC: ornithine decarboxylase; ONPG: ortho–nitrophenyl β–D–galactopyranoside; *: *S. dysenteriae* type 2 dương tính.

1.4. Kháng nguyên

Tất cả các *Shigella* đều có kháng nguyên thân O, một số có kháng nguyên K và tất cả đều không có kháng nguyên H. Tính đặc hiệu của polysaccharide, là thành phần cấu trúc của LPS thuộc kháng nguyên thân O, khác nhau giữa các loài.

1.5. Phân loại

Dựa trên tính đặc hiệu của kháng nguyên thân O và một số tính chất hoá sinh, người ta chia các *Shigella* thành bốn nhóm (loài): nhóm A *(S. dysenteriae),* nhóm B (*S. flexneri*), nhóm C (*S. boydii*) và nhóm D *(S. sonnei)*. Tính đặc hiệu của O–polysaccharide cũng được sử dụng để chia mỗi nhóm thành các type huyết thanh. Số type huyết thanh của mỗi nhóm được xác định đều đã tăng lên so với trước đây, trừ *S. sonnei*.

1.5.1. S. dysenteriae

Không lên men mannitol và không có quan hệ về tính đặc hiệu kháng nguyên của O–polysaccharide với các nhóm khác. Có 12 type huyết thanh. Type 1 của *S. dysenteriae* còn có tên là trực khuẩn *Shiga*. Ngoài nội độc tố, *S. shiga* còn sinh ra một ngoại độc tố mạnh.

1.5.2.S. flexneri

Có khả năng lên men mannitol trừ một vài ngoại lệ. Tất cả các O–polysaccharide của LPS đều có một tetrasaccharide thường mang rhamnose. *S. flexneri* có 13 type huyết thanh. Các type huyết thanh này có cả thành phần kháng nguyên đặc hiệu cho từng type và thành phần kháng nguyên chung cho cả 13 type.

1.5.3.S. boydii

Có khả năng lên men mannitol trừ một vài ngoại lệ. Một số chủng thuộc loài *S. boydii* có khả năng sinh hơi khi lên men glucose nhưng rất yếu. Trên cơ sở tính đặc hiệu của O–polysaccharide *S. boydii* được chia thành 18 type huyết thanh.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.5.4. S. sonnei

Có khả năng lên men mannitol. Là nhóm duy nhất có khả năng lên men lactose nhưng chậm. Chỉ có một type huyết thanh. *S. sonnei* có một thành phần kháng nguyên O giống với *Plesiomonas shigelloides* thường gặp ở người. Đây là nguyên nhân gây ra phản ứng chéo giữa hai loài này.

1.6. Miễn dịch

Sau quá trình nhiễm khuẩn *Shigella* (mắc bệnh lỵ trực khuẩn hoặc nhiễm trùng thể ẩn) trong máu xuất hiện các kháng thể đặc hiệu. Tuy nhiên, hiệu lực bảo vệ của các kháng thể này rất kém.

Vai trò bảo vệ chủ yếu nhờ IgA tiết tại ruột. Nghiên cứu về miễn dịch tiết trong bệnh lỵ trực khuẩn đã được tiến hành rất sớm, thuộc vào những nghiên cứu đầu tiên trong lịch sử nghiên cứu miễn dịch tiết nói chung.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Dịch tễ học

Shigella là tác nhân gây ra bệnh lỵ trực khuẩn. Lỵ trực khuẩn chỉ gặp ở người, nhưng có thể gây bệnh thực nghiệm ở một số loài linh trưởng.

Bệnh lỵ trực khuẩn có thể gặp ở mọi vùng địa lý và mọi lứa tuổi. Những đối tượng có nguy cơ cao là trẻ em dưới 5 tuổi, những người sống trong cộng đồng có mức sống thấp, điều kiện vệ sinh kém. Tiêu chảy do *Shigella* cũng là một trong những bệnh đáng quan tâm đối với khách du lịch.

Lỵ trực khuẩn là bệnh thường gặp. Theo công bố của WHO (1999), trên thế giới hàng năm có 164,7 triệu người mắc bệnh (trong đó 163,2 triệu ở các nước đang phát triển), với 1,1 triệu trường hợp tử vong (trong đó 61% là trẻ em dưới 5 tuổi).

Lỵ trực khuẩn lây truyền theo đường tiêu hoá, chủ yếu qua thức ăn nước uống bị nhiễm khuẩn, nhưng cũng có thể bị nhiễm do tay bẩn trực tiếp đưa lên miệng, thường gặp ở trẻ em. Ngoài ra còn có thể lây do quan hệ tình dục đồng tính ở nam giới. Đa số các vụ dịch xảy ra do nguồn thực phẩm hoặc nguồn nước phục vụ cộng đồng bị nhiễm khuẩn, ở nông thôn giếng bị nhiễm phân là một nguyên nhân thường gặp.

Tại các nước đang phát triển đa số lỵ trực khuẩn do *S. flexneri* và *S. dysenteriae*. Tại các nước phát triển *S. sonnei* và *S. flexneri* là những căn nguyên thường gặp hơn. Ở nước ta, hầu hết các trường hợp lỵ trực khuẩn do *S. dysenteriae* và *S. flexneri*, chỉ có một tỷ lệ nhỏ do *S. boydii* và *S. sonnei*.

Bệnh lỵ trực khuẩn thường ở thể cấp tính. Một số ít trường hợp có thể trở thành mạn tính, những bệnh nhân này thỉnh thoảng lại bị tiêu chảy và thường xuyên thải vi khuẩn ra ngoài theo phân. Đây là nguồn lây rất đáng quan tâm.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.2. Cơ chế gây bệnh

Lỵ trực khuẩn là một bệnh nhiễm trùng nhiễm độc, nhưng chủ yếu là nhiễm trùng. Trực khuẩn lỵ có nhiều yếu tố độc lực như khả năng bám vào tế bào biểu mô, khả năng xâm nhập và nhân lên trong tế bào, nội độc tố và một số còn có cả ngoại độc tố. Tuy nhiên, yếu tố độc lực quyết định là khả năng xâm nhập và nhân lên trong thành ruột. Thực nghiệm cho thấy rằng, những biến chủng mặc dù còn khả năng sinh ngoại độc tố nhưng mất khả năng xâm nhập thì không gây ra được hội chứng lỵ. Ngược lại những biến chủng không có khả năng sinh ngoại độc tố nhưng có khả năng xâm nhập thì vẫn gây bệnh.

Số lượng cần thiết để *Shigella* gây bệnh khoảng từ 10^2 đến 10^3 vi khuẩn. Để có thể gây bệnh vi khuẩn lỵ phải vượt qua bề mặt biểu mô xâm nhập vào thành ruột. Vi khuẩn lỵ bám và vào được biểu mô ruột nhờ các tế bào M là loại đại thực bào chuyên trách giới thiệu kháng nguyên có ở tổ chức lympho ruột. Quá trình thực bào diễn ra ở lớp dưới niêm mạc, các cytokin được giải phóng thu hút nhiều bạch cầu đa nhân. Sự phá vỡ tổ chức liên kết do bạch cầu đa nhân đã mở đường cho sự xâm nhập của vi khuẩn lỵ. *S. flexneri* còn có thể xâm nhập vào biểu mô đại tràng theo một con đường khác, không phụ thuộc vào tế bào M và bạch cầu đa nhân, mà sử dụng ngay một số protein của tế bào biểu mô.

Khi đã ở dưới màng nhày, vi khuẩn lỵ bám vào màng của tế bào biểu mô. Vi khuẩn lỵ có một plasmid độc lực mang hai locus chi phối sự xâm nhập là *ipa* và *mxi–spa*. Các gen trên locus *ipa* mã hoá cho các protein xâm nhập IpaA, IpaB, IpaC và IpaD. Các gen trên locus *mxi–spa* mã hoá cho các thành phần của hệ thống tiết type III làm nhiệm vụ chuyển các protein Ipa từ màng bào tương của vi khuẩn tới màng bào tương hoặc cytosol của tế bào cơ thể chủ. Các protein của vi khuẩn được đưa vào bào tương của tế bào biểu mô qua lỗ được hình thành bởi IpaA và IpaB. IpaC và IpaD giúp trùng hợp actin trong tế bào chủ làm màng tế bào phình ra ôm lấy vi khuẩn đưa vào không bào. IpaB và có thể cả IpaC ly giải không bào, vi khuẩn lỵ được giải phóng và nhân lên trong bào tương của tế bào biểu mô.

Vi khuẩn lỵ di chuyển từ tế bào biểu mô này sang tế bào biểu mô khác nhờ sử dụng actin của tế bào chủ với sự tham gia của protein màng ngoài, IcsA, của vi khuẩn. Sợi actin trùng hợp dính vào một cực có IcsA tạo thành cái "đuôi" giúp nó chuyển động trong bào tương của tế bào biểu mô đến đẩy màng tế bào lồi sang tế bào bên cạnh. Sau đó tại điểm lồi này cả hai màng bị ly giải và vi khuẩn lỵ vào được tế bào biểu mô bên cạnh. Chúng nhân lên nhanh chóng trong tế bào lớp niêm mạc. Vi khuẩn chết giải phóng ra nội độc tố gây xung huyết, xuất tiết, tạo thành những ổ loét và mảng hoại tử. Nội độc tố còn tác động lên thần kinh giao cảm gây co thắt và tăng nhu động ruột. Những tác động đó làm bệnh nhân đau bụng quặn, buồn đi ngoài và đi ngoài nhiều lần, phân có nhày và máu.

S. dysenteriae type 1 sinh ra một ngoại độc tố mạnh, độc tố Shiga. Độc tố

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Shiga gồm hai tiểu phần: tiểu phần A (active) có hoạt tính enzym và tiểu phần B (binding) giúp độc tố gắn vào thụ thể glycolipid Gb_3 trên bề mặt tế bào chủ. Ngoại độc tố của *S. dysenteriae* type 1 tác động vào quá trình tổng hợp protein của tế bào do làm tổn hại ribosom. Độc tố Shiga ức chế tiểu phần 60S của ribosom tế bào chủ do làm gẫy gốc adenosin của phần 28S RNA ribosom. Độc tố Shiga vào máu có thể làm tổn thương thận dẫn đến hội chứng tan máu urê huyết cao (HUS –haemolytic uraemic syndrome). Độc tố này có độc tính với thần kinh trung ương, có thể gây viêm màng não và hôn mê. Những nghiên cứu gần đây còn cho thấy độc tố Shiga có thể thúc đẩy quá trình chết theo chương trình (apoptosis) ở một số loại tế bào.

Thời gian ủ bệnh trung bình của lỵ trực khuẩn từ 2–3 ngày. Mức độ nặng nhẹ và biểu hiện lâm sàng rất khác nhau tuỳ loại căn nguyên và sức đề kháng của bệnh nhân. Bệnh nhân có thể chỉ bị tiêu chảy nhẹ, nhưng cũng có thể là tiêu chảy mất nước nặng. Bệnh cảnh lâm sàng của lỵ trực khuẩn do *S. sonnei* thường nhẹ nhất, đa số trường hợp chỉ bị tiêu chảy phân lỏng không lẫn nhày máu trong vài ngày rồi thuyên giảm. Tiêu chảy do *S. dysenteriae* và *S. flexneri* thường nặng và kéo dài hơn với phân lẫn nhày máu.

Shigella gây tổn thương chủ yếu ở đại tràng, có thể ở cả đoạn cuối của hồi tràng. Biến chứng xuất huyết nặng đường tiêu hoá thường gặp trong trường hợp lỵ do *S. dysenteriae*. Có thể gặp biến chứng thủng ruột và biến chứng phình to đại tràng nhiễm độc (toxic megacolon). Ở hầu hết các bệnh nhân, vi khuẩn lỵ chỉ khu trú tại đường tiêu hoá. Tuy nhiên vẫn có thể xảy ra nhiễm trùng hệ thống. Nhiễm khuẩn huyết là biến chứng rất nặng, thường gặp trong những trường hợp lỵ trực khuẩn ở trẻ nhỏ, suy dinh dưỡng, thiếu hụt miễn dịch hoặc ở người già. Viêm màng não, viêm phổi (sau nhiễm khuẩn huyết), xuất huyết nặng, hội chứng HUS là những biến chứng đã được nói đến.

Nếu không có biến chứng, nhìn chung các triệu chứng lâm sàng của lỵ trực khuẩn sẽ giảm dần sau khoảng 10–14 ngày. Nhưng vẫn có một số trường hợp đột ngột tái phát với tiêu chảy nặng, với tỷ lệ tử vong rất cao.

Trong giai đoạn toàn phát, phân bệnh nhân có rất nhiều vi khuẩn. Giai đoạn hồi phục bệnh nhân vẫn có thể tiếp tục đào thải vi khuẩn theo phân, tuy số lượng có ít hơn, trong vài ba tuần.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Nhuộm soi trực tiếp

Bệnh phẩm có thể lấy sau khi bệnh nhân đã đi ngoài ra bô sạch hoặc lấy trực tiếp từ trực tràng. Theo phương pháp thứ nhất nên chọn lấy mẫu ở chỗ phân có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhày lẫn máu, khả năng phân lập được vi khuẩn cao hơn. Theo phương pháp thứ hai bệnh phẩm được lấy bằng tăm bông vô trùng. Sau khi đưa tăm bông qua cơ thắt hậu môn, nên vừa xoay vừa hướng đầu tăm bông cọ vào thành trực tràng.

Sau khi lấy bệnh phẩm làm tiêu bản nhuộm soi xác định mật độ bạch cầu đa nhân. Ở bệnh nhân lỵ trực khuẩn, mật độ bạch cầu đa nhân trong phân rất cao, thường là 30 đến 50, có khi trên 50 trong một vi trường với độ phóng đại 400 lần.

3.1.2. Cấy phân

Cấy phân là phương pháp tốt nhất để chẩn đoán bệnh lỵ trực khuẩn. Cách lấy bệnh phẩm đã được mô tả ở mục 4.1.1 (Giới thiệu về họ vi khuẩn đường ruột). Bệnh phẩm cần phải được cấy ngay lên môi trường phân lập vì vi khuẩn lỵ chết rất nhanh sau khi ra ngoài môi trường, nhất là những trường hợp phân có pH thấp. Nếu chưa nuôi cấy ngay bệnh phẩm cần được bảo quản trong dung dịch có 30% glycerol.

Nên cấy song song lên cả môi trường có và không có chất ức chế chọn lọc. Những môi trường có chất ức chế thường được sử dụng như DCL (deoxycholate citrate lactose), Endo, SS (*Salmonella–Shigella*), XLD (Xylose Lysine Deoxycholate). Môi trường không có chất ức chế thường dùng là thạch lactose–xanh bromothymol và thạch MacConkey. Sau 24 giờ, chọn khuẩn lạc nghi ngờ (xem mục 1.2), xác định tính chất sinh vật hoá học và định loại bằng các kháng huyết thanh mẫu.

Làm phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các kháng huyết thanh kháng O của các nhóm A, B, C và D. Nếu ngưng kết với kháng huyết thanh nhóm A thì kết luận là *S. dysenteriae*, nếu ngưng kết với kháng huyết thanh type 1 thì kết luận là *S. shiga*. Nếu ngưng kết với kháng huyết thanh nhóm B thì kết luận là *S. flexneri*. Nếu ngưng kết với kháng huyết thanh nhóm C thì kết luận là *S. boyii*. Nếu ngưng kết với kháng huyết thanh nhóm D thì kết luận là *S. sonnei*.

Một số chủng *Shigella* không ngưng kết với các kháng huyết thanh tương ứng do có kháng nguyên K che phủ kháng nguyên O. Nếu nghi ngờ có kháng nguyên K thì đun huyền dịch vi khuẩn (hoà trong nước muối sinh lý) 100°C trong 20 phút rồi làm lại phản ứng.

3.1.3. Kỹ thuật sinh học phân tử

Có thể sử dụng kỹ thuật khuếch đại gen PCR để xác định vi khuẩn lỵ sau khi đã nuôi cấy phân lập hoặc trực tiếp từ phân. Thường tìm sự có mặt của gen *ipaH* vì gen này có nhiều bản sao trên một plasmid xâm nhập, pINV. Kỹ thuật PFGE (pulsed–field gel electrophoresis) cũng đã được sử dụng trong xác định căn nguyên của các vụ dịch lỵ trực khuẩn.

Kỹ thuật sinh học phân tử có độ nhạy và độ đặc hiệu cao khi thử nghiệm với

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

vi khuẩn đã thuần nhất. Việc xác định vi khuẩn từ bệnh phẩm phân còn nhiều khó khăn nên chưa được áp dụng rộng trong chẩn đoán tại các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng ở nước ta.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Phản ứng huyết thanh rất ít được làm để chẩn đoán bệnh lỵ trực khuẩn vì đây là bệnh cấp tính cần phải chẩn đoán nhanh, mặt khác, phản ứng huyết thanh không có tính đặc hiệu cao vì *S. flexneri* (một căn nguyên chiếm tỷ lệ cao) có yếu tố kháng nguyên chung với một số vi khuẩn đường ruột khác. Chẩn đoán huyết thanh đôi khi cũng được tiến hành với những trường hợp mạn tính, cấy phân không phân lập được vi khuẩn, hoặc được làm vì mục đích nghiên về cứu dịch tễ học.

4. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

4.1. Điều trị

Hai biện pháp điều trị quan trọng nhất đối với lỵ trực khuẩn là bù nước, điện giải và sử dụng thuốc kháng sinh hợp lý.

Bù nước và điện giải đặc biệt quan trọng đối với những thể tiêu chảy cấp mất nước nặng, nhất là ở trẻ nhỏ và người già. Đối với những trường hợp không mất nước nặng thì bù nước và điện giải theo đường uống, những trường hợp nặng cần truyền tĩnh mạch.

Shigella là một trong số các vi khuẩn có tỷ lệ kháng kháng sinh rất cao. Những chủng *Shigella* mang plasmit chứa các gen kháng lại nhiều kháng sinh đã được phát hiện đầu tiên ở Nhật Bản, sau đó xuất hiện ở nhiều nước khác trong đó có nước ta.

Theo kết quả nghiên cứu của Chương trình Quốc gia giám sát tính kháng thuốc của các vi khuẩn gây bệnh thường gặp (công bố năm 1996) ở nước ta, có tới trên 80% *S. flexneri* kháng ampicillin, chloramphenicol và cotrimoxazole, là những thuốc thường được dùng trong điều trị lỵ trực khuẩn. Nhìn chung các kháng sinh nhóm quinolone như norfloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin và fleroxacin còn có tác dụng tốt. Với tình hình kháng thuốc như vậy, việc làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp là rất cần thiết.

Điều trị kháng sinh không nhất thiết phải áp dụng đối với tất cả các trường hợp lỵ trực khuẩn. Tại nước Anh, nơi hơn 90% lỵ trực khuẩn do *S. sonnei*, người ta khuyến cáo không chỉ định kháng sinh đối với những trường hợp nhẹ và trung bình.

Ngoài bù nước, điện giải và sử dụng kháng sinh, một số liệu pháp sinh học cũng được áp dụng trong điều trị lỵ trực khuẩn. Có thể dùng các chế phẩm là vi sinh vật

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

sống không gây bệnh (như *Lactobacillus, Saccharomyces boulardii, Bacillus subtilis*...) hoặc sản phẩm của chúng (như các sản phẩm sữa lên men).

Thuốc làm giảm nhu động ruột nói chung không được khuyến cáo, nhưng loperamide, một chế phẩm tổng hợp có thể làm giảm số lần đi ngoài và rút ngắn thời gian tiêu chảy đối với người lớn điều trị bằng ciprofloxacin.

4.2. Phòng bệnh

4.2.1. Phương pháp phòng bệnh không đặc hiệu

Đây là phương pháp phòng bệnh chủ yếu hiện nay. Các biện pháp phòng bệnh không đặc hiệu chính gồm: vệ sinh ăn uống, sử dụng nước sạch, xử lý phân, diệt ruồi; chẩn đoán sớm và cách ly bệnh nhân.

Các cơ sở ăn uống công cộng phải đảm bảo các tiêu chuẩn vệ sinh. Các nguồn nước chung của cộng đồng phải được bảo vệ, kiểm tra tránh bị nhiễm phân.

Mặc dù *Shigella* là vi khuẩn có sức đề kháng không cao, nhưng ở nơi ẩm, mát, kiềm có thể sống sót sau nhiều ngày, vì vậy xử lý phân bệnh nhân, tẩy uế khử khuẩn tại các nhà tiêu là rất quan trọng.

Vệ sinh ở các nhà trẻ, nhà mẫu giáo; cách ly sớm trẻ bị tiêu chảy, tránh lây truyền trực tiếp từ trẻ này sang trẻ khác do tay nhiễm khuẩn.

Rửa tay trước khi ăn, rửa tay của nhân viên y tế sau xét nghiệm phân, của thầy thuốc và người nhà sau tiếp xúc với bệnh nhân là biện pháp đơn giản nhưng rất cần thiết.

4.2.2. Phương pháp phòng bệnh đặc hiệu

Hiện nay vắc xin phòng bệnh lỵ trực khuẩn vẫn còn trong giai đoạn thử nghiệm. Vắc xin chết chủ yếu kích thích cơ thể sản xuất kháng thể dịch thể, không đủ hiệu lực bảo vệ chống nhiễm trùng, nên đa số các nghiên cứu đang được tiến hành nhằm sản xuất vắc xin sống. Hai loại vắc xin đã được nói đến là vắc xin sống làm từ biến chủng lỵ không còn khả năng xâm nhập và biến chủng lỵ giảm độc lực vẫn còn khả năng xâm nhập. Một số nước trên thế giới đã và đang nghiên cứu sản xuất vắc xin sống giảm độc lực, đưa vào cơ thể theo đường uống. Một loại vắc xin "tiểu đơn vị" (subunit vắc xin) là phức hợp LPS của vi khuẩn lỵ và protein (proteosom) đưa vào cơ thể bằng cách nhỏ mũi. Loại vắc xin này an toàn, dễ sử dụng nhưng chủ yếu vẫn chỉ kích thích đáp ứng miễn dịch dịch thể.

Shigella không có kháng nguyên chung giữa các nhóm, và ngay cả giữa các type trong một nhóm, do đó một vắc xin có hiệu quả phòng bệnh cao phải được sản xuất từ nhiều type gây bệnh thường gặp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

YERSINIA

Van Loghem 1944

Chi *Yersinia* được đặt theo tên nhà bác học người Pháp gốc Thuỵ Sĩ Alexandre Yersin (1863–1943) – Người đầu tiên phân lập được *Y. pestis*, căn nguyên gây bệnh dịch hạch và là loài có tầm quan trọng nhất của chi này.

Dịch hạch đã từng gây nên những nỗi kinh hoàng cho nhân loại. Lịch sử thế giới đã ghi lại ba đại dịch cướp đi sinh mạng của hàng trăm triệu người.

Đại dịch lần thứ nhất hoành hành vào nửa sau thế kỷ thứ VI, khởi đầu từ đế quốc La Mã, làm chết gần 100 triệu người.

Đại dịch lần thứ hai diễn ra vào những năm giữa thế kỷ XIV, làm chết 25 triệu người (1/3 dân số) châu Âu và khoảng 40 triệu người ở châu Á, châu Phi. Chính từ đại dịch này bệnh dịch hạch có tên "cái chết đen" (Black Death).

Đại dịch lần thứ ba khởi đầu từ Hồng Kông năm 1894. Sự phát triển của hàng hải nhờ sử dụng máy hơi nước đã giúp cho dịch hạch lan tràn nhanh chóng. Trong vòng 10 năm, bệnh dịch hạch đã lan tới 60 thành phố cảng ở khắp 5 châu! Ngay từ năm đầu đại dịch lần thứ ba, vào năm 1894 tại Hồng Kông, Yersin đã tìm ra vi khuẩn dịch hạch, mở đầu một giai đoạn mới trong nghiên cứu phòng chống có hiệu quả đối với căn bệnh tối nguy hiểm này.

Bệnh dịch hạch ở nước ta được ghi nhận lần đầu tiên năm 1898 tại Nha Trang. Cho tới thập niên 60 và 70 của thế kỷ trước, bệnh dịch hạch vẫn lưu hành ở miền Nam. Hiện nay chỉ còn một số ổ dịch, chủ yếu ở khu vực Tây Nguyên.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC

1.1. Hình thái

Yersinia là những cầu trực khuẩn Gram âm, kích thước trung bình 0,5–0,8 × 1–3 μm. Khi nuôi cấy để lâu hoặc cấy chuyển nhiều lần có thể gặp nhiều loại hình thể khác nhau. Tính chất bắt màu đậm hơn ở hai đầu là một nét đặc trưng của vi khuẩn dịch hạch, khi nhuộm bằng phương pháp Wayson tính chất này thể hiện rõ hơn. Không có vỏ, trừ *Y. pestis* phát triển in vivo hoặc nuôi cấy in vitro ở 37°C. *Y. pestis* không có khả năng di động; các loài khác không có khả năng di động khi nuôi cấy ở 37°C, nhưng có khả năng di động khi nuôi cấy ở 25°C.

1.2. Tính chất nuôi cấy

Yersinia hiếu kỵ khí tuỳ ngộ. Có thể phát triển được trên các môi trường nuôi cấy thông thường, nhưng chậm hơn các vi khuẩn đường ruột khác, sau 24 giờ ở 37°C khuẩn lạc chỉ khoảng 0,1 mm.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Yersinia có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ 4–42°C, nhiệt độ tối ưu là 25–29°C.

Vi khuẩn dịch hạch thường được nuôi cấy ở 28°C. Khuẩn lạc của vi khuẩn dịch hạch nuôi cấy trên môi trường thích hợp ở nhiệt độ này sau 48–72 giờ có đường kính khoảng 1–1,5 mm, đục, bờ mỏng, trung tâm lồi lên, mặt nhẵn hoặc xù xì giống như nửa chiếc vỏ trai úp *(Xem hình P33 ở Phụ bản)*. Trên môi trường lỏng, lúc đầu vi khuẩn dịch hạch làm đục đều, dần dần tạo các khúm hình nhũ đá ở thành ống, sau đó rơi xuống đáy và môi trường trở nên trong. Tính chất không làm đục canh thang được coi là một tiêu chuẩn để xác định vi khuẩn dịch hạch.

Y. enterocolitica có thể phát triển tương đối tốt trên môi trường MacConkey và một số môi trường nuôi cấy các vi khuẩn đường ruột khác. Trái lại, *Y. pestis* và *Y. pseudotuberculosis* phát triển kém trên môi trường MacConkey, nhất là khi phân lập lần đầu. Sắt là yếu tố cần thiết cho sự phát triển của tất cả các *Yersinia*.

1.3. Tính chất hoá sinh

Tất cả các loài thuộc chi *Yersinia* đều có men catalase nhưng không có men oxidase, không sinh H_2S. *Yersinia* không có hemolysin nên không tạo vòng tan máu trên môi trường thạch máu. Một số tính chất hoá sinh khác của ba loài *Yersinia* có khả năng gây bệnh cho người được nêu ở bảng 5.6.

Bảng 5.6. Các tính chất của *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica*

Tính chất	*Y. pestis*	*Y. pseudotuberculosis*	*Y. enterocolitica*
Di động (37°C)	–	–	–
Di động (25°C)	–	+	+
Ornithine decarboxylase	–	–	+
Lysine decarboxylase	–	–	–
Urease	–	+	+
Gelatinase	–	–	–
Voges–Proskauer (25°C)	–	–	+
Indole	–	–	T
Simmon citrate	–	–	–
Lên men glucose	+	+	+
Lên men rhamnose	–	+	–
Lên men sucrose	–	–	+
Lên men melibiose	T	+	–
Lên men sorbitol	–	–	+

+: > 90% chủng (+); T: thay đổi 10–90% chủng (+); –: < 10% chủng (+); Những tính chất không ghi nhiệt độ được thử nghiệm ở 28°C/3 ngày.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.4. Sức đề kháng

Nói chung *Yersinia* dễ bị tiêu diệt bởi các tác nhân vật lý, hoá học. Bị chết sau 1 phút ở 100°C. Ngoài môi trường chúng bị chết nhanh trong điều kiện khô hanh, nhưng có thể sống hằng tháng trong xác động vật bị chết do nhiễm bệnh. Trong thạch mềm để ở 4°C nếu không bị khô, *Y. pestis* có thể sống tới 10 năm.

1.5. Phân loại

Theo cách phân loại của Ewing 1986, *Yersinia* là chi duy nhất của tộc *Yersinieae* thuộc họ *Enterobacteriaceae*.

Bảng 5.7. Các tính chất giúp phân biệt ba biến thể của *Y. pestis*

Tính chất	Biến thể		
	antiqua	medievalis	orientalis
Lên men glycerol	+	+	–
Khử NO_2^-	–	+	+
Lên men melibiose	–	+	–
Vùng địa lý phân bố	Châu Á, Phi	Iran, Nga	Khắp thế giới

Chi này có 10 loài, trong đó ba loài được xác định có khả năng gây bệnh ở người là *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica*. *Y. pseudotuberculosis* (được phân lập lần đầu tiên năm 1883) và *Y. pestis* (được phân lập lần đầu tiên năm 1894) trong một thời gian khá dài được xếp vào chi *Pasteurella*. *Y. enterocolitica* (được phân lập lần đầu tiên năm 1939), ban đầu nó đã từng mang tên *Y. pseudotuberculosis*–like, rồi *Bacterium enterocoliticum*. Các loài khác gồm: *Y. intermedia, Y. fredrriksenii, Y. kristensenii, Y. aldovae, Y. mollaretti, Y. bercovieri* và *Y. ruckeri*.

Y. pestis có ba biến thể sinh học (biovar) là antiqua, medievalis và orientalis. Các biến thể này có liên quan đến sự phân bố theo vùng địa lý. Các tính chất để phân biệt ba biến thể được nêu ở bảng 5.7.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Khả năng gây bệnh của *Y. pestis*

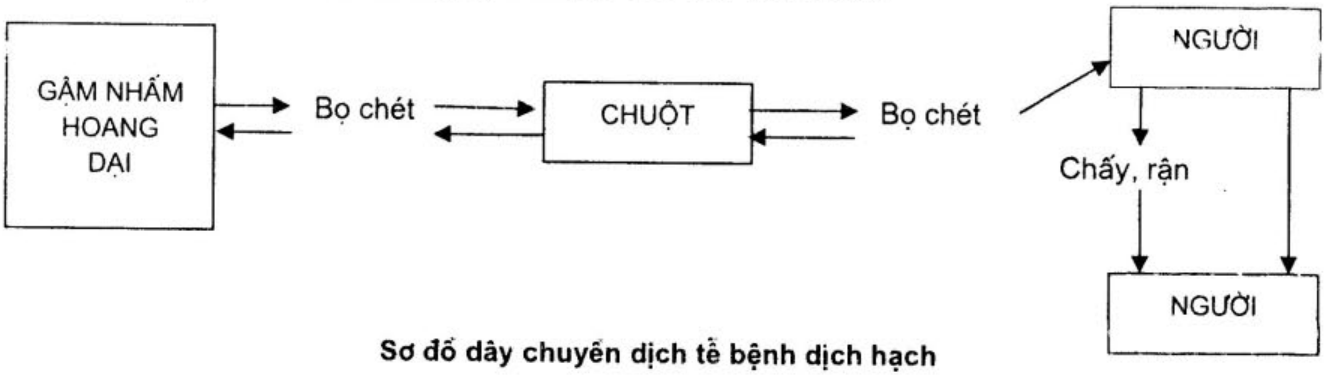
Y. pestis là căn nguyên gây bệnh dịch hạch. Khả năng gây bệnh của *Y. pestis* liên quan đến nhiều yếu tố độc lực. Fimbriae -- kháng nguyên pH 6 (pH 6 antigen) – giúp vi khuẩn bám vào thụ thể lipoprotein trên tế bào cơ thể chủ. Kháng nguyên F1 và các kháng nguyên V, W chỉ có ở những chủng độc lực cao, khi mất những kháng nguyên này, vi khuẩn dịch hạch không còn khả năng gây bệnh trên chuột thực nghiệm. Kháng nguyên F1 có khả năng ức chế thực bào. Men phospholipase, ban đầu được gọi là độc tố gây độc cho chuột (murine toxin), giúp vi khuẩn tồn tại trong đường tiêu hoá bọ chét. Yếu tố hoạt hoá plasminogen giúp vi khuẩn lan rộng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ra từ vết bọ chét đốt. Như các vi khuẩn đường ruột khác, *Y. pestis* có nội độc tố có bản chất là lipopolysaccharide. Các yếu tố độc lực khác gồm: khả năng sinh sắc tố ở môi trường có hemin, khả năng hấp phụ đỏ công gô, khả năng thích ứng ở nồng độ calci thấp, khả năng sinh pesticin I và II (những chủng sinh pesticin I thường đi kèm với sinh các yếu tố gây tan tơ huyết và men coagulase).

Y. pestis là vi khuẩn nhiều vật chủ, có thể chia thành hai nhóm: động vật gậm nhấm và côn trùng. Hơn 300 loài động vật gậm nhấm có thể mắc bệnh dịch hạch. Ổ chứa trong tự nhiên của *Y. pestis* là các loài gậm nhấm hoang dại. Vi khuẩn có thể tồn tại hằng tháng trong đất ở hang động vật gậm nhấm sau khi chúng chết. Đường lây chủ yếu qua da do côn trùng đốt. Môi giới trung gian truyền bệnh chủ yếu là bọ chét, trong đó bọ chét chuột *Xenopsilla cheopis* đóng vai trò quan trọng nhất. Vi khuẩn dịch hạch cũng có thể lây qua da bị sây sát. Có thể lây từ người sang người do chấy rận đốt hoặc trực tiếp qua đường hô hấp khi tiếp xúc với những bệnh nhân thể phổi.

Bọ chét ký sinh trên chuột hút máu vật chủ mang theo vi khuẩn. Tại dạ dày của bọ chét, vi khuẩn tiếp tục nhân lên và tạo ra khối kết dính giống tơ huyết, dần dần làm tắc nghẽn ống tiêu hoá. Khi chuột chết, bọ chét đi tìm vật chủ mới để hút máu. Do ống tiêu hoá của bọ chét bị tắc nghẽn nên máu từ dạ dày bọ chét ứa ra, mang theo vi khuẩn gây nhiễm cho vật chủ mới.



Sơ đồ dây chuyền dịch tễ bệnh dịch hạch

Hai thể lâm sàng thường gặp trong bệnh dịch hạch ở người là thể hạch (thường gặp nhất) và thể nhiễm khuẩn huyết. Thể hạch tiên phát biểu hiện bằng sự sưng to của các hạch bạch huyết gần vết bọ chét đốt. Nhiễm khuẩn huyết có thể tiên phát hoặc thứ phát, và có thể dẫn đến viêm màng não, viêm phổi (thứ phát), viêm hạch (thứ phát). Thể phổi cũng có thể tiên phát khi bị lây qua đường hô hấp. Bệnh cảnh lâm sàng của dịch hạch thường rất nặng, thời kỳ chưa được điều trị bằng kháng sinh tỷ lệ tử vong của thể hạch từ 50–90%, của thể nhiễm khuẩn huyết và viêm màng não gần 100%.

2.2. Khả năng gây bệnh của *Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica*

Y. pseudotuberculosis và *Y. enterocolitica* xâm nhập vào cơ thể bằng đường tiêu hoá.

Những yếu tố độc lực của *Y. pseudotuberculosis* đã được biết đến gồm kháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nguyên pH 6, nội độc tố, khả năng thích ứng ở nồng độ calci thấp và khả năng sinh sắc tố. Vi khuẩn này gây viêm hạch mạc treo ruột, viêm hệ thống bạch huyết, có thể gây nhiễm trùng máu, viêm xương khớp, áp xe ổ bụng.

Hai yếu tố độc lực của *Y. enterocolitica* đã được nói đến là kháng nguyên Myf (giống với kháng nguyên pH 6 của *Y. pseudotuberculosis*) và độc tố ruột ST, giống với độc tố ST của *E. coli*. *Y. enterocolitica* chủ yếu gây tiêu chảy cấp ở trẻ em, nhất là trẻ dưới 5 tuổi, một số trường hợp có thể trở thành mạn tính. Vi khuẩn này còn có thể gây giả viêm ruột thừa (pseudoappendicitis), gặp ở thanh niên nhiều hơn.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH

3.1. Chẩn đoán bệnh dịch hạch

3.1.1. Chẩn đoán trực tiếp

Nhuộm soi

Nhuộm Gram hoặc nhuộm Wayson tiêu bản làm từ dịch chọc hạch. Quan sát hình thể và tính chất bắt màu điển hình của vi khuẩn dịch hạch (mục 1.1). Phương pháp này cho kết quả rất nhanh và có giá trị chẩn đoán cao.

Xác định kháng nguyên F1

Bệnh phẩm trước tiên được ủ với kháng thể kháng F1, sau đó thêm hồng cầu đã được gắn F1 trên bề mặt. Nếu không xảy ra hiện tượng ngưng kết hồng cầu là dương tính, trong bệnh phẩm có kháng nguyên F1. Phương pháp này có tính đặc hiệu cao và cho kết quả nhanh, nhưng có thể âm tính giả khi kháng nguyên F1 trong bệnh phẩm quá ít.

Miễn dịch huỳnh quang trực tiếp

Làm tiêu bản từ dịch chọc hạch, rồi nhuộm bằng kháng thể kháng dịch hạch gắn huỳnh quang, sau đó soi kính hiển vi huỳnh quang. Nếu thấy các vi khuẩn phát quang là dương tính. Phương pháp này cũng có tính đặc hiệu cao và cho kết quả nhanh, nhưng giá thành đắt.

Nuôi cấy phân lập

Bệnh phẩm là dịch chọc hạch, đờm, máu, dịch não tuỷ, tuỳ thể lâm sàng. Nếu điều tra dịch tễ học thì bệnh phẩm là dịch nghiền bọ chét hoặc phủ tạng chuột.

Những bệnh phẩm không bội nhiễm (dịch chọc hạch, nước não tuỷ) được cấy vào thạch máu. Những bệnh phẩm có bội nhiễm (đờm, dịch nghiền bọ chét hoặc phủ tạng) được cấy lên môi trường có chất ức chế chọn lọc. Bệnh phẩm máu được cấy vào canh thang.

Sau khi phân lập được vi khuẩn thuần thì tiến hành định danh. Thông thường chỉ cần căn cứ vào hình thái, tính chất nuôi cấy, tính chất hoá sinh (mục 1.1, 1.2 và 1.3). Một số trường hợp có thể tiêm truyền trên chuột.

Tiêm truyền động vật

Bệnh phẩm được tiêm dưới da chuột lang hoặc chuột nhắt trắng, riêng đờm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hoặc nhày họng, vì có nhiều loại vi khuẩn, thì không tiêm mà bôi vào mũi hoặc chà sát lên da. Nếu bệnh phẩm có vi khuẩn dịch hạch chuột thường chết sau 3–5 ngày, gan ứ máu, lách sưng to. Lấy gan, lách, hạch nghiền nhỏ làm tiêu bản tìm vi khuẩn. Nhiều trường hợp có thể dễ dàng quan sát được vi khuẩn trên tiêu bản làm từ vết ép phủ tạng hoặc máu chuột.

Tiêm truyền động vật có thể dương tính ngay cả khi trong bệnh phẩm có rất ít vi khuẩn. Phương pháp này còn được sử dụng để định danh vi khuẩn sau khi đã được phân lập.

3.1.2. Chẩn đoán gián tiếp

Sử dụng phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động để xác định kháng thể kháng F1 trong huyết thanh bệnh nhân. Nguyên lý của phản ứng này là: hồng cầu cừu, đã được gắn kháng nguyên F1 trên bề mặt, sẽ bị ngưng kết khi gặp kháng thể kháng F1 có trong huyết thanh.

Phương pháp chẩn đoán gián tiếp có tính đặc hiệu cao nhưng cho kết quả chậm, nên ít có ý nghĩa trong chẩn đoán bệnh, thường chỉ được sử dụng trong nghiên cứu dịch tễ học (tìm kháng thể kháng F1 trong huyết thanh người hoặc chuột).

3.2. Chẩn đoán bệnh do *Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica*

Phương pháp thường được sử dụng để chẩn đoán các bệnh do *Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica* là nuôi cấy phân lập. Bệnh phẩm được lấy là dịch chọc hạch, máu, phân... tuỳ bệnh (mục 2.2). Dịch chọc hạch được cấy lên thạch máu. Tiến hành cấy máu khi nghi nhiễm khuẩn huyết. Đối với những bệnh nhân tiêu chảy, tiến hành cấy phân như trong chẩn đoán các vi khuẩn đường ruột khác.

Định danh vi khuẩn nghi ngờ căn cứ vào các tính chất được nêu trong các mục 1.1, 1.2 và 1.3.

4. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

4.1. Điều trị

Y. pestis còn nhạy cảm với nhiều kháng sinh thông thường. Các kháng sinh có thể sử dụng điều trị bệnh dịch hạch như streptomycin, ampicillin, chloramphenicol, cotrimoxazole, ciprofloxacin, cephalothin. Tuy nhiên đã có một số công bố về các chủng *Y. pestis* kháng thuốc.

Y. pseudotuberculosis cũng còn nhạy cảm với nhiều kháng sinh thông thường như *Y. pestis.*

Y. enterocolitica có tỷ lệ kháng thuốc cao hơn hai vi khuẩn trên. Các cephalosporin thế hệ ba và các kháng sinh nhóm quinolone được chọn để điều trị nhiễm trùng do vi khuẩn này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.2. PHÒNG BỆNH

4.2.1. Phòng bệnh dịch hạch

Phòng bệnh không đặc hiệu

Diệt chuột và bọ chét là những biện pháp quan trọng nhất. Trong chống dịch, hai biện pháp này phải được thực hiện đồng thời, không được diệt chuột trước. Khi có hiện tượng chuột chết hàng loạt cần phun thuốc diệt bọ chét ngay.

Uống thuốc kháng sinh dự phòng cần được tiến hành khi dịch xảy ra, nhất là những người có nguy cơ nhiễm bệnh cao.

Đối với bệnh nhân, cần được chẩn đoán sớm và cách ly kịp thời, nhất là những người bị dịch hạch thể phổi.

Những vùng có dịch lưu hành phải thực hiện việc giám sát dịch tễ học.

Phòng bệnh đặc hiệu

Có hai loại vắc xin phòng dịch hạch là vắc xin chết và vắc xin sống giảm độc lực. Vắc xin chết cần được tiêm hai lần, có thể duy trì hiệu lực bảo vệ khoảng 6 tháng. Vắc xin sống giảm độc lực chỉ cần tiêm một lần, có thể duy trì hiệu lực bảo vệ từ 6 tháng đến 1 năm.

Vắc xin dịch hạch hiện nay chỉ tiêm cho những đối tượng có nguy cơ cao như dân sống trong vùng dịch, những người làm việc với vi khuẩn dịch hạch sống.

4.2.2. Phòng bệnh do Y. pseudotuberculosis và Y. enterocolitica

Vì những vi khuẩn này xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hoá nên các biện pháp phòng bệnh chủ yếu là đảm bảo an toàn thực phẩm và thực hiện vệ sinh ăn uống.

Chưa có vắc xin phòng bệnh do *Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica*.

MỘT SỐ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT GÂY NHIỄM TRÙNG CƠ HỘI THƯỜNG GẶP

E. coli, Shigella, Salmonella và *Yersinia* là những vi khuẩn đường ruột có tầm quan trọng nhất trong y học, chúng là những vi khuẩn gây bệnh "thực thụ"; riêng *E. coli* cũng là căn nguyên gây nhiễm trùng cơ hội thường gặp. Ngoài các vi khuẩn nói trên, còn có rất nhiều thành viên trong họ vi khuẩn đường ruột có khả năng gây bệnh ở người với các mức độ quan trọng khác nhau. Phần này giới thiệu về một số vi khuẩn đường ruột chủ yếu gây nhiễm trùng cơ hội, chúng thuộc vào những vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện thường gặp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1. *KLEBSIELLA*

Klebsiella là một trong những chi quan trọng của họ vi khuẩn đường ruột, được đặt theo tên nhà vi khuẩn học người Đức, Edwin Klebs (1834–1913). *Klebsiella* là một trong bốn chi thuộc tộc *Klebsielleae* (ba chi khác là *Enterobacter, Serratia* và *Hafnia*). Loài quan trọng nhất và cũng là đại diện điển hình của chi này là *K. pneumoniae*.

1.1. Đặc điểm sinh vật học

Klebsiella là trực khuẩn Gram âm, thường đứng thành đôi. Kích thước trung bình 0,3–1 × 0,6–6 µm. Không có lông nên không có khả năng di động. Có vỏ dày, kích thước có thể gấp 2–3 lần tế bào vi khuẩn *(Xem hình P31 ở Phụ bản)*. Vỏ của *Klebsiella* có bản chất là polysaccharide, với tính đặc hiệu kháng nguyên rất phong phú nhưng đều được tạo nên bởi một số ít loại monosaccharide: L–fructose, L–rhamnose, D–mannose, D–glucose, D–galactose, D–glucuronic acid hoặc D–galacturonic acid, một số chủng có thêm các nhóm O–acetyl và pyruvate. Vỏ được tổng hợp trong nguyên tương với sự kiểm soát của các gen trên nhiễm sắc thể hoặc plasmid, sau đó được vận chuyển ra ngoài. Vỏ có tính ưa nước. Một số vật liệu của vỏ có thể khuếch tán ra môi trường xung quanh thành polysaccharide tự do.

Các tính chất hoá sinh: *Klebsiella* lên men nhiều loại đường thường có sinh hơi, oxidase (–), catalase (+), citrate (+), VP và indole có thể (+) hoặc (–), ornithin decacboxylase (–), arginine decarboxylase (–), lysine decarboxylase (+), urease (+), có thể là lỏng gelatin, H_2S (–). Các tính chất hoá sinh để phân biệt *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter* và *Serratia* được nêu ở bảng 5.8, để phân biệt một số loài/loài phụ của *Klebsiella* được nêu ở bảng 5.9.

Bảng 5.8. Tính chất hoá sinh của *Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter* và *Serratia*

Tính chất	*Klebsiella*	*Citrobacter*	*Enterobacter*	*Serratia*
Di động	–	+	+	+
Indole	T	+	–	–
Đỏ methyl	T	+	–	T
Voges–Proskauer	T	–	+	+
Sinh H_2S	–	+	–	–
Arginine dihydrolase	–	+	T	–
Lysine decarboxylase	+	–	T	+
Ornithine decarboxylase	–	T	+	T
Gelatinase	–	–	+	+
Urease	+	T	T	+
Sinh acid từ:				
adonitol	+	T	T	T
inositol	+	–	T	+

+: > 90% chủng (+); T: thay đổi 10–90% chủng (+); –: < 10% chủng (+)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hiếu kỵ khí tuỳ ngộ. Phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Trên môi trường Endo khuẩn lạc có màu tím, kích thước khoảng 3 – 4 mm, dạng M, tuy nhiên có thể gặp một số khuẩn lạc dạng R *(Xem hình P32 ở Phụ bản).*

Chi *Klebsiella* gồm các loài: *K. pneumoniae, K. aerogenes, K. ozaenae, K. rhinoscleromatis, K. gramanulomatis, K. oxytoca, K. ornitholytica, K. planticola* và *K. terrigena.* Những nghiên cứu về sự tương đồng trong cấu trúc di truyền ADN cho phép xếp bốn loài *K. pneumoniae, K. aerogenes, K. ozaenae* và *K. rhinoscleromatis* thành các loài phụ (subspecies) thuộc loài *K. pneumoniae.* Ba loài *K. ornitholytica, K. planticola* và *K. terrigena* gần đây được xếp vào một chi mới là *Raoultella.*

Trong chi *Klebsiella*, *K. pneumoniae* có tầm quan trọng nhất trong y học. Loài này gặp ở tám nhóm kháng nguyên O của *Klebsiella* (1, 3–5, 7–9 và 12), trong đó O:1 thường gặp nhất. Dựa vào kháng nguyên vỏ *K. pneumoniae* được chia thành hơn 80 type huyết thanh khác nhau.

Bảng 5.9. Tính chất của một số loài/loài phụ trong chi *Klebsiella*

Tính chất	*K. pneumoniae* subsp.			*K. oxytoca*
	pneumoniae	*aerogenes*	*rhinoscleromatis*	
Sinh indole	–	–	–	+
Giáng hoá pectate	–	–	–	+
B–Galactosidase	+	+	–	+
Mọc ở 10°C	–	–	–	+
Sử dụng gentisate	–	–	–	+
Đỏ methyl	+	–	+	–
Voges–Proskauer	+	–	–	+
Urease	+	+	–	+
Lên men glucose sinh hơi	+	+	–	+
Mọc trong KCN	–	+	+	+
Citrate Simmons	+	+	+	+
Sinh acid từ:				
dulcitol	+	T	+	T
lactose	+	+	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	+	+

+: > 90% chủng (+); T: thay đổi 10–90% chủng (+); –: < 10% chủng (+)

1.2. Khả năng gây bệnh

Klebsiella có trong hệ vi khuẩn bình thường ở ruột người trưởng thành, với số lượng nhỏ (dưới 10^2 vi khuẩn/1 g phân), có thể gặp ở đường hô hấp trên một số

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

người. *Klebsiella* cũng là thành viên của hệ vi khuẩn bình thường ở nhiều loài động vật và phân bố rộng rãi ngoài môi trường (có công trình nghiên cứu cho thấy hơn 50% mẫu nước bề mặt phân lập được vi khuẩn này).

Klebsiella chủ yếu gây bệnh cơ hội, ở cộng đồng hoặc trong bệnh viện – là một trong các căn nguyên gây nhiễm trùng bệnh viện thường gặp.

Hầu hết các cơ quan đều có thể bị nhiễm trùng do *Klebsiella*. *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae* là một căn nguyên gây viêm phổi (như tên gọi) đã được nói đến từ lâu; bệnh thường gặp ở trẻ sơ sinh, tỷ lệ tử vong rất cao nếu không được điều trị sớm. Ngoài ra nó còn có khả năng gây nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não, viêm tai giữa, viêm xoang, nhiễm khuẩn đường tiết niệu, ap xe gan...

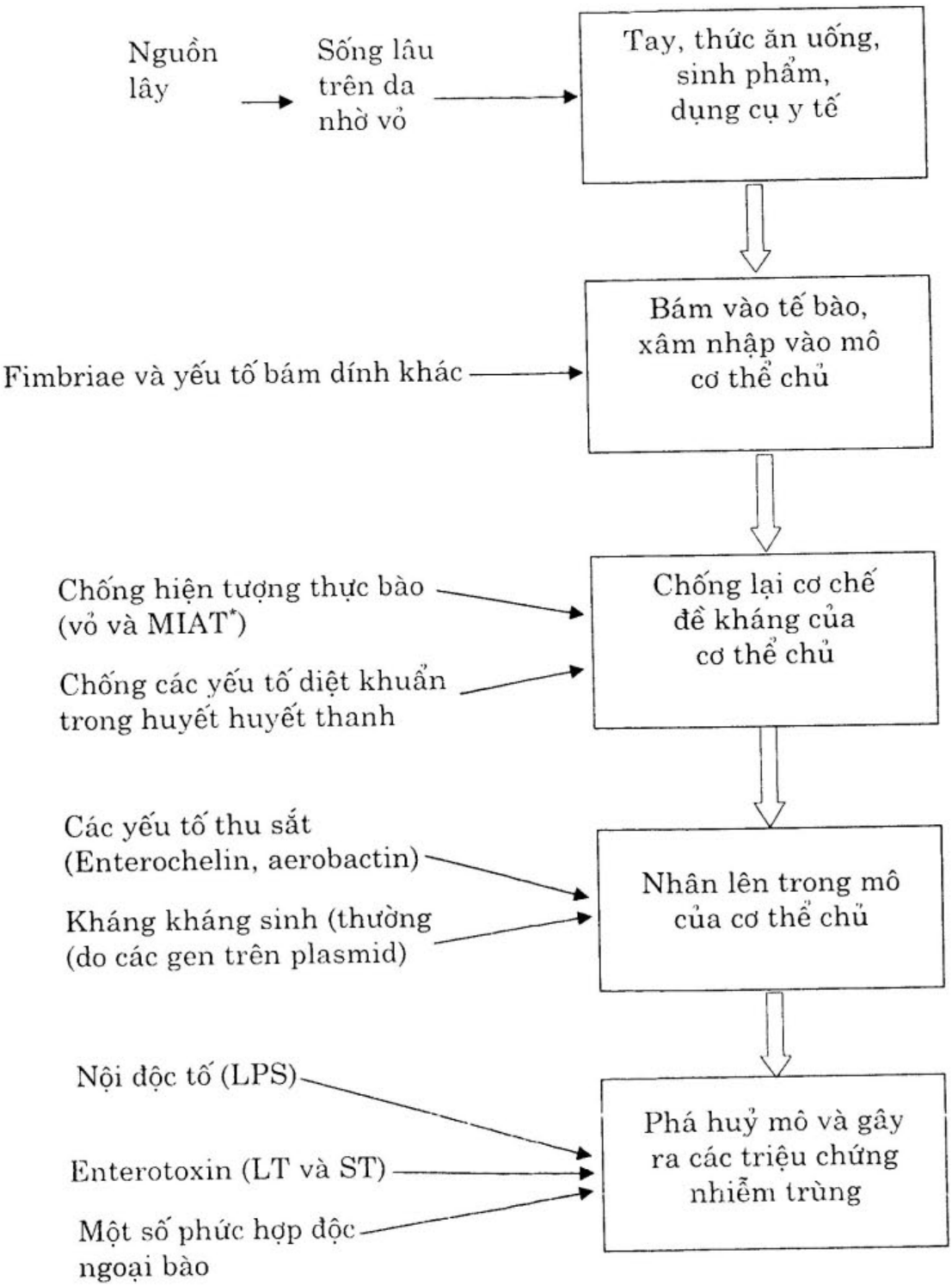
Nguồn lây *Klebsiella* chủ yếu từ đường ruột; ngoài ra có thể từ họng, da (da càng gần vùng đáy chậu mật độ vi khuẩn càng cao). Nhờ có vỏ giữ nước nên *Klebsiella* có thể sống trên da lâu hơn một số vi khuẩn đường ruột khác. Vi khuẩn có thể xâm nhập vào cơ thể bằng nhiều đường khác nhau như qua dụng cụ phẫu thuật, ống dẫn lưu, ống thông tiểu, qua thức ăn. Tay nhiễm khuẩn là phương tiện quan trọng trong lây truyền *Klebsiella*.

Klebsiella bám vào niêm mạc đường hô hấp và đường tiết niệu nhờ fimbriae và một yếu tố kết dính có khả năng ức chế mannose (mannose–inhibitable adhesin). Để có thể xâm nhập vào mô hoặc vào tuần hoàn, vi khuẩn phải vượt qua được hệ thống phòng ngự không đặc hiệu. Vỏ của vi khuẩn có tác dụng chống lại thực bào do có khả năng ức chế sự opsonin hoá bởi các kháng thể đặc hiệu và bổ thể. Vi khuẩn có vỏ dày hơn thì có độc lực cao hơn. Các chuỗi O–polysaccharide trên lipopolysaccharide cũng góp phần chống lại các yếu tố diệt khuẩn trong huyết thanh. Khi vi khuẩn đã vào tuần hoàn thì nó có thể tới bất kỳ nơi nào trong cơ thể. Một yếu tố quan trọng giúp *Klebsiella* nhân lên tại các mô là khả năng thu nhận sắt nhờ enterochelin (phenolte siderophore) và aerobactin (hydroxamate siderophore). Sự đề kháng kháng sinh giúp vi khuẩn tiếp tục tồn tại và nhân lên ở những bệnh nhân sử dụng kháng sinh không phù hợp.

Các độc tố gây ra huỷ hoại mô. Yếu tố độc lực chính của *Klebsiella* là nội độc tố LPS, nó có thể được giải phóng riêng rẽ hoặc dạng phức hợp với polysaccharide vỏ. *K. pneumoniae* còn có khả năng sinh ra hai loại độc tố ruột (chịu nhiệt và không chịu nhiệt) và bacteriocin (microcin E492) có tác dụng ức chế một số vi khuẩn khác và cảm ứng quá trình chết theo chương trình (apoptosis) của các tế bào chủ.

Sự huỷ hoại của mô trong nhiễm trùng *Klebsiella* do cả độc tố của vi khuẩn và hệ quả không mong muốn của sự đáp ứng của cơ thể, như các gốc oxy có tính độc do đại thực bào hoạt hoá bị chết giải phóng ra.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Sơ đồ cơ chế bệnh sinh của nhiễm trùng do *Klebsiella*

* MIAT = Mannose – inhibitable adhesin/phage T7 receptor

1.3. Chẩn đoán vi sinh

1.3.1. Nhuộm soi trực tiếp bệnh phẩm

Nhuộm Gram quan sát hình thể, tính chất bắt màu của vi khuẩn, có giá trị chẩn đoán sơ bộ, nhưng cũng chỉ đối với bệnh phẩm từ những nơi vốn vô trùng như dịch não tuỷ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1.3.2. Nuôi cấy phân lập

Klebsiella có thể mọc trên nhiều loại môi trường. Nhiễm trùng cơ hội do *Klebsiella* thường không có triệu chứng đặc trưng nên tuỳ loại bệnh phẩm mà chọn môi trường nuôi cấy thích hợp để có thể phân lập được cả những vi khuẩn khác cũng thường gặp trong cùng loại bệnh đó.

Chọn khuẩn lạc nghi ngờ, xác định *Klebsiella* theo tính chất được nêu ở bảng 5.8, xác định tên một số loài/loài phụ theo tính chất được nêu ở bảng 5.9.

1.4. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh

1.4.1. Điều trị

Klebsiella đã kháng lại nhiều loại kháng sinh thông thường. Cùng với việc sử dụng các cephalosporin thế hệ hai, thế hệ ba, đã nhanh chóng xuất hiện các chủng *K. pneumoniae* kháng cefuroxime, ceftazidime và cefotaxime. *K. pneumoniae* kháng thuốc có thể gây ra những vụ dịch trong bệnh viện, nhất là ở những đơn vị hồi sức tích cực. Các gen kháng thuốc của vi khuẩn này nằm trên cả nhiễm sắc thể và plasmid.

Việc chọn kháng sinh để điều trị nhiễm trùng do *Klebsiella* phải căn cứ vào thông tin cập nhật giám sát tính kháng thuốc, trong điều kiện cho phép thì nên dựa vào kết quả kháng sinh đồ.

Có thể sử dụng kháng thể kháng polysaccharide vỏ để điều trị và điều trị dự phòng nhiễm trùng do *Klebsiella* ở những bệnh nhân bỏng.

1.4.2. Phòng bệnh

Nguyên tắc trong phòng nhiễm trùng do *Klebsiella* là thực hiện các biện pháp ngăn ngừa nhiễm trùng bệnh viện nói riêng và nhiễm trùng cơ hội nói chung.

2. ENTEROBACTER

Chi *Enterobacter* được lập năm 1984 với sự đề xuất của Richard. Vi khuẩn đầu tiên của chi này được mô tả là *E. cloacae* (tên được đặt lại khi lập chi, ban đầu nó có tên là *Bacterium cloacae* và *Cloaca cloacae*).

2.1. Đặc điểm sinh vật học

Enterobacter là các trực khuẩn Gram (–). Kích thước trung bình 0,6–1,0 x 1,2–3,0 µm. Có lông ở xung quanh thân và có khả năng di động. Có thể có vỏ. Các tính chất hoá sinh: lên men glucose có sinh hơi, catalase (+), VP (+), ornithin decarboxylase (+), oxidase (–), indole (–), H_2S (–), đỏ metyl (–). Hiếu kỵ khí tuỳ ngộ. Nhiệt độ tối ưu là 30°C, nhưng hầu hết các chủng từ các bệnh phẩm lâm sàng có thể phát triển tốt ở nhiệt độ 37°C.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chi *Enterobacter* gồm 15 loài: *E. cloacae, E. aerogenes (K. mobilis), E. agglomerans (Pantoea agglomerans), E. gergoviae, E. sakazakii, E. cowanii, E. hormaechei, E. taylorae, E. asburiae, E. intermedius, E. amnigeus, E. dissolvens, E. kobei, E. pyrinus* và *E. nimipressuralis.* Chỉ có 8 loài đầu đã được xác định có vai trò gây bệnh ở người, trong đó *E. cloacae* và *E. aerogenes* được biết đến nhiều nhất, *E. cloacae* được chọn là đại biểu điển hình của chi này.

E. cloacae có 53 yếu tố káng nguyên O và 56 yếu tố kháng nguyên H. Nghiên cứu các chủng *E. cloacae* từ nhiều nguồn khác nhau cho thấy chúng có kiểu gen khác nhau mặc dù kiểu hình giống nhau.

Xấp xỉ 80% các chủng *E. aerogenes* có vỏ. Vỏ ở *Enterobacter* thường mỏng hơn ở *Klebsiella,* nhưng chúng có một số yếu tố kháng nguyên chung như K26, K59 và K68. *E. agglomerans* và *E. sakazakii* có khả năng sinh một loại sắc tố vàng khuếch tán ra xung quanh khi nuôi cấy trên môi trường đặc ở nhiệt độ 20°C.

2.2. Khả năng gây bệnh

Enterobacter thường có mặt trong đất, nước ngoài môi trường. *E. cloacae* và *E. aerogenes* có thể là thành viên trong hệ vi khuẩn bình thường ở ruột người và động vật.

Một số loài *Enterobacter* có thể gây nhiễm trùng bệnh viện, trong đó thường gặp nhất là *E. cloacae,* tiếp sau là *E. aerogenes. E. sakazakii* và *E. hormaechei* thường gây nhiễm trùng ở trẻ sơ sinh.

Đường lây truyền trong bệnh viện thường là ăn uống, truyền dịch, do tay bị nhiễm khuẩn. Các yếu tố độc lực và cơ chế gây bệnh của *Enterobacter* còn ít được nghiên cứu.

2.3. Chẩn đoán vi sinh

Hai phương pháp chẩn đoán vi sinh đối với *Enterobacter* là nhuộm soi và nuôi cấy.

Nhuộm soi trực tiếp bệnh phẩm chỉ có giá trị đối với loại bệnh phẩm lấy từ những vị trí vốn vô trùng.

Nuôi cấy trên môi trường phân lập thích hợp, xác định bằng các tính chất hoá sinh được nêu ở bảng 5.8. Tại các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng ở nước ta hiện nay thường chỉ xác định đến chi. Tính chất di động của *Enterobacter* được dùng để phân biệt với *Klebsiella.* Các tính chất không có các enzym lipase, Tween 80 esterasse, DNase được dùng để phân biệt với *Serratia.*

2.4. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh

2.4.1. Điều trị

Enterobacter kháng các kháng sinh nhóm beta–lactam do sinh beta–lactamase

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

được mã hoá bởi các gen trên plasmid; kháng các kháng sinh nhóm cephalosporin do sinh cephalosporinases, các enzym này được mã hoá trên nhiễm sắc thể.

Các kháng sinh còn có tác dụng tốt với *Enterobacter* là cefotaxime, ceftazidime, imipenem và ciprofloxacin.

2.4.2. Phòng bệnh

Nguyên tắc trong phòng nhiễm trùng do *Enterobacter* là thực hiện các biện pháp ngăn ngừa nhiễm trùng bệnh viện nói riêng và nhiễm trùng cơ hội nói chung.

3. *SERRATIA*

Serratia được Bizio mô tả lần đầu tiên năm 1823 trong cháo ngũ cốc bị chuyển thành màu đỏ, được xác định là sắc tố do vi khuẩn này sinh ra. *Serratia* là một trong bốn chi thuộc tộc *Klebsiellace* (ba chi khác là *Klebsiella*, *Enterobacter* và *Hafnia*).

3.1. Đặc điểm sinh vật học

Serratia là các trực khuẩn Gram âm, kích thước trung bình 0,5–0,8 x 0,9–2,0 µm. Hầu hết có lông xung quanh thân và có khả năng di động. Hầu hết không có vỏ. Có 21 yếu tố kháng nguyên thân (01–021) và 25 yếu tố kháng nguyên lông (H1–H25).

Hiếu kỵ khí tuỳ ngộ. Một số chủng có thể phát triển và sinh sắc tố prodigiosin màu dỏ trong khoảng nhiệt độ từ 20–30°C. Khuẩn lạc của những vi khuẩn này có thể đỏ hoàn toàn, đỏ ở trung tâm hoặc ở rìa xung quanh. Các tính chất hoá sinh chính là: catalase (+), oxidase (–), lên men đường thường sinh hơi, indole (–), VP thường dương tính, ornithin decarboxylase (+) ở một số loài, lecithinase (+), lipase (+), urease (+), gelatinase (+).

Chi *Serratia* có 10 loài, *S. marcescens, S. liquefaciens, S. rubidaea* (ban đầu có tên là *S. marinorubra*), *S. ficaria, S. fonticola, S. odorifera, S. entomophila, S. plymuthica, S. gramimesii* và *S. proteomaculans*, trong đó loài *S. marcescens* là đại biểu điển hình của chi *Serratia*.

3.2. Khả năng gây bệnh

Serratia phân bố rộng rãi ngoài môi trường (trong đất, nước, cây cỏ); có thể phân lập được từ phân một số loài gậm nhậm; và hiếm hơn từ phân người. Tại đơn vị chăm sóc tích cực nhi khoa, có thể phân lập được vi khuẩn này từ phân trẻ mới sinh nhưng ít khi tìm thấy từ những người mẹ hay nhân viên y tế. *Serratia* có sức đề kháng khá cao, có thể sống sót trong một số dung dịch tẩy uế, có thể phát triển ở nhiệt độ tương đối thấp. Đó là những tính chất giúp cho vi khuẩn này dễ lây nhiễm.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trong chi *Serratia*, ba loài *S. marcescens*, *S. liquefaciens* và *S. rubidaea* có liên quan đến nhiễm trùng ở người nhiều hơn, quan trọng nhất là *S. marcescens*. *Serratia* là vi khuẩn gây bệnh cơ hội, có thể gây nhiễm trùng ở cộng đồng, nhưng chủ yếu là gây nhiễm trùng bệnh viện.

Serratia có thể gây nhiễm trùng vết thương, nhiễm trùng đường tiết niệu, viêm phổi, nhiễm trùng huyết, viêm màng não... *Serratia* có thể gây hội chứng tã lót đỏ (red diaper syndrome) do sắc tố của *S. marcescens* trong phân trẻ nhỏ.

Cơ chế gây bệnh của *Serratia* chưa hoàn toàn sáng tỏ. Những yếu tố có liên quan đến độc lực gồm fimbriae, hemolysin, metalloprotease, các enzym sinh tổng hợp LPS. Fimbriae giúp vi khuẩn bám vào tế bào cơ thể chủ. Hemolysin gây tan máu giúp vi khuẩn thu nhận được hemoglobin và hem. Metalloprotease, một enzym ngoại tiết của *S. marcescens*, được chứng minh là có tính gây độc đối với tế bào. Prodigiosin của *Serratia*, có vai trò một tác nhân chống ung thư, không được coi là một yếu tố độc lực vì tới 80% các chủng phân lập trên lâm sàng không có khả năng sản sinh chất này.

3.3. Chẩn đoán vi sinh

Hai phương pháp xét nghiệm thường được sử dụng trong chẩn đoán *Serratia* là nhuộm soi trực tiếp và nuôi cấy phân lập, tương tự như với *Klebsiella* (xem mục 1.3).

3.4. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh

Nguyên tắc điều trị và phòng nhiễm trùng do *Serratia* tương tự như *Enterobacter* (xem mục 2.4).

4. *CITROBACTER*

Chi *Citrobacter* lần đầu tiên được lập vào năm 1932, nhưng sau nhiều thập kỷ vẫn chưa được các nhà vi khuẩn học hoàn toàn thống nhất. Theo phân loại của Ewing (1986) *Citrobacter* là chi duy nhất của tộc *Citrobactereae*. Mặc dù khả năng gây bệnh ở người của vi khuẩn này đã sớm được xác định, nhưng mức độ quan trọng trên lâm sàng mới được nghiên cứu gần đây và cơ chế gây bệnh thì còn ít được hiểu biết.

4.1. Đặc điểm sinh vật học

Citrobacter là trực khuẩn Gram âm, kích thước 1 x 2–6 µm. Có lông ở xung quanh thân và có khả năng di động. Thường không có vỏ. Lên men nhiều loại đường có sinh hơi, tất cả đều lên men lactose nhưng một số chủng lên men chậm. Các tính chất hoá sinh: catalase (+), oxidase (–); indole (+), đỏ methyl (+), H_2S (+), arginine dihydrolase (+), citrate Simmons (+), lysine (–).

Đại biểu điển hình của chi *Citrobacter* là loài *C. freundii*. Loài này lên men lactose

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chậm và một số chủng có kháng nguyên Vi. Có ít nhất 42 yếu tố kháng nguyên O trong đó có một yếu tố kháng nguyên chung gây ra phản ứng chéo với *E. coli* O157.

Chi *Citrobacter* gồm 11 loài: *C. freundii, S. koseri* (tên cũ là *C. diversus*), *C. amalonaticus, C. farmeri, C. youngae, C. braakii, C. gillenii, C. muraliniae, C. werkmanii, C. sedlakii và C. rodentium.*

4.2. Khả năng gây bệnh

Citrobacter có thể tìm thấy trong ruột người, động vật và phân bố rộng rãi ngoài môi trường. Vi khuẩn này dễ dàng thiết lập sự cư trú ở ruột của trẻ nhỏ, và khác với *Serratia* nó có thể là thành viên hệ vi khuẩn bình thường ở ruột mẹ và nhân viên y tế.

Citrobacter có thể gây nhiều bệnh nhiễm trùng bệnh viện khác nhau như nhiễm trùng vết thương, nhiễm trùng đường tiết niệu, viêm phổi, nhiễm trùng huyết, viêm màng não...

Cơ chế gây bệnh của *Citrobacter* còn ít được hiểu biết. Vi khuẩn bám vào tế bào chủ nhờ fimbriae. *C. rodentium* và một số chủng của *C. freundii* mang gen *eae* (enteropathogenic *E. coli* attaching and effacing) gây teo tế bào niêm mạc ruột, *C. freundii* sản xuất độc tố verotoxin 2 gây ra hội chứng xuất huyết urê huyết cao (HUS). *C. koseri* dễ bị nuốt bởi các đại thực bào nhưng vẫn có khả năng sống sót và nhân lên.

4.3. Chẩn đoán vi sinh

Nuôi cấy phân lập *Citrobacter* từ các bệnh phẩm khác nhau tuỳ bệnh. *Citrobacter* dễ mọc trên các môi trường phân lập thường dùng đối với vi khuẩn đường ruột ở các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng. Định danh dựa vào các tính chất được trình bày ở bảng 5.8. Cần lưu ý phân biệt với *Salmonella* và *E. coli.*

4.4. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh

4.4.1. Điều trị

Lựa chọn kháng sinh điều trị dựa vào kết quả kháng sinh đồ là tốt nhất. Nếu không có điều kiện làm kháng sinh đồ, những kháng sinh được ưu tiên lựa chọn thường là ciprofloxacin, imipenem, amikacin.

4.4.2. Phòng bệnh

Chủ yếu là thực hiện các biện pháp ngăn ngừa nhiễm trùng cơ hội nói chung và nhiễm trùng bệnh viện nói riêng

5. *PROTEEAE*

Tộc *Proteeae* gồm ba chi: *Proteus, Providencia* và *Morganella.*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.1. Đặc điểm sinh vật học

Proteus là các trực khuẩn Gram âm, có lông ở xung quanh thân và có khả năng di động. Có khả năng lên men một số loại đường có sinh hơi. Không lên men lactose. Chúng có khả năng khử amin đối với phenylalanine và tryptophan. Các thử nghiệm hoá sinh khác: oxidase (–), phenylalanine (+), urease (+) trừ *Providencia*, H_2S (+) trừ *P. penneri* (–).

Trên môi trường đặc, *Proteus* thường không tạo thành khuẩn lạc mà lan khắp bề mặt, nhiều khi trông như những lớp sóng đồng tâm *(Xem hình P34 ở Phụ bản)*. Tính chất này gây cản trở cho việc phân lập các vi khuẩn gây bệnh khác. Trên môi trường lỏng tạo thành màng trên bề mặt.

Proteus có khả năng gây bệnh ở người gồm 4 loài: *P. vulgaris, P. mirabillis, P. morganii* và *P. rettgeri*. Đại biểu điển hình của *Proteus* là loài *P. vulgaris*. Cách phân loại này được thừa nhận rộng rãi. Tuy nhiên một số tác giả xếp *P. vulgaris* và *P. mirabilis* vào chung một loài có tên là *P. hauseri*. Gần đây trên cơ sở những nghiên cứu sâu về sinh học phân tử, có hai đề xuất trong phân loại *Proteus*: 1) lập chi *Morganella,* loài *Proteus morganii* đổi thành *Morganella morganii;* chia *P. vulgaris* thành 3 nhóm: BG 1 (Bio Group 1) với tên là *P. penneri*, BG 2 với tên là *P. vulgaris* và BG 3 với tên là *P. hauseri*. Tính chất của các loài này được nêu ở bảng 5.10.

Bảng 5.10. Tính chất của một số thành viên trong chi *Proteus* và *M. morganii*

Tính chất	*P. mirabilis*	*P. vulgaris*			*M. morganii*
		BG 1	BG 2	BG 3	
Indole	–	–	+	+	+
Citrate	T	–	–	–	–
H_2S	+	T	+	+	–
Urease	+	+	+	+	+
Ornithine decarboxylase	+	–	–	–	+
Gelatinase	+	T	+	+	–
Lipase	+	T	T	T	–
Lan hình sóng	+	+	+	+	–
Mannose	–	–	–	–	+
Maltose	–	+	+	+	–
Xylose	+	+	+	+	–
Salicin	–	–	+	–	–
Inositol	–	–	–	–	–
Adonitol	–	–	–	–	–
Arabitol	–	–	–	–	–
Trehalose	+	T	–	T	T
Rhamnose	–	–	–	–	–
Aesculin hydrolysis	–	–	+	–	–

BG 1: *P. penneri*; BG 2: *P. vulgaris*; BG 3: *P. hauseri*; +: > 90% chủng (+); T: thay đổi 10–90% chủng (+); –: < 10% chủng (+)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Dựa vào kháng nguyên O và H, *Proteus* được chia thành 100 type huyết thanh. Một số type huyết thanh (OX2, OX19, và OXk) có cấu trúc kháng nguyên giống *Rickettsia*, chúng được dùng làm kháng nguyên để chẩn đoán huyết thanh học bệnh do *Rickettsia* gây ra.

Chi *Providencia* có năm loài: *P. alcalifaciens, P. rustiganii, P. heimbachae, P. stuarti* và *P. rettgeri*. Tính chất của các loài này được nêu ở bảng 5.11.

Bảng 5.11. Tính chất của các loài trong chi *Providencia*

Tính chất	*P. alcalifaciens*	*P. rustiganii*	*P. heimbachae*	*P. stuarti*	*P. rettgeri*
Indole	+	+	–	+	+
Citrate	+	T	T	+	+
H_2S	–	–	–	–	–
Urease	–	–	–	T	+
Ornithine decarboxylase	–	–	–	–	–
Gelatinase	–	+	–	–	–
Lipase	–	–	–	–	–
Lan hình sóng	–	–	–	–	–
Mannose	+	+	+	+	+
Maltose	–	–	–	–	–
Xylose	–	–	–	–	–
Salicin	–	–	–	–	T
Inositol	–	–	T	+	+
Adonitol	+	–	–	–	+
Arabitol	–	–	+	–	+
Trehalose	–	–	–	+	–
Galactose	–	+	+	+	+
Rhamnose	–	–	+	–	T
Aesculin hydrolysis	–	–	–	–	T

+: > 90% chủng (+); T: thay đổi 10–90% chủng (+); –: < 10% chủng (+)

5.2. Khả năng gây bệnh

Proteeae phân bố rộng rãi trong tự nhiên, có thể phân lập được từ phân nhiều loài động vật và từ phân người bình thường, đôi khi từ hốc tự nhiên như ở ống tai ngoài. Chúng là vi khuẩn gây bệnh cơ hội, chủ yếu là gây nhiễm trùng bệnh viện. Trong các nhiễm khuẩn do chúng gây ra, nhiễm khuẩn đường tiết niệu chiếm tỷ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

lệ cao nhất. Ngoài ra chúng có thể gây viêm tai giữa, nhiễm khuẩn huyết, viêm mủ vết thương.

5.3. Chẩn đoán vi sinh

Nuôi cấy phân lập *Proteeae* từ các bệnh phẩm khác nhau tuỳ từng bệnh. Nhận định sơ bộ dựa vào tính chất mọc lan trên môi trường đặc và hình thái. Định danh chi bằng một số tính chất hoá sinh nêu ở mục 5.1. Định danh loài bằng các tính chất hoá sinh được nêu ở bảng 5.10 và 5.11.

5.4. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh

5.4.1. Điều trị

Proteus còn khá nhạy cảm với các kháng sinh nhóm beta–lactam. Nhiễm trùng do *Proteus* nói chung có thể điều trị bằng ampicillin và các cephalosporin thế hệ cũ như cephradine, cephalexin. Nhiễm trùng đường tiết niệu do *Proteus* thường được điều trị bằng trimethoprim và fluoroquinolone.

Providencia và *Morganella* có tỷ lệ những chủng kháng thuốc cao hơn *Proteus*. Kháng sinh thường được sử dụng để điều trị hai loại vi khuẩn này là các cephalosprin phổ rộng.

5.4.2. Phòng bệnh

Thực hiện các biện pháp ngăn ngừa nhiễm trùng bệnh viện, đặc biệt các biện pháp phòng nhiễm trùng đường tiết niệu – chiếm tỷ lệ cao nhất trong các bệnh do *Proteus* gây ra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Huy Chính, Đàm Viết Cương, Ninh Đức Dự, Đinh Hữu Dung, Bùi Khắc Hậu, Nguyễn Hữu Hồng, Lê Hồng Hinh, Lê Thị Oanh, Lê Văn Phủng, Nguyễn Thị Tuyến và Nguyễn Thị Vinh. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001.
2. Lê Huy Chính, Đinh Hữu Dung, Bùi Khắc Hậu, Lê Hồng Hinh, Lê Thị Oanh, Lê Văn Phủng, Nguyễn Thị Tuyến, Nguyễn Vũ Trung, Nguyễn Thị Vinh. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. Hoàng Thuỷ Long. Kỹ thuật xét nghiệm Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Văn hoá. 1991.
4. Barow A and Feltham RKA. Cowan and Steel' Mannual for Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press. 1993.
5. Blows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. 1991.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

6. Cowan MK and Talaro KP. Microbiology – A system approach. McGraw–Hill Companies, Inc. 2006.
7. Frank SA. Immunology and Evolution of Infectious Disease. Princeton University Press. 2002.
8. Gillespie SH and Hankey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Son, Ltd. 2nd ed. 2006.
9. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical Microbiology. Mosby, Inc. 1998.
10. Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Pearsall NN, Nester MT. Microbiology – A human perspective. McGraw–Hill Companies, Inc. 2004.
11. Sleigh JD, Timbury MC. Note on Medical Bacteriology. Churchill Livingstone. 1998.
12. Vandepitte J, Engbaek K, PilotP P & Heuck C. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. 1991.

HỌ VIBRIONACEAE

Họ *Vibrionaceae* được chia thành năm chi: *Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas, Photobacterium* và *Enhydrobacter*. Trong đó ba chi có tầm quan trọng trong y học là *Vibrio, Aeromonas* và *Plesiomonas*.

Vibrionaceae là trực khuẩn Gram âm, hiếu kỵ khí tuỳ tiện, không đòi hỏi chất dinh dưỡng đặc biệt. Lên men glucose, oxidase (+), catalase (+), chuyển nitrat thành nitrit. Vi khuẩn di động nhờ một lông ở đầu trong môi trường lỏng, nhưng một số loài có lông rải rác (dạng vành lông rung) trên môi trường đặc. Cơ chế trao đổi chất của vi khuẩn là oxy hoá và lên men. *Vibrionaceae* cư trú ở nước mặn hoặc nước ngọt, có một vài loài gây bệnh, trong đó có loài *Vibrio cholerae* là tác nhân gây bệnh tả. Hầu hết các vi khuẩn phát quang sinh học thuộc họ này, điển hình là các loài cộng sinh với các động vật dưới biển sâu.

VIBRIO

1. GIỚI THIỆU

Vibrio (phẩy khuẩn) là vi khuẩn Gram âm, hiếu kỵ khí tuỳ tiện, lên men đường, oxidase (+) và phát triển tốt trên môi trường nuôi cấy nhân tạo. Các vi khuẩn này thuộc hai nhóm: nhóm phân lập từ mẫu lâm sàng và nhóm Vibrios ở

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

bờ biển, tuy nhiên sự khác nhau không rõ ràng. Vibrios phân bố rất rộng rãi trong môi trường, trong đó có *Vibrio cholerae* gây bệnh tả và *V. parahaemolyticus* gây ngộ độc thực phẩm được quan tâm và nghiên cứu rộng rãi. Thực tế còn có nhiều Vibrios khác không liên quan tới bệnh ở người.

Vibrios phát triển tốt trong môi trường nuôi cấy có muối (NaCl). Nhu cầu natri (Na^+) không hạn chế đối với Vibrios có nguồn gốc ở biển. Tuy nhiên, nhiều chủng phân lập từ các mẫu lâm sàng được cho là có nguồn gốc từ biển. Các chủng này phân lập từ vụ ngộ độc thực phẩm do ăn hải sản và từ nhiễm trùng vết thương do nhiễm khuẩn từ các sinh vật ở biển.

1.1. Các *Vibrio cholerae* gây bệnh tả: *V. cholerae* O1 và *V. cholerae* O139

Hầu hết các chủng *V. cholerae* phân lập từ bệnh nhân tả thuộc nhóm huyết thanh O1. Nhóm huyết thanh O1 được chia làm 3 type huyết thanh: Inaba, Ogawa và Hikojima (hiếm gặp) và 2 type sinh vật: cổ điển (classical) và El Tor. Trong vụ dịch, chủng *V. cholerae* O1 có thể thay đổi type huyết thanh giữa chủng Ogawa và chủng Inaba do đột biến. *V. cholerae* O139 gây dịch tiêu chảy rất dữ dội, có tính chất hoá sinh chi *V. cholerae* O1, nhưng không ngưng kết với kháng huyết thanh O1. Đại dịch tả thứ 7 do type sinh vật El Tor gây ra, type sinh vật cổ điển hiện nay hiếm gặp.

Cần lưu ý: không phải tất cả các chủng O1 đều gây bệnh tả.

1.2. Các phẩy khuẩn không gây bệnh tả (Non–Cholera Vibrios)

Non–Cholera Vibrios tìm thấy trong môi trường nước ở khắp nơi trên thế giới và có xu hướng xuất hiện ở bờ biển ấm với nhiệt độ nước khoảng 18°C. Chúng còn được phát hiện ở các loại hải sản như sò, hến, đặc biệt là sò. Chỉ có một số loài *V. cholerae* liên quan tới bệnh ở người, trong đó có ý nghĩa nhất là *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus* và *V. vulnificus*. Các vi khuẩn này cư trú tự nhiên ở môi trường nước có thể gây ngộ độc thực phẩm và đe doạ sức khoẻ con người. Nhóm N.A.G (Non Aglutinable Vibrios) có thể gây tiêu chẩy nhẹ, lẻ tẻ và không thành dịch.

Vibrio parahaemolyticus

V. parahaemolyticus là một trong những nguyên nhân quan trọng gây ngộ độc thực phẩm do ăn hải sản sống hoặc chưa nấu kỹ, với các triệu chứng nhiễm trùng đường ruột và tiêu chảy cấp tính. Triệu chứng gồm tiêu chảy (có thể có máu), đau bụng, nôn và sốt. Một số trường hợp có triệu chứng giống bệnh lỵ. *V. parahaemolyticus* còn gây nhiễm trùng vết thương nguy hiểm và nhiễm trùng huyết.

Các phẩy khuẩn khác không gây bệnh tả (Other Non–cholera Vibrios)

Gồm: *V. alginolyticus*, *V. damsela*, *V. fluvialis* và *V. metschnikovii* là những

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

vi khuẩn gây nhiễm trùng cơ hội. Nhiễm trùng do các vi khuẩn này không nhiều, liên quan tới nhiễm trùng vết thương, chấn thương và nhiễm trùng tai do tiếp xúc với nước bị nhiễm khuẩn. *V. fluvialis* còn gây nhiễm trùng đường ruột cơ hội nhưng hiếm gặp.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

Vi khuẩn hình que hơi cong, có kích thước 0,5 x 3 µm, không sinh nha bào. Vi khuẩn đứng một mình hoặc tập hợp lại thành hình chữ S hoặc hình xoắn ốc. Di động do có một lông ở đầu. Một vài loài có lông dạng vành lông rung trong môi trường đặc. Hiếu khí hoặc hiếu kỵ khí tùy tiện. Lên men đường, không sinh hơi. *Vibrio* sinh các enzym ngoài tế bào gồm: amylase, chitinase, DNase, gelatinase, lecithinase và lipase. *Vibrio* phát triển trong môi trường nước khoáng đơn giản, một số chủng cần muối cho sự phát triển, nồng độ NaCl tối ưu 1–3%. Nhiệt độ tối ưu từ 18 – 37°C và pH từ 6 – 9. Nhạy cảm với O/129 (2,4-diamino-6, 7–diisopropylpterdine).

2.1. *V. cholerae*

Tên khoa học: *Vibrio cholerae* Pacini 1854

Chủng mẫu: ATCC 14035

Hình thái cấu trúc

V. cholerae bắt màu Gram âm. Vi khuẩn có hình cong như dấu phẩy nên còn gọi là *Vibrio* comma, khi nuôi cấy lâu ngày có thể có nhiều hình dạng. *V. cholerae* không có vỏ, không sinh nha bào, có một lông ở đầu và có khả năng di động mạnh. Kích thước trung bình 2–4 x 0,3–0,6 µm. Khác với vi khuẩn đường ruột, *V. cholerae* có khả năng sinh indophenol oxidase và catalase, mọc dễ trong môi trường kiềm (pH từ 9–9,6) và rất nhạy cảm với acid.

Tính chất nuôi cấy

V. cholerae rất hiếu khí, có thể phát triển trong trong môi trường kỵ khí có glucose. Phát triển nhanh trong nước peptone kiềm, sau 3–4 giờ đã mọc, sau 6–8 giờ thành váng trên bề mặt môi trường. Trên môi trường thạch kiềm, sau 18 giờ vi khuẩn tả có khuẩn lạc trong suốt, ướt, tròn, bờ đều. Trên môi trường TCBS khuẩn lạc có màu vàng vì lên men saccharose.

Những kháng nguyên chủ yếu của *V. cholerae* O1

Kháng nguyên lipopolysaccharide (LPS) của thành tế bào vi khuẩn và độc tố tả (Cholera toxin – CT) là những kháng nguyên quan trọng. Tính miễn dịch kháng vi khuẩn chủ yếu do kháng thể kháng LPS đảm nhiệm, một số kháng thể kháng các protein khác của *V. cholerae* O1 cũng có vai trò đáng kể. Các protein bề mặt và các protein tiết (do *toxR* điều hoà), đặc biệt là TcpA (kháng nguyên pili

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

đồng điều hoà độc tố) và BS (tiểu đơn vị B của độc tố tả) được coi là các kháng nguyên sinh miễn dịch mạnh.

2.2. *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus là trực khuẩn Gram âm, có hình cong như dấu phẩy. Là vi khuẩn hiếu khí tuỳ tiện, không có nha bào, có phản ứng oxidase (+), di động nhờ có lông ở đầu. *V. parahaemolyticus* có thể phát triển ở nhiệt độ từ 5 – 43°C, phát triển tốt ở nhiệt độ 37°C, pH tối ưu 7,8 – 8,6. Phát triển ở nồng độ muối từ 0,5 – 10%, nồng độ muối tối ưu 3%. Có thể sống ở nước đá, số lượng vi khuẩn giảm từ 10–100 lần. *V. parahaemolyticus* bị bất hoạt ở 65°C/10 phút, chết ở nhiệt độ 0–5°C.

V. parahaemolyticus có ba loại kháng nguyên H, O, và K. Kháng nguyên H có ở tất cả các chủng nhưng ít có giá trị trong phân loại type huyết thanh. Kháng nguyên K (kháng nguyên vỏ) bị huỷ ở nhiệt độ 100°C/1 hoặc 2 giờ. Kháng nguyên O (kháng nguyên thân rất bền với nhiệt độ). Có 12 nhóm kháng nguyên O và khoảng 65 type kháng nguyên K.

2.3. *Vibrio vulnificus*

V. vulnificus cần muối cho sự phát triển. *V. vulnificus* gồm 3 type sinh học, type 1 thường phân lập được ở bệnh nhân và môi trường, có indole và ODC (+). Type 2 chỉ phát hiện được ở lươn, có indole và ODC (–).

2.4. *Vibrio mimicus*

V. mimicus có thể phát triển ở môi trường không có muối, có một số tính chất khác với *V. cholerae*: không lên men đường saccharose, VP (+) và kháng polymyxin B.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. *V. cholerae*

Cơ chế gây bệnh

Vi khuẩn tả sau khi qua hàng rào dịch vị của dạ dầy, chúng đến tế bào biểu mô ruột non nhờ khả năng di động và hoá ứng động của vi khuẩn tả. Nhờ các men ngoại tiết, *V. cholerae* xâm nhập vào lớp nhày của niêm mạc ruột, sau đó "bám dính" lên bề mặt của tế bào biểu mô ruột nhờ các yếu tố bám dính. Chúng nhân lên trong lớp nhày của niêm mạc ruột và sinh ra độc tố tả. Độc tố tả (CT, cholera toxin) gồm 2 phần (tiểu đơn vị) A và B. Ganglioside GM1 là thụ thể ở màng tế bào dành cho độc tố tả. Tiểu đơn vị B của độc tố gắn vào GM1, mở đường cho tiểu đơn vị A tác động vào nơi điều tiết adenylate cyclase bên trong tế bào. Quá trình hoạt hoá này dẫn tới sự tăng cAMP, gây thoát nước và điện giải, đồng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thời ngăn cản sự hấp thu nước và natri gây tiêu chảy cấp và mất cân bằng điện giải *(Xem hình P35 ở Phụ bản)*.

Các vi khuẩn tả nào sinh ra CT mới có khả năng gây dịch tả. Hầu hết các chủng vi khuẩn tả trong các vụ dịch đều có độc tố tả, chủng không có độc tố sẽ không gây dịch mà chỉ gây các trường hợp tiêu chảy lẻ tẻ. Vi khuẩn tả rất nhạy cảm với acid nên cần liều lớn để gây bệnh. Bệnh nhân tả có thể tiết 20 lít dịch/ngày với 10^8 vi khuẩn /ml.

Đường truyền nhiễm

Nhiễm trùng ở người không xảy ra nếu môi trường sinh thái quan trọng của *V. cholerae* bị loại bỏ và vi khuẩn không tồn tại được. Vi khuẩn tả có thể tồn tại và phát triển ở môi trường nước khác nhau, liên quan tới các động thực vật thuỷ sinh, các rong rêu hải tảo, độc lập với người bệnh. Có thể tìm thấy vi khuẩn dạng biofilm ở dưới mặt nước có khả năng xâm nhập vào các động thực vật thuỷ sinh, các rong rêu hải tảo và liên quan tới hệ vi sinh vật trong môi trường nước. Điều này giải thích sự xuất hiện dịch tả liên quan với thời tiết (mùa) ở các vùng dịch tả lưu hành. Nước và thực phẩm bị nhiễm trùng cũng đóng vai trò quan trọng trong truyền bệnh tả.

Liều nhiễm trùng

Nghiên cứu trên người tình nguyện cho thấy liều nhiễm trùng lần đầu ở người khoẻ mạnh lớn hơn nhiều so với bệnh nhân trong vụ dịch. Sau khi dùng bicarbonate trung hoà acid dịch vị dạ dày, liều nhiễm trùng giảm từ 10^8 xuống 10^5.

Các yếu tố độc lực

Các nhà khoa học đã chứng minh, trong bệnh tả, niêm mạc ruột non không bị tổn thương, các yếu tố độc lực của vi khuẩn tả có vai trò gây bệnh quan trọng. Mucinase là yếu tố độc lực chủ yếu phá huỷ niêm mạc ruột. Các chủng *V. cholerae* có khả năng gây bệnh tả đều có các gen độc lực cần thiết: CT, TCP (toxin – coregulated pilus), yếu tố xâm nhập, ToxR, protein đồng điều hòa sự biểu hiện CT và TCP. Các gen độc lực có thể tìm thấy ở các chủng vi khuẩn tả ở môi trường.

Độc tố tả (Cholera toxin – CT)

CT là yếu tố độc lực quan trọng nhất của vi khuẩn tả. CT được mã hoá bởi thực khuẩn thể CTXΦ dạng sợi ly giải, như một prophage trong chromosome của vi khuẩn. Genom CTXΦ gồm hai vùng có chức năng khác nhau: (i) Nhân có kích thước 4,6–kb, mã hoá CT và các protein mã hoá gen cấu trúc khác và (ii) Vùng RS2 có kích thước 2,5–kb, mã hoá các chức năng điều hoà, sao chép và tích hợp của genom CTXΦ. Các chủng không sinh CT sẽ không gây bệnh ở người. Các chủng này có thể gây tiêu chảy nhẹ do các độc tố khác.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Độc tố tả gồm có 2 phần (tiểu đơn vị) A và B. Phần A là tiểu đơn vị enzym và phần B gồm 5 đơn vị nhỏ đồng dạng hay gọi là tiểu đơn vị kết hợp. Trọng lượng phân tử của tiểu đơn vị A là 27 kDa và mỗi đơn vị nhỏ của tiểu đơn vị B là 11,7 kDa. Các gen mã hoá các tiểu đơn vị độc tố tả nằm trong cùng một operon. Các gen này nằm trong hệ thống điều hoà phối hợp, hệ thống này điều khiển sự biểu hiện của TCP và các yếu tố độc lực khác. Sự biểu hiện của các yếu tố độc lực này được điều chỉnh theo tác động của môi trường. Sự điều hoà môi trường của hệ thống này được điều chỉnh bởi protein toxR ở màng bào tương.

Mặc dù hệ thống điều hoà chưa được hiểu chi tiết đầy đủ, nhưng chắc chắn rằng khi *V. cholerae* định cư ở ruột thì độc tố được sinh ra. Các tiểu đơn vị A và B được sinh ra riêng biệt, sau đó được lắp ráp trong bào tương của vi khuẩn. TcpG là chaperon có thể tham gia vào quá trình này và quá trình lắp ráp pili đồng điều hoà độc tố. Sau khi lắp ráp, CT được vi khuẩn tiết ra và chuyển tới tế bào chất.

Pili đồng điều hoà độc tố (TCP)

Sự gắn hoặc bám dính vào niêm mạc ruột là bước cần thiết trong cơ chế độc lực của các vi khuẩn gây bệnh ở ruột. *V. cholerae* sinh ra pili và yếu tố ngưng kết hồng cầu (haemagglutinin) có vai trò quan trọng trong độc lực của vi khuẩn. Nhưng sự có mặt các yếu tố này không giống nhau ở các chủng độc. Pili được nhìn thấy rõ khi chúng phát triển trên môi trường đặc. Các nghiên cứu thử thách ở người và động vật đã chứng minh TCP, pilus type IV là yếu tố quan trọng cần thiết cho *V. cholerae* định cư ở ruột và điều hoà sự chuyển động các ion, khi điều kiện môi trường phù hợp gây nên sự sao chép các gen độc lực. TCP giúp *V. cholerae* gắn vào tế bào niêm mạc như thế nào vẫn chưa được hiểu đầy đủ. Tuy nhiên, vai trò quan trọng của các yếu tố độc lực đã được chứng minh trên người tình nguyện: Các chủng không sinh TCP là chủng không độc.

Các yếu tố độc lực khác

Zona occludens toxin (ZOT): phá huỷ các điểm nối kín giữa các tế bào niêm mạc. Hiệu quả làm tăng diện tích bề mặt niêm mạc bị mất nước và điện giải.

Accessory cholera enterotoxin (ACE) làm tăng vận chuyển ion qua màng tế bào, góp phần gây tiêu chảy.

Các protein ZOT và ACE có các chức năng tế bào khác. ACE liên quan tới sự tiết và quá trình lắp ráp phage, ZOT cần cho quá trình lắp ráp CTXΦ.

V. cholerae sinh ra verotoxin tương tự như độc tố sinh ra bởi *Shigella dysenteriae* 1. *V. cholerae* còn sinh ra yếu tố ly giải hồng cầu (haemolysin). Vai trò gây bệnh tả của các độc tố này chưa được hiểu rõ. Các loại độc tố khác do *V. cholerae* sinh ra phản ánh khả năng sinh ra một số enzym ở ngoài tế bào. Các enzym này rất quan trọng đối với vi khuẩn ở môi trường ngoài đường ruột như

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các hệ thống nước, quần thể vi khuẩn có màng bọc (biofilm), vi sinh vật và các động thực vật thuỷ sinh. Sự sản xuất các enzym ngoài tế bào và các độc tố giúp cho các sinh vật tiêu hoá các chất và hấp thu các chất dinh dưỡng.

Vi khuẩn tả đã được giải trình tự gen. *V. cholerae* O1 type sinh vật El Tor gồm 2 chromosome, một chromosome lớn có kích thước 2.961.146 bp và một nhỏ có kích thước 1.072.314 bp. Hầu hết các gen sinh trưởng và có khả năng gây bệnh nằm ở chromosome lớn, các thành phần ở chromosome nhỏ cần thiết cho sự điều hoà và trao đổi chất. Vai trò của hai chromosome vẫn tiếp tục được các nhà khoa học nghiên cứu. Có thể các gen ở chromosome lớn (chrI) thích ứng cho vi sinh vật phát triển ở ruột người, trong khi các gen ở chromosome nhỏ (chrII) cần thiết cho sự tồn tại của chúng ở môi trường.

3.2. *V. cholerae* Non-O1, Non-O139 (Non-choleraVibrios, Non-O1 *V. cholerae*)

Một số chủng sinh CT và ZOT. Nhiều chủng khác sinh yếu tố ly giải tế bào (cytolysins) không giống trong bệnh tả. Một số chủng sinh ra độc tố giống như độc tố của *Shigella* (shigella-like toxin) và độc tố tương tự như độc tố chịu nhiệt ST của *E. coli*. Các chủng khác không sinh độc tố ruột có thể không gây bệnh.

V. parahaemolyticus

Các yếu tố cần thiết cho khả năng gây bệnh chưa được chứng minh đầy đủ. Tuy nhiên, *V. parahaemolyticus* sinh độc tố ruột *Shigella-like toxin* nhưng mối liên quan với các triệu chứng chưa rõ ràng. Yếu tố ly giải hồng cầu (haemolysin) hoạt động như một yếu tố độc lực. Các nghiên cứu cho thấy hệ thống điều hoà của *V. parahaemolyticus* tương tự hệ thống toxR của *V. cholerae*.

V. parahaemolyticus gây nhiễm trùng đường ruột cấp tính ở người do ăn hải sản bị nhiễm khuẩn, thường là các loại ốc sò sống hoặc không được nấu chín. Nhiễm trùng vết thương có thể xuất hiện nhưng ít gặp hơn. Cơ chế gây bệnh chưa được hiểu đầy đủ. Nghiên cứu cho thấy các chủng phân lập từ bệnh nhân mang gen ly giải hồng cầu trực tiếp chịu nhiệt *tdh* (thermostable direct hemolysin) hoặc gen *trh* (thermostable related hemolysin) ly giải hồng cầu liên quan với *tdh* hoặc cả hai gen.

Vibrio vulnificus

V. vulnificus gây nhiễm trùng vết thương nguy hiểm, nhiễm trùng huyết và tiêu chảy. Hầu hết các trường hợp bệnh nhân đều liên quan tới ăn sò hến sống, đặc biệt là sò. Ở Mỹ, *V. vulnificus* là tác nhân thường gặp nhất gây nhiễm trùng nguy hiểm với tỷ lệ tử vong > 50% các trường hợp nhiễm trùng huyết.

V. vulnificus tiết ra các độc tố có vai trò gây bệnh, lipopolysaccharide (LPS), vỏ polysaccharide (CPS), sắt, metalloprotease, yếu tố ly giải tế bào (cytolysin) và các độc tố liên quan khác.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

V. mimicus

V. mimicus gây tiêu chảy do ăn hải sản sống hoặc chưa được nấu kỹ và gây nhiễm trùng tai do tiếp xúc với nước bị nhiễm khuẩn. *V. mimicus* ít gây nhiễm trùng hơn các loài *Vibrio* khác. Các vi khuẩn này không lên men đường saccharose. Một số chủng sinh CT và độc tố ruột giống độc tố chịu nhiệt của *V. cholerae* non–O1, và yếu tố ly giải hồng cầu giống như *V. parahaemolyticus.*

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Thu thập, vận chuyển mẫu

Bệnh phẩm cần được thu thập trước khi điều trị kháng sinh và phải được làm xét nghiệm càng sớm càng tốt. Môi trường Cary–Blair là môi trường vận chuyển tốt nhất, vi khuẩn có thể sống tới 4 tuần trong môi trường này. Có thể dùng canh thang Tellurit taurocholate pepton hoặc giấy thấm thấm dịch phân rồi cho vào túi ni lông. Nếu giấy thấm dịch phân không bị khô, phẩy khuẩn có thể sống tới 4 tháng. Có thể sử dụng môi trường tăng sinh chọn lọc peptone kiềm cho vibrios làm môi trường vận chuyển. Lưu ý giữ bệnh phẩm không bị khô.

4.2. Soi trực tiếp mẫu phân

Quan sát dưới kính hiển vi thường để kiểm tra vi khuẩn tả di động và bị bất hoạt bằng kháng huyết thanh đặc hiệu *Vibrio cholerae* O1 hoặc O139.

Lam kính 1: Hoà mẫu phân vào nước muối sinh lý, nhỏ 1 giọt lên lam kính, đậy lá kính mỏng (lamen) lên trên. Soi tiêu bản trực tiếp trên kinh hiển vi thường thấy vi khuẩn di động rất nhanh theo những đường thẳng từ đầu đến cuối vi trường.

Lam kính 2: nhỏ 1 giọt huyền dịch phân lên lam kính, nhỏ 1 giọt kháng huyết thanh tả đa giá *V. cholerae* O1. Nếu là *V. cholerae* O1 vi khuẩn sẽ bị bất động. Có thể nhỏ kháng huyết thanh vào lam kính thứ nhất sau khi đã quan sát di động. Kỹ thuật này so sánh dễ hơn.

Phương pháp soi tiêu bản trực tiếp trên kính hiển vi nền đen đã được sử dụng từ lâu, nhưng không phù hợp với điều kiện của các phòng xét nghiệm tuyến tỉnh. Trên kính hiển vi nền đen, phẩy khuẩn tả di động như sao đổi ngôi.

4.3. Nhuộm Gram

Trên tiêu bản nhuộm, xem hình thể và tính chất bắt màu của vi khuẩn tả. *V. cholerae* có hình dáng cong như dấu phảy, bắt màu Gram âm. Tuy vậy, không phải tất cả các vi khuẩn trên vi trường đều có hình thể điển hình như vậy. Nhiều vi khuẩn trông giống như các trực khuẩn Gram âm thông thường khác *(Xem hình P36 ở Phụ bản).*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.4. Phân lập vi khuẩn

4.4.1. Các phương pháp phân lập

Cấy mẫu phân

Mẫu phân được cấy trên môi trường chọn lọc và không chọn lọc. Các loài *Vibrio* phát triển kém trên các môi trường chọn lọc nhưng phát triển tốt trên thạch máu, hầu hết phát triển trên thạch MacConkey hoặc sorbitol MacConkey. Trên thạch máu, khuẩn lạc *Vibrio* tan máu α, β hoặc không tan máu và trên thạch MacConkey không lên men lactose (trừ *V. vulnificus*). Nên kết hợp môi trường chọn lọc TCBS (Thiosulphate – Citrate – Bile salts – Sucrose) với môi trường không chọn lọc. TCBS là môi trường tốt nhất để phân lập *V. cholerae*, nên kết hợp với môi trường thạch kiềm. Vi khuẩn tả mọc nhanh trên môi trường thạch kiềm (khoảng vài giờ) nhưng dễ lẫn với một số vi khuẩn khác. Một số loài *Vibrio* không phát triển tốt trên môi trường TCBS: *V. metschnikovii*, *V. hollisae* và *V. cincinnatiensis*. Lưu ý: TCBS sản xuất từ các hãng khác nhau có thể cho kết quả khác nhau, cần kiểm tra đánh giá chất lượng từng đợt môi trường.

Tính chất khuẩn lạc vi khuẩn tả trên môi trường TCBS: màu vàng, to và nhẵn. Trên môi trường thạch kiềm: khuẩn lạc vi khuẩn tả tròn nhỏ, trong, ướt, long lanh như hạt sương *(Xem hình P37 ở Phụ bản)*.

Các kỹ thuật phân lập khác nhau cho vibrios ưa mặn và không ưa mặn: Phương pháp tăng sinh chủ yếu để phân lập *V. parahaemolyticus,* nhưng không lý tưởng với các vibrios không ưa mặn khác. Đối với *V. cholerae,* nước peptone kiềm không có muối sẽ hạn chế sự phát triển của vibrios ưa mặn khác. Điều quan trọng cần điều chỉnh để môi trường có pH kiềm, ở pH thấp hơn, *Aeromonas* có thể phát triển lấn át các vibrios khác, đặc biệt là các mẫu nước ngọt. Môi trường pH kiềm cho phép phân lập vibrios không ưa mặn (*V. cholerae*) và ưa mặn (*V. parahaemolyticus*).

Nếu nghi ngờ *Vibrio*, cần thu thập 5–10 ml phân lỏng của bệnh nhân cho vào lọ sạch, gửi ngay tới phòng xét nghiệm. Lấy 2 g phân cấy vào 20 ml nước peptone kiềm (peptone 10 g, NaCl 10 g, nước cất 1 lít, pH 8,6), ủ 37°C/5–8 giờ tăng sinh cho Vibrios ưa mặn. Đối với *V. cholerae* dùng nước peptone kiềm không có muối. Đồng thời cấy phân (nhiều phân) trên môi trường chọn lọc TCBS. Sau 5–8 giờ nuôi cấy, cấy chuyển 1 ml canh khuẩn từ bề mặt ống peptone kiềm thứ nhất sang ống peptone kiềm mới và dùng que cấy lấy 1 ăng (loop) canh khuẩn cấy chuyển sang đĩa TCBS thứ hai và ủ 37°C/qua đêm. Chọn khuẩn lạc điển hình trên cả 2 đĩa TCBS (khuẩn lạc màu vàng và màu xanh có kích thước 2 mm). Cấy chuyển từ bề mặt ống peptone kiềm thứ hai sang đĩa TCBS thứ ba, ủ 37°C/qua đêm. Nếu không thấy khuẩn lạc xuất hiện trả kết quả âm tính.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các khuẩn lạc nghi ngờ cấy chuyển sang ống thạch dinh dưỡng để làm các tính chất hoá sinh xác định các chi và loài *Vibrio* (Bảng 5.12). Tiếp tục làm thêm một số phản ứng hoá sinh khác để chẩn đoán phân biệt (Bảng 5.12 và 5.13).

Bảng 5.12. Phân biệt 12 loài *Vibrio* gây bệnh ở người

Tính chất hoá sinh	Tỷ lệ (%) dương tính*											
	V. cholerae	*V. mimicus*	*V. metschnikovii*	*V. cincinnatiensis*	*V. hollisae*	*V. danisela*	*V. fluvialis*	*V. furnissii*	*V. alginolyticus*	*V. parahaemolyticus*	*V. vulnificus*	*V. carchariae*
D–Glucose, sinh acid	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	50
D–Glucose, sinh hơi	0	0	0	0	0	10	0	100	0	0	0	0
Arginine (1% NaCl)	0	0	60	0	0	95	95	100	0	0	0	0
Lysine (1% NaCl)	99	100	35	60	0	50	0	0	99	100	99	100
Ornithine (1% NaCl)	99	99	0	0	0	0	0	0	50	95	55	0
myo–Inositol	0	0	40	100	0	0	0	0	0	0	0	0
Saccharose	100	0	100	100	0	5	100	100	99	1	15	50
Nitrate → nitrite	99	100	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Oxidase	100	100	0	100	100	95	100	100	100	100	100	100
Phát triển trong canh thang dinh dưỡng với:												
0% NaCl	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1% NaCl	100	100	100	100	99	100	99	99	99	100	99	100
Phân lập từ:												
Phân	+++	++	–	–	+	–	+	+	'	++	'	–
Các mẫu khác	'	+	+	+	–	+	–	–	+	'	+	+

* Sau 48 giờ nuôi cấy ở 35°C; ' , có thể có. Các ô trong bảng = Các tính chất quan trọng

Hầu hết các phản ứng dương tính xuất hiện trong 24 giờ đầu. Môi trường cơ bản có 1% NaCl sẽ kích thích vi khuẩn phát triển. Ký hiệu đóng khung chỉ các phản ứng có ý nghĩa quan trọng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.13. Phân biệt *V. cholerae, V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus*

Tính chất hoá sinh	*V.cholerae*	*V. parahaemolyticus*	*V. vulnificus*
Phát triển ở môi trường peptone có các nồng độ NaCl:			
0%	+[a]	–[b]	–
1%	+	+	+
8%	–	+	–
11%	–	–	–
Voges-Proskauer	+	–	–
ONPG[c]	+	–	+
Lên men:			
Sucrose	+	–	–
Cellobiose	–	–	+
Salicin	–	–	+

[a] + = 90–100% +; [b] – = 0–10% +; [c]ONPG: O–nitrophenyl–β–D–galactopyranoside

Bảng 5.14. Tính chất hoá sinh quan trọng của *V. cholerae*

Oxidase	+
Glucose / Hơi	+ / –
Lactose / H_2S	– / –
Mannitol	+
Di động	+
Urease	–
Indole	+
Lysin decarboxylase (LDC)	+
Arabinose	–
Mannose	–
Saccharose	+

Phân lập V. parahaemolyticus

V. parahaemolyticus phát triển tốt trong môi trường có 1% – 3% NaCl, thử nghiệm Kanagawa phát hiện sự ly giải hồng cầu thỏ hoặc người trên môi trường thạch máu hoặc thạch Wagatsuma có tan máu β. Hầu hết các chủng gây bệnh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phân lập từ nhiễm trùng đường ruột có Kanagawa (+), nhưng chỉ có 1% các mẫu phân lập ở môi trường có Kanagawa (+). Tuy nhiên thử nghiệm Kanagawa liên quan với khả năng gây bệnh chưa được chứng minh. Nghiên cứu gần đây cho thấy, chủng có Kanagawa (–) có thể gây nhiễm trùng đường tiêu hoá và nhiễm trùng ngoài ruột. Cần lưu ý rằng *V. parahaemolyticus* có thể có phản ứng urease (+), tránh bỏ sót.

Môi trường tăng sinh: Peptone kiềm có 1% – 3% NaCl, pH 7,2.

Môi trường phân lập: thạch TCBS, cấy trực tiếp từ mẫu phân và từ môi trường tăng sinh sang thạch TCBS. Tính chất khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* trên môi trường TCBS: tròn, có đường kính từ 2–3 mm, màu xanh ghi (không lên men đường saccharose). Chọn khuẩn lạc điển hình cấy chuyển sang môi trường kiểm tra tính chất hoá sinh (Bảng 5.15).

Bảng 5.15. Tính chất hoá sinh quan trọng của *V. parahaemolyticus*

Oxidase	+
Glucose / Hơi	+ / –
Lactose / H_2S	– / –
Urease	–
Indole	+
Methyl Red (MR)	+
Voges–Proskauer (VP)	–
LDC	+
ADH	–
ODC	+
Saccharose	–
Citrate	+

Chẩn đoán xác định: Trước kia dựa vào kết quả mẫu phân có phản ứng Kanagawa (+) và (–) đối với các mẫu hải sản. Ngày nay không dùng phản ứng Kanagawa mà dùng kỹ thuật PCR phát hiện các gen *tlh, trh, tdh.*

Chẩn đoán phân biệt *V. parahaemolyticus* với các Vibrios khác được trình bày ở Bảng 5.16.

Chẩn đoán phân biệt với *V. alginolyticus*: *V. alginolyticus* phát triển ở nồng độ muối 10%

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.16. Chẩn đoán phân biệt *V. cholerae, V. parahaemolyticus, NAG* và *V. alginolyticus*

Tính chất sinh vật hoá học	*V. cholerae*	*V. parahaemolyticus*	NAG	*V. alginolyticus*
Oxidase	+	+	+	+
Glucose/hơi	+/–	–	–	–
Indole	+	+	+	+
VP	d	–	d	+
LDC	+	+	+	+
ODC	+	+	+	+
Saccharose	+	–	d	+
NaCl 0%	+	–	+	–
NaCl 8%	–	+	–	+
TCBS	+	+	+	+

d = +/– phản ứng khác nhau giữa các chủng

Cấy mẫu thực phẩm

Cân 25 g rau hoặc thực phẩm từng loại, cắt nhỏ cho vào túi ni lông rồi đồng nhất mẫu. Cho mẫu đã đồng nhất vào 225 ml môi trường tăng sinh peptone kiềm, cấy chuyển 3 lần/3–6 giờ một lần sang môi trường TCBS và thạch kiềm. Tiếp tục làm các bước như mẫu phân.

Cấy mẫu nước

Lấy 900 ml nước cho vào 100 ml nước peptone kiềm đặc gấp 10 lần (peptone kiềm x10) so với peptone kiềm thường dùng cho mẫu phân (peptone x1). Cấy chuyển sang ống peptone kiềm x1, cấy chuyển 3 lần/ 3–6 giờ một lần. Tiếp tục làm các bước như phân lập vi khuẩn từ mẫu phân.

4.4.2. Phản ứng hoá sinh

Phản ứng oxidase

V. cholerae có phản ứng oxidase (+), đây là phản ứng quan trọng để phân biệt *V. cholerae* với các vi khuẩn đường ruột khác.

* *Lưu ý:* không nên lấy khuẩn lạc trực tiếp từ thạch TCBS làm phản ứng oxidase có thể gây phản ứng âm tính giả do môi trường TCBS có chứa hydrat carbon.

Thử nghiệm hợp chất vibriostatic

Thử nghiệm được tiến hành theo phương pháp khoanh giấy khuếch tán trên đĩa thạch dinh dưỡng. Sự phát triển của *V. cholerae* O1 bị ức chế bởi hợp chất 0/129 (2,4–diamino–6,7–diisopropylpteridine, hợp chất vibriostatic), thường liên quan tới tính kháng kháng sinh trimethoprim–sulfamethoxazole. Các chủng *V. cholerae* O139 kháng O/129, *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas* spp. nhạy với hợp chất O/129.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Môi trường CLED (Cystine–Lactose–Electrolyte–Deficient)

Môi trường CLED thiếu chất điện giải, có thể dùng để phân biệt vibrios không ưa mặn và ưa mặn. *V. cholerae* phát triển được trên môi trường này và ức chế *Proteus* phát triển. *V. parahaemolyticus* không phát triển được trên môi trường này.

Thử nghiệm oxy hoá / lên men

Môi trường cho các thử nghiệm này cần nồng độ NaCl 1% cần thiết cho các *Vibrio* spp. gây bệnh phát triển tốt, trừ *V. cholerae* và *V. minicus* có thể phát triển ở môi trường không có NaCl. Có thể dùng kit API 20E do hãng cung cấp hoặc pha các loại đường vào nước peptone để phân biệt *Vibrio* spp. Kết quả sẽ tốt hơn nếu môi trường được bổ sung NaCl 1%.

4.4.3. Phân biệt V. cholerae O1, O139, Non–O1, Non–O139

Xác định các loài *V. cholerae* và mối liên quan của chúng với cholera vibrios gây bệnh tả rất phức tạp, không phải các loài *V. cholerae* đều gây bệnh. Hiện nay cholera vibrios, non–cholera vibrio (NCVs) và non–agglutinable vibrio (NAGs) được xếp vào cùng một loài (Bảng 5.17). "Giống như các vi khuẩn Gram âm", *V. cholerae* có vách tế bào rất phức tạp bao gồm lipopolysaccharide (LPS) và hydrat carbon được đặt tên là kháng nguyên O. Hiện nay trong sơ đồ type huyết thanh của *V. cholerae* có 206 nhóm kháng nguyên thân. Các chủng thuộc nhóm huyết thanh O2 đến O206 (trừ O139) ít gây bệnh hơn type sinh vật cổ điển hoặc El Tor (Bảng 5.19), chúng gây ra triệu chứng giống bệnh tả nhưng chỉ gây dịch tiêu chảy lẻ tẻ, không thành dịch.

Các chủng *V. cholerae* có chung kháng nguyên H. Ít nhất có 206 nhóm kháng nguyên O theo sơ đồ type huyết thanh của Shimada. Không có mối liên hệ giữa kháng nguyên nhóm O với khả năng gây bệnh. Dùng kháng huyết thanh tả đa giá O1 "polyvalent", O139 và đơn giá Ogawa và Inaba để xác định type huyết thanh.

Nhóm N.A.G có tính chất sinh vật hoá học giống *V. cholerae* nhóm O1, nhưng không ngưng kết với kháng huyết thanh O1.

Bảng 5.17. Phân biệt type huyết thanh của *V. cholerae*

	Kháng nguyên O	Type kháng nguyên	
V. cholerae	O1	Inaba	Ogawa
Subtype:			
Inaba	+	+	–
Ogawa	+	–	+
Hikojima	+	+	+
V. cholerae non–O1 (cholera vibrios (NCVs), non–agglutinable vibrios (NAGs), non–O1 *V. cholerae*)	O2 – O26		
O139: Bengal cholera	O139		

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.18. Phân biệt với các phẩy khuẩn khác thuộc nhóm NAG (Heiberg)

Nhóm kháng nguyên	Mannose	Saccharose	Arabinose
I	+	+	–
II	–	+	–
III	+	+	+
IV	–	+	+
V	+	–	–
VI	–	–	–

Vi khuẩn *V. cholerae* O1 gây bệnh tả thuộc nhóm I, từ nhóm II đến nhóm VI thuộc các phẩy khuẩn nhóm NAG (Bảng 5.18).

Bảng 5.19. Phân biệt type sinh vật của *V. cholerae* O1

Tính chất	*V. cholerae* type cổ điển	*V. cholerae* type El Tor
Kháng huyết thanh O1	+	+
Ly giải hồng cầu cừu	Không	Có
Ngưng kết hồng cầu gà	Không	Có
Polymyxin B 50 đ.v.	Kháng	Nhạy
Phage IV cổ điển	Nhạy	Kháng
Phage V El Tor	Kháng	Nhạy

4.5. Phương pháp chẩn đoán nhanh vi khuẩn tả

4.5.1. Que thử chẩn đoán nhanh vi khuẩn tả O1 và O139 (Kit Crystal VC của hãng Span Diagnostic Ltd, Ấn Độ)

Kit Crystal VC là thử nghiệm định tính, dựa trên nguyên lý sắc ký miễn dịch, xác định kháng nguyên LPS của cả hai nhóm huyết thanh *V. cholerae* O1 và O139. Que thử phát hiện nhanh *V. cholerae* O1 và O139 trực tiếp từ mẫu phân hoặc mẫu tăm bông từ trực tràng, không cần nuôi cấy, dễ sử dụng và không đòi hỏi trang thiết bị phức tạp, có kết quả nhanh sau 10 phút.

4.5.2. Kỹ thuật PCR đa mồi (multiplex PCR)

Kỹ thuật multiplex PCR có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, cho kết quả nhanh sau 4–5 giờ.

a) Xác định các gen độc tố của V. cholerae O1, O139 và NAG: ctxA, VC O1, VC O139 và toxR.

Trình tự bốn cặp mồi dùng cho phản ứng PCR:

ctxA (564 bp)

AX2: 5' CGG GCA GAT TCT AGA CCT CCT G 3'

AX3: 5' CGA TGA TCT TGG AGC ATT CCC AC 3'

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

VC O1 (192 bp)

VCO1F2–1: 5' GTT TCA CTG AAC AGA TGG G 3'

VCO1R2–1: 5' GGT CAT CTG TAA GTA CAA C 3'

VC O139 (449 bp)

VCO139F2: 5' AGC CTC TTT ATT ACG GGT GG 3'

VCO139R2: 5' GTC AAA CCC GAT CGT AAA GG 3'

toxR (779 bp)

101F: 5' CCT TCG ATC CCC TAA GCA ATA C 3'

837R: 5' AGG GTT AGC AAC GAT GCG TAA G 3'

b) Xác định các gen tlh, trh, tdh của V. paraheamolyticus

tlh (450 bp)

L–TL: 5' AAA GCG GAT TAT GCA GAA GCA CTG 3'

R–TL: 5' GCT ACT TTC TAG CAT TTT CTC TGC 3'

trh (500 bp)

VPTRH–L: 5' TTG GCT TCG ATA TTT TCA GTA TCT 3'

VPTRH–R: 5' CAT AAC AAA CAT ATG CCC ATT TCC G 3'

tdh (270 bp)

VPTDH–L: 5' GTA AAG GTC TCT GAC TTT TGG AC 3'

VPTDH–R: 5' TGG AAT AGA ACC TTC ATC TTC ACC 3'

4.5.3. Định type và type phụ (subtype)

Áp dụng kỹ thuật PFGE (pulsed–field gel electrophoresis), kỹ thuật điện di men đa điểm MLEE (multilocus enzyme electrophoresis), định type bằng giải trình tự đa điểm MLST (multilocus sequence typing). Bằng kỹ thuật MLEE đã chia chủng độc El Tor thành 4 kiểu điện di (ET) chủ yếu: Kiểu Úc, bờ biển Gulf, đại dịch thứ bảy và kiểu Mỹ Latinh, ký hiệu ET1–ET4. Kỹ thuật MLST sử dụng ba gen: *gyrB*, *pgm*, *recA* và ba gen liên quan tới độc lực: *tcpA*, *ctxA* và *ctxB* để phân biệt *V. cholerae* O1 và O139. Kỹ thuật MLST phân biệt các chủng vi khuẩn và sự liên quan về loài tốt hơn kỹ thuật PFGE.

4.6. *V. vulnificus*

V. vulnificus có thể phân lập từ mẫu máu hoặc vết thương, hiếm khi phân lập được từ các vị trí khác của cơ thể. Vi khuẩn phát triển tốt trên môi trường thạch máu và MacConkey. Trên môi trường TCBS khuẩn lạc có màu xanh. *V. vulnificus* là loài ưa mặn, giống như *V. parahaemolyticus*. Các tính chất hoá sinh quan trọng: LDC (+), ODC (+), ADH (–), nhạy với O/129, lên men salicin và cellobiose. Hầu hết các chủng *V. vulnificus* lên men lactose và ONPG (+).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.7. *Vibrio mimicus*

V. mimicus không đòi hỏi NaCl cho sự phát triển, không lên men đường saccharose nên có khuẩn lạc màu xanh trên môi trường TCBS. Hầu hết các chủng có phản ứng VP (–) và chỉ có 10% chủng có lipase (+). *V. mimicus* có chung kháng nguyên nhóm O với *V. cholerae*, một số chủng sinh độc tố ruột ST và LT gây tiêu chảy ở người.

5. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

5.1. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh tả

Điều trị

Bồi phụ nước và điện giải là biện pháp quan trọng nhất trong điều trị bệnh tả. Bù dịch bằng đường uống là biện pháp tiết kiệm, đơn giản, an toàn và hiệu quả. Liệu pháp truyền dịch có thể khỏi bệnh nhưng cần thời gian. Mặt khác, CT bám vào tế bào niêm mạc rất lâu gây mất cân bằng điện giải, vì vậy cần kết hợp điều trị kháng sinh. Điều trị kháng sinh sẽ làm giảm thời gian truyền dịch và giảm *V. cholerae* ở ruột, hạn chế lượng CT bám vào niêm mạc ruột. Những trường hợp nặng, cần phải truyền dịch và sử dụng kháng sinh như tetracycline, mặc dù một số chủng đã kháng kháng sinh này. Một số kháng sinh sử dụng trong các vụ dịch: tetracycline, doxycycline, furazolidone, trimethoprim–sulphamethoxazole và norfloxacin (cần thận trọng khi dùng cho trẻ nhỏ). Do sử dụng rộng rãi tetracycline đã dẫn đến tình trạng kháng kháng sinh của nhiều chủng vi khuẩn tả của các vụ dịch. Cần làm kháng sinh đồ các chủng vi khuẩn tả để chọn kháng sinh điều trị cho bệnh nhân có hiệu quả.

Phòng bệnh

Cải thiện cung cấp nước sạch, điều kiện vệ sinh an toàn thực phẩm. Tuyên truyền các biện pháp phòng dịch trong cộng đồng dân cư. Vệ sinh ăn uống: ăn chín uống sôi, rửa tay sạch trước và sau khi ăn và đi vệ sinh. Sử dụng nước sạch, diệt ruồi, quản lý và xử lý phân đúng cách. Không dùng phân tươi bón rau. Phát hiện sớm bệnh nhân tả và điều trị kịp thời, xử lý phân và chất nôn bệnh nhân đúng cách. Cách ly bệnh nhân, giám sát người tiếp xúc và phát hiện người lành mang trùng để hạn chế nguồn truyền nhiễm.

Vắc xin phòng bệnh tả là biện pháp phòng bệnh chủ động. Tuy nhiên, theo Tổ chức Y tế Thế giới, vắc xin tả uống chỉ chỉ định cho đối tượng có nguy cơ cao trong vùng có dịch tả lưu hành. Hiện nay có hai vắc xin tả uống an toàn và không có tác dụng phụ, có hiệu lực bảo vệ, đó là: vắc xin chết toàn tế bào chống *V. cholerae* O1 và O139 Biv – WC (bivalent anti–O1 and anti–O139 killed whole cell vaccines) và vắc xin chết toàn tế bào có thêm tiểu đơn vị B chống *V. cholerae*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

O1 "rBS – WC" (monovalent anti – O1 recombinant B subunit – killed whole cell). Việt Nam đã sản xuất thành công vắc xin tả uống Biv – WC và đã sử dụng cho các đối tượng có nguy cơ cao ở một số nơi có dịch tả.

Hiện nay có hai loại vắc xin tả uống lưu hành trên thị trường: Duckoral và Orochol. Duckoral bao gồm chủng tả O1 bất hoạt bằng nhiệt độ và formalin kết hợp với tiểu đơn vị B tái tổ hợp của độc tố tả. Vắc xin này bảo vệ chống bệnh tả do *V. cholerae* O1 và *E. coli* sinh độc tố (enterotoxigenic *E. coli*). Orochol chứa chủng *V. cholerae* đột biến mất độc tính (CVD103 HgR).

5.2. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh do *V. parahaemolyticus*

Điều trị

Điều trị tốt nhất là bồi phụ nước và điện giải, không cần điều trị kháng sinh. Cần điều trị kháng sinh những trường hợp nặng: tetracycline, ampicillin, ciprofloxacin. Các trường hợp nặng không được điều trị, bệnh nhân trong tình trạng mất nước, nhiễm acid, thiểu năng tuần hoàn, giảm glucose huyết (hypoglycemia) ở trẻ em, và suy thận, có thể tử vong sau vài giờ (chiếm tỷ lệ > 50%); Điều trị đúng và kịp thời, tỷ lệ tử vong < 1%.

Phòng bệnh

Không ăn hải sản sống, hải sản phải được nấu cẩn thận. Tránh nhiễm chéo giữa hải sản sống với các thực phẩm khác. Tránh tiếp xúc với nước bị nhiễm khuẩn từ vết thương hoặc hải sản sống thu hoạch từ nước bị nhiễm khuẩn. Cần deo găng tay bảo vệ khi chế biến hải sản sống. Không có vắc xin phòng bệnh.

5.3. Nguyên tắc điều trị và phòng bệnh do *V. vulnificus* và *V. mimicus*

V. vulnificus: gây nhiễm trùng vết thương và nhiễm trùng huyết, tử vong cao nếu không được điều trị kháng sinh: tetracycline, cephalosporins thế hệ 3 (ceftazidime) và imipenem. Trường hợp nhiễm trùng vết thương phải cắt bỏ tế bào hoại tử. Không có vắc xin phòng bệnh.

V. mimicus: Nhạy cảm với các kháng sinh giống *V. cholerae* nhưng vai trò điều trị kháng sinh chống nhiễm trùng *V. mimicus* chưa rõ ràng.

AEROMONAS VÀ *PLESIOMONAS* SPP.

1. GIỚI THIỆU

Aeromonas và *Plesiomonas* thuộc họ *Vibrionacaeae*, họ này còn gồm chi *Vibrio*, *Photobacterium* và *Enhydrobacter*. Nghiên cứu phát sinh loài cho thấy *Aeromonas* không có liên quan gần gũi với vibrios và được chuyển thành họ riêng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Aeromonacaeae. *Plesiomonas* có liên quan với chi *Proteus*, thuộc họ vi khuẩn đường ruột.

Aeromonas có hình thái giống các vi khuẩn đường ruột. Có 14 loài *Aeromonas* liên quan tới bệnh ở người, trong đó quan trọng nhất là: *A. hydrophila*, *A. caviae*, và *A. veronii biovar sorbria*. Nguyên tắc phân loại dựa vào kiểu hình và kiểu gen tính đến nay có 14 loài, trong đó có sáu loài gây bệnh ở người. Các loài khác không gây bệnh hoặc phát hiện được ở môi trường.

Hai bệnh chủ yếu liên quan tới *Aeromonas* là nhiễm trùng đường tiêu hoá và nhiễm trùng vết thương, có thể gây nhiễm trùng huyết hoặc không. Nhiễm trùng đường tiêu hoá điển hình xuất hiện sau khi ăn thực phẩm hoặc nước bị nhiễm khuẩn, trường hợp nặng biểu hiện giống bệnh lỵ (shigellosis). Trường hợp nhiễm trùng vết thương do tiếp xúc với nước bị nhiễm khuẩn. *Aeromonas* còn gây một số bệnh nhiễm trùng ngoài ruột nguy hiểm ở người như: Viêm màng não, bệnh phổi, nhiễm trùng huyết và nhiễm trùng vết thương. Đối với bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch (immunocompromised), các nhiễm trùng này có thể có nguồn gốc từ đường tiêu hoá, các nhiễm trùng khác đặc biệt là nhiễm trùng vết thương thường liên quan tới nước. Vai trò gây bệnh đường tiêu hoá của *Aeromonas* spp. còn nhiều tranh cãi.

Aeromonas có mặt ở khắp nơi: nước ngọt và nước lợ (môi trường cửa sông). Nó còn được tìm thấy trong nhiều loại thực phẩm như sản phẩm hải sản và tôm cua nước ngọt, các thực phẩm sống của gia súc hay động vật như: gia cầm, trâu bò, sữa chưa tiệt trùng... và rau sống. Mặc dù các yếu tố độc lực đã được nghiên cứu như: ngoại độc tố, yếu tố ly giải hồng cầu, các độc tố ruột, các yếu tố bám dính... nhưng vai trò của chúng chưa được hiểu đầy đủ.

Plesiomonas

Phân loại: lúc đầu được đặt vào chi *Pseudomonas* "*Pseudomonas shigelloides*", sau chuyển thành chi *Aeromonas* hoặc gọi là "*A. shigelloides*". *Plesiomonas* spp. Có quan hệ gần gũi với chi *Proteus* của họ vi khuẩn đường ruột. *Plesiomonas shigelloides* (*P. shigelloides*) là một loài trong chi *Plesiomonas*. Một số chủng của loài này có kháng nguyên O giống *Shigella sonnei*. Mặc dù vậy *Plesiomonas* vẫn được xếp vào họ *Vibrionacaeae*.

P. shigelloides phân lập được từ đất, nước ở ngoại cảnh. *P. shigelloides* có mặt ở nhiều động vật máu lạnh và máu nóng như: chó, mèo, lợn, gia cầm, trâu bò, kền kền, cóc, rắn, thằn lằn, nước ngọt, cá vùng nhiệt đới, sa giống và các loại sò, hến, tôm, cua.

Các nhiễm trùng ở người do *P. shigelloides* có tỷ lệ mắc cao ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới như lục địa Ấn Độ do dùng nước bẩn không được đun sôi hoặc thức ăn chưa được nấu chín. *P. shigelloides* có thể phân lập từ phân của bệnh nhân và người khoẻ mạnh (0,2–3,2% cộng đồng dân cư).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

Bảng 5.20. Tóm tắt các tính chất chủ yếu của *Aeromonas* và *Plesiomonas*

Tính chất	*Aeromonas*	*Plesiomonas*
Nhuộm Gram	Trực khuẩn Gram âm	Trực khuẩn Gram âm
Yêu cầu Oxy	Kỵ khí không bắt buộc	Kỵ khí không bắt buộc
Phản ứng hoá sinh:		
Oxidase	+	+
Catalase	+	+
Phân huỷ hydrat carbon sinh acid hoặc acid và hơi	+	+
Lông (Flagella)	Một lông ở đầu	Vài lông ở đầu
Nhiệt độ phát triển	5 – 44°C	8 – 44°C
Nhiệt độ tối ưu	22 – 28°C	30 – 37°C
pH thích hợp	5,5 – 9,0	5 – 7,7
Khả năng phát triển ở canh thang 6% Nacl	Bị ức chế	Bị ức chế

2.1. *Aeromonas*

Aeromonas là trực khuẩn Gram âm, không sinh nha bào, có dạng đơn, đôi hoặc chuỗi ngắn. Chúng là vi khuẩn kỵ khí không bắt buộc, có phản ứng catalase (+) và oxidase (+). Lên men hoặc không lên men lactose tuỳ loài. Di động, có một lông ở đầu. Có thể phát triển ở nhiệt độ từ 5 đến 44°C và pH 5,5 – 9,0. Nhiệt độ phát triển tối ưu 22 – 28°C, có thể phát triển ở môi trường không có muối, bị ức chế ở nồng độ muối 6%.

2.2. *Plesiomonas*

P. shigelloides là trực khuẩn Gram âm, không có nha bào. Hình thái có nhiều dạng: dạng đơn, dạng đôi, chuỗi ngắn và dạng lông dài. Là vi khuẩn kỵ khí không bắt buộc, có phản ứng catalase (+) và oxidase (+). Di động, có vài lông ở đầu. Có thể phát triển ở nhiệt độ từ 8 đến 44°C và pH 5 – 7,7. Nhiệt độ phát triển tối ưu 30 – 37°C, bị ức chế ở nồng độ muối 6%. Có thể phát triển ở môi trường không có muối, bị ức chế ở nồng độ muối 6%.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. *Aeromonas*

Hai bệnh chủ yếu liên quan tới *Aeromonas* là nhiễm trùng đường tiêu hoá và nhiễm trùng vết thương, có thể có nhiễm trùng huyết hoặc không. Nhiễm trùng đường tiêu hoá điển hình xuất hiện sau khi ăn thực phẩm hoặc nước bị nhiễm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn, trường hợp nặng thì biểu hiện giống bệnh lỵ (shigellosis). Trường hợp nhiễm trùng vết thương là do tiếp xúc với nước bị nhiễm khuẩn.

Biểu hiện lâm sàng của *Aeromonas* rất khác nhau liên quan tới nhiễm trùng đường tiêu hoá, cơ chế gây bệnh rất phức tạp. *Aeromonas* có thể gây một số bệnh nhiễm trùng ngoài ruột nguy hiểm ở người nhưng hiếm như: Viêm màng não, bệnh phổi, nhiễm trùng huyết. Đối với bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch (immunocompromised), các nhiễm trùng này có thể có nguồn gốc từ đường tiêu hoá, các nhiễm trùng khác đặc biệt là nhiễm trùng vết thương thường liên quan tới nước. Vai trò gây bệnh đường tiêu hoá của *Aeromonas* spp. còn nhiều tranh cãi.

Khả năng gây bệnh liên quan chủ yếu tới sự bám dính tế bào và sự sản xuất độc tố của vi khuẩn.

S-Layer

Sự bám dính tế bào qua trung gian S-Layer bao gồm dãy phân tử protein trên bề mặt tế bào vi khuẩn có kích thước 50 kDa. S-Layer và /hoặc vỏ polysaccharide tham gia vào quá trình bám dính, xâm nhập, định cư và sinh độc lực của vi khuẩn. S-Layer có thể tìm thấy ở *A. salmonicida* (gây bệnh ở cá), *A. veroni* biotype *sorbia* và *A. hydrophilia* (gây bệnh ở người). Trọng lượng phân tử protein là 52–58 kDa và giải trình tự cho thấy khác nhau ở vị trí acid amin cuối cùng. S-Layer thúc đẩy sự xâm nhập của vi khuẩn vào niêm mạc ruột. S-Layer có lớp kỵ nước trên bề mặt, chống lại sự ly giải gián tiếp qua bổ thể và tăng cường tác động tới thực bào.

Fibriae và yếu tố bám dính (Adhesins)

Các chủng ưa nhiệt độ trung bình có lông ở rìa (fibriae) dạng sợi (filamentous) và màng ngoài, S-Layer đồng nghĩa với yếu tố bám dính (non-filamentous) có hoạt động ngưng kết hồng cầu, hoạt động này thúc đẩy sự bám dính tế bào. Yếu tố bám dính sẽ được tăng lên khi nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường lỏng ở nhiệt độ thấp (5°C). *Aeromonas* spp. còn có hai hệ thống "roi" (flagella) đóng vai trò trong bám dính tế bào.

Vỏ (Capsular)

Trong quá trình phát triển ở môi trường nuôi cấy giàu glucose, *A. hydrophila* và *A. veronii* sinh ra vỏ polysaccharide, vỏ này góp phần làm tăng độc lực của chủng vi khuẩn.

Các protein ngoài tế bào, ngoại độc tố (Exotoxin)

Aeromonas spp. sinh ra các độc tố tế bào gồm aerolysin, phospholipases, haemolysins và enterotoxins, một số có hoạt động tan máu. Cơ chế hoạt động của enterotoxins giống vi khuẩn tả. *Aeromonas* spp. có thể sinh ra các chất khác như: amylase, chitinase, lipase và nuclease. Các chất này hoạt động như các yếu tố độc lực ngoài tế bào. Thêm vào đó, các ngoại enzym như protease được cho là các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

yếu tố độc lực, các loài thiếu năng protease có độc lực giảm. Các protease còn cần thiết cho sự hoạt hoá các yếu tố độc lực khác như aerolysin (là các lỗ rỗng trên màng tế bào) dẫn đến ly giải tế bào. Một số chủng có khả năng sinh ra Shiga–like toxins (*Stxs*) gây hội chứng HUS (haemolytic uremic syndrome).

Aerolysin (β–haemolysin/cytotoxic enterotoxin/cytolytic enterotoxin/Act) đóng vai trò trong nhiễm trùng đường ruột và các nhiễm trùng khác ngoài ruột. *Aeromonas* spp. còn tiết ra các α–haemolysins gây ly giải tế bào hồng cầu. Hầu hết *Aeromonas* spp. sinh ra các enzym ngoại tế bào như: protease, Dnase, Rnase, elastase, lecitinase, amylase, lipase, gelatinase và chitinase. Các chất này hoạt động như các yếu tố độc lực ngoài tế bào.

Các yếu tố xâm nhập (Invasins)

Các yếu tố này tạo ra khả năng xâm nhập của *Aeromonas* spp. và có thể giải thích triệu chứng giống như chúng gây ra như bệnh lý. Tuy nhiên hoạt động xâm nhập của *Aeromonas* spp. kém hơn các vi khuẩn xâm nhập khác như: enteroinvasive *E. coli* (EIEC) hoặc các loài *Shigella*. Cơ chế xâm nhập của vi khuẩn liên quan tới yếu tố xâm nhập *ipa* (invasive) và bám dính *eae* (attaching effacing).

Nội độc tố (Endotoxin)

Ngoại độc tố và LPS của *Aeromonas* spp. là những yếu tố độc lực quan trọng. Các chủng có LPS (kháng nguyên O) tiết nhiều ngoại độc tố hơn chủng không có LPS. Một số chủng có LPS trở nên độc hơn khi phát triển ở nhiệt độ thấp.

Đại thực bào chứa sắt

Hầu hết các chủng *Aeromonas* spp. sản xuất đại thực bào chứa sắt, có thể liên quan tới tính chất độc lực của vi khuẩn. *A. hydrophila*, *A. caviae*, và *A. sorbria* sản xuất đại thực bào chứa sắt mới amonabactin, có vai trò thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn trong môi trường thiếu sắt. Đối với các vi khuẩn Gram âm khác, đại thực bào chứa sắt liên quan tới việc thiết lập nhiễm trùng.

Vi khuẩn sản xuất đại thực bào chứa sắt qua hệ thống hấp thu sắt, nhờ hệ thống này vi khuẩn thu được sắt để phát triển từ các protein liên kết với sắt của tế bào vật chủ. Khi môi trường thiếu sắt, các gen liên quan tới sự sản xuất và hấp thu đại thực bào chứa sắt của vi khuẩn được giải phóng, dẫn đến việc sản xuất đại thực bào chứa sắt và hấp thu các protein thích hợp. Các đại thực bào chứa sắt được tiết vào môi trường bên ngoài tế bào, chúng hoạt động phân tách và hoà tan sắt. Các đại thực bào chứa sắt được nhận biết bởi thụ thể đặc hiệu ở màng ngoài tế bào.

3.2. *Plesiomonas*

P. shigelloides gây tiêu chảy ở người nhưng không thường xuyên, các nhiễm trùng ngoài ruột hiếm như: viêm màng não, nhiễm trùng vết thương... Các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trường hợp nhiễm trùng huyết hiếm gặp, chủ yếu ở bệnh nhân bị tổn thương miễn dịch hoặc trẻ sơ sinh.

P. shigelloides gây bệnh đường ruột ở người sau khi ăn hải sản sống. *P. shigelloides* còn gây viêm màng não (hiếm) và nhiễm trùng huyết ở bệnh nhân bị tổn thương miễn dịch. Liều nhiễm trùng rất cao, ít nhất một triệu vi khuẩn. Hầu hết các chủng *P. shigelloides* liên quan tới nhiễm trùng đường tiêu hoá ở bệnh nhân sống ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới sau khi ăn thực phẩm hoặc nước bị nhiễm khuẩn.

Cơ chế gây tiêu chảy do *P. shigelloides* chưa được hiểu đầy đủ. *P. shigelloides* sinh ra độc tố ruột giống vi khuẩn tả gồm độc tố chịu nhiệt ST (heat–stable enterotoxin) và độc tố không chịu nhiệt LT (heat–labile toxin) đã được chứng minh. Độc tố ST của *Plesiomonas* khác ST của *E. coli* và *V. cholerae* về đặc điểm di truyền học. Độc tô ly giải tế bào (cytolysins) có thể gây huỷ hoại tế bào hoặc ức chế vi khuẩn chí bình thường ở ruột, làm tăng sự xâm nhập của tế bào biểu mô. Các yếu tố độc lực quan trọng khác như haemolysin, elastin và plasmid đã được phát hiện, nhưng vai trò gây bệnh chưa rõ. Các nhà khoa học đang tiếp tục nghiên cứu làm sáng tỏ các yếu tố độc lực của *P. shigelloides*, tập trung chủ yếu vào cơ chế gây bệnh đường ruột.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Môi trường nuôi cấy

Aeromonas spp. và *Plesiomonas* spp. mọc tốt trên thạch máu cừu 5%, thạch chocolate và thạch MacConkey. Mọc tốt trong canh thang của hệ thống cấy máu và canh thang thioglycollate hoặc canh thang BHI (brain–heart infusion broth). *Plesiomonas* spp. mọc kém trên môi trường TCBS (thiosulphate citrate bile sucrose).

Tính chất khuẩn lạc *Aeromonas* trên thạch máu cừu 5%: to tròn, lồi và mờ đục. Hầu hết khuẩn lạc tan máu β *(Xem hình P38 ở Phụ bản)*, trừ *A. caviae* không tan máu. Khuẩn lạc *P. shigelloides* nhẵn, sáng, mờ đục và không tan máu.

Trên thạch MacConkey: *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas* spp. có thể lên men hoặc không lên men lactose, *Plesiomonas* spp. không lên men lactose trên hầu hết các môi trường đường ruột.

4.2. Kỹ thuật phân lập *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas spp.*

Các môi trường đường ruột có thể ức chế một số *Aeromonas* spp., vì vậy khó phân lập vi khuẩn trong mẫu phân. Môi trường chọn lọc phân lập *Aeromonas* spp.: Thạch cefsulodinirgasan–novobiocin hoặc thạch máu có ampicillin (10 hoặc 30 µg/ml), thời gian nuôi cấy 24 giờ. Môi trường chọn lọc phân lập *Plesiomonas* spp.: canh thang peptone muối mật và canh thang Trypticase soy có ampicillin/35°C/24 giờ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.3. Các phản ứng sinh hoá

Phản ứng oxidase: phân biệt *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas* spp. với vi khuẩn đường ruột (*Enterobacteriaceae* oxidase âm).

Thử nghiệm String: phân biệt *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas* spp. với *Vibrio* spp. Vi khuẩn chuyển thành thể sữa trong sodium deoxycholate 0,5%, tế bào *Vibrio* spp. bị ly giải. ADN được kéo thành sợi dây bằng que cấy *(Xem hình P39 ở Phụ bản)*.

Thử nghiệm hợp chất vibriostatic

Sử dụng khoanh giấy 0/129 (2,4–diamino–6,7–diisopropylpteridine) để phân biệt với các chủng vibrios nhạy với 0/129 từ những chủng có oxidase (+) và lên men glucose. Gần đây một số chủng *V. cholerae* O1 kháng với 0/129 nên thử nghiệm này cần xem xét lại.

Hiện nay, có một số kit bán trên thị trường phân biệt *Aeromonas* spp. với *Vibrio* spp. Tuy vậy, chẩn đoán xác định *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas* spp. cần dựa vào phương pháp nuôi cấy và xác định type huyết thanh. Các tính chất hoá sinh được dùng để phân biệt các chi trong họ *Vibrionaceae* (xin xem ở Bảng 5.21). Hầu hết các hệ thống phân lập *Aeromonas* trên thị trường hiện nay chỉ ở mức độ "chi", cần làm thêm nhiều phản ứng nữa mới xác định được ở mức độ "loài" như: di động, catalase (+), urease (–) ... Các tính chất hoá sinh phân biệt *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas* spp được tóm tắt ở Bảng 5.22.

Bảng 5.21. Phân biệt chi trong họ *Vibrionaceae*

Tính chất hoá sinh	*Aeromonas*	*Plesiomonas*	*Vibrio*	*Photobacterium*	*Enhydrobacter*
Di động	+[b]	+	+	+	–
Cần Na^+ để phát triển	–	–	+	+	–
Nhạy với 0/129	–	+[b]	+[b]	+	–
Lipase	+[b]	–	+[b]	V	+
Sử dụng D–Mannitol	+[b]	–	+[b]	–	–

+[b] chủng (+)/ đa số các loài; V, thay đổi giữa các loài khác nhau

Bảng 5.22. Phân biệt *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas spp*

Loài	Oxidase	Lên men						
		Glucose (hơi)	Lactose	Saccharose	Myo–Inositol	LDC	ADH	ODC
A. hydrophilia	+	+	–	+	–	+	+	–
A. caviae	+	–	+	+	–	–	+	–
A. veronii biotype *veronii*	+	+	–	+	–	+	–	+
A. jandaei	+	+	–	–	–	+	+	–
A. shubertii	+	–	–	–	–	+	+	–
P. shigelloides	+	–	–	–	+	+	+	+

+, >90% chủng (+); –, >90% chủng (–)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.4. Kỹ thuật PCR

Xác định "loài" *Aeromonas* spp.và *Plesiomonas* spp. Phân tích gen 16S và 23S rRNA. Chuỗi *rpoD* mã hoá yếu tố sigma và chuỗi *gyrB* mã hoá tiểu đơn vị B của gyrase DNA được sử dụng để xác định mối liên quan về loài vi khuẩn.

5. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

5.1. Nguyên tắc điều trị

Hầu hết các nhiễm trùng đường tiêu hoá do *Aeromonas* spp. và *Plesiomonas* spp. có diễn biến ngắn, bệnh nhân không cần điều trị kháng sinh. Đối với các nhiễm trùng ngoài ruột, sau khi có kết quả chẩn đoán chính xác, cần điều trị kháng sinh theo kết quả kháng sinh đồ.

Aeromonas

Hai bệnh chủ yếu liên quan tới *Aeromonas* là nhiễm trùng đường tiêu hoá và nhiễm trùng vết thương. Các loài *Aeromonas* kháng penicillin, cephalosporin và erythromycin.

Aeromonas nhạy cảm với các kháng sinh: chloramphenicol, tetracycline và trimetroprim–sulfamethoxazole. *Aeromonas* spp. có thể có plasmid tiếp hợp gây nên tình trạng kháng đa kháng sinh. Ở chromosome, *Aeromonas* spp. có gen mã hóa cho β–lactamases: penicillinase nhóm 2, cephalosporinnase nhóm 1 và metallocarbapenemase nên kháng penicillin nhưng vẫn nhạy cảm với imipenem trừ *A. jandaei* và *A. veronii* biotype *veronii*.

Plesiomonas spp.

Plesiomonas spp. nhạy cảm với các kháng sinh thế hệ 2 và 3 như: cephalosporins, nalidixic acid, quinolone, cotrimoxazole, chloramphenicol và nitrofurantoin.

Plesiomonas spp. kháng với aminoglycosides rất khác nhau. Hầu hết các chủng sinh β–lactamases kháng penicillins. Tuy vậy, các chủng này vẫn nhạy với penicillins khi điều trị phối hợp với chất ức chế β–lactamases. Trên thực tế, các chủng *Plesiomonas* còn nhạy hoặc nhạy ở mức độ trung bình với tetracycline, một vài aminoglycosides, aminopenicillins khi phối hợp với chất ức chế β–lactamases, các cephalosporins (trừ cefoperazone, ceftazidime và cefepime), carbapenem, aztreonam, quinolone, trimetroprim–sulfamethoxazole, azithromycin, chloramphenicol, nitrofurantoin và fosfomycin. Tất cả các chủng đều kháng với penicillin, roxithromycin, clarithromycin, lincosamide, streptogramin, glycopeptide và fusidic acid. Các chủng kháng ở mức độ khác nhau với streptomycin, erythromycin và rifampicin.

Điều trị nhiễm trùng do *P. shigelloides* cần làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh điều trị bệnh nhân có hiệu quả. Có thể dùng quinolone cho nhiễm trùng đường tiêu hoá liên quan tới *P. shigelloides*, chúng có tác dụng giảm thời gian bị tiêu chảy.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.2. Phòng bệnh

Nhiễm trùng *Aeromonas* spp. *Plesiomonas* spp. không truyền từ người qua người, vì vậy các biện pháp can thiệp đặc biệt không cần thiết. Nấu ăn đúng cách sẽ phòng chống được các nhiễm khuẩn qua thực phẩm vì nhiệt độ sẽ phá huỷ các độc tố và các enzym của vi khuẩn. Tuy nhiên *Aeromonas* spp. *Plesiomonas* spp. còn sinh ra độc tố chịu nhiệt nên cần thận trọng. *P. shigelloides* không phát triển được ở 5°C và 50°C, nên khử trùng ở nhiệt độ 60°C trong 30 phút (pasteurisation) phá huỷ được vi khuẩn.

Tránh ăn hải sản sống và nước bề mặt bị nhiễm bẩn để giảm nguy cơ nhiễm bệnh, đặc biệt lưu ý với người có miễn dịch kém hoặc sức khoẻ suy nhược.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abbott SL, Cheung W KW, Janda JM. The genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. J Clin Microbiol. 2003 (41): 2348–2357.
2. Abbott SL, Kokka RP, Janda JM. Laboratory investigations on the low pathogenic potential of *Plesiomonas shigelloides*. J Clin Microbial. 1991 (29): 148–153.
3. CDC. Guide to confirming the diagnosis in foodborne diseases. 2003.
4. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. John G Holt. Lippincott Williams & Wilkins; 9th ed, 1994
5. Brenner DJ. Family I. *Enterobacteriaceae,* pp.408–420. *In*: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. Krieg NR (ed). Williams & Wilkins, Baltimore. 1984.
6. Ewing WH. Edwards and Ewing's Identification of *Enterobacteriaceae*, 4th edition. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York. 1986.
7. Gosling PJ. Pathogenic mechanisms. In: Austin B. et al., eds. The genus *Aeromonas*. London, Wiley. 1996: 245–265.
8. Hoshino K, Yamasaki S, Mukhopadhyay AK, Chakraborty S, Basu A, Bhattacharya SK, Nair GB, Shimada T, Takeda Y. Development and evaluation of a multiplex PCR assay for rapid detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 and O139. FEMS Immunol Med Microbiol. 1998; 20(3): 201 – 207.
9. Kaper JB, Morris JG–Jr, Levine MM. Cholera. Clinical Microbiology Reviews. 1995.
10. Janda JM. *Vibrio, Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Collier L, Balowsa A, Sussman M eds. Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. Systemic bacteriology, Vol. 2, Arnold. 1998: 1065–1089.

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

11. Janda JM, Abbott SL, Carnahan AM. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA et al., eds. Manual of clinical microbiology. Washington DC: American Society for Microbiology. 1995: 477–482.
12. Finkelstein RA. Cholera, *Vibrio cholerae* O1 and O139, and other pathogenic vibrios. In Samuel Baron ed, Medical Microbiology. 4th ed. New York; Churchill Livingstone. 1996.
13. Murray et al eds. Manual of Clinical Microbiology. ASM Patrick R., 8th ed, Volume 1, 2. 2003.
14. Nato F et al. One–step immunochromatographic dipstick tests for rapid detection of *Vibrio cholerae* O1 and O139 in stool samples. Clinical Diagn Lab Immunolo. 2003 (10): 476–478.
15. Stephan H. Gillespie and Peter M. Hawkey eds. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd.; 2nd ed. 2006.
16. Sakazaki R, Iwanami S and Fukumi H. Studies on the enteropathogenic, facultatively halophilic bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*: Morphological, cultural and biochemical properties and its taxonomic position. Jpn J Med Sci Biol. 1963 (16):161–188.
17. Tada J et al. Detection of the thermostable direct hemolysin gene (*tdh*) and the thermostable direct hemolysin–related hemolysin gene (*trh*) of *Vibrio parahaemolyticus* by polymerase chain reaction. Molec Cell Probes. 1992 (6):477–487.

HỌ PSEUDOMONADACEAE

Họ *Pseudomonadaceae* do Winslow và cộng sự mô tả năm 1917, đây là một họ lớn và phức tạp, gồm những vi khuẩn có các tính chất chung sau đây:

– Trực khuẩn Gram âm, thẳng hoặc hơi cong nhưng không xoắn.

– Di động bằng một hoặc một chùm lông ở một cực, trừ *Burkholderia mallei* không di động.

– Hiếu khí.

– Chuyển hoá năng lượng theo kiểu hô hấp, không bao giờ lên men.

– Mọc được trong khoảng nhiệt độ từ 4 – 43°C.

– Catalase dương tính.

– Oxidase thường dương tính.

– Tỷ lệ guanin cộng cytosine (G + C) của ADN: 58 – 71 mol %.

Chi chuẩn (type genus) của họ *Pseudomonadaceae* là *Pseudomonas* Migula 1894.

Hiện nay, theo một sơ đồ phân loại hay được sử dụng, họ *Pseudomonadaceae* gồm 7 chi:

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1. CHI *CHRYSEOMONAS*

Chi *Chryseomonas,* trước đây, chỉ có một loài, *Chryseomonas luteola* (Kodama et al. 1985) Holmes et al. 1987. Loài này trước đây gọi là *Chromobacterium typhiflavum*, CDC nhóm Ve. 1, *Pseudomonas luteola*, hoặc *Pseudomonas polytricha*. Năm 1987, Holmes và cộng sự đã đề nghị chuyển loài này sang một chi mới, *Chryceomonas,* do một số đặc điểm mới phát hiện ra không phù hợp với vị trí phân loại trước đây. *C. luteola* di động bằng một chùn lông ở một cực, oxidase âm tính, phát triển được trên môi trường MaConkey và thạch máu, sinh sắc tố vàng. *C. luteola* ít khi thấy ở các bệnh phẩm lâm sàng. Tuy vậy, trong hai năm, tại một bệnh viện ở Mỹ, người ta đã gặp 14 trường hợp *C. luteola* trong số 565 vi khuẩn đã phân lập được từ bệnh nhân của bệnh viện. Cũng đã có những báo cáo về một số trường hợp nhiễm *C. luteola* nặng như nhiễm khuẩn huyết, viêm nội tâm mạc và viêm phúc mạc.

Hiện nay, loài *Chryseomonas polytricha* Holmes et al. 1986 cũng đã được công nhận nằm trong chi *Chryseomonas.*

2. CHI *COMAMONAS*

Năm 1987, Tamaoka đề nghị chuyển *Pseudomonas acidovorans* và *Pseudomonas testosteroni* sang một chi mới tên là *Comamonas*. Hiện nay, hai loài trên được gọi là *Comamonas acidovorans* và *Comamonas testosteroni.*

Tất cả các loài trong chi *Comamonas* đều di động bằng một chùm lông (2 – 6 chiếc) ở một cực. Chúng không sinh acid trên môi trường OF glucose, vì vậy, chúng dược xếp vào nhóm pseudomonads sinh kiềm. Tuy vậy có thể phân biệt chúng bằng OF fructose và mannitol (+), acetamide (+), indole (+).

C. acidovorans thường gặp trong các bệnh phẩm lâm sàng nhưng vẫn được coi là không gây bệnh, *C. testosteroni* rất thường gặp ở ngoài môi trường nhưng cũng ít khi thấy gây bệnh cho người. Có một số báo cáo, vi khuẩn này liên quan đến các bệnh do bất thường về giải phẫu ở đường tiêu hoá, đặc biệt là ruột thừa.

3. CHI *FLAVIMONAS*

Chi *Flavimonas* hiện nay chỉ có một loài, *F. oryzihabitans*. Loài này rất giống *C. luteola* (di động, oxidase âm tính, sắc tố vàng), nhưng không có khả năng thuỷ phân esculin. Orthonithrophenyl–β–galactopyranosid (ONPG) âm tính. *F. oryzihabitans* trước đây gọi là *Chromobacterium typhiflavum* hay *Pseudomonas oryzihabitans*. Năm 1987, chi *Flavimonas* được hình thành dựa trên những đặc điểm riêng của chúng so với *Chriseomonas*: chỉ có một lông duy nhất ở một cực, esculin và ONPG đều âm tính.

F. oryzihabitans có thể phân lập được từ rất nhiều loại bệnh phẩm lâm sàng như mủ, đờm và máu; một số trường hợp gây viêm phúc mạc khi lọc màng bụng kéo dài.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. CHI *SHEWANELLA*

Chi *Shewanella* mới được công nhận trong thời gian gần đây. Chi này gồm ba loài: *Shewanella putrefaciens* (trước đây là *Pseudomonas putrefaciens*), *S. hanedai* và *S. benthica*.

S. putrefaciens là loại vi khuẩn không lên men (non–fermenter) duy nhất có sinh H_2S trên môi trường Kligler (KIA): oxidase (+), lông ở một cực, khuẩn lạc có màu da cam trên thạch máu.

Shewanella có thể phân lập được từ các vết thương ở da, mủ tai, áp xe ổ bụng, mật và máu.

5. CHI *XANTHOMONAS*

Chi này gồm các vi khuẩn sinh sắc tố màu vàng. Tất cả các loài trong chi này đều di động bằng một chiếc lông duy nhất ở một cực, trừ *X. maltophilia* (trước đây là *Pseudomonas maltophilia*) có từ một đến sáu lông.

Xanthomonas lúc đầu người ta tưởng chỉ có liên quan đến gây bệnh cho thực vật, nhưng ngày càng tìm thấy chúng nhiều hơn trong các bệnh phẩm lâm sàng.

6. CHI *PSEUDOMONAS*

Pseudomonas là một chi lớn, phức tạp và có vai trò quan trọng trong cả lâm sàng và môi trường. Chi này lần đầu tiên được Migula đặt tên năm 1894, nhưng sau đó đã được xem xét và phân loại lại rất nhiều lần theo sự phát triển của các phương pháp và các kỹ thuật mới ứng dụng trong phân loại học. Bằng phương pháp lai ADN–ARN ribosome. chi *Pseudomonas* được chia thành năm nhóm rRNA khác biệt:

Nhóm I: *Pseudomonas*, gồm:

Nhóm huỳnh quang: *P. aeruginosa, P. fluorecens, P. putida*.

Nhóm Stutzeri: *P. stutzeri, P. mendocina*, CDC group Vb–3

Nhóm sinh kiềm: *P. alcaligenes, P. pseudolacaligenes* và các loài *Pseudomonas* nhóm 1.

Nhóm II: Hiện nay đã chuyển sang chi mới: *Burkholderia*

Nhóm III:

Nhóm *Acidovorans*: *Comamonas acidovorans, C. terrigena và C. testosteroni.*

Nhóm Facilis–delafieldii: *Acidovorax delafieldii, A. facilis* và *A. temperans*

Nhóm IV: *Pseudomonas diminuta* và *P. vesicularis*

Nhóm V: *Xanthomonas maltophilia*

Tính đến hiện nay, có 160 loài trong chi *Pseudomonas* nhưng chỉ có 12 loài có ý nghĩa trong lâm sàng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chi *Pseudomonas* có quan hệ gần nhất với các chi *Azomonas, Azotobacter, Cellvibro, Chrysomonas* và *Flavimonas*. *Pseudomonas* hiếu khí, chuyển hoá năng lượng theo kiểu hô hấp với chất nhận điện tử cuối cùng là oxy tự do. Trong một số trường hợp, nitrat có thể thay thế cho oxy và nhờ vậy, *Pseudomonas* có thể mọc được trong điều kiện kỵ khí. Tuyệt đại đa số các loài không mọc được trong điều kiện acid (pH 4,5). Rất nhiều loài tích lũy poly–β–hydroxybutyrat (PHB) như là nguồn dự trữ năng lượng, đặc biệt là khi mọc trong những điều kiện mà nguồn nitơ hạn chế.

Loài chuẩn của chi *Pseudomonas* là *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900.

– Lông và pili của *Pseudomonas:*

Các tế bào điển hình của *Pseudomonas* có một hoặc một chùm lông ở một cực. Tuy vậy, trong một số trường hợp, có thể thấy một số lông ngắn mọc ở thân (*P. stutzeri, P. medocina*). Nếu nuôi cấy trên môi trường đặc thì loại lông này phát triển tốt hơn so với nuôi cấy trên môi trường lỏng. Một số loài *Pseudomonas* có pili; người ta thấy, pili có thể ở cực hoặc xung quanh thân tế bào. Pili ở cực của *P. aeruginosa* rộng khoảng 6 nm, nhỏ hơn so với pili cùng loại của *Enterobacteriaceae*.

Khi xử lý bằng EDTA, *P. aeruginosa* bị ly giải một cách nhanh chóng và người ta thu được một phức hợp gồm các protein ở màng ngoài, lipopolysaccharid (LPS) và lipid. Nghiên cứu thành phần lipid A của *P. maltophilia* (hiện nay là *Xanthomonas maltophilia*), thấy các acid béo chính là 9–methyldecanoic, 2–hydroxy–9–methyldecanoic và 3– hydroxy–11–methyldecanoic.

– Chuyển hoá đường

Đa số các hexose và các chất tương tự được thoái hoá theo con đường Entner–Doudoroff, sinh ra rất ít acid trung gian:

D–glucose

↓ ATP

Glucose – 6 – phosphat

↓ NAD, NADP

6–phosphogluconat

↓ – H_2O

2–ceto, 3–deoxy–6–phosphogluconat

↓

Pyruvat

↓

Chu trình Krebs

– Chuyển hoá acid hữu cơ

Pseudomonas có thể sử dụng được nhiều acid béo. Acetat có thể bị thoái hoá

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

theo chu trình Krebs, các acid béo có số carbon lớn hơn 3 bị thoái hoá tới acetyl–coenzym A theo kiểu β–oxy hoá.

– Chuyển hoá acid amin

Chuyển hoá lysine có thể theo 3 con đường khác nhau (oxygenase, pipecolate và cadaverine) nhưng cuối cùng thì đều tạo ra glutarat để rồi thoái hoá tiếp thành acetyl–coenzym A. Rất nhiều *Pseudomonas* sử dụng được arginin; hai chất trung gian đầu tiên của thoái hoá arginin là citrulin và ornithin. Các enzym tham gia vào quá trình này là arginin deiminase và ornithin transcarbamylase. Sản phẩm cuối cùng của quá trình thoái hoá arginin là carbamyl phosphat, một nguồn phosphat cao năng lượng dùng để tổng hợp ATP. Các phản ứng của quá trình trên gọi là hệ thống arginin dihydrolase mà nhờ nó, các *Pseudomonas* hiếu khí có thể thu được ATP trong điều kiện kỵ khí.

Pseudomonas chủ yếu gây bệnh cho thực vật và động vật có xương sống. Chúng có thể gây bệnh cho người; vai trò của các *Pseudomonas* gây bệnh có điều kiện ngày càng lớn vì tính chất phân bố rộng rãi và tính kháng kháng sinh ngày càng gia tăng của chúng. Loài *Pseudomonas* quan trọng nhất trong Y học, hiện nay, là *P. aeruginosa* (thường gọi là trực khuẩn mủ xanh).

7. CHI *BURKHOLDERIA*

Năm 1993, Yabuuchi – nhà vi khuẩn học người Nhật – đề nghị chuyển bảy loài trong phân nhóm II của chi *Pseudomonas* (*P. mallei, P. pseudomallei, P. cepacia, P. caryophylli, P. gladioli, P. pickettii* và *P. solanacearum*) sang một chi mới, lấy tên là *Burkholderia* (*Burkholderia*, đặt theo tên của W. H. Burkholder, nhà vi khuẩn học người Mỹ, người đầu tiên tìm ra tác nhân gây bệnh thối rữa ở củ hành). Đề nghị này đã được Hội Vi sinh vật học quốc tế chấp nhận.

Hiện nay, chi *Burkholderia* gồm 52 loài, loài quan trọng nhất trong Y học là *B. pseudomallei*. Loài chuẩn của chi này là *Burkholderia cepacia* (Palleroni và Homes 1981) Yabuuchi và cộng sự 1993.

Họ *Pseudomonadaceae*, hai vi khuẩn có tầm quan trọng nhất trong Y học là *Pseudomonas aeruginosa* (trực khuẩn mủ xanh) và *Burkholderia pseudomallei*.

TRỰC KHUẨN MỦ XANH

Pseudomonas aeruginosa

(Schroeter 1872) Migula 1900

Chủng mẫu: ATCC 10145

Pseudomonas aeruginosa, trước đây gọi là *Bacterium aeruginosa*, do Schroeter mô tả năm 1872. Năm 1900, Migula chuyển chúng sang chi *Pseudomonas*, từ đó,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

vi khuẩn mang tên *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudes*, tiếng Hylạp, = giả; *monas*, tiếng Hylạp, = đơn vị; *aeruginosa* = gỉ đồng).

Ngay từ trước khi phân lập được vi khuẩn này, người ta đã có nhận xét rằng, trong một số trường hợp, ở vết thương sinh ra một loại mủ đặc biệt có màu xanh như màu gỉ đồng. Hiện tượng này đã được giải thích theo nhiều quan điểm khác nhau, nhưng chỉ có lời giải thích thoả đáng khi người ta phân lập được vi khuẩn từ ổ mủ đó dưới dạng thuần khiết. Thì ra, hiện tượng này rất đơn giản, là do vi khuẩn đã sinh ra một loại sắc tố có màu xanh. Chính vì vậy, người ta thường gọi *Pseudomonas aeruginosa* là *trực khuẩn mủ xanh*.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Trực khuẩn mủ xanh Gram âm, thẳng hoặc hơi cong nhưng không xoắn, hai đầu tròn. Kích thước từ 0,5–1,0 μm × 1,5–5,0 μm. Có một lông duy nhất ở một cực. Các pili của trực khuẩn mủ xanh dài khoảng 6 nm, là nơi tiếp nhận nhiều loại phage và giúp cho vi khuẩn gắn vào bề mặt của tế bào vật chủ. Trực khuẩn mủ xanh không sinh nha bào.

1.2. Nuôi cấy

P. aeruginosa là một trực khuẩn có chiều dài thay đổi tùy theo chủng, di động bằng một lông đơn cực, oxy phân tử cần thiết cho sự di động. Khả năng mọc trong điều kiện kỵ khí chỉ có thể xảy ra khi có mặt một yếu tố nhận điện tử cuối cùng thay thế như nitrate hoặc arginine. Do vậy không thể dùng test đo độ di động trong các ống thạch thông thường. Chúng mọc ở biên độ nhiệt độ rộng (10–44°C), nhưng tối ưu ở 35°C. Vi khuẩn không mọc ở nhiệt độ 4°C, đây là đặc điểm phân biệt với các loài ưa lạnh như *P. putida* và *P. fluorescens,* nhưng các chủng *P. aeruginosa* mọc tốt sau khi cấy chuyển liên tiếp ba lần ở 42°C trong khi các loài khác không có đặc điểm này. Trực khuẩn mủ xanh mọc dễ trên các môi trường nuôi cấy thông thường (thạch thường, thạch máu, canh thang), hiếu khí tuyệt đối.

Trên môi trường đặc, có thể gặp hai loại khuẩn lạc: một loại to, nhẵn, bờ trải dẹt, giữa lồi lên trông giống như trứng ốp lết (fried egg); một loại khác thì xù xì; cũng có khi gặp loại thứ ba, khuẩn lạc nhày. Trong các bệnh phẩm lâm sàng, thường gặp loại thứ nhất; trong các mẫu lấy từ môi trường, thường gặp loại thứ hai. Tính chất đặc trưng của trực khuẩn mủ xanh là sinh sắc tố và chất thơm. Có hai loại sắc tố chính:

– Pyocyanin: có màu xanh lá cây, tan trong nước và chloroform, khuếch tán tốt ra môi trường nuôi cấy, làm cho môi trường và khuẩn lạc có màu xanh nên có thể nhận ra nó một cách dễ dàng bằng mắt thường. Pyocyanin thuộc loại sắc tố

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phenazin, cấu trúc hoá học của nó đã được phân tích chi tiết. Chính sắc tố này đã làm cho mủ có màu xanh.

– Pyoverdins: là loại sắc tố huỳnh quang, phát màu xanh khi chiếu tia cực tím có bước sóng 400 nm. Pyoverdins không bền vững, dễ mất đi trong điều kiện nuôi cấy không chuẩn. Khi nuôi cấy vi khuẩn ở môi trường có nồng độ sắt thấp, nó được tổng hợp nhiều hơn. Cấu trúc hoá học của pyoverdins chưa được biết đầy đủ.

1.3. Đặc điểm hoá sinh

Cũng giống như các loài pseudomonads khác, hầu hết các chủng này sử dụng nhiều hợp chất hữu cơ đơn lẻ làm nguồn cung cấp năng lượng. Loài này chuyển hóa glucose và các đường khác qua chu trình oxy hóa. Acid được tạo ra từ đường trong các môi trường lỏng, tuy nhiên chất này bị trung hòa bởi kiềm được giải phóng từ quá trình phân hủy peptone. Do vậy, hiện tượng chuyển hóa đường được quan sát rõ nhất trên loại môi trường có muối ammoni. Tất cả các chủng mủ xanh đều có cytochrome oxidase là chất được phát hiện trong test oxidase.

Trực khuẩn mủ xanh có đủ các cytochrom (b, c, a và oxidase) trong hệ thống vận chuyển điện tử. Trong thực hành, người ta thường dùng oxidase test để tìm sự có mặt của cytochrom oxidase. Các tính chất hoá sinh thường sử dụng trong lâm sàng gồm: urease (–), indol (–), H_2S (–); citrat Simmons, arginin dihydrolase và gelatinase (+); khử NO_3^- đến N_2. Trên môi trường OF (Oxidation – Fermentation), nhiều loại carbohydrat bị thoái hoá theo kiểu oxy hoá có sinh acid: glucose, mannitol, glycerol, ethanol, arabinose, fructose và galactose.

1.4. Khả năng đề kháng

Trực khuẩn mủ xanh chết ngay ở 100°C. Trong môi trường ẩm, thoáng và không có ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp, chúng sống được hàng tuần; trong môi trường có dinh dưỡng tối thiểu, ở 5°C, chúng sống được hơn 6 tháng.

1.5. Kháng nguyên

Kháng nguyên O chịu nhiệt, bản chất hoá học là lipopolysaccharide (LPS). Dựa vào kháng nguyên này, người ta đã chia trực khuẩn mủ xanh thành 12 nhóm. Kháng nguyên H không chịu nhiệt, là kháng nguyên lông. Vì khó khăn trong việc điều chế, nên việc định type huyết thanh dựa trên kháng nguyên này chưa được áp dụng rộng rãi.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Các yếu tố độc lực

P. aeruginosa tổng hợp rất nhiều các yếu tố gắn với tế bào (nội tiết), trong đó có một số yếu tố liên quan đến khả năng gây bệnh như ngoại độc tố A

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(exotoxin A – ETA), phospholipase, protease, pyocyanin, pili, flagellin và lipopolysaccharide (LPS). Tuy nhiên, nếu không có sự tổn thương hàng rào bảo vệ của vật chủ, các yếu tố độc lực này có độc tính tự nhiên rất thấp với con người. Để gây bệnh được, chúng phải xâm nhập được vào trong mô, hoặc vào toàn bộ hệ thống cơ thể, với số lượng đủ lớn để vượt qua được hàng rào bảo vệ của cơ thể.

Các yếu tố bám

Tổn thương niêm mạc biểu mô do nhiễm virus hay do sự cư trú trước đó của các vi khuẩn khác làm cho *P. aeruginosa* dễ dàng bám được vào mô. Các vi khuẩn này phát triển tự nhiên hình thành biofilm hoặc trên bề mặt hoặc bám vào các phân tử glycoprotein kích cỡ lớn giống thành phần mucin trên đường hô hấp. Đặc tính bám khác nhau tùy thuộc vào các chủng và các bề mặt bám khác nhau. Có 4 nhóm yếu tố bám chính được phân loại dựa trên sự bám của *P. aeruginosa* vào mô vật chủ và vào chất mucin. Bốn nhóm gồm có: pili, protein F màng ngoài bám vào mucin, lectin bề mặt, và các polysaccharide ngoại bào. Vai trò của từng loại yếu tố bám tham gia vào khả năng bám của *P. aeruginosa* vào các mô khác nhau rất khó có thể định lượng được. Tuy vậy, hầu hết trong điều kiện thích hợp, các chủng đều có pili. Pili bám dính chủ yếu ở dạng IV và có chức năng đảm bảo sự di động của tế bào vi khuẩn qua các bề mặt cứng (kiểu di động giật lùi) và giúp cho một số bacteriophage có thể bám và xâm nhập được vào trong tế bào vi khuẩn. Pili này là sản phẩm chuỗi protein của gen *pilA* nhưng sự lắp ráp và hình thành chức năng của chúng đòi hỏi sự tham gia của rất nhiều các gen khác. Rất nhiều các nghiên cứu đã chỉ ra vai trò của pili trong khả năng gây nhiễm trùng ở một số vị trí và trong khả năng gây độc tế bào. *P. aeruginosa* tổng hợp hai loại phân tử lectin bề mặt là PA–IL bám vào phân tử đường galatose và PA–IIL bám vào phân tử fucose có chức năng bám giống như fimbriae bám của *E. coli* gây nhiễm trùng tiết niệu. Các phân tử lectin này tương tác với các phân tử kháng nguyên glycosphingolipid của nhóm máu ABO và P giúp cho quá trình gây nhiễm trùng và quá trình bệnh sinh của *P. aeruginosa*. Sự sao chép của gen sinh tổng hợp alginate bị kích thích bởi sự bám của *P. aeruginosa* vào bề mặt, làm tăng lượng alginate được sản xuất ra. Tập hợp của alginate và các vi hạt trong tế bào vi khuẩn, đơn vị cơ bản dạng biofilm, giúp bảo vệ vi khuẩn khỏi các tác động của môi trường bên ngoài, của bổ thể, và của kháng sinh.

Lông (Flagella)

Trong mô hình thí nghiệm trên động vật, nếu mất lông, độc lực của vi khuẩn bị giảm đáng kể. Do vậy, lông có vai trò trong khả năng gây bệnh của vi khuẩn. Lông thúc đẩy hóa hướng động và sự di động của tế bào vi khuẩn trong quá trình xâm nhập vào mô. Lông gắn vào màng nhày của đường hô hấp, giúp cho vi khuẩn chống lại được cơ chế thanh thải của tế bào có lông chuyển đường hô hấp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Lông cũng có vai trò làm cầu nối giữa vi khuẩn với các đại thực bào và các tế bào thực bào khác. Do vậy, mặc dù có vai trò rất quan trọng trong việc thiết lập quá trình nhiễm trùng ở đường hô hấp nhưng lông cũng góp phần giúp cơ thể thải loại vi khuẩn. Hầu hết các chủng phân lập trên bệnh nhân xơ nang phổi (cystic fibrosis – CF) đều không có lông nên chúng không bị thực bào bởi các tế bào đại thực bào, do đó chúng dễ dàng thiết lập tình trạng nhiễm trùng mạn tính ở các bệnh nhân này.

Lipopolysaccharide

P. aeruginosa có hai loại LPS khác biệt nhau: một loại đặc hiệu serotype (B–band), và một loại là kháng nguyên chung (A–band). Mức độ biểu hiện của các LPS A–band và B–band có thể làm thay đổi các đặc tính bề mặt của tế bào vi khuẩn, giúp vi khuẩn có thể sống sót được trong những điều kiện khắc nghiệt hoặc đối phó được với các đáp ứng miễn dịch của cơ thể vật chủ. LPS của *P. aeruginosa* nói chung có độc tính thấp hơn nhiều so với của các *Enterobacteriaceae*. Nó có vai trò chính là bảo vệ tế bào vi khuẩn khỏi bị tác động diệt khuẩn thông qua bổ thể của huyết thanh. Gần như tất cả các chủng *P. aeruginosa* phân lập được từ các bệnh phẩm lâm sàng đều không bị bất hoạt bởi huyết thanh, đặc biệt là các chủng phân lập được trong bệnh phẩm máu. Các chủng phân lập được từ các nhiễm trùng mạn như ở bệnh nhân CF, viêm phổi tắc nghẽn, viêm đường tiết niệu do liệt hai chân thường chịu tác động của huyết thanh. Các chủng đột biến thiếu hụt LPS đều chịu tác động của huyết thanh và đều không có độc lực khi thử nghiệm trên mô hình động vật thí nghiệm. Kháng thể kháng LPS có tác dụng bảo vệ cho cả động vật thí nghiệm và cả người. Bản thân một mình kháng thể đặc hiệu chống kháng nguyên O của *P. aeruginosa* có tác dụng chống lại sự cư trú của vi khuẩn trên niêm mạc màng nhày chứ không phải vai trò của IgA tại chỗ.

Enzym ngoại bào (ETA)

Khoảng 90% các chủng *P. aeruginosa* có khả năng sinh ETA, một độc tố gây chết (lethal toxin). Độc tố này gần giống với độc tố bạch hầu. Các độc tố này xúc tác cho sự vận chuyển gốc ADP–rybosyl từ phân tử NAD dạng oxy hóa sang yếu tố kéo dài EF2. Phản ứng này làm bất hoạt EF2, làm kết thúc quá trình kéo dài chuỗi polypeptide, do đó sẽ ức chế quá trình sinh tổng hợp protein, gây chết tế bào. Độc tố này gồm có mảnh A và mảnh B, trong đó mảnh A có hoạt tính enzym còn mảnh B đóng vai trò là phân tử bám. ETA được mã hóa bởi gen *toxA*, và được điều hòa bởi hai gen *regA* và *regB*. ETA cũng có hoạt tính kích thích phân bào lympho T và cảm ứng sinh interleukin–1.

P. aeruginosa còn có thể sinh enzym ngoại bào S (exoenzyme S) là enzym xúc tác cho việc vận chuyển ADP–ribose từ NAD^+ tới các phân tử protein của tế bào của các eukaryote khác. Độc lực của các chủng không có gen *exo*S giảm nhiều khi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thử nghiệm trên mô hình động vật thí nghiệm, nhưng có đến 94% các chủng phân lập được ở bệnh nhân CF và 80% phân lập ở bệnh nhân không bị CF có mang gen *exo*S.

Có hai enzym gây tan máu cũng đã được xác định ở *P. aeruginosa*, đó là phospholipase nhạy cảm với nhiệt (heat–labile phospholipase C – PLC) và rhamnolipid bền với nhiệt. PLC giáng hóa các phospholipid có chứa nhóm NH_4^+ như phosphatidylcholine, một thành phần phospholipid chủ yếu của chất bề mặt phổi. Do vậy, PLC là một yếu tố độc lực và đặc biệt là của các chủng cư trú ở phổi. Rhamnolipid cũng giáng hóa phospholipid nhờ hoạt tính tẩy rửa của nó và ở nồng độ cao nó có thể thu hút và ly giải các tế bào bạch cầu và có hoạt tính bất động các tế bào có lông chuyển (ciliostatic activity).

Hầu hết các chủng *P. aeruginosa* còn tổng hợp được rất nhiều enzym ly giải protein loại gelatin, casein, elastin, collagen và fibrin. Các enzym này được chia thành ba nhóm: protease chung, elastase và protease kiềm. Nhóm các enzym này khác biệt nhau ở điều kiện pH tối ưu cho hoạt động, ở tính đặc hiệu với các chất bị tác động, và các đặc tính vật lý học. Các protease chung tác động đặc hiệu với lysine và có phạm vi hoạt động hẹp. Các protease kiềm có phổ hoạt động rộng hơn và đặc biệt là phá hủy được giác mạc trong các nhiễm trùng mắt. Elastase có thể giáng hóa được nhiều loại protein khác nhau như elastin, các Ig, bổ thể, cấu trúc màng cơ bản, và mucin.

Các chủng *P. aeruginosa* còn có thể tổng hợp được độc tố gây độc tế bào. Độc tố này nằm trong khoảng gian màng (periplasmic space) ở dạng bất hoạt. Nó sẽ được hoạt hóa bởi các protease. Chính vì độc tố này gây độc tế bào mà có thể thấy hiện tượng giảm bạch cầu trong giai đoạn nhiễm khuẩn huyết *P. aeruginosa* và giảm bạch cầu hạt ở một số bệnh nhân.

Siderophore

Một điều kiện bắt buộc để thiết lập và duy trì một quá trình nhiễm trùng là vi khuẩn phải lấy được sắt từ môi trường ngoài. Để lấy được sắt, *P. aeruginosa* phải bài tiết các chất gắn (chelator) với sắt như pyochelin và sắc tố pyoverdine. Trong điều kiện môi trường không có sẵn sắt, vi khuẩn sẽ phải tận dụng các phân tử siderophore dị nguyên có nguồn gốc từ tế bào vi khuẩn hoặc nấm để có thể phát triển và tạo ra các yếu tố độc lực. Pyochelin rất ít tan trong nước và có trọng lượng phân tử thấp, còn pyoverdine lại rất dễ hòa tan trong nước và có hoạt tính cao hơn.

Pyocyanin

Chất phenazine trong sắc tố pyocyanin và chất tiền thân không màu của nó là 1--hydroxyphenazine có độc tính cao với các tế bào biểu mô đường hô hấp. Ở nồng độ thấp, các chất này làm giảm sự chuyển động của các tế bào lông chuyển và tiếp đó làm mất sự toàn vẹn của bề mặt biểu mô đường hô hấp. Pyocyanin gây

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

giảm AMP vòng nội bào và sự chuyển động của các lông chuyển bị hạn chế do các chất đối kháng với β_2–adrenoceptor như salmeterol và isoprenaline. Pyocyanin cũng có tác dụng diệt khuẩn đối với nhiều loài như *E. coli*, *S. aureus*, và *M. smegmatis*.

Quorum Sensing

Trong quá trình phát triển, *P. aeruginosa* tạo ra các phân tử tín hiệu nhỏ dạng hòa tan acyl homoserine lactone (AHL) mà các vi khuẩn xung quanh có thể nhận biết được. Khi lượng AHL ngoài môi trường được tích lũy ngày càng cao do số lượng tế bào vi khuẩn ngày càng tăng, nồng độ AHL nội bào cũng đủ lớn để hoạt hóa các yếu tố điều hòa sao mã, làm cho các vi khuẩn có thể hoạt động như một quần thể trong đó có sự phối hợp điều hòa hoạt động biểu hiện gen. Quá trình này được gọi là *quorum sensing*. Có hai hệ thống là hệ thống las và rhl. Các hệ thống này là đích của các thuốc điều trị vì với hy vọng là hệ thống rhl sẽ làm giảm các yếu tố độc lực của vi khuẩn và có thể hỗ trợ cơ thể loại bỏ nhiễm trùng. Các tín hiệu giữa tế bào với tế bào là một đòi hỏi bắt buộc để thiết lập trạng thái biofilm. AHL đã được phát hiện ở phổi của bệnh nhân CF nhiễm trùng *P. aeruginosa* nên AHL có vai trò nhất định và rõ ràng trong quá trình hình thành nhiễm trùng *P. aeruginosa*.

2.2. Dịch tễ học

P. aeruginosa lan truyền trong môi trường tự nhiên và có thể thích ứng trong các điều kiện khác nhau từ nước bề mặt cho đến các chất sát khuẩn. Vi khuẩn có thể nhân lên trong nước cất, được cho là bằng cách sử dụng các chất dinh dưỡng dạng khí hòa tan, tuy nhiên hiếm khi phân lập được trong nước biển (trừ trường hợp từ các cửa cống nước thải và cửa sông đổ ra biển bị ô nhiễm). Vi khuẩn này không có liên quan đến các bệnh của cá. Loài này tồn tại trong đất và rễ cây và do vậy thường phục hồi từ rau sống và cây tươi. Trong môi trường bệnh viện, bồn rửa tay, vòi nước và cống thoát nước thường bị nhiễm *P. aeruginosa* và các loại pseudomonads khác. Trái lại, môi trường trong nhà ở thường hiếm khi bị ảnh hưởng, trừ trường hợp máy giặt, vi khuẩn có thể cư ngụ bên trong các xy phông nước.

Sự lan truyền bệnh tự nhiên trên người thường ít xảy ra. Ở những đối tượng khỏe mạnh, tỷ lệ nguồn truyền bệnh qua phân dao động trong khoảng từ 2% đến 10% (có thể cao hơn ở người ăn chay). Nhiễm khuẩn qua phân xuất hiện thầm lặng trên những người lành và có sự luân chuyển nhanh chóng của các chủng loại vi khuẩn. *P. aeruginosa* bị chết nhanh trên da khô bình thường nhưng trong các điều kiện ẩm ướt cao như với các thợ lặn khi trải qua những lần lặn lâu trong trạng thái bão hòa, thì tần suất nhiễm khuẩn ở da tăng lên và kèm theo các nhiễm khuẩn tại chỗ khác như ở ống tai ngoài.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các chủng *P. aeruginosa* phân lập trên lâm sàng và môi trường tự nhiên hình thành một nhóm rất gần nhau với rất ít các đặc điểm để phân biệt giữa chúng. Các chủng phân lập từ môi trường tự nhiên có khả năng sử dụng xăng dầu được cung cấp trong các phase khí làm nguồn carbon duy nhất, nhưng các chủng phân lập trên lâm sàng lại không có đặc điểm này.

Mặc dù sự có mặt rộng rãi và rõ ràng của *P. aeruginosa* trong môi trường tự nhiên và một phổ rộng các yếu tốc gây độc tiềm tàng, tỷ lệ mới mắc của các nhiễm trùng mắc phải trong cộng đồng ở người lành tương đối thấp. Tuy nhiên, trong môi trường bệnh viện, đặc biệt với những bệnh nhân suy giảm miễn dịch, các bệnh nhân bỏng và bị suy nhược, tỷ lệ mắc mới *P. aeruginosa* khá cao. Tần suất truyền bệnh qua phân tăng lên rõ rệt ở bệnh nhân nhập viện, có thể là do ăn phải các thực phẩm nhiễm khuẩn và việc sử dụng rộng rãi kháng sinh. Tỷ lệ truyền bệnh qua nước bọt cũng tương tự ở bệnh nhân nội trú và nhóm chứng bình thường (khoảng 5%), tuy nhiên nhiễm khuẩn trên da ở bệnh nhân bị bỏng có thể lên tới 80% ở ngày thứ chín sau khi bị bỏng.

Hầu hết các loại thiết bị hay dụng cụ sử dụng trong bệnh viện được coi là nguồn mang *P. aeruginosa,* bao gồm chất khử khuẩn, kháng khuẩn, dịch truyền và các dịch rửa mắt. Những nguồn này có thể đóng vai trò là các ổ chứa làm lan truyền vi khuẩn trong các vụ dịch thông thường và điều này thường có nguyên nhân do quy trình chống nhiễm khuẩn kém. Sự lan truyền rộng qua môi trường đồ vật trong bệnh phòng như các xy phông ở chậu rửa và vòi nước đã được nhiều tác giả ghi nhận là nguồn nhiễm khuẩn nguy hiểm tiềm tàng, đặc biệt lây nhiễm bệnh qua tay của nhân viên y tế, tuy nhiên không phải tất cả các nghiên cứu đều ủng hộ kết luận này. Nhiều điều tra kết luận rằng *P. aeruginosa* là nguyên nhân khoảng 10% các nhiễm trùng bệnh viện mắc phải, tuy nhiên tỷ lệ này thay đổi khác nhau tùy theo từng vị trí cơ thể và các khoa trong bệnh viện và cũng thay đổi theo từng nghiên cứu khác nhau. Đây là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây viêm phổi mắc phải trong bệnh viện và tỷ lệ khoảng 15–25% được ghi nhận ở một số trung tâm y tế. Loài vi khuẩn này tới nay vẫn là nguyên nhân phổ biến và nguy hiểm nhất, loài này có khả năng phục hồi từ các vết bỏng được ghi nhận trong những năm 1960 và 70. Hiện nay, số các trường hợp nhiễm khuẩn nghiêm trọng ở bệnh nhân bỏng gây ra do *P. aeruginosa* đã giảm đi đáng kể (tại các quốc gia phát triển) do có sự cải thiện trong quá trình xử trí và điều trị bỏng.

2.3. Các dạng nhiễm trùng

Nhiễm trùng da và mắt

P. aeruginosa rất hiếm khi gây nhiễm trùng ở những người khỏe mạnh trừ khi đưa vào một số lượng rất lớn vi khuẩn. Tiếp xúc kéo dài với nguồn nước có nhiễm vi khuẩn mức độ lớn hơn 10^6 CFU/ml có thể đưa đến nhiễm trùng các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

dạng nhiễm trùng da như viêm nang lông, viêm da chảy nước ở các vùng kẽ hoặc viêm tai ngoài. Tổn thường viêm nang lông do *P. aeruginosa* thường có dạng ban dát lan tỏa hoặc ban dát có mụn nước và mụn mủ. Các tổn thương có thể tự khỏi nhưng kháng sinh điều trị tại chỗ hoặc kháng sinh toàn thân có thể được chỉ định khi cần thiết. *P aeruginosa* là căn nguyên thường gặp nhất gây viêm ống tai ngoài nhưng cũng có thể gây các dạng nhiễm trùng xâm nhập khi liệu pháp kháng sinh tại chỗ thất bại. Trường hợp nhiễm trùng nặng, có thể dẫn đến ăn thủng ống tai ngoài, ảnh hưởng đến các dây thần kinh sọ não và tỷ lệ tử vong có thể lên đến 20%.

P. aeruginosa có thể là căn nguyên gây nhiễm trùng mắt nặng nề nhất, đặc biệt là các nhiễm trùng giác mạc gây viêm loét giác mạc. Các dạng nhiễm trùng mắt khác có thể gặp là viêm kết mạc, viêm nội nhãn, viêm mô liên kết hốc mắt. Nguồn gốc đưa đến các nhiễm trùng mắt phổ biến nhất là các dịch bảo quản kính áp tròng, thuốc tra mắt và thuốc chải mi mắt (mascara) bị bội nhiễm *P. aeruginosa*.

Nhiễm trùng vết bỏng

P. aeruginosa là căn nguyên gây nhiễm trùng vết bỏng thường gặp nhất, có thể từ nguồn gốc nội sinh hoặc ngoại sinh. Hầu hết các ca tử vong đều liên quan đến các vết bỏng sâu và rộng. Hóa chất điều trị tại chỗ chống *P. aeruginosa* là bạc sulphadiazine, đặc biệt có tác dụng điều trị dự phòng. Bạc nitrate điều trị tại chỗ làm giảm tỷ lệ tử vong ở những bệnh nhân bỏng nặng và kem methylated sulphonamide thấm tốt qua vết sẹo bỏng. Bệnh nhân bỏng bị nhiễm trùng *P. aeruginosa* phải nằm viện lâu hơn và có nguy cơ tử vong cao hơn những bệnh nhân chỉ bị bỏng đơn thuần.

Nhiễm trùng vết thương

Căn nguyên vi khuẩn phân lập được nhiều nhất từ các vết thương nhiễm trùng là *P. aeruginosa*. Tỷ lệ này có liên quan đến vị trí, mức độ vết thương và tình trạng lâm sàng của bệnh nhân nằm lâu.

Nhiễm trùng xương khớp

Nhiễm trùng xương khớp có thể do động tác tiêm trực tiếp vào các vết thương hở hoặc theo đường máu ở những người lạm dụng thuốc theo đường tĩnh mạch và ở những người bị đái tháo đường dẫn đến viêm xương mạn tính. Loại bỏ ổ nhiễm trùng và các phần mô mềm xung quanh là rất cần thiết nếu như liệu pháp điều trị kháng sinh có hiệu quả. Viêm khớp nhiễm trùng không phổ biến, phần lớn gặp ở những người có tiền sử lạm dụng thuốc hoặc có các điều kiện thuận lợi đưa đến nhiễm trùng. Nhiễm trùng xương trong thời gian ngắn do *P. aeruginossa* thường là do biến chứng của viêm tai giữa, đặc biệt là ở trẻ em.

Nhiễm trùng huyết và dịch não tủy

Nhiễm trùng huyết do *P. aeruginosa* trước kia khá hiếm. Tuy nhiên, ngày

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nay, do tăng số lượng bệnh nhân nằm viện nhạy cảm với các loại nhiễm trùng cơ hội nên tỷ lệ nhiễm trùng huyết do *P. aeruginosa* khoảng 5–20%. Nhiễm trùng huyết này rất hay gặp ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch, đặc biệt là ở những bệnh nhân suy giảm bạch cầu hạt và những người già. Tỷ lệ tử vong liên quan đến nhiễm trùng huyết *P. aeruginosa* từ 17–78%, và thường được cho là khoảng 34–48%, mặc dù rất khó để phân biệt nguyên nhân tử vong do nhiễm trùng huyết hay do các bệnh nằm lâu.

Nhiễm trùng *P. aeruginosa* hệ thần kinh trung ương tương đối hiếm gặp. Tuy vậy, nguy cơ sẽ tăng cao ở trẻ sơ sinh, với những bệnh nhân phải phẫu thuật hoặc ghép thần kinh và những người bị bệnh mạn tính nằm lâu. Có thể phân lập được *P. aeruginosa* ở một số nhỏ bệnh nhân bị áp xe nội sọ. Ở những bệnh nhân viêm tai giữa, viêm xương chũm, tỷ lệ phân lập được vi khuẩn cao hơn. Nhiễm trùng bệnh viện do *P. aeruginosa* có thể gặp ở các đơn vị hồi sức tích cực sau phẫu thuật thần kinh, đặc biệt là ở những bệnh nhân có đặt catheter tĩnh mạch ngoài da để theo dõi áp lực dịch não tủy.

Nhiễm trùng tiết niệu

Nhiễm trùng tiết niệu tiên phát mắc phải trong cộng đồng do *P. aeruginosa* rất hiếm khi gặp trừ trường hợp bệnh nhân có bất thường giải phẫu hệ tiết niệu và tổn thương dây thần kinh tủy sống. Các nhiễm trùng tiết niệu do *P. aeruginosa* chủ yếu là nhiễm trùng bệnh viện và là hậu quả của việc đặt catheter dài ngày. Tỷ lệ nhiễm trùng được công bố khoảng 5%. Nhiễm trùng tiết niệu thứ phát theo đường máu đến từ một nhiễm trùng khu trú khác thường rất hiếm thấy. Những bệnh nhân bị liệt hai chân phải nằm viện là đối tượng đặc biệt rất dễ bị nhiễm trùng. Nhiễm trùng tiết niệu có thể giải quyết khi tháo bỏ catheter hoặc loại bỏ các yếu tố nguy cơ nhưng nhiễm trùng tuyến tiền liệt khi có kèm sỏi thận lại cực kỳ khó điều trị.

Nhiễm trùng hô hấp

Viêm phổi mắc phải trong cộng đồng do *P. aeruginosa* rất hiếm thấy và thường chỉ hay gặp ở những bệnh nhân có bệnh nằm lâu như bệnh phổi mạn tính hoặc bệnh ác tính hoặc ở những người có tiền sử lạm dụng thuốc đường tĩnh mạch. Ở những bệnh nhân nằm viện có đặt nội khí quản, vi khuẩn thường hay cư trú ở đường hô hấp dưới, đặc biệt là ở những người có mở khí quản để nối với máy thở. Chỉ một số trong các bệnh nhân này sẽ tiến triển đến viêm phổi. Ở hầu hết những bệnh nhân không có bất thường về giải phẫu hoặc không bị ức chế miễn dịch kéo dài, nhiễm trùng thường chỉ thoáng qua và không cần điều trị. Một khi viêm phổi liên quan đến máy thở xảy ra, sẽ là một vấn đề rất trầm trọng.

Nhiễm trùng ở những bệnh nhân xơ nang (Cystic Fibrosis – CF)

Trước những năm 1970, hầu hết các bệnh nhân CF thường bị nhiễm trùng do *S. aureus*, còn bị nhiễm *P. aeruginosa* rất hiếm thấy. Từ sau thời gian đó, *P. aeruginosa*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cư trú ở các bệnh nhân CF tăng rõ rệt. Có đến 30% bệnh nhi 2–5 tuổi và 80% bệnh nhân người lớn mang hoặc nhiễm trùng *P. aeruginosa*. Sự có mặt hay tồn tại lâu dài của vi khuẩn này có mối liên quan mật thiết đến tình trạng nặng nề trên lâm sàng của bệnh. Một khi vi khuẩn này đã cư trú, hầu như rất hiếm khi loại bỏ được chúng.

Vì *P. aeruginosa* phân bố rất rộng rãi, các bệnh nhân CF có thể bị nhiễm chúng từ rất nhiều nguồn khác nhau trong môi trường. Có một sự thật là các bệnh nhân, trừ khi là anh chị em ruột, thường chỉ mang một chủng duy nhất và giữ chủng này suốt cuộc đời, nhưng có một số nhỏ có thể mang hai hoặc nhiều hơn hai chủng có genotype khác nhau. Các bệnh nhân CF có nguy cơ nhiễm chéo các chủng *P. aeruginosa*, đặc biệt nguy cơ cao nhất ở những bệnh nhân không mang (carrier) vi khuẩn này, tiếp xúc với những bệnh nhân nhiễm trùng mạn tính nằm viện.

Pier đã đưa ra lời giải thích vì sao các bệnh nhân CF lại hay mang *P. aeruginosa* ở trên đường hô hấp. Theo ông, đầu tiên *P. aeruginosa* có thể bị tiêu diệt bởi các yếu tố kháng khuẩn có trong phổi như các peptide (defensin), nitric oxide hoặc bị bao bọc bởi yếu tố điều hòa độ dẫn truyền màng CF (CF transmembrane conductance regulator–CFTR). Yếu tố này đóng vai trò như một receptor tế bào biểu mô cho *P. aeruginosa*, và sự bao bọc xảy ra nhờ các oligosaccharide lõi của màng ngoài tế bào vi khuẩn. CFTR bao bọc lấy tế bào *P. aeruginosa* giúp đẩy vi khuẩn vào bên trong tế bào biểu mô. Các tế bào này bị rơi vào dịch bề mặt của đường hô hấp và bị loại bỏ bởi sự di động của các tế bào màng nhày có lông chuyển. Dịch bề mặt đường hô hấp của bệnh nhân CF bị mất nước do CFTR suy giảm chức năng, cùng với sự quá tiết chất nhày bất thường và hệ thống tế bào lông chuyển hoạt động yếu tạo điều kiện thuận lợi cho *P. aeruginosa* cư trú và gây nhiễm trùng thứ phát. Thực sự, sự chọn lọc *P. aeruginosa* cư trú ở những bệnh nhân CF có thể là do nhiều yếu tố quyết định nhưng một điều rõ ràng là có xảy ra chu trình viêm và phá hủy mô do sự đáp ứng quá mức với các tác nhân vi khuẩn và virus xâm nhập. Tình trạng viêm tăng dần theo thời gian và số lượng vi khuẩn cao, chống đỡ lại cơ chế thanh thải của phổi và liệu pháp kháng sinh điều trị.

Trong cơ thể bệnh nhân CF, có kháng thể đáp ứng với sự cư trú của *P. aeruginosa* được sinh ra. Đáp ứng miễn dịch dịch thể này không có vai trò tiên lượng bệnh. Kháng thể IgA và IgG ở những bệnh nhân CF tăng cao hơn nhiều so với người bình thường nhưng kháng thể IgM lại không khác biệt nhiều.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Những bệnh phẩm lấy từ ổ kín (ổ mủ chưa vỡ, dịch màng phổi, dịch màng não) hoặc từ máu thì cấy trực tiếp vào môi trường thạch thường. Những bệnh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phẩm lấy từ những vùng tạp nhiễm (ổ mủ đã vỡ, đờm, nhày họng) thì cấy vào môi trường có cetrimid (chất ức chế). Để các môi trường đã cấy bệnh phẩm ở 37°C trong khí trường thường.

Chọn các khuẩn lạc màu xanh và nhuộm xanh môi trường để làm các thử nghiệm xác định vi khuẩn. Trong thực hành bệnh viện, nếu những khuẩn lạc như trên là trực khuẩn Gram âm không sinh nha bào, oxidase (+), chuyển hoá đường theo kiểu oxy hoá thì được coi là trực khuẩn mủ xanh.

Có khoảng 10% số chủng trực khuẩn mủ xanh không sinh sắc tố; trong những trường hợp này, chẩn đoán vi khuẩn học gặp nhiều khó khăn. Người phải dùng các môi trường tăng sinh sắc tố: môi trường King A (tăng sinh pyocyanin) và môi trường King B (tăng sinh pyoverdins).

Các phương pháp định type (typing)

P. aeruginosa là một trong những vi khuẩn gây bệnh có độ đa dạng cao nhất, sự linh hoạt trong chuyển hóa của vi khuẩn này và có khả năng thích ứng với các điều kiện môi trường rất thay đổi. Loài vi khuẩn này có đặc điểm là có một cấu trúc quần hệ bề mặt, với việc tái tổ hợp di truyền liên tục dẫn đến hiện tượng xuất hiện thành công cao các dòng vi khuẩn gây dịch. Không có một phương pháp đơn độc đủ để xác định chính xác các chủng *P. aeruginosa* trong các nghiên cứu dịch tễ học, và việc phối hợp hai hoặc nhiều phương pháp được khuyến cáo để đảm bảo phân biệt chính xác các loài với nhau. Nhiều phương pháp typing được sử dụng trong thời gian đầu như pyocin typing, phage typing và serotyping hiện nay không còn được dùng và phần lớn được thay thế bởi các kỹ thuật phân tử.

P. aeruginosa có tính không đồng nhất về mặt huyết thanh học và một hệ thống gồm 17 nhóm kháng nguyên O đã được xác định trên thế giới. Hệ thống này gần đây được mở rộng thành 20 type huyết thanh. Các chủng vi khuẩn được phân loại bằng phương pháp ngưng kết trên lam kính với các khuẩn lạc sống từ các dĩa thạch hoặc trong các khay microtitre với nước nổi được đun sôi. Tỷ lệ có thể phân loại được vi khuẩn theo type huyết thanh O với hầu hết các *P. aeruginosa* (trừ các chủng CF) là khoảng 90%, và độ lặp lại của kỹ thuật này là tương đối cao. Hai type huyết thanh, O6 và O11, chiếm đa số trên các bệnh phẩm lâm sàng (lần lượt là 20% và 15%); O11 đặc biệt hay gặp trong các vụ dịch ở bệnh viện. Hiện tượng mất độ đặc hiệu type huyết thanh ở các chủng LPS và CF làm giảm mạnh khả năng có thể định type các chủng này bằng kháng huyết thanh O, và thường dưới 20% các chủng này có thể định type được. Nhiều chủng CF biểu hiện khả năng đa ngưng kết kháng huyết thanh với các type huyết thanh không liên quan. Hiện nay, kháng huyết thanh loại O có thể đặt mua được từ viện Pasteur, Paris, Pháp và Denka–Seiken, Tokyo, Nhật Bản.

Kỹ thuật RCRE (rare cutting restriction endonuclease), đặc biệt *Spe*I và *Xba*I, được sử dụng rộng rãi trong phân tích ADN macrorestriction và để tạo các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

mảnh ADN có kích thước trong khoảng 50–2000 kb, là các đoạn được tách ra bởi phương pháp PFGE (pulsed–field gel electrophoresis). Các chủng với khoảng 80% độ tương đồng genome đo bằng hệ số Dice (phân biệt bởi 3 băng hoặc ít hơn) được cho là có cùng một dòng vi khuẩn, trong khi khác biệt từ 4 đến 7 băng cho thấy khả năng có thể có liên quan của các chủng vi khuẩn. PFGE có khả năng phân biệt rất tốt trong phân tích loài *P. aeruginosa* và là kỹ thuật chuẩn vàng làm căn cứ so sánh cho các kỹ thuật phân tử khác. AFLP (amplified fragment length polymorphism) là một kỹ thuật dựa trên PCR có khả năng phân loại ngẫu nhiên một phần nhỏ của toàn bộ genome và đã được ứng dụng thành công trong typing *P. aeruginosa* và cho mức độ phân biệt tương tự như với kỹ thuật PFGE. Các phương pháp khác trong typing di truyền các chủng vi khuẩn này bao gồm ribotyping với enzym giới hạn *Pvu*II, các đoạn mồi đặc hiệu, các đối tượng đích ADN khác nhau bằng PCR và giải trình tự gen với các gen đặc hiệu mã hóa cho các protein CM.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Phòng bệnh không đặc hiệu đóng vai trò chính trong việc ngăn ngừa nhiễm trực khuẩn mủ xanh. Giữ gìn vệ sinh chung, triệt để thực hiện các quy trình tiệt trùng, làm đúng các thao tác vô trùng để tránh lây chéo trong bệnh viện. Đối với cá nhân: giữ gìn vệ sinh, tránh sây xát da và niêm mạc, tăng cường sức đề kháng chung, tránh lạm dụng kháng sinh và các thuốc gây suy giảm miễn dịch.

4.2. Vắc xin

P. aeruginosa biểu hiện nhiều cấu trúc bề mặt kháng nguyên và các sản phẩm ngoài bào, rất nhiều trong số này đã được nghiên cứu về khả năng sinh kháng thể bảo vệ của chúng. Chủng LPS gốc có khả năng sinh miễn dịch kém và nó bám chặt vào một protein mang như ETA hoặc giải độc tố uốn ván (tetanus toxoid), để kích thích sinh một phản ứng kháng thể trong đối tượng đích. Một phương pháp khác là sử dụng các polymer polysaccharide trọng lượng phân tử cao lấy từ nước nổi nuôi cấy vi khuẩn có tính kháng nguyên cao và không có độc tố như của chủng LPS gốc.

Nhiều thử nghiệm lâm sàng với các vắc xin sản xuất từ O–polysaccharide đã được công bố và kết quả thay đổi tùy theo loại và chất lượng của từng chế phẩm vắc xin. Vắc xin toàn tế bào thế hệ đầu tiên có tác dụng làm giảm tỷ lệ tử vong ở các bệnh nhân bị bỏng khi so sánh với nhóm chứng, nhưng chỉ đến khi ra đời loại vắc xin LPS bảy giá (heptavalent), Pseudogen, các nghiên cứu quy mô lớn trên các nhóm bệnh nhân khác nhau mới được thực hiện. Vắc xin này tạo được ít hoặc không tạo được khả năng bảo vệ chống lại *P. aeruginosa* trên bệnh nhân ung thư

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và cũng không hiệu quả trên những bệnh nhân ở các đơn vị điều trị tích cực (ICU) và trong CF. Một loại vắc xin khác từ LPS, PEV–01, được đưa vào thử nghiệm lâm sàng, và cho kết quả ban đầu khả quan trên bệnh nhân bị bỏng, mặc dù loại này bị phản biện là có thiết kế nghiên cứu kém. Một loại vắc xin tiếp hợp O--polysaccharide–toxin A tám giá được ghi nhận có tính an toàn trên nhóm đối tượng tình nguyện và bệnh nhân, loại trừ được kháng LPS chức năng và kháng thể kháng độc tố A sau tiêm chủng phòng ngừa. Lang và cộng sự (2004) công bố một nghiên cứu hồi cứu 10 năm về kết quả lâm sàng với loại vắc xin này trên một quần chủng 30 trẻ em bị CF ở độ tuổi trung bình là 7 tuổi, 26 trường hợp được theo dõi. Các bệnh nhi được tiêm nhắc lại sớm và kết quả được so sánh với nhóm chứng bắt cặp đôi không được tiêm vắc xin. Thời gian đến khi bị nhiễm *P. aeruginosa* ở nhóm được tiêm chủng dài hơn so với nhóm chứng và các bệnh nhân được tiêm phòng ít bị nhiễm khuẩn mạn tính hơn nhóm chứng (32% so với 72%; p<0,001). Hiện tượng này có liên quan đến khả năng bảo tồn tốt hơn của chức năng phổi. Các bệnh nhân được tiêm phòng có tăng cân tốt hơn trong thời gian nghiên cứu, đây có thể là một dấu hiệu của tình trạng sức khỏe toàn thân được cải thiện tốt.

Pseudomonad alginate có khả năng sinh miễn dịch kém, nhưng nếu phối hợp cả alginate và một nửa là polysaccharide trọng lượng phân tử cao với độc tố A sẽ loại trừ được các kháng thể opsonin hóa trên người. Trong các vắc xin alginate, polymer càng có kích thước lớn sẽ càng có khả năng sinh miễn dịch tốt. Với liều 100 pg alginate, các kháng thể opsonic tồn tại lâu dài được hình thành trên người và có khả năng tăng cường hiện tượng lắng của C3 lên các tế bào nhày và kích hoạt khả năng tiêu diệt các chủng gây bệnh.

Nghiên cứu gần đây về liệu pháp miễn dịch đã tập trung vào việc sử dụng các vắc xin DNA trên động vật được tiêm phòng với ADN plasmid, yếu tố có khả năng tổng hợp các protein của vi khuẩn trên các tế bào eukaryotic. Chủng ngừa ADN với flagellin B, OM protein F và ETA được ghi nhận có hiệu quả trong việc bảo vệ các động vật chống lại các chủng *P. aeruginosa* gây độc. Sự biến động về hiệu lực vắc xin có thể là kết quả của việc lựa chọn các protein của vi khuẩn và đường dùng của thuốc. Người ta cũng tiến hành nghiên cứu khả năng sử dụng các protein hệ thống bài tiết loại III làm đối tượng sản xuất vắc xin. Tiêm phòng chủ động hoặc bị động với protein tinh khiết chuyển vị trí loại III. PcrV, làm tăng cường khả năng sống sót của chuột bị nhiễm một liều gây chết với *P. aeruginosa*.

Huyết thanh người bình thường có chứa kháng thể đặc hiệu với *P. aeruginosa*, và trước đây các kháng thể IgG bình thường được sử dụng thành công để làm giảm mức độ nhiễm khuẩn huyết và tỷ lệ tử vong ở các bệnh nhân bị bỏng bội nhiễm *P. aeruginosa*. Do vậy, người ta rất hy vọng vào khả năng sử dụng liệu pháp miễn dịch thụ động với huyết tương quá mẫn miễn dịch, tuy nhiên kết quả

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

lâm sàng lại không được như mong đợi. Nhiều vấn đề với liệu pháp miễn dịch thụ động như giá trị dự phòng, thể bệnh bệnh nhân có khả năng phục hồi tốt với điều trị, độ dài thời gian điều trị và những chỉ số lâm sàng đáng tin cậy nhất của liệu pháp này vẫn chưa được làm sáng tỏ. Các kháng thể đơn dòng trên người và chuột đều được chế tạo để chống đặc hiệu với LPS, và các kháng nguyên khác của *P. aeruginosa* kể cả độc tố A, đã được tiến hành thử nghiệm với mức độ thành công khác nhau trên các động vật thí nghiệm.

4.3. Điều trị

P. aeruginosa dễ kháng với khá nhiều loại kháng sinh. Tuy vậy, vẫn còn một số kháng sinh có hiệu quả điều trị tốt như các penicillin bán tổng hợp (ticarcillin), ureidopenicillin (piperacillin), carboxypenicillin (carbenicillin), cephalosporin thế hệ 3 (ceftazidime), carbapenem (imipenem, moropenem), monobactam (aztreonam), aminoglycoside (gentamicin, amikacin), flouroquinolone (ciprofloxacin), và polymyxin (polymycin B và colistin). Để tăng hiệu quả điều trị, aminoglycoside thường được kết hợp với một kháng sinh thuộc nhóm β–lactam, cephalosporin thế hệ 3, monobactam, hoặc carbapenem. Đơn trị liệu chỉ hiệu quả khi điều trị sớm và liều lượng điều trị phù hợp. *P. aeruginosa* dễ kháng với các kháng sinh bằng các cơ chế sau:

- Tính thấm của vách tế bào thấp liên quan đến các đề kháng tự nhiên.
- Sản xuất các enzym ngoại bào phá hủy kháng sinh qua trung gian plasmid hoặc trên chromosome như β–lactamase, aminoglycosidase, và cephalosporinase.
- Thay đổi vị trí của ở các protein bám kháng sinh.
- Hoạt hóa hệ thống bơm đẩy, đẩy kháng sinh ra khỏi tế bào.

Trong cơ thể, sự xuất hiện hiện tượng dề kháng β–lactam trong quá trình điều trị là do giải ức chế sự biểu hiện (expression) của β–lactamase trên chromosome. Một số kháng sinh, đặc biệt là cefoxitin, là các chất cảm ứng của các enzym β–lactamase và giúp chọn lọc các nhóm quần thể kháng các cephalosporin như ceftazidime. Cơ chế đề kháng còn do sự thay đổi các protein gắn penicillin của *P. aeruginosa*. Hầu hết cơ chế dề kháng theo kiểu không thấm là do hệ thống bơm đẩy ra, MexAB–OprM, đẩy rất nhiều loại chất kháng khuẩn như β–lactam, chloramphenicol, flouroquinolone, macrolide, các chất nhuộm, chất tẩy rửa ra khỏi tế bào. Thực sự là nếu có sự kết hợp của việc tăng hệ thống bơm đẩy ra với việc mất một lượng lớn porin OprD và mất khả năng thấm với aminoglycoside thì vi khuẩn có thể đề kháng với mọi thuốc kháng *Pseudomonas* hiện có, trừ các polymyxin.

P. aeruginosa phân lập được trong môi trường tự nhiên và từ bệnh nhân không phải là bệnh nhân CF nói chung đều nhạy cảm với các kháng sinh kể trên. Tỷ lệ đề kháng thay đổi rất ít trong hai thập kỷ qua, chỉ khoảng 12% đề kháng với

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các kháng sinh trên. Tuy nhiên, ở một số khu vực như miền Nam châu Âu, Đông Nam Á, Nam Mỹ, tỷ lệ đề kháng có thể lên đến 50% cho nhiều loại kháng sinh.

Một số hợp chất kháng khuẩn hầu như không có hoạt tính chống *Pseudomonas* nhưng ở nồng độ thấp hơn 1/20 và 1/50 MIC của thuốc đó lại có thể ngăn chặn được quá trình tổng hợp các yếu tố độc lực như elastase, phospholipase, và các ngoại độc tố, và chính bằng cách này, có thể làm giảm được tình trạng viêm phổi và cải thiện chức năng phổi. Một nghiên cứu cho thấy, MIC của macrolide cao hơn rất nhiều so với nồng độ kháng sinh này có thể đạt được trong huyết thanh, song hoạt tính chống viêm ở những bệnh nhân CF đã được kiểm chứng qua kinh nghiệm lâm sàng.

Trong trường hợp những bệnh nhân CF bị nhiễm trùng, *P. aeruginosa* tích lũy rất nhiều các đột biến và chúng biểu hiện dưới nhiều dạng kiểu hình khác nhau khi phân lập được từ đờm. Gần đây, các chủng *P. aeruginosa* có khả năng đột biến cao có mang các đột biến ở các gen kiểm soát hệ thống sửa chữa ADN được tìm thấy trong những bệnh nhân CF. Tần suất đột biến ở các chủng này cao gấp 100–1000 lần các chủng bình thường và chúng cũng thường đề kháng với kháng sinh.

Các bệnh nhân CF cần duy trì kháng sinh dài và cần điều trị hỗ trợ thêm trong những đợt viêm cấp trầm trọng. Mục đích quan trọng của việc duy trì điều trị kháng sinh chống *Pseudomonas* dài hạn là để giảm mức độ nặng và tần suất xuất hiện các đợt cấp tính nặng. Loại bỏ hoàn toàn vi khuẩn ra khỏi cơ thể là cực kỳ khó, mặc dù có thể có trường hợp thanh toán được. Liệu pháp điều trị kháng sinh sớm và thật mạnh được áp dụng rộng rãi bằng cách kết hợp colistin khí dung với ciprofloxacin uống hoặc chỉ dùng riêng colistin hoặc tobramycin khí dung. Theo dõi bệnh nhân điều trị khí dung tobramycin dài hạn thấy rằng, không chỉ làm chậm được quá trình nhiễm trùng mạn mà còn loại bỏ được vi khuẩn trong đờm ở 14/15 trường hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Elmer W, Koneman et al. eds. Color atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. J. B. Lippincott Comp. 4th ed, 1992.
2. Nancy Jo Trun et al. eds. Fundamental Bacterial Genetics. Wiley–Blackwell. 1st ed, 2003.
3. Patrick R, Murray et al. eds Manual of Clinical Microbiology. ASM. 8th ed, Volume 1, 2. 2003.
4. Peter H, Sneath A et al. eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Volume 2. 1986.
5. Stephan H. Gillespie and Peter M. Hawkey eds. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd. 2nd ed, 2006.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

CHI BURKHOLDERIA

PHỨC HỢP BURKHOLDERIA CEPACIA

1. PHÂN LOẠI

Loài vi khuẩn này được mô tả lần đầu tiên bởi Burkholder năm 1950 là tác nhân gây bệnh thối vỏ thối ở hành, và chi *Burkholderia* được đặt theo tên ông. Sau đó, loài này được biết đến với tên gọi là "*Pseudomonas multivorans*" và "*Pseudomonas kingii*", nhưng sau này tên *Pseudomonas cepacia* được sử dụng. Tuy nhiên, Yabuuchi và cộng sự (1992) đã đề xuất chuyển bảy loài trong rRNA nhóm II, bao gồm cả *P. cepacia* sang chi mới là *Burkholderia*. *Burkholderia cepacia* không phải là một loài đồng nhất mà hình thành một phức hợp tương đồng về kiểu hình nhưng khác biệt về mặt di truyền gọi là genomovar nằm trong chi *Burkholderia*. Một nghiên cứu tiên phong của Vandamme (1997) sử dụng phương pháp phân loại đa kỳ (polyphasic) đã phát hiện một tổ hợp gồm năm genomovar trong các chủng khác nhau phân lập từ các nguồn môi trường tự nhiên hay trên lâm sàng. Hiện nay, phức hợp *Burkholderia cepacia* bao gồm chín genomovar: *Burkholderia cepacia* (I), *Burkholderia multivorans* (II), *Burkholderia cenocepacia* (III), *Burkholderia stabilis* (IV), *Burkholderia vietnamiensis* (V), *Burkholderia dolosa* (VI), *Burkholderia ambifaria* (VII), *Burkholderia anthina* (VIII) và *Burkholderia pyrrocinia* (IX).

Các genomovar riêng rẽ có thể được xác định thông qua các đặc tính về kiểu hình hoặc các phản ứng trên các test sinh hóa. Phân loại các chủng phân lập trên lâm sàng của phức hợp *B. cepacia* ở mức độ genomovar được thực hiện tốt nhất bằng việc khuếch đại gen *recA* để có thể xếp một chủng vi khuẩn vào phức hợp này. Phân tích bằng kỹ thuật RFLP với enzym cắt *Hae*III được sử dụng để tạo các dạng đặc hiệu với genomovar, và những dạng này sẽ được khẳng định chính xác lại bằng các test PCR đặc hiệu.

2. BỆNH SINH HỌC

Các chủng *B. cepacia* phân lập từ động vật hay cây cối gần như không có độc lực (LD_{50} 1 x 10^8 CFU) trên chuột lành, nhưng chúng tồn tại với số lượng lớn ở mô hình chuột bị gây bỏng. Loài vi khuẩn này sinh ra nhiều yếu tố độc lực bên ngoài tế bào, những chất này có thể có vai trò trong việc gây bệnh trên thực vật và động vật. Các yếu tố này bao gồm lipase, haemolysin và protease. Khả năng xâm nhiễm của tế bào vật chủ và khả năng tồn tại bên trong tế bào là những yếu tố quan trọng để hình thành bệnh lý. *B. cepacia* xâm nhập vào các tế bào biểu mô đường hô hấp nuôi cấy và phát triển bên trong bào tương nơi chúng được bao bọc bởi các không bào có màng. Vi khuẩn cũng có khả năng xâm nhập, tồn tại và

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phát triển trong *Acanthamoeba*, điều này cho thấy mối quan hệ cộng sinh giữa vi khuẩn và các loài amip sống tự do, là loài có thể hoạt động giống như một ổ chứa (reservoir) vi khuẩn và thậm chí có thể đóng vai trò là một vector truyền bệnh cho bệnh nhân CF.

Sử dụng các kỹ thuật hóa mô miễn dịch, Sajan (2001) đã xác định vị trí của *B. cepacia* trong phổi ở bệnh nhân CF với hội chứng đặc biệt (cepacia) từ chất tiết trong khí quản và giữa các tế bào biểu mô đường hô hấp. Vi khuẩn phân bố lan tỏa trên các bệnh nhân bị nhiễm trùng mạn tính, tuy nhiên trong các nhiễm trùng cấp tính hay có sự phân bố thành ổ hơn, với vi khuẩn khư trú ở bề mặt đường hô hấp bị tổn thương và trong các áp xe. Trong tiến triển bệnh từ trạng thái mạn tính sang nhiễm trùng xâm nhập, *B. cepacia* di chuyển dọc theo hàng rào biểu mô và xâm nhập vào các mao mạch và nhu mô phổi, do vậy khởi động hiện tượng nhiễm khuẩn huyết.

3. DỊCH TỄ HỌC

3.1. Nhiễm trùng bệnh viện

Một đặc điểm phổ biến của nhiễm *B. cepacia* là do hiện tượng tiêm truyền các dịch bị nhiễm khuẩn. Nguyên nhân nhiều vụ dịch nhiễm trùng bệnh viện đã được ghi nhận là có sự liên quan của thuốc kháng sinh, các dịch tiêm truyền, ống thông rửa và các thiết bị theo dõi áp lực; tuy nhiên, nói chung các vụ dịch này hiếm khi xảy ra và thường rút lui khi nhận biết và loại trừ được nguồn nhiễm khuẩn. Nhiễm khuẩn thường không có chiều hướng nặng nề và thường ít gặp các trường hợp nhiễm khuẩn huyết. Lây truyền từ người sang người thường hiếm xảy ra và chưa ghi nhận được các trường hợp nguồn mang khuẩn kéo dài trên người bệnh. Sự phối hợp giữa *B. cepacia* và bệnh u hạt mạn tính đã được ghi nhận. Các đại thực bào của bệnh nhân không tạo được quá trình peroxide đủ mạnh để tiêu diệt vi khuẩn bên trong tế bào.

3.2. Bệnh xơ nang (cystic fibrosis, CF)

Nhiễm trùng *B. cepacia* được mô tả lần đầu tiên trên bệnh nhân CF những năm giữa 1970, nhưng phải mười năm sau đó, khi tỷ lệ mắc bệnh này tăng lên tới gần 40% các bệnh nhân ở một trung tâm y tế lớn thuộc Toronto, Canada và một số nơi khác ở Mỹ. Biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhiễm *B. cepacia* trên bệnh nhân CF có thể khác nhau từ các thể mang bệnh không triệu chứng giảm dần cho tới nhiễm khuẩn huyết kịch phát gây tử vong rất nhanh ở một số ít trường hợp, biểu hiện này được gọi là hội chứng *cepacia*. Vai trò của *B. cepacia* với biểu hiện xấu đi trên lâm sàng và tổn thương ở phổi trên hầu hết các bệnh nhân vẫn chưa rõ ràng. Một vài nghiên cứu trước đó cũng không ghi nhận được sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các dấu ấn (marker) viêm và chức năng phổi giữa

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các bệnh nhân thể nhiễm *B. cepacia* định cư (colonized) và không định cư (non–localized), nhưng gần đây, sự gia tăng rõ rệt về tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân thể nhiễm với một chủng *B. cepacia* gây dịch đã được ghi nhận.

B. cepacia có thể được lây truyền giữa các bệnh nhân CF với nhau kể cả ở trong hoặc ngoài bệnh viện và giữa các bệnh nhân không bị CF với bệnh nhân bị CF. Hướng dẫn điều trị và kiểm soát nhiễm *B. cepacia* trên bệnh nhân và người chăm sóc đã được phát hành bởi Hội bệnh CF ở châu Âu và Bắc Mỹ và gần đây đã được thẩm định lại. Ngoài các biện pháp kiểm soát nhiễm khuẩn khả thi, các hướng dẫn này cũng đề cập đến tầm quan trọng của biện pháp thông thường sàng lọc vi sinh đặc hiệu và nhạy cảm để phân tích tình trạng nhiễm khuẩn của bệnh nhân.

Hầu hết các chủng vi khuẩn thuộc phức hợp *B. cepacia* phân lập từ bệnh nhân CF là dạng genomovar III (60–70%). *B. multivorans* (genomovar II) là loại hay gặp thứ hai với tần suất được ghi nhận là khoảng 5–37%; các genomovar khác thường ít gặp. Do vậy, hầu hết các chủng phân lập từ các vụ dịch là loại genomovar III. Mặc dù các chủng genomovar II đôi khi được lây truyền giữa các bệnh nhân với nhau, đa số các chủng này thường có đặc tính di truyền độc nhất. Một số chủng genomovar III có thể gây nhiễm trên các bệnh nhân đã bị nhiễm sẵn các loại genomovar khác. Hiện tượng này có ý nghĩa quan trọng trên lâm sàng khi loại này thường hay gây diễn biến lâm sàng xấu và tỷ lệ tử vong cao. Các bệnh nhân bị nhiễm vi khuẩn thuộc phức hệ *B. cepacia* có các biểu hiện khác ngoài các dấu hiệu điển hình trong các trường hợp ghép tim–phổi như là khả năng sinh tồn dài hạn bị ảnh hưởng bởi tình trạng nhiễm genomovar. Kết quả lâm sàng thường biến đổi với tỷ lệ tử vong trong vòng 1 năm khoảng 50–100%, nhưng tỷ lệ sống còn cao hơn 75% cũng đã được ghi nhận. Tuy vậy, tỷ lệ tử vong cao nhất thường là các trường hợp bệnh nhân có phối hợp nhiễm genomovar III.

Cho đến nay, ba yếu tố có khả năng di truyền được mô tả ở *B. cepacia*: *cblA* là gen mã hóa cho bó dày của chùm lông chuyển (peritrichous fimbriae), một đoạn chèn lai IS1356/IS402 và marker chủng gây dịch *B. cepacia* (BCESM), một đoạn 1,4 kb chứa khung đọc mở tương đồng với các gen điều hòa dịch mã. Các marker này có mối liên quan chặt chẽ với chủng gây dịch thịnh hành (ET 12) ở Anh, và hầu hết các tác giả cho rằng sự cách ly chặt chẽ bệnh nhân nhiễm khuẩn có thể là biện pháp thích hợp duy nhất cho các cá thể mang vi khuẩn loại này.

B. cepacia có thể được tìm thấy trong môi trường không khí sau khi thực hiện lý liệu pháp cho các bệnh nhân CF và chúng có thể tồn tại trong khoảng thời gian ngắn sau khi phòng tập được bỏ trống. Một số chủng *B. cepacia* có thể tồn tại ở dạng các giọt nhỏ đường hô hấp trong bề mặt môi trường và đây cũng là yếu tố lây nhiễm phổ biến trong các hệ thống nước ở cơ sở nha khoa. Hiện tượng này tương đối phổ biến ở các môi trường trong nhà ở nhưng ít gặp trong sa lát và

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thực phẩm tươi sống. Do vậy nguy cơ môi trường tự nhiên đóng vai trò trung gian nhiễm bệnh từ các bệnh nhân CF là thấp, tuy nhiên khả năng gây bệnh tiềm tàng của các chủng vi khuẩn trong môi trường tự nhiên vẫn chưa được rõ ràng. Các chủng lâm sàng thường có khả năng kháng kháng sinh hơn nhưng hầu hết các chủng này đều có khả năng tương đương như các chủng trong tự nhiên trong việc làm thối tổ chức trên cây hành. Có nguy cơ tiềm tàng cho các bệnh nhân CF với việc ứng dụng rộng rãi các chủng vi khuẩn với mục đích kiểm soát sinh học và tiêu hủy sinh học trong môi trường nông nghiệp. Hầu hết các chủng phân lập từ đất, rễ cây có ái tính chặt chẽ với loài *Burkholderia* với khả năng kiểm soát sinh học và tái kích hoạt sinh học đã được ghi nhận và không có liên quan với các chủng gây bệnh trên cây trồng và động vật. Dù sao, việc phát hiện sự có mặt của một chủng genomovar III trong đất nông nghiệp ở Mỹ đã cho thấy các chủng gây bệnh trên người không nhất thiết phải khác biệt so với các chủng trong môi trường tự nhiên và đôi khi bệnh nhân có thể nhiễm bệnh trực tiếp từ môi trường đó.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Đặc tính nuôi cấy

Các vi khuẩn thuộc phức hợp *B. cepacia* là các trực khuẩn mảnh, Gram âm, di động. Chúng mọc ái khí tốt trên thạch đủ dinh dưỡng nhưng thường mọc tối ưu ở 25–35°C trong 48 giờ. Hấu hết các chủng vi khuẩn mọc được ở 41°C nhưng không mọc được ở 42°C, và không có chủng nào mọc được ở 4°C. Các chủng được nuôi giữ sống kém trong thạch ống để trong tủ lạnh và khả năng sống sót được duy trì tốt hơn khi pha loãng trong nước cất vô trùng và làm đông lạnh với glycerol trên các hạt. Khuẩn lạc trên thạch dinh dưỡng có đặc điểm đục và thay đổi hình dạng từ hơi xám đến trắng, mặc dù có thể từ màu vàng đến hơi đỏ–tím hoặc màu nâu sẫm. Các thành viên của phức hợp vi khuẩn này không tạo amoni từ arginine và dương tính với lysine và ornithine decarboxylase. Phản ứng oxy hóa diễn ra chậm và không khử được nitrate; một số chủng tạo sắc tố giống melanin trên thạch tyrosine. Các test xác định đặc tính sinh hóa tự động như của Vitek và Microscan, cho mức độ xác định vi khuẩn vừa phải, nhưng hệ thống API 20NE có độ tin cậy tốt trong việc xác định các thành viên của phức hợp vi khuẩn này trừ loài *B. stabilis*.

Cần sử dụng các môi trường nuôi cấy chọn lọc tạo điều kiện tối ưu hóa cho sự phân lập các chủng từ các bệnh phẩm lâm sàng hay môi trường tự nhiên. Hầu hết các môi trường nuôi cấy chon lọc tận dụng sự đa dạng về đặc điểm hóa sinh và khả năng đề kháng nội sinh của phức hợp vi khuẩn với các thuốc kháng sinh. Chúng bao gồm thành phần chính là thạch OF (oxidation–fermentation) với lactose, polymyxin B và bacitracin; loại thạch hiện có trên thị trường có chứa tím

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

tinh thể (crystal violet), muối mật, ticarcillin và polymyxin B; và một loại môi trường chứa các chất chọn lọc 9–chloro–9–(4–diethylaminophenyl)–10–phenyllacridan và polymyxin B. Henry (1999) đã công bố một loại môi trường nuôi cấy chứa lactose và sucrose được làm giàu dinh dưỡng bằng casein và chiết xuất của men bia (rượu) với polymyxin, gentamicin và vancomycin có ưu điểm vượt trội so với loại thạch lên men oxy hóa và các loại môi trường chọn lọc hiện có trên thị trường trong việc nuôi cấy *B. cepacia* từ đờm bệnh nhân CF. Để có thể phân lập tối ưu *B. cepacia*, bệnh phẩm đờm nên được làm lỏng và pha loãng trong nước muối sinh lý hoặc nước cất và cấy trên các đĩa thạch chọn lọc ủ ở 37°C trong 48 giờ và tiếp theo là ở nhiệt độ phòng trong 5 ngày. Nhiều chủng vi khuẩn pseudomonad và các loài Gram âm kháng polymyxin khác có khả năng mọc trên các môi trường nuôi cấy chọn lọc cho *B. cepacia*, và định danh các chủng này nên được khẳng định chính xác bằng các test bổ sung. Canh thang giàu chất dinh dưỡng (canh thang Malka) được bổ sung polymyxin B được khuyến cáo dùng để phân lập các vi khuẩn từ que tăm bông (swab) hay đất ở môi trường tự nhiên.

4.2. Các phương pháp typing

Nhiều phương pháp typing được mô tả dùng cho phân loại loài *B. cepacia* bao gồm biotyping, serotyping kháng nguyên O và H, độ nhạy/khả năng tạo bacteriocin, phân tích plasmid, phân tích DNA nhiễm sắc thể và multilocus enzyme electrophoresis (điện di enzym đa locus). Các phương pháp này có sự khác nhau về năng lực phân biệt, độ lặp lại và khả năng định type, do vậy, nên phối hợp sử dụng các phương pháp với nhau. Ribotyping sử dụng enzym cắt giới hạn *Eco*RI được áp dụng rộng rãi trong các nghiên cứu dịch tễ học về *B. cepacia*, ít nhất 50 dạng khác nhau đã được xác định trong các chủng phân lập từ các bệnh nhân CF người Anh. Nhiều kỹ thuật PCR khác nhau được dùng để phát hiện mức độ đa hình (polymorphism) trong các vùng đệm giữa các gen của rRNA, các đích DNA ngẫu nhiên, các gen mã flagellin và các đoạn trình tự chèn (insert), và là phương pháp sử dụng trong xác định các chủng vi khuẩn. Phân tích PFGE với các đồng đoạn nhiễm sắc DNA *Xba*I cho mức độ phân biệt vi khuẩn cao nhất. Kỹ thuật MLRT (multilocus restriction typing) có khả năng xác định sự đa dạng ở năm vị trí của nhiễm sắc thể (chromosomal loci) bằng phân tích cắt đoạn giới hạn các gen được nhân lên bằng PCR, được mô tả bởi Coeyne và LiPuma (2002). Đa số các nhóm vi khuẩn được phân dòng bởi kỹ thuật MLRT có tương quan chặt chẽ với các nhóm được xác định bởi kỹ thuật PFGE.

5. KHÁNG KHÁNG SINH VÀ ĐIỀU TRỊ

B. cepacia có khả năng đề kháng nội sinh mạnh với nhiều loại thuốc kháng sinh và khả năng kháng kháng sinh thậm chí còn hay gặp hơn ở các chủng phân lập trên lâm sàng từ các bệnh nhân CF trước đó đã được điều trị kháng sinh. Nói

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chung *B. cepacia* có khả năng đề kháng với các loại kháng sinh nhạy cảm với *P. aeruginosa*. Hầu hết tất cả các chủng đều kháng với kháng sinh nhóm aminoglycoside, polymyxin, ticarcillin và azlocillin, trong khi có độ nhạy cảm khác nhau với các kháng sinh như aztreonam, ciprofloxacin, tetracyclines và carbapenems. Một số chủng còn tương đối nhạy cảm với trimethoprim–sulphamethoxazole và chloramphenicol. Pitt (1996) phát hiện khoảng 75% các chủng phân lập từ bệnh nhân CF nhạy cảm với ceftazidime, piperacillin và meropenem. Tuy nhiên, MICs cho thấy mức độ kháng khuẩn của từng cá thể biến đổi rộng trong các genomovar. Phối hợp hai, ba hoặc thậm chí bốn loại kháng sinh có khả năng hợp đồng trên *in vitro* chống các chủng thuộc phức hợp *B. cepacia*, tuy nhiên dưới nửa các chủng thuộc phức hợp *B. cepacia* được thử nghiệm, nhạy cảm khi phối hợp ciprofloxacin–piperacillin với rifampicin–ceftazidime. Tỷ lệ đề kháng với cotrimoxazole và chloramphenicol khi phối hợp với các β–lactam cao hơn khi dùng ciprofloxacin cùng với các β–lactam. Khó để lý giải hiện tượng xảy ra khi test hợp đồng như trên; hiện chưa có các số liệu liên quan với phản ứng trên lâm sàng. Do vậy, đặc biệt khi bệnh nhân đã được điều trị trước đó, liệu pháp phối hợp kháng sinh thường được điều chỉnh tùy theo từng trường hợp bệnh nhân.

Kháng β–lactam là hậu quả của sự phối hợp giữa khả năng thẩm thấu thấp của OM và sự sinh β–lactamase. Kháng β–lactam cũng có thể được kích hoạt bởi một β–lactamase nhóm A rất giống với β–lactamase của *Klebsiella oxytoca*. Sự tồn tại các bơm đẩy đa kháng thuốc đã được ghi nhận và có thể có vai trò trong khả năng kháng thuốc ở mức độ cao với tetracycline và acid nalidixic. Plasmid có thể được tìm thấy trong một số ít các chủng *B. cepacia* nhưng vai trò của chúng với khả năng kháng thuốc chung vẫn chưa được làm rõ. Sự vận chuyển tiếp hợp của các plasmid DNA từ *P. aeruginosa* sang *B. cepacia* và từ *B. cepacia* chuyển tiếp sang các loài khác trong cùng một loài cũng đã được ghi nhận.

BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

(Haynes 1957) Yabuuchi 1993

Chủng mẫu: ATCC 13343

1. GIỚI THIỆU

Burkholderia pseudomallei là tác nhân gây bệnh melioidosis, là bệnh giống chứng chảy máu mũi ngựa (glanders–like) ở người và động vật. Trước đây, loài vi khuẩn này được biết với nhiều tên gọi và được phân loại thuộc chi *Pseudomonas* trong một thời gian dài nhưng đã được chuyển sang chi *Burkholderia* năm 1992. *Burkholderia pseudomallei* và *B. mallei* hình thành một nhóm riêng biệt bên

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trong *Pseudomonas* RNA nhóm II bởi vì chúng có độ tương đồng về kiểu hình và kiểu gen; chúng có chung 92–94% độ đồng dạng và có trình tự 16S rRNA giống hệt. *(Xem hình P40 ở Phụ bản)*

2. DỊCH TỄ HỌC

Burkholderia pseudomallei là một vi khuẩn hoại sinh (saprotype) sống tự do trong đất và nước ở các vùng nhiệt đới nơi lưu hành dịch bệnh melioidosis, chủ yếu ở Đông Nam Á và vùng phía Bắc nước Úc. Các ca bệnh rải rác cũng được ghi nhận ở các vùng khác trên thế giới như ở Ấn Độ, các đảo vùng Thái Bình Dương, Trung Phi, các đảo vùng Caribe và các vùng Trung và Nam Mỹ. Vi khuẩn tồn tại trong đất vào mùa khô và lan truyền qua bề mặt đất khi có mưa; số lượng vi khuẩn trong đất có thể ảnh hưởng đến tỷ lệ mắc mới bệnh melioidosis ở những vùng này. Chúng có thể phát triển phục hồi trong các nguồn khác nhau ở vùng lưu hành dịch, tuy nhiên mối liên quan giữa môi trường nhiễm khuẩn và tỷ lệ mới mắc bệnh melioidosis vẫn chưa được làm rõ. Hơn nữa, vi khuẩn cũng có khả năng sống sót tốt trong các điều kiện thiếu dinh dưỡng và điều này có thể lý giải cho sự tồn tại của chúng trong môi trường tự nhiên.

Nhiễm khuẩn mắc phải qua đường vết thương, trầy sát da và qua đường hô hấp, hiếm khi xảy ra qua đường tiêu hóa. Vi khuẩn có khả năng xâm nhập vào cơ thể qua đường niêm mạc mắt và mũi. Lây nhiễm từ người sang người được cho là cực kỳ hiếm xảy ra. Lan truyền qua đường tình dục bệnh melioidosis đã được ghi nhận trên người và nhiễm khuẩn trong tử cung và qua đường bú sữa được ghi nhận trên dê. Các nghiên cứu ban đầu cho rằng một véctor côn trùng có liên quan đến quá trình truyền bệnh của loại vi khuẩn này, tuy nhiên luận điểm này hiện nay đã bị bác bỏ. Mặc dù *B. pseudomallei* có thể gây nhiễm trên nhiều loại động vật và chim, sự lan truyền bệnh từ động vật sang người hiếm khi xảy ra, và nhiễm chéo trên người cũng cực kỳ hiếm. Một số ít báo cáo công bố nhiễm khuẩn qua đường tiêm truyền cũng như các phơi nhiễm tai nạn trong phòng thí nghiệm.

Tiếp xúc thông thường với đất và nước được cho là yếu tố nguy cơ hàng đầu trong mắc bệnh melioidosis, do vậy tần suất bệnh khá cao ở các nông dân trồng lúa nước vùng Đông Nam Á và các bộ tộc thổ dân ở Úc. Vài ngàn trường hợp bệnh được cho là xảy ra hằng năm ở Thái Lan, và bệnh melioidosis là nguyên nhân của khoảng 18% các trường hợp nhiễm khuẩn huyết mắc phải trong cộng đồng ở các vùng lưu hành dịch ở nước này. Ở Thái Lan, tỷ lệ mới mắc cao nhất của bệnh này là ở nhóm tuổi từ 40–60, nhưng mọi lứa tuổi đều có thể nhiễm bệnh với tỷ lệ nam:nữ là 3:2. Đa số (75%) các trường hợp bệnh xảy ra ở mùa mưa, nhưng giai đoạn ủ bệnh dao động khoảng 2 ngày đến 26 năm đã được ghi nhận. Các yếu tố nguy cơ phát bệnh hàng đầu là mắc các bệnh khác kèm theo như đái đường, suy thận và nghiện rượu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3. BỆNH SINH HỌC VÀ NHIỄM KHUẨN

Những công trình nghiên cứu trước đây cho rằng *B. pseudomallei* sản xuất hai độc tố không bền với nhiệt (heat–labile), cả hai độc tố này đều có khả năng gây chết trên chuột khi được tiêm vào phúc mạc nhưng chỉ một loại chất có khả năng gây hiện tượng hoại tử da (dermonecrotic). Các protein có hoạt tính độc tế bào với trọng lượng khoảng 31 kDa và 3 kDa được tinh khiết từ dịch lọc nuôi cấy của các chủng *B. pseudomallei* phân lập từ nhiều nguồn khác nhau, nhưng vẫn chưa rõ những độc tố này có đại diện cho các loại gốc được mô tả hay không.

Hầu hết các chủng *B. pseudomallei* có khả năng sinh protease, lipase, PLC và haemolysin nhưng không tạo được elastase. Một nhóm gen bài tiết type II có khả năng kiểm soát sự bài tiết protease, lipase và PLC, nhưng không có mối liên quan trực tiếp giữa mức độ hoạt tính protease và độc lực của *B. pseudomallei* trên chuột. Một nhóm khác các gen đã được xác định trong loài vi khuẩn này có sự đồng nhất với một nhóm các gen ở *Ralstonia solanacearum* nằm ở vị trí đảo sinh bệnh hệ thống phối hợp bài tiết type III (type III secretion system–associated pathogenicity island). Những gen này chỉ có mặt ở các kiểu hình ara^- và không gặp ở các chủng ara^+, điều này cho thấy chúng có vai trò trong khả năng gây độc của vi khuẩn. Loài vi khuẩn này lấy sắt từ huyết thanh và tế bào thông qua đại thực bào chứa sắt (hydroxamate siderophore, malleobactin), là loại tế bào được tạo ra nhiều nhất trong điều kiện môi trường thiếu sắt.

Cũng giống như *B. cepacia, B. pseudomallei* có thể xâm nhập và tồn tại trong nhiều loại tế bào động vật có vú. Các vi khuẩn nguyên vẹn về mặt cấu trúc có thể được quan sát thấy bên trong các đại thực bào ở mô hình bệnh melioidosis thực nghiệm, mặc dù có sự tăng cường phản ứng miễn dịch tế bào, kết quả là vi khuẩn sống được và phát triển bên trong tế bào. Các thực bào chứa *B. pseudomallei* vẫn sống và duy trì khả năng gây ra một sự bùng phát oxy hóa trong giờ đầu tiên khi ủ cấy. Sự xảy ra một cách âm thầm và xu hướng tái phát ở các bệnh nhân melioidosis cũng phù hợp với hiện tượng vi khuẩn tồn tại bên trong tế bào. Harley (1998) nghiên cứu hiện tượng tồn tại bên trong tế bào của loài này khi cho hấp thụ một chủng bằng các đại thực bào màng bụng chuột và quan sát các tế bào nuôi cấy dưới kính hiển vi điện tử. Ông phát hiện thấy *B. pseudomallei* xuất hiện ngay từ đầu trong các thể thực bào với màng còn nguyên vẹn, nhưng không quan sát thấy hiện tượng tích hợp với lysosome. Hiện tượng tiêu màng xảy ra nhanh và vi khuẩn thoát vào trong bào tương. Tuy nhiên, sự tích hợp của các tế bào thực bào hoặc loại không thực bào xảy ra khi bị nhiễm với *B. pseudomallei,* dẫn đến sự hình thành các tế bào khổng lồ đa nhân. Hiện tượng này sau đó cũng được ghi nhận trên các tổ chức của bệnh nhân melioidosis. *B. pseudomallei* có vị trí gắn có ái tính cao và đặc hiệu với insulin của người và đặc tính này được cho là yếu tố tạo điều kiện thuận lợi cho việc mắc bệnh melioidosis ở người bị bệnh đái tháo đường.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Biểu hiện lâm sàng và chẩn đoán bệnh melioidosis

Bệnh melioidosis có biểu hiện lâm sàng thay đổi rất khác nhau. Bệnh nhân có thể không có triệu chứng nhưng test huyết thanh dương tính, có thể biểu hiện nhiễm trùng tại chỗ nhẹ, hoặc có thể có nhiễm khuẩn huyết kịch phát gây tử vong nhanh chóng. Bệnh này có đặc điểm viêm phổi (nguyên phát hoặc thứ phát) và tiến triển gây áp xe ở nhiều cơ quan, đặc biệt ở da, gan, lách, phổi và tuyến tiền liệt, các khớp lớn cũng có thể bị ảnh hưởng. Với các bệnh nhân người lớn nội trú trong bệnh viện, khoảng 60% có cấy máu dương tính. Bệnh nhân thường có biểu hiện khu trú, sưng tuyến mang tai một bên. Các nhiễm trùng mủ mạn tính thường xảy ra và bệnh này có thể dễ bị nhầm với lao. Tỷ lệ tử vong chung và trong bệnh viện vẫn cao, khoảng 40%.

Đặc tính âm thầm và tái phát là các đặc điểm chủ yếu của bệnh này. Tình trạng mạn tính được hình thành trên nhiều bệnh nhân sau nhiễm khuẩn cấp và tái phát có thể xảy ra sau khi điều trị khỏi hẳn hoặc bị tái nhiễm.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Theo ACDP (UK Advisory Committee on Dangerous Pathogens), cả *B. cepacia* và *B. pseudomallei* được phân loại vào các vi khuẩn nguy hiểm nhóm 3 (Hazard Group 3), do vậy việc nuôi cấy và thao tác trên các loài này có nguy cơ cho các nhân viên phòng thí nghiệm. Tất cả các quy trình liên quan đến cấy vi khuẩn sống phải được thực hiện trong các cơ sở phòng thí nghiệm cấp độ 3. Cả hai loài vi khuẩn này đều được coi là các tác nhân vũ khí sinh học tiềm tàng. Chẩn đoán xác định bệnh melioidosis được thực hiện bằng phân lập *B. pseudomallei* từ tổ chức hoặc dịch cơ thể như máu, nước tiểu và đờm. Vi khuẩn tương đối dễ phân lập trên các môi trường nuôi cấy thông thường và các môi trường canh thang được làm giàu chất dinh dưỡng chọn lọc có khả năng làm tăng độ nhạy chẩn đoán. Nên cố hút được các bệnh phẩm dạng mủ. Với phết nhuộm Gram, vi khuẩn có thể chỉ xuất hiện với số lượng nhỏ và có thể không quan sát được hiện tượng bắt màu hai cực (bipolar staining). Cấy khuẩn từ các que tăm bông ngoáy họng có giá trị chẩn đoán cao. Test kháng thể miễn dịch huỳnh quang, test ngưng kết latex, ELISA và PCR cũng được sử dụng trong chẩn đoán nhanh. Chẩn đoán huyết thanh bệnh melioidosis dựa trên hiện tượng gia tăng hiệu giá (titre) kháng thể với các chủng chứng của *B. pseudomallei*. Xét nghiệm ngưng kết hồng cầu gián tiếp (indirect haemagglutination assay, IHA) cũng được sử dụng rộng rãi, tuy nhiên hiệu giá nền cao xảy ra với các bệnh nhân không bị nhiễm bệnh từ vùng dịch tễ làm giảm hiệu quả của kỹ thuật này. Thường hay gặp các hiệu giá IHA khoảng 40–80 ở người trưởng thành không nhiễm khuẩn trong vùng lưu hành dịch, nhưng hiệu giá 640 hoặc cao hơn thường được coi là dấu hiệu chỉ điểm và chẩn đoán rõ ràng của bệnh. Xét nghiệm ELISA để phát hiện kháng thể IgG

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và IgM đặc hiệu cho *B. pseudomallei* cũng đã được đề xuất sử dụng cho chẩn đoán với bằng chứng về độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Test ELISA có hiệu quả tương đương so với xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang IgG và có độ nhạy cao hơn so với test IHA.

B. pseudomallei mọc tốt trên thạch đủ dinh dưỡng ở nhiệt độ tối ưu là 37°C (dao động trong khoảng 15–43°C). Hình thái học khuẩn lạc được quan sát tốt nhất sau khi cấy 48 giờ ở 37°C, mặc dù vi khuẩn có thể mọc sau 24 giờ. Khuẩn lạc có thể dạng nhẵn trơn và đục hoặc nhăn nheo; hiện tượng nhăn nheo này có thể được tăng cường bởi glycerol *(Xem hình P41 ở Phụ bản)*. Trong quá trình mọc có một đặc điểm là sinh mùi mốc *(không được ngửi trực tiếp đĩa cấy)*, và trên thạch máu có thể có tan máu yếu. Sự biến đổi giữa dạng khuẩn lạc trơn nhẵn và thô ráp thường hay gặp và các khuẩn lạc riêng rẽ có thể không nuôi cấy được khi cấy chuyển. Các tế bào bắt màu chất nhuộm hai cực thường có thuộc nhóm dạng khuẩn lạc thô ráp. Các chủng vi khuẩn có vỏ thường hiếm gặp. Không có sắc tố ngoài tế bào. Hình thái khuẩn lạc được quan sát tốt nhất trên môi trường nuôi cấy Ashdown, một loại thạch có chứa tím tinh thể (crystal violet), glycerol và gentamicin. Khuẩn lạc tập trung các chất màu của môi trường nuôi cấy này và có dạng nhăn nheo hoặc trơn nhẵn.

B. pseudomallei oxy hóa glucose trong môi trường Hugh và Leifson, tạo ammonia từ arginine và phân hủy poly- β–hydroxybutyrate, tinh bột, gelatin và Tween 80. Dance (1989) khuyến cáo, một trực khuẩn Gram âm, oxidase (+), bắt màu hai cực hoặc bất thường nên được kiểm tra khả năng kháng với các đĩa colistin 10 µg và gentamicin 10 µg và cấy chuyển trên môi trường Ashdown và ủ trong 48–72 giờ. Các chủng có thể mọc trên môi trường này (kháng với cả hai loại kháng sinh) cần được sàng lọc bằng API 2 ONE, là phương pháp hiệu quả cao để khẳng định *B. pseudomallei*. *B. pseudomallei* cũng có thể bị xác định nhầm với loài *B. mallei*, *B. cepacia*, *P. stutzeri* hoặc *Flavobacterium*; *B. cepacia* âm tính với arginine và dương tính với lysine decarboxylase, còn *B. mallei* không di động và âm tính với arginine. Test ngưng kết latex có thể được sử dụng để khẳng định sự có mặt của kháng nguyên LPS của *B. pseudomallei,* là loại kháng nguyên có tính ổn định (không thay đổi) trong loài này.

Các loại kỹ thuật PCR sử dụng 16S hoặc 23S rDNA và các đoạn ADN khác cũng được sử dụng trong việc định danh loài *B. pseudomallei* trong cả bệnh phẩm nuôi cấy hay bệnh phẩm lâm sàng. Các kỹ thuật này có đặc điểm khác nhau nhưng nói chung có độ đặc hiệu không cao mặc dù độ nhạy công bố trong khoảng 40–100% với các mẫu pha vi khuẩn (spiked sample) giả bệnh phẩm. Quy trình kỹ thuật của Hagen (2002) được cho là hiệu quả nhất cho việc phát hiện nhanh và đặc hiệu *B. pseudomallei*. Kỹ thuật này sử dụng phản ứng PCR seminested trên các đoạn đặc hiệu gen của protein ribosomal subunit 21 (rpsU)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và một phản ứng nested PCR để khuếch đại gen tổng hợp flagellin (*fliC*). Sự phối hợp kỹ thuật PCR và giải trình tự (sequencing) các sản phẩm PCR cho độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong các tiêu bản mô đã được cố định (fixed tissue section) và tránh được việc phải nuôi cấy vi khuẩn.

Các phương pháp định type (typing)

Trước khi xuất hiện các kỹ thuật typing bằng sinh học phân tử, có rất ít phương pháp được áp dụng để nhận dang type dịch tễ học của loài *B. pseudomallei*, nếu có chỉ là sự xác định sự không đồng nhất về măt di truyền qua phân tích huyết thanh học để xây dựng các hệ thống typing kháng nguyên. Epitope ưu thế miễn dịch của OM, LPS có sự bảo tồn ổn định về mặt cấu trúc và đặc tính kháng nguyên, và có sự biến đổi tối thiểu của OM và các protein tế bào. Lông chuyển (flagella) có đặc tính kháng nguyên tuy nhiên chưa có hệ thống H–typing nào được mô tả. Một exopolysaccharide dạng vỏ (capsule–like) đã được xác định nhưng nó cũng không phải là đặc tính chung đông nhất về mặt kháng nguyên đại diện cho cả loài.

Phương pháp Ribotyping sử dụng các đoạn cắt *Bam*HI của nhiễm sắc thể chứa ADN là kỹ thuật typing phân tử đầu tiên được dùng trong các nghiên cứu dịch tễ học *B. pseudomallei*. Một điều tra với 350 chủng *B. pseudomallei* được thu thập trong thời gian trên 71 năm từ 23 quốc gia cho thấy có 44 loại ribotype. Trong đó, có hai loại ribotype là đại diện của khoảng một nửa các chủng này và một loại trong đó có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với một chủng nguồn gốc châu Á. Phân tích PFGE các đoạn cắt *Xba*I (ADN macrorestriction digests) cho khả năng phân biệt tốt nhất giữa các chủng vi khuẩn và kỹ thuật này đã được áp dụng trong nhiều nghiên cứu. Các kỹ thuật khác được sử dụng trong typing các chủng vi khuẩn như phân tích RAPD (random amplified polymorphic DNA), MLST (multilocus enzyme electrophoresis và multilocus sequence typing). Những kỹ thuật này đều có khả năng phân biệt (discriminatory power) tương tự như kỹ thuật PFGE.

5. ĐỘ NHẠY CẢM KHÁNG SINH VÀ ĐIỀU TRỊ

Nói chung, *in vitro, B. pseudomallei* nhạy cảm với carbapenems (imipenem và meropenem), penicillins kháng pseudomonads (như piperacillin and azlocillin), tetracyclines hoặc doxycycline, amoxicillin kết hợp clavulanic acid, ticarcillin kết hợp clavulanic acid, ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime, aztreonam, cefoperazone kết hợp với sulbactam, chloramphenicol và trimethoprim–sulphamethoxazole. Các quinolone như ofloxacin và ciprofloxacin có hoạt tính kháng khuẩn trung bình. *B. pseudomallei* kháng với penicillin, aminopenicillin và nhiều thế hệ cũ cephalosporin, như furoxime. Vi khuẩn cũng đề kháng với macrolide, clindamycin và rifampicin. Kháng aminoglycoside là đặc điểm chung của các chủng vi khuẩn này, mặc dù 60%

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các chủng có thể nhạy cảm với kanamycin. Các test nhạy cảm với sulphamethoxazole và trimethoprim có thể có độ tin cậy thấp do khó xác định được điểm cuối (endpoint). Khả năng kháng với ampicillin được kích hoạt bởi men β–lactamase nhạy cảm với clavulanate. Có ba cơ chế khác nhau trong kháng β–lactam đã được xác định đối với vi khuẩn *B. pseudomallei.*

So với liệu pháp thông thường được sử dụng trước đây, liều cao ceftazidime, có hoặc không phối hợp với cotrimoxazole, có hiệu quả làm giảm một nửa tỷ lệ tử vong ở các bệnh nhân melioidosis nặng và liệu pháp điều trị với thuốc này được sử dụng cho các nhiễm khuẩn nặng. Co–amoxiclav (Augmentin) là một liệu pháp thay thế tốt, đặc biệt trong các trường hợp điều trị theo kinh nghiệm các nhiễm khuẩn nặng ở vùng dịch lưu hành do thuốc này có hoạt tính phổ rộng. Một nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng đơn quy mô lớn cho thấy imipenem kết hợp cilastatin có hiệu quả tương đương so với dùng đơn độc ceftazidime, và meropenem cũng được cho là có hiệu quả tác dụng tương đương. Cefotaxime và ceftriaxone có hoạt tính kém *in vivo* mặc dù có hoạt tính kháng khuẩn tốt *in vitro*. Trước năm 1987, liệu pháp thông thường để điều trị melioidosis là phối hợp chloramphenicol, doxycyline và trimethoprime–sulphamethoxazole. Liệu pháp này theo đường tiêm tĩm mạch thường cho kết quả không tốt với các trường hợp bệnh cấp tính. Tuy nhiên, đây có thể là lựa chọn duy nhất trong các trường hợp bệnh nhân dị ứng nặng với nhóm β–lactam.

Cần tiến hành liệu pháp điều trị chống tái nhiễm/phát bằng thuốc uống, sau khi điều trị khỏi bệnh cấp tính. Liệu pháp thông thường phối hợp bốn thuốc trong trường hợp này có hiệu quả tốt hơn so với sử dụng co–amoxiclav và đây vẫn là liệu pháp điều trị triệt căn phù hợp trong điều trị bệnh này. Doxycycline sử dụng đơn độc và fluoroquinolone (ciprofloxacin và ofloxacin) được ghi nhận là cho kết quả điều trị không đạt yêu cầu. Việc cần sử dụng thêm chloramphenicol đường uống trong điều trị tiệt căn vẫn còn nhiều tranh cãi và cần được nghiên cứu thêm trong các thử nghiệm lâm sàng. Điều trị đơn độc bằng trimethoprime–sulphamethoxazole đã được sử dụng thành công ở Úc, tuy nhiên tới nay vẫn chưa có số liệu thử nghiệm lâm sàng đủ tin cậy cho việc áp dụng này. Với trẻ em và phụ nữ có thai, nên sử dụng liệu trình kéo dài co–amoxiclav trong điều trị tiệt căn.

BURKHOLDERIA MALLEI

(Redfearn 1966) Yabuuchi 1993

Burkholderia mallei là một loài ký sinh bắt buộc trên động vật (đặc biệt với các loài họ ngựa) được ghi nhận đã có một lần gây dịch trên toàn thế giới. Hiện nay cực kỳ hiếm gặp dịch gây ra do loài này và chỉ giới hạn ở một số ít điểm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thuộc khu vực châu Á, châu Phi và Trung Đông. Hầu hết hiện nay xuất hiện sự quan tâm về loài này là do về mặt lý thuyết có khả năng tiềm tàng sử dụng loài này làm tác nhân vũ khí sinh học.

B. mallei là trực khuẩn thẳng hoặc hơi cong, sắp xếp đơn lẻ, thành cặp đôi đầu–đầu, các bó song song hoặc dạng hình chữ Hán; chúng có thể bắt màu bất thường do có chứa các thể hạt. Vi khuẩn này không tạo vỏ và không có lông. *Burkholderia mallei* là vi khuẩn ái khí và trên thạch đủ dinh dưỡng chúng tạo khuẩn lạc trong suốt màu xám, trơn đường kính khoảng 0,5–1 mm sau 18 giờ nuôi cấy ở 37°C. Vi khuẩn này không di động, không mọc được trên môi trường MacConkey hay thạch chứa cetrimide, không tạo sắc tố và catalase dương tính và một số có phản ứng oxidase dương tính. Tất cả các chủng vi khuẩn loài này khử nitrate nhưng không khử nitrite. Loài này có khả năng thủy phân gelatin, hoạt tính urease và sinh lecithinase thay đổi; hầu hết có khả năng thủy phân tyrosine nhưng không tạo sắc tố. Tất cả các chủng đề có thể phân hủy arginine nhưng không có tác dụng với lysine hay ornithine.

Hiện nay, không có nhiều số liệu về độ nhạy cảm kháng sinh của *B. mallei*. Một số chủng được ghi nhận là nhạy cảm với sulphonamide và thường cũng nhạy cảm với streptomycin, tetracycline và novobiocin; một số nhạy cảm với chloramphenicol. Kenny (1999) nghiên cứu trên 17 chủng mẫu và phát hiện các MICs trong các test pha loãng canh thang với 90% các chủng: > 64 µg/mL với ampicillin, 16 µg/mL với piperacillin, 8 µg/mL với amoxicillin–clavulanate, > 64 µg/mL với cefuroxime, 8 µg/mL với ceftazidime, 0,25 µg/mL với imipenem, > 64 µg/mL với chloramphenicol, 2 µg/mL với doxycycline, 8 µg/mL với ofloxacin, 8 µg/mL với ciprofloxacin, 0,5 µg/mL với gentamicin, 4 µg/mL với azithromycin, 16 µg/mL với rifampin, > 64 µg/mL với sulphamethoxazole, 32 µg/mL với trimethoprim and > 64 µg/mL với cotrimoxazole. Tác giả kết luận rằng azithromycin có khả năng xâm nhập mô tổ chức tốt hơn so với gentamicin và thuốc này có thể là kháng sinh thích hợp trong điều trị bệnh sổ mũi ngựa (glander) nhưng vẫn chưa có các số liệu thực tế trên lâm sàng trong sử dụng thuốc này.

Hiện nay, không còn có các báo cáo ghi nhận bệnh glander trên người trừ một trường hợp của một nhà nghiên cứu trong quân đội bị nhiễm do mắc phải trong phòng thí nghiệm khi thao tác trên *B. mallei*. Bệnh nhân này bị bệnh tiểu đường và không mang găng tay phòng hộ khi thao tác xử lý vi khuẩn sống. Biểu hiện bệnh của bệnh nhân này tương tự như là bệnh melioidosis với dấu hiệu khởi phát là sưng hạch nách sau đó là biểu hiện bệnh toàn thân với áp xe gan và lách. Bệnh nhân được điều trị khỏi với imipenem kết hợp doxycycline tiếp theo là bằng azithromycin kết hợp doxycycline trong 6 tháng. Trong trường hợp thiếu kinh nghiệm điều trị bệnh glander, việc điều trị các trường hợp này nên được thực hiện giống như liệu pháp điều trị bệnh melioidosis.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

BURKHOLDERIA GLADIOLI (Sevrini 1913) Yabuuchi et al 1993

Burkholderia gladioli trước đây được gọi là *Pseudomonas marginata* nhưng có liên quan gần gũi với loài *B. cepacia*. Các chủng vi khuẩn này mọc dễ dàng trên môi trường nuôi cấy chọn lọc chứa polymyxin và chúng có thể được phân biệt với *B. cepacia* bằng oxidase (–); maltose và lactose (+). Loại này cũng có thể bị nhầm với *Oligella ureolytica* do đặc tính thay đổi trong thủy phân urea. Vi khuẩn này thường hay được phân lập với vai trò gây bệnh bội nhiễm trên bệnh nhân CF phổi nơi chúng có thể gây nhiễm khuẩn xâm nhiễm nguyên phát, tuy nhiên chúng cũng có thể gây nhiễm trên các bệnh nhân có bệnh u hạt mạn tính. Các chủng đa kháng thuốc với các đặc tính kiểu hình chung chi *B. cepacia* và *B. gladioli* đã được ghi nhận trên các bệnh nhân CF. Kỹ thuật PCR để xác định loài vi khuẩn này dựa trên trình tự 23S rRNA được mô tả bởi Whitby (2000) có độ nhạy 96% và độ đặc hiệu 100%. Các trường hợp lâm sàng trên người trước đây cũng đã được ghi nhận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Elmer WK et al eds. Color atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. J. B. Lippincott Comp. 4th ed, 1992.
2. Gillespie SH and Hawkey PM eds. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd.; 2nd ed, 2006.
3. Nancy Jo Trun et al eds. Fundamental Bacterial Genetics. Wiley–Blackwell; 1st ed, 2003.
4. Patrick RM et al eds. Manual of Clinical Microbiology. ASM. 8th ed, Volume 1, 2.; 2003.
5. Peter HAS al eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Volume 2. 1986.

ACINETOBACTER

Chủng mẫu: *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Khoảng 20 năm trở lại đây, trong số các trực khuẩn Gram (–) gây nhiễm trùng bệnh viện, đặc biệt tại các khoa Hồi sức cấp cứu, *Acinetobacter* spp. ngày càng thu hút được sự quan tâm của các bác sĩ lâm sàng, các nhà vi sinh. *Acinetobacter* spp. có khả năng gây nhiều loại nhiễm trùng khác nhau từ nhiễm khuẩn huyết, viêm phổi do nhiễm trùng bệnh viện, nhiễm khuẩn đường tiết niệu, viêm màng não thứ phát, nhiễm trùng ở những bệnh nhân bị bỏng... Một trong những đặc điểm quan trọng của vi khuẩn này là khả năng kháng lại rất nhiều

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

kháng sinh khác nhau. Nhiều chủng đã kháng lại các kháng sinh nhóm beta–lactam phổ rộng như cephalosporin thế hệ ba, carboxypenicillin và carbapenem. Chúng tạo ra rất nhiều enzym bất hoạt các aminoglycoside và nhiều chủng kháng lại các fluoroquinolone. Trong số các *Acinetobacter* spp., *Acinetobacter baumannii* thường gặp nhất trong các nhiễm trùng bệnh viện. Hiện nay, đây là loài *Acinetobacter* kháng lại nhiều kháng sinh quan trọng. Nhiều kỹ thuật hiện đại đã được sử dụng trong phân loại và nghiên cứu các *Acinetobacter* spp. phân lập từ bệnh nhân và môi trường bệnh viện.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Acinetobacter spp. là các vi khuẩn được tìm thấy phổ biến trong đất, nước và môi trường. Chúng cũng dễ dàng được phân lập từ da, họng và nhiều dịch tiết của người khoẻ mạnh và cũng là tác nhân gây các nhiễm trùng ở người. Về mặt hình thể, chúng là các cầu trực khuẩn, bắt màu Gram âm, thường đứng ở dạng đôi hoặc chuỗi dài ngắn khác nhau *(Xem hình P42 ở Phụ bản)*. *Acinetobacter* không di động, mặc dù chúng có những chuyển động co ngắn tế bào vi khuẩn, có thể do vi khuẩn có diềm (fimbriae) ở một cực.

2.2. Tính chất nuôi cấy

Acinetobacter là vi khuẩn hiếu khí tuyệt đối và mọc dễ dàng trên các môi trường thông thường ở nhiệt độ từ 20 đến 30°C. Đối với hầu hết các chủng, nhiệt độ tối ưu là 33°–35°C. Một số loài có thể phát triển được ở nhiệt độ 41°C và 44°C và đây là một đặc điểm rất đặc biệt. Vi khuẩn mọc dễ dàng trên môi trường thạch máu cừu hay tryptic soy ở nhiệt độ 37°C. *Acinetobacter* 6, 13BJ, 14BJ, 15BJ, 16 và 17 (genospecies) có thể gây tan máu trên thạch máu cừu mà đặc điểm này không có ở các chủng *A. calcoaceticus* và *A. baumannii*. Khuẩn lạc nhẵn, đôi khi hơi nhày, màu hơi xám trắng. Khuẩn lạc của nhóm *A. calcoaceticus* và *A. baumannii* có đường kính từ 1,5–3 mm sau khi nuôi cấy qua đêm. Khuẩn lạc của hầu hết các *Acinetobacter* khác nhỏ và hơi trong hơn.

2.3. Tính chất sinh vật hoá học

Các tính chất để xác định *Acinetobacter* là: trực khuẩn Gram âm, sinh catalase, không sinh oxidase, indole, nitrate. Các đặc điểm như vi khuẩn có hoặc không sinh acid từ D–glucose, D–ribose, D–xylose và L–arabinose (sử dụng carbon theo hình thức oxi hoá) đã được sử dụng trong xác định sớm các chủng trước đây gọi là biến chủng *anitratus* hoặc biến chủng *lwoffii* (Bảng 5.24). Các tính chất này đã được sử dụng trong bộ kít thương mại 20 test, API 20NE của Bio–Merieux. Thực ra, đây là phương pháp xác định đủ độ tin cậy. Tuy nhiên, các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

kỹ thuật có độ chính xác cao hơn dựa vào đặc điểm ADN của vi khuẩn ngày càng được sử dụng nhiều.

2.4. Sức đề kháng

Acinetobacter có mặt ở nhiều nơi trong tự nhiên. Chúng có khả năng sống sót trong nhiều điều kiện khác nhau (khô ráo và ẩm ướt, trong môi trường bệnh viện, trong thực phẩm...). Có nghiên cứu cho thấy, khả năng sống sót của các *A. baumannii* khác nhau tuỳ thuộc vào các chủng. Một số chủng có thể tồn tại hàng năm trong môi trường bệnh viện. Tuy nhiên, những chủng được phân lập từ nơi khô ráo chịu đựng điều kiện thiếu nước tốt hơn các chủng phân lập từ những nơi ẩm ướt. Chủng *A. baumanii* 19606 có khả năng hình thành các biofilm trên bề mặt nhựa và thuỷ tinh. Điều này giải thích tại sao vi khuẩn tồn tại lâu và lan tràn đặc biệt trong môi trường bệnh viện.

Acinetobacter kháng lại rất nhiều kháng sinh với các cơ chế đề kháng khác nhau.

Bảng 5.23. Các cơ chế kháng kháng sinh quan trọng của *Acinetobacter*

Nhóm kháng sinh	Cơ chế đề kháng
β–Lactam	β –Lactamase Cephalosporinase trên nhiễm sắc thể: AmpC Phổ hẹp: TEM–1, TEM–2, CARB–5 và OXA–21 Phổ rộng: PER–1, VEB–1, CTX–M–2 and OXA–37 Carbapenemase: Giống như OXA–51 Giống như OXA–23, OXA–40, OXA–58, IMP–1 đến 6, 11 và VIM–2 Thay đổi ở các PBP* Giảm hình thành các protein màng ngoài (Carbapenem)
Aminoglycoside	Enzym làm thay đổi các Aminoglycoside **: AAC(3)I, AAC(6')I, ANT(3'') (9) và APH(3')VI Tăng hoạt động của hệ thống bơm ngược: AdeABC
Fluoroquinolone	Đột biến trên các gen *gyr*A và/hoặc *par*C Tăng hoạt động của hệ thống bơm ngược: AdeABC và AbeM
Tetracycline	Hệ thống bơm ngược Mang gen: *Tet*A và *Tet*B Hệ thống bơm ngược với nhiều thuốc: AdeABC Cơ chế bảo vệ nhiễm sắc thể: TetM

** Các enzym làm thay đổi aminoglycoside hay phát hiện được nhất ở *A. baumannii*.

* PBP: Penicillin–binding protein.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.5. Cấu trúc kháng nguyên

Cũng giống như các vi khuẩn Gram âm khác, *Acinetobacter* có thành phần cấu tạo là LPS. Ở hầu hết các LPS của *Acinetobater*, chuỗi đặc hiệu O không có phản ứng dương tính khi nhuộm với nitrate bạc, một kỹ thuật rất phổ biến để xác định kiểu cách của LPS của các vi khuẩn. Nhiều nghiên cứu cho thấy, có sự đa dạng khá lớn về kháng nguyên O trong các chủng thuộc chi *Acinetobacter*.

2.6. Đặc điểm di truyền

Tỷ lệ G+C của vi khuẩn là 39 đến 47(mol %). Trình tự bộ gen duy nhất của một *Acinetobacter* có sẵn hiện nay là *A. calcoaceticus* ADP1 (BD413) tại địa chỉ www.genoscope.cns.fr. Đây là một chủng vi khuẩn có nguồn gốc từ môi trường và được nghiên cứu rất nhiều. Vi khuẩn này có khả năng giáng hoá rất nhiều loại chất hoá học khác nhau bao gồm cả các hydrocarbon thơm. Chủng này cũng được biến nạp tự nhiên và đã được dùng cho các trình tự ADN tái tổ hợp. Một hệ thống không phụ thuộc gen *rec*A dùng để khuếch đại gen cũng đã được Reams mô tả. Trước khi có thông tin về bộ gen của *A. baumannii* hoặc các loài trong chi này, sự hiểu biết về di truyền của *Acinetobacter* vẫn còn rất hạn chế. Một nghiên cứu về *A. baumannii* cho thấy, 17 trên tổng số 25 chủng mang các vùng tích hợp gen và tất cả các chủng ngoại trừ một chủng thuộc lớp 1 thường mang các gen mã hoá cho các enzym làm thay đổi các aminoglycoside. Trong cùng một genotype, các vùng này hoàn toàn giống nhau ngoại trừ trường hợp chúng ở các chủng thuộc các genotype khác nhau.

2.7. Danh pháp

Trong những năm qua, danh pháp của *Acinetobacter* spp. đã có nhiều thay đổi. Vi khuẩn trước đây được đặt tên là *Bacterium anitratum*, *Herellea vaginicola*, *Mima polymorpha*, *Achromobacter*, *Micrococcus calcoaceticus*, *Diplococcus*, B5W và *Cytophaga*, cho tới khi chi *Acinetobacter* được Bouvet phân loại lại vào năm 1986 và Grimont đã sử dụng các kỹ thuật di truyền hiện đại như (biến nạp, lai ADN, so sánh trình tự ADN) và xếp vi khuẩn vào các loài có cùng đặc điểm di truyền bao gồm cả *A. baumanni*. Kể từ đó đến nay, rất nhiều kỹ thuật phân loại di truyền mới (dựa vào gen mã hoá cho rARN, dấu ấn các đoạn xen giữa tARN, tính đa hình của đoạn enzym giới hạn, hay phân tích đoạn cắt của ADN ribosom được khuếch đại) đã được sử dụng. Nhờ các tiến bộ của khoa học và công nghệ, cho tới nay, có 30 loài phân loại theo di truyền (genospecies) đã được đề xuất, kể cả một số loài mới: *Acinetobacter nannii* (trước đây gọi là *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus* và *Acinetobacter glucidotytica* non *liquefaciens*), *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter johnsonii* và *Acinetobacter radioresistens*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.24. Một số đặc điểm chính để phân biệt các *Acinetobacter*

Chi *Acinetobacter*: *Acinetobacter calcoaceticus*

Biến thể sinh học	*A. anitratus* (sinh acid từ chuyển hoá glucose)						*A. lwoffii*[b] (không sinh acid từ phân huỷ glucose)				
Genospecies	*A. calcoaceticus*	*A. baumannii*	Genospecies chưa đặt tên	*A. haemolyticus*	*A. junii*	Genospecies chưa đặt tên	*A. johnsonii*	*A. lwoffii*	Genospecies chưa đặt tên		*A. radioresistens*
Bouvet and Grimont (1986)	1[d]	2	3	4	5	6	7	8/9	10	11	12[c]
Điều kiện phát triển	Không mọc ở 41°C	Mọc ở 44°C	Mọc ở 41°C Không mọc ở 44°C	Mọc ở 37°C	Mọc ở 37°C	Mọc ở 37°C	–	Mọc ở 37°C	Mọc ở 37°C	Mọc ở 37°C	Mọc ở 37°C
Glucose	+	+	+	+ (52%)	–	+ (66%)	–	–	+	–	–
Tan máu	–	–	–	+ (100%)	–	+ (100%)	–	–	–	–	–
Thuỷ phân gelatin	–	–	–	+ (96%)	–	+ (100%)	–	–	–	–	–
Các test sử dụng carbon khác[e]	+	+	+	–	–	–	–	+	+	–	
β–alanin											
Phân huỷ DL–lactate	+[f]	+	–[g]	+	–	+	+	+	+	–	
Citrate	+	+	+	+ (91%)	+ (82%)	+	+	–	+	+	+
Malonate	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–	+

[a] Bergey manual (1984)

[b] *A. alcaligens* là genospecies

[c] Thêm 5 genospecies chưa được đặt tên (13–17), các genospecies này đang được nghiên cứu

[d] Số của genospecies dựa vào kết quả lai ADN–ADN

[e] Có thể sử dụng 7 test phân huỷ carbon và các nguồn năng lượng khác.

[f] 100% số chủng dương tính

[g] 0% các chủng dương tính

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ
THƯ VIỆN HUBT

Genospecies 1 (*A. calcoaceticus*, genospecies 2 (*A. baumannii*), genospecies 3 và genospecies 13 rất giống nhau về các đặc điểm sinh vật học và do vậy, được xếp vào một nhóm tên là *A. calcoaceticus–A. baumannii* complex.

Định nghĩa *Acinetobacter* dựa vào các đặc điểm sinh học và dựa vào việc xác định các loài bằng di truyền. Sự phát triển trong danh pháp và những đặc điểm chính của các *Acinetobacter* spp. mới được tóm tắt trong Bảng 5.24 và 5.25. Việc đặt tên các loài cũng cũng bao gồm các tên trước đây như *A. anitratus* đối với các chủng sử dụng glucose, *Acinetobacter lwoffii* đối với các chủng không sử dụng glucose. "*Acinetobacter calcoaceticus*" đã được sử dụng trong các y văn gần đây. Khả năng sinh acid từ glucose (oxi hoá glucose để tạo ra acid gluconic) không được coi là một đặc điểm có ý nghĩa về mặt danh pháp nữa. Hiện nay, các loài trong chi *Acinetobacter* được xếp vào một họ mới là *Moraxellaceae* thuộc lớp Gammaproteobacteria.

Bảng 5.25. Danh pháp hiện nay của các trực khuẩn Gram âm, không lên men
(liên quan đến các nhiễm trùng trên lâm sàng)

Các chi chính	Tên loài hiện tại	Tên tương tự
Acinetobacter	*Acinetobacter baumannii*	*Acinetobacter anitratus*
	Acinetobacter calcoaceticus	*Acinetobacter anitratus*
		Acinetobacter calcoaceticus spp. *calcoaceticus*
	Acinetobacter haemolyticus	
	Acinetobacter johnsonii	
	Acinetobacter junii	*Acinetobacter anitratus*
	Acinetobacter lwoffii	*Acinetobacter calcoaceticus* spp. *lwoffii*
Alcaligens	*Agrobacterium tumefaciens*	*Agrobacterium radiobacter* (CDC: nhóm Vd–3)
	Alcaligens faecalis	*Alcaligens odorans*
	Alcaligens piechaudii	*Pseudomonas odorans*
	Alcaligens xylosoxidans subsp. *denitrificans*	*Alcaligens denitrificans* (CDC: nhóm Vc)
	Alcaligens xylosoxidans subsp. *xylosoxidans*	*Alcaligens denitrificans* subsp. *xylosoxidans*
		Alcaligens xylosoxidans (CDC: nhóm IIIa và IIIb)
Burkholderia	*Burkholderia cepacia*	*Pseudomonas cepacia*
		Pseudomonas multivorans
		Pseudomonas kingae (CDC: nhóm EO–1
	Burkholderia gladioli	*Pseudomonas gladioli*
		Pseudomonas marginata
	Burkholderia mallei	*Pseudomonas mallei*
		Actinobacillus mallei
	Burkholderia pickettii	*Pseudomonas pickettii* (CDC: nhóm Va–1 và Va–2)
	Burkholderia pseudomallei	*Pseudomonas thomasii*
		Pseudomonas pseudomallei

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Comamonas	*Comamonas acidovorans* *Comamonas testosteroni* *Comamonas terrigena*	*Pseudomonas acidovorans* *Pseudomonas testosteroni* (CDC: nhóm EF–19)
Chryseobacterium	*Chryseomonas luteola* *Chryseobacterium gleum* *Chryseobacterium indologens* *Chryseobacterium meningosepticum* *Chryseobacterium odoratum* (*Myroides odoratus*)	*Pseudomonas luteola* (CDC: nhóm Ve–1) *Flavobacterium gleum* (CDC: nhóm IIb) *Flavobacterium indologens* (CDC: nhóm IIb) *Flavobacterium meningosepticum* (CDC: nhóm IIa) *Flavobacterium odoratum* (CDC: nhóm M–4f)
Flavobacterium	*Empedobacter brevis* *Flavimonas oryzihabitans* *Flavobacterium* sp. nhóm IIe *Flavobacterium* sp. nhóm IIh *Flavobacterium* sp. nhóm IIi	*Flavobacterium breve* *Pseudomonas oryzihabitans* (CDC: nhóm Ve–2) CDC: nhóm IIe CDC: nhóm IIh CDC: nhóm IIi
Pseudomonas	*Pseudomonas aeruginosa* *Pseudomonas alcaligens* *Pseudomonas chlororaphis* *Pseudomonas delafieldii* *Pseudomonas fluorescens* *Pseudomonas mendocina* *Pseudomonas pertucinogena* *Pseudomonas pseudoalcaligens* *Pseudomonas putida* *Pseudomonas stutzeri* *Vi khuẩn giống như Pseudomonas stutzeri* *Pseudomonas* sp. g nhóm 1 *Vi khuẩn giống như Pseudomonas*–nhóm 2	*Pseudomonas aureofaciens* CDC: nhóm Vb–2 *Bordetella pertussis* (pha IV dạng ráp) *Pseudomonas alcaligens* biotype B CDC: nhóm Vb–1 CDC: nhóm Vb–3 *Pseudomonas denitrificans* CDC: nhóm IV–d
Sphingobacterium	*Sphingobacterium mizutaii* *Sphingobacterium multivorum* *Sphingobacterium spiritivorum* *Sphingobacterium thalpophilum* *Sphingobacterium yabuuchiae* *Sphingomonas paucimobilis* *Weeksella virosa* *Weeksella zoohelcum*	*Flavobacterium mizutaii* *Flavobacterium multivorum* (CDC: nhóm IIK–2) *Flavobacterium spiritivorum* *Sphingobacterium versatilis* (CDC: nhóm IIK–3) *Flavobacterium thalpophilum* *Flavobacterium yabuuchiae* *Pseudomonas paucimobilis* (CDC: nhóm IIK 11) *Flavobacterium genitale* (CDC: nhóm II–f) Nhóm Iij chi *Flavobacterium*
Stenotrophomonas	*Stenotrophomonas maltophilia* *Myroides odoratus*	*Xanthomonas maltophilia* *Pseudomonas maltophilia* (CDC: nhóm M–4f)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3. ĐỘC LỰC VÀ BỆNH SINH

3.1. Yếu tố độc lực của Acinetobacter spp.

Mặc dù lúc đầu được coi là một vi khuẩn độc lực không mạnh, nhưng *Acinetobacter* có nhiều yếu tố độc lực đã được xác định. Sự có mặt của một polysaccharide của vỏ cấu tạo bởi L–rhamnose, acid D–glucuronic và D–mannose giúp cho màng tế bào ưa nước và có tính kỵ nước lớn hơn ở các chủng *A. baumannii* phân lập từ catheter và các thiết bị đặt ở khí quản. *Acinetobacter* bám vào tế bào biểu mô của người thông qua vỏ và các diêm của vi khuẩn. Lipopolysaccharide (LPS) của *Acinetobacter* được cho là có hoạt tính trên *in vitro* đối với các tế bào có nhân điển hình và có tác dụng kích thích giải phóng cytokine. Một gen giống như *traT* của *E. coli* chịu trách nhiệm cho cơ chế kháng lại tác dụng của huyết thanh cũng được tìm thấy ở *Acinetobacter*. Các enzym lipase (butyrate esterase, caprylate esterase và leucine arylamidase) *Acinetobacter* sản xuất ra có thể phá huỷ lipid của mô. Vi khuẩn không có DNase, elastase, haemolysin, trypsin hoặc chymotrypsin. Một catechol siderophore mới được tìm thấy ở *A. baumanii* 8399 phân lập ở bệnh nhân bị viêm phổi do nhiễm trùng bệnh viện và người ta đã nghiên cứu các đặc tính của protein mang và quá trình tổng hợp của nó. Các yếu tố độc lực của *Acinetobacter* đã được nghiên cứu ở nhiều mẫu hình động vật thực nghiệm gây nhiễm trùng toàn thân, viêm phổi ở chuột bị suy giảm miễn dịch.

3.2. Các yếu tố phụ trợ của vật chủ

Nhiễm trùng do *Acinetobacter* có thể xảy ra khi có nhiều yếu tố thuận lợi về phía vật chủ bao gồm cả bệnh nền, khối u ác tính, bỏng, suy giảm miễn dịch và cả những cuộc đại phẫu. Bệnh nhân là người già hoặc trẻ nhỏ có nguy cơ cao. Những cơ sở y tế có nguy cơ xuất hiện các nhiễm trùng do vi khuẩn này bao gồm khu vực phẫu thuật, khu chăm sóc bệnh nhân cấp cứu, đơn vị điều trị bệnh nhân bỏng hoặc các khoa phòng có các thủ thuật đặt ống dẫn hoặc có đường vào tạo thuận lợi cho vi khuẩn gây bệnh. Việc điều trị kháng sinh cũng là một yếu tố thuận lợi vì bệnh nhân mắc phải các chủng *Acinetobacter* đa kháng thuốc thường có liên quan đến việc điều trị kháng sinh trước đó và cả những yếu tố kể trên.

3.3. Dịch tễ học

Các chủng *Acinetobacter* có mặt ở khắp trong tự nhiên và tìm thấy trong tất cả các mẫu đất, nước và bệnh phẩm khác. Trong đất, nước thải, cây, thực phẩm người ta cũng thấy nhiều loài *Acinetobacter* mặc dù những loài gây bệnh cho người ít khi được tìm thấy ở những nơi này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.3.1. Vấn đề mang Acinetobacter ở người

Acinetobacter được tìm thấy ở người bình thường. Nó là một phần vi khuẩn chí trên da. Vi khuẩn còn được tìm thấy ở nách, háng, đầu ngón chân ở người bình thường. *Acinetobacter* cư trú ở miệng, đường hô hấp, tiêu hoá và chủ yếu thấy ở những vùng da ẩm ướt. Nghiên cứu về tỷ lệ mang *Acinetobacter* trên da và niêm mạc ở người cho thấy, *A. lwoffii* (47%), *A. johnsonii* (21%), *A. radioresistens* (12%) và genospecies 3–loài 3 (phân theo đặc điểm di truyền) là 11%, phổ biến nhất ở cả nhóm bệnh và nhóm chứng. *Acinetobacter baumannii* và genospecies 13 (phổ biến nhất trong số các loài gây nhiễm trùng bệnh viện) gặp với tỷ lệ thấp ở nhóm người lành (6,5% và 1%). Một nghiên cứu ở Hồng Kông cho thấy genospecies 3 hay gặp nhất (36%) và *A. lwoffii*/*A. johnsonii* hiếm hơn (1,6%) ở những người khoẻ mạnh trong cộng đồng. Trong khi đó, ở bệnh nhân, *A. baumannii* rất hay gặp (35%). Điều này cho thấy sự đa dạng về tỷ lệ mang giữa các loài tuỳ thuộc vào từng chủ thể khác nhau. Tại cộng đồng dường như không phải là nguồn chứa của *A. baumannii* theo như dữ liệu từ một nghiên cứu ở New York về tỷ lệ mang vi khuẩn này ở tay. Thêm vào đó, những chủng đa kháng thuốc điển hình gây nhiễm trùng bệnh viện cũng không thấy ở cộng đồng.

3.3.2. Nguồn gốc và sự lan tràn nhiễm trùng bệnh viện

Các trường hợp nhiễm trùng bệnh viện lẻ tẻ do *Acinetobacter* gặp ở nhiều bệnh viện và các khoa điều trị khác nhau. Tuy nhiên, các vụ dịch nhiễm trùng bệnh viện do các chủng gây dịch thường gặp ở các khoa Hồi sức cấp cứu và đang gây ra những mối lo ngại. Tỷ lệ mang *Acinetobacter* trên da của những bệnh nhân nằm viện cao hơn có ý nghĩa so với những người ở cộng đồng và đây được coi như một nguồn lây quan trọng. Có giả thiết cho rằng do việc vệ sinh không tốt, không khí ấm và ẩm ở giường bệnh (do vi khuẩn thường gặp vào những tháng mùa nóng). Tuy nhiên, hai nghiên cứu gần đây nhất sử dụng kỹ thuật xác định vi khuẩn bằng lai ADN cho thấy, sự cư trú này liên quan đến nhiều loài *Acinetobacter* mà chúng không liên quan đến các nhiễm trùng trên lâm sàng. Ngược lại, tỷ lệ mang *A. baumannii* khá cao trong những vụ dịch ở các khoa Hồi sức cấp cứu. Tại các khoa này, vi khuẩn tìm thấy khá thường xuyên trên da, họng, đường hô hấp và tiêu hoá của bệnh nhân. Sự cư trú của vi khuẩn ở đường hô hấp và tiết niệu sinh dục thường được coi là nguồn lây quan trọng nhất đối với nhiễm trùng bệnh viện. Trong một nghiên cứu ở bệnh nhân là người trưởng thành tại một khoa Hồi sức cấp cứu ở Pháp, tỷ lệ mang *A. baumannii* và/hoặc *Klebsiella pneumoniae* trong vòng 9 ngày là 33%. Các nghiên cứu trên bệnh nhân bị bỏng cũng cho thấy tỷ lệ mang vi khuẩn này tới trên 50%, chủ yếu là sự cư trú

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trên bề mặt vết bỏng. Vi khuẩn cư trú tại đường hô hấp với một tỷ lệ cao cũng đã được mô tả trong các vụ dịch ở bệnh nhân thở máy. Trong một nghiên cứu khác, 45% bệnh nhân bị mở khí quản có phân lập được *Acinetobacter* spp. Mặc dù sự có mặt của *Acinetobacter* trong đường tiêu hoá không được cho là nguồn gây nhiễm trùng bệnh viện quan trọng, một vài nghiên cứu cũng cho thấy một tỷ lệ cao *A. baumannii* trong trực tràng ở bệnh nhân tại khoa Hồi sức cấp cứu. Rất nhiều khu vực trong môi trường bệnh viện cả ẩm thấp và khô ráo đều có *Acinetobacter* spp. Trong môi trường ẩm, các đồ vật tiếp xúc với bệnh nhân mang vi khuẩn là đường lây rất quan trọng. Ở một khoa Bỏng, người ta đã thấy những vụ dịch liên quan đến các ga trải giường bị ướt và cả những tấm lông phủ ở trên. *A. baumannii* được thấy là nguyên nhân gây nhiễm trùng bệnh viện cả ở mèo, chó và ngựa tại những bệnh viện Thú y và sự lan tràn nhiễm trùng cũng giống như ở người. Các đồ vật khác ở bệnh viện như rèm, bàn phím máy tính, thiết bị đo áp lực động mạch, thiết bị thông gió, máy thở... đều là nguồn lây các vụ dịch. Một khi các đồ dùng và thiết bị trong bệnh viện bị lây nhiễm, khả năng tồn tại của các vi khuẩn gây dịch trong những điều kiện khô ráo là trường hợp rất đặc biệt (ví dụ như *A. baumannii*, genospecies 3, 7 và 13). Các chủng *Acinetobacter* gây nhiễm trùng bệnh viện có khả năng chịu đựng điều kiện khô ráo hơn nhiều lần so với các chủng mới được phân lập. Vi khuẩn từ các thiết bị có thể gây nhiễm sang tay của nhân viên y tế và có thể được lan truyền sang bệnh nhân. Trong một vụ dịch, sự lây nhiễm ra môi trường có liên hệ chặt chẽ với số lượng bệnh nhân có vi khuẩn cư trú và việc cải thiện điều kiện vệ sinh có vai trò quan trọng trong việc chấm dứt vụ dịch.

3.4. Đặc điểm lâm sàng nhiễm trùng do *Acinetobacter*

Acinetobacter spp. đóng vai trò quan trọng trong nhiều nhiễm trùng cơ hội và nhiễm trùng bệnh viện. Các vị trí gặp nhiễm trùng bệnh viện do *Acinetobacter* khác nhau tùy thuộc vào thời gian, các yếu tố dịch tễ học. Trong những báo cáo gần đây, nhiễm trùng đường sinh dục tiết niệu rất hay gặp ở các khoa Hồi sức cấp cứu. Nhiễm trùng sinh dục tiết niệu đã giảm và có thể liên quan đến việc chăm sóc các catheter tốt hơn trong khi đó, tỷ lệ viêm phổi do nhiễm trùng bệnh viện vẫn tăng lên đáng kể. Một nghiên cứu ở châu Âu về các căn nguyên gây viêm phổi liên quan đến nhiễm trùng bệnh viện được tiến hành ở 7 nước sử dụng cùng một quy trình cho thấy, *Acinetobacter* được phân lập và xác định với tỷ lệ 10%. Có một số trường hợp bệnh nhân bị viêm màng não, viêm nội tâm mạc, nhiễm trùng mô mềm, viêm màng bụng, nhiễm trùng vết thương sau phẫu thuật. Các loài *Acinetobacter* còn có vai trò quan trọng trong các nhiễm trùng ở bệnh nhân bỏng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.4.1. Nhiễm trùng đường hô hấp

Viêm phổi do *Acinetobacter* không khác về mặt lâm sàng với viêm phổi nặng khác do các trực khuẩn Gram (–). Các dấu hiệu lâm sàng như sốt, tăng bạch cầu, ho có đờm, hình ảnh thâm nhiễm trên X.quang có định hướng trong việc chỉ định xét nghiệm vi sinh. Việc tìm căn nguyên gây bệnh được chỉ định cho các bệnh phẩm dịch hút khí phế quản, dịch rửa phế quản. Nhiễm trùng đường hô hấp do *Acinetobacter* xuất hiện khá thường xuyên ở các bệnh nhân thở máy. Ở Mỹ, điều tra Quốc gia về Nhiễm trùng bệnh viện cho thấy, khoảng 4% các trường hợp viêm phổi do nhiễm trùng bệnh viện là do *Acinetobacter*. Trong một nghiên cứu ở châu Âu tại khoa Hồi sức cấp cứu, *Acinetobacter* có liên quan tới 10% các trường hợp viêm phổi. Dạng viêm phổi nặng nhất là viêm phổi kèm theo nhiễm khuẩn huyết. Bệnh cảnh lâm sàng thường phối hợp với sốc và nhiễm khuẩn huyết. Bệnh thường xảy ra ở những bệnh nhân có các yếu tố nguy cơ như bệnh nền, hay điều trị kháng sinh phổ rộng. Tỷ lệ tử vong của viêm phổi do *Acinetobacter* từ 30 đến 75%, cao nhất ở bệnh nhân thở máy. Nghiên cứu khác ở Tây Ban Nha tại một đơn vị Hồi sức cấp cứu cho thấy, tỷ lệ tử vong do *A. baumanni* ở bệnh nhân nội trú là 53%. So với nhóm chứng, thời gian điều trị dài hơn 13 ngày và tỷ lệ tử vong cao hơn 4 lần. Ở miền Bắc nước Úc, những trường hợp viêm phổi ở cộng đồng gặp không nhiều và chiếm khoảng 10% số trường hợp, chủ yếu ở bệnh nhân nghiện rượu.

3.4.2. Nhiễm khuẩn huyết

Các yếu tố nguy cơ thuận lợi cho nhiễm khuẩn huyết và nguồn lây phổ biến là vi khuẩn từ bệnh nhân bị viêm phổi, sang chấn, trường hợp phẫu thuật, đặt catheter, đường truyền tĩnh mạch, lọc máu và bỏng. Sự suy giảm miễn dịch hoặc thiểu năng hô hấp lúc vào viện làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn huyết lên 3 lần cùng với tăng nguy cơ viêm phổi do nhiễm trùng bệnh viện. Nằm viện lâu ngày, chuyển từ viện khác đến, cho ăn qua ống thông và sử dụng kháng sinh cephalosporin thế hệ 3 trước đó tất cả đều là yếu tố nguy cơ của việc cư trú vi khuẩn và nhiễm trùng do *Acinetobacter*, do vậy, làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn huyết do *Acinetobacter*. Các dấu hiệu lâm sàng phù hợp để xác định trường hợp nhiễm khuẩn huyết là sốt, tăng bạch cầu, cấy máu dương tính liên tục với cũng một genotype của *Acinetobacter*. Tỷ lệ nhiễm khuẩn huyết do *Acinetobacter* xếp thứ hai sau viêm phổi và tiên lượng phụ thuộc nhiều vào bệnh nền của bệnh nhân. Nhiễm khuẩn huyết có thể do cả chủng *Acinetobacter* gây dịch lẻ tẻ và cả những chủng gây đại dịch cư trú trong bệnh viện. Đó là kết quả nghiên cứu bằng định type sinh học phân tử tại 5 bệnh viện trong một nghiên cứu đa trung tâm tại Mỹ. Kết quả phụ thuộc vào bệnh nền của bệnh nhân nhưng sốc nhiễm khuẩn có thể xuất hiện trong 20 đến 30% số bệnh nhân.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.4.3. Nhiễm trùng đường tiết niệu

Một số tổng quan về nhiễm trùng cho *Acinetobacter* cho thấy, tỷ lệ vi khuẩn này gây nhiễm trùng đường tiết niệu trong bệnh viện rất khác nhau, từ 2 đến 61%. Các nghiên cứu dịch tễ học mới đây cho thấy tỷ lệ chung là 30,5%. Các yếu tố nguy cơ của nhiễm trùng đường tiết niệu không khác so với nhiễm khuẩn huyết. Đặt catheter đường tiết niệu là một yếu tố phụ thêm và khi loại bỏ yếu tố này, người ta thấy việc kiểm soát nhiễm khuẩn huyết do *Acinetobacter* có hiệu quả.

3.4.4. Nhiễm trùng da, mô mềm

Sự xuất hiện và cư trú của *Acinetobacter* ở vết bỏng, các vết thương sau phẫu thuật và sang chấn không phải là không phổ biến đặc biệt là ở các khoa Hồi sức cấp cứu. Phân biệt sự có mặt của vi khuẩn tại vết thương hay đó là do nhiễm trùng có thể gặp khó khăn. Tuy nhiên, hiện tượng viêm mô tế bào do *Acinetobacter* tại vùng xung quanh vị trí đặt catheter cũng đã được đề cập. Có rất ít các báo cáo về hoại tử mô mềm tiến triển ở khu vực vết thương bị nhiễm vi khuẩn này. Sự xuất hiện của *Acinetobacter* tại những vết thương ở chi của những binh sĩ trong chiến tranh Việt Nam là rất phổ biến. Trong những trường hợp như vậy, có hiện tượng nhiễm khuẩn huyết sau 3–5 ngày xuất hiện vi khuẩn trong vết thương. Trong một số nghiên cứu lớn, 4–27% các trường hợp nhiễm khuẩn huyết do *Acinetobacter* xuất hiện do kết quả của các vết thương và vết bỏng bị nhiễm trùng. Tỷ lệ phát hiện được *Acinetobacter* spp. trên tổn thương vết bỏng thương gặp tại các đơn vị điều trị chuyên khoa cũng giống như tỷ lệ *P. aeruginosa*.

3.4.5. Viêm màng não

Acinetobacter ít khi gây viêm màng não sau nhiễm trùng bệnh viện. Các trường hợp này chủ yếu gặp ở bệnh nhân có can thiệp phẫu thuật hệ thần kinh và hiếm khi gây ra viêm màng não tiên phát, đặc biệt là ở trẻ em. Viêm màng não do *Acinetobacter* có thể bắt nguồn từ việc đưa vi khuẩn trực tiếp vào hệ thần kinh trung ương trong quá trình phẫu thuật sọ não, chọc dịch não tuỷ hoặc các can thiệp liên quan. Triệu chứng của bệnh có thể không điển hình bao gồm dấu hiệu màng não, sốt cao, trạng thái hôn mê, hoặc đau đầu. Tuy nhiên, một số trường hợp biểu hiện lâm sàng dạng cấp giống như viêm màng não do não mô cầu hoặc *Haemophilus influenzae*.

3.4.6. Nhiễm trùng do Acinetobacter ở trẻ em

Những nghiên cứu mới đây đã nhấn mạnh đến sự xuất hiện của nhiễm trùng do *Acinetobacter* ở trẻ em mà trước đây coi là hiếm hoặc không xác định được. Các phân tích cho thấy, bệnh nhân nhi có đặt catheter tĩnh mạch thường có xu

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hướng bị nhiễm trùng bệnh viện do *Acinetobacter*. Một số nghiên cứu về điều kiện môi trường cho thấy, tỷ lệ mắc tăng cao sau khi lắp đặt máy điều hoà mới do sự lan tràn vi khuẩn theo đường không khí. Ở khu điều trị tích cực, các nhiễm trùng do *A. baumannii* có liên quan đến việc thở máy. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mặc dù điều kiện chăm sóc và vệ sinh tốt, ở nhóm thở máy vi khuẩn tồn tại lâu hơn và nhiệt độ trên 37^{0}C kéo dài hơn so với nhóm chứng. Tuy nhiên, trong nghiên cứu đặc biệt này, không thấy trường hợp nào tử vong.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Nuôi cấy, phân lập

Tất cả các loài *Acinetobacter* thường gặp dễ dàng mọc trên các môi trường nuôi cấy, phân lập thông thường. Trong vụ dịch, người ta có thể sử dụng những môi trường như MacConkey, cystine lactose electrolyte–deficient (CLED) để nuôi cấy, phân lập và chọn lọc cho các chủng vi khuẩn cần quan tâm kể cả việc đánh giá kiểu cách kháng kháng sinh bằng cách thêm các kháng sinh vào môi trường. Để phân lập chọn lọc hầu hết các loài *Acinetobacter*, người ta có thể sử dụng môi trường Leeds *Acinetobacter*. Nếu các bệnh phẩm từ môi trường với số lượng ít, có thể sử dụng môi trường lỏng để tăng sinh và nuôi cấy trong điều kiện có lắc để tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển. Mặc dù *A. baumannii*, genomospecies 3 và 3TU mọc tốt ở 37^{0}C, nhiệt độ thấp hơn (khoảng 30^{0}C) đảm bảo cho sự phát triển của hầu như toàn bộ các loài.

4.1.2. Xác định

Phân biệt các genomospecies gặp khó khăn nếu chỉ sử dụng các tính chất sinh vật hoá học thông thường mặc dù nó có thể áp dụng được trong một số trường hợp. Một số đặc tính quan trọng được tóm tắt ở Bảng 5.24. Phần lớn các chủng phân lập được trên lâm sàng là *A. baumannii* (genomospecies 2), genomospecies 3, *A. johnsonii*, *A. lwoffii* và *A. junii* được phân lập với tỷ lệ thấp hơn nhiều. Ở một số phòng xét nghiệm được trang bị các phương tiện để có thể áp dụng các bộ kít thương mại như API 20NE (BioMerieux). Một số nghiên cứu cho thấy kết quả ít có mối liên hệ với các phương pháp dựa vào ADN. Ribotyping và kỹ thuật dựa vào trình tự RNA, AFLP và ARDRA được sử dụng cho một số trường hợp xác định các genomospecies, đặc biệt là phân biệt genomospecies 1, 2, 3 và 3TU.

4.1.3. Định type

Ngoài một số các trường hợp nhiễm trùng do *Acinetobacter* xảy ra lẻ tẻ, các

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

vụ dịch nhiễm trùng bệnh viện do vi khuẩn này đã được thông báo nhiều trong y văn trên thế giới và trở thành một mối quan ngại trong bệnh viện. Để xác định nguồn gốc và cách thức lan truyền, rất nhiều cách định type các chủng đã được sử dụng từ những kỹ thuật đơn giản như định type phage, type huyết thanh, type bacteriocin cho tới các kỹ thuật sinh học phân tử như ribotyping, hay phân tích tính đa hình của đoạn enzym giới hạn của các đoạn ADN trên nhiễm sắc thể bằng PFGE; PCR, ARDRA; phân tích tính đa hình của đoạn ADN được khuếch đại (RAPD), AFLP, IRS–PCR; REP–PCR. Tất cả các kỹ thuật này có khả năng phân biệt rất tốt các chủng phân lập được trên lâm sàng, nhưng cho tới nay, vẫn chưa có một phương pháp chuẩn nào được chấp nhận. Ngoài ra, không phải tất cả các kỹ thuật trên đều có sẵn ở các labo trên lâm sàng. Thay vào đó, kỹ thuật kháng sinh đồ và việc xác định các tính chất sinh vật hoá học được sử dụng khá phổ biến mặc dù chúng cũng không phải là các kỹ thuật có độ tin cậy cao. Việc cải tiến các kỹ thuật này là rất cần thiết trong việc xác định mối liên quan giữa các chủng trong các vụ dịch nhiễm trùng do *Acinetobacter* trong bệnh viện để có thể áp dụng rộng rãi.

4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Nhiều chủng có vỏ và tính chất này có thể dùng trong kỹ thuật sử dụng kháng thể huỳnh quang miễn dịch. Bằng kỹ thuật này có thể phân biệt 28 type huyết thanh nhưng rất ít nghiên cứu áp dụng kỹ thuật này trên lâm sàng. Một kỹ thuật khác sử dụng kháng huyết thanh của thỏ bằng phản ứng ngưng kết trong ống nghiệm với 20 type huyết thanh khác nhau. Mặc dù kỹ thuật này đơn giản, dễ áp dụng trong điều kiện của nhiều phòng xét nghiệm nhưng do dựa vào cấu trúc trên bề mặt của vi khuẩn mà đặc điểm này không bền vững, do đó, trong nhiều trường hợp sẽ có khó khăn khi xác định.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

Acinetobacter spp. đề kháng với nhiều loại kháng sinh khác nhau. Kể từ năm 1975, các chủng *Acinetobacter* spp. ngày càng kháng lại nhiều kháng sinh. Trong những báo cáo giám sát gần đây nhất, các chủng phân lập được trên lâm sàng đã kháng lại nhiều kháng sinh như aminoglycoside, cephalosporin thế hệ 3, fluoroquinolone, penicillin phổ rộng và các monobactam. Trong một nghiên cứu tiến hành trên 100 khoa Hồi sức cấp cứu ở 5 nước châu Âu, tỷ lệ kháng với ciprofloxacin, gentamicin, piperacillin và ceftazidime hơn 50%. Ở các nước khác nhau thì kiểu cách đề kháng khác nhau tuỳ thuộc và các loài và sự khác biệt về

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

sử dụng kháng sinh. Một nghiên cứu gần dây trên 595 chủng *Acinetobacter* spp. Phân lập ở Anh cho thấy, 89% các chủng *A. baumannii* đề kháng với ceftazidime và hơn 40% đề kháng với ciprofloxacin hoặc gentamicin. Các carbapenem là kháng sinh có hiệu lực mạnh nhất nhưng một số báo cáo mới đây cũng cho thấy ngày càng có nhiều chủng kháng lại với các kháng sinh nhóm này, đặc biệt là imipenem và meropenem. Trong một số vụ dịch, chỉ có sulbactam hoặc colistin là còn có tác dụng với *A. baumannii*. Các loài *Acinetobacter* khác *A. baumannii* như *A. lwoffii*, *A. johnsonii* và *A. junii* thường ít liên quan đến nhiễm trùng bệnh viện và thường nhạy cảm hơn với kháng sinh. Tuy nhiên, cũng có những bằng chứng cho thấy một số chủng đã kháng lại nhiều kháng sinh.

β–Lactams

Việc sản xuất ra enzym β–Lactamase thuộc nhiều loại khác nhau là cơ chế đề kháng hay gặp nhất của các *Acinetobacter* spp. (Bảng 5.26).

Các kháng sinh thuộc nhóm Carbapenem

Imipenem vẫn là thuốc có hiệu quả trong điều trị các nhiễm trùng do *Acinetobacter* và đang được sử dụng rộng rãi trên toàn thế giới. Hiện nay, đã có nhiều chủng đề kháng với kháng sinh này và xuất hiện trong nhiều vụ dịch nhiễm trùng bệnh viện, đặc biệt ở những nơi imipenem được sử dụng rộng rãi. Cơ chế phá huỷ imipenem được mô tả trong Bảng 5.26. Các cơ chế khác, đặc biệt là sự mất các protein màng ngoài đã được mô tả trong cơ chế kháng carbapenem của vi khuẩn này.

Các kháng sinh nhóm Aminoglycoside

Các kháng sinh nhóm aminoglycoside có thể bị bất hoạt do nhiều enzym khác nhau và không có một kháng sinh nào, kể cả amikacin được coi là kháng sinh có tác dụng tốt nhất đối với *Acinetobacter* có thể chống lại được tác dụng bất hoạt của các loại enzym này.

Các kháng sinh nhóm Fluoroquinolone

Khi được dưa ra dùng lần đầu tiên, các kháng sinh này có tác dụng tốt đối với các *Acinetobacter*, nhưng khi có các đột biến trên gen *gry*A và *par*C đã làm tăng sự đề kháng của vi khuẩn đối với các kháng sinh nhóm fluoroquinolone. Một cơ chế bơm ngược mới của *Acinetobacter* cũng đã được đề cập.

Các kháng sinh khác

Kháng tetracycline thông qua cơ chế của protein bơm ngược *Tet*A và B của *A. baumannii*. Cơ chế kháng thông qua plasmid đối với cả trimethoprim và chloramphenicol cũng được Bergogne và Towner mô tả.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.26. Tổng hợp các đặc tính của β–lactamase xác định được trong các *Acinetobacter* spp.

β–Lactamase	Vị trí của gen	Kháng sinh chịu tác động	Đặc điểm
TEM–1/2	Plasmid	Penicillin	Phổ biến ở hầu hết các trực khuẩn Gram âm Bị ức chế bởi acid clavulanic
CARB–5	Plasmid	Penicillin	Bị ức chế bởi acid clavulanic
ACE–1 ACE–2 ACE–3 ACE–4	Nhiễm sắc thể	Cephalosporin	Chịu trách nhiệm cho sự đề kháng với cephalosporin. Có tác dụng trên penicillin. Không có tác dụng trên aztreonam hoặc cephalosporin phổ rộng, chỉ có ACE–1 thuỷ phân cefuroxime
Amp–C	Nhiễm sắc thể	Cephalosporin	Ít bị ức chế bởi acid clavulanic
PER–1	Plasmid	ESBL[a]	Chịu trách nhiệm cho sự đề kháng với tất cả các β–lactam bao gồm cả aztreonam nhưng không kháng cefotoxin. Không có tác dụng trên carbapenem. Bị ức chế bởi acid clavulanic
VEB–1	Plasmid	ESBL[a]	
OXA–21 ARI–1 (OXA–23) OXA–24–27	Plasmid	Carbapenem	Lớp D, không phải là metalloenzym có hoạt tính carbapenemase yếu
IMP–1 IMP–2 IMP–4 IMP–5 VIM–2	Plasmid, integrons	Carbapenem	Các metallcenzyme có hoạt tính carbapenemase. Chịu trách nhiệm cho sự đề kháng với carbapenem và tất cả các kháng sinh nhóm β–lactam ngoại trừ monobactam

[a] β–lactamase phổ rộng

Các lựa chọn khác trong điều trị nhiễm trùng do Acinetobacter

Các lựa chọn khác cho việc điều trị các nhiễm trùng do *Acinetobacter* còn gặp rất nhiều khó khăn do vi khuẩn đề kháng lại rất nhiều kháng sinh. Dựa trên mẫu hình thực nghiệm trên động vật gây viêm phổi do *Acinetobacter*. Carbapenem hoặc carboxypenicillin đã được sử dụng và trong hầu hết các phối hợp với một aminoglycoside trong điều trị theo kinh nghiệm các viêm phổi do nhiễm trùng bệnh viện. Các kiểu điều trị khác như phối hợp với chất ức chế β–lactamase, trong đó sulbactam được cho là có hiệu quả điều trị cao do hoạt

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

tính ức chế khá tốt của nó đối với *Acinetobacter*. Mặc dù sulbactam được cho là ưu việt hơn acid clavulanic và tazobactam, nó không tăng cường tác dụng của các kháng sinh nhóm β–lactam.

Liệu pháp đơn trị so với đa trị

Các nghiên cứu trên *in vitro* cho thấy, hoạt tính diệt khuẩn của các kháng sinh nhóm β–lactams bao gồm imipenem và chất ức chế enzym β–lactamase là sulbactam có tác dụng chậm, phụ thuộc thời gian trong khi các aminoglycoside, fluoroquinolone và rifampicin có tác dụng diệt khuẩn nhanh (thuốc phụ thuộc liều). Do vậy, liệu pháp đa trị vẫn có tác dụng tốt đối với *Acinetobacter* spp., như dùng một thuốc aminoglycoside phối hợp với một thuốc nhóm β–lactam (ticarcillin hoặc cephalosporin thế hệ 3 hoặc imipenem), có thể sẽ có hiệu quả nhanh và tác dụng diệt khuẩn cao. Đối với những chủng đề kháng cao với aminoglycoside và/hoặc fluoroquinolone, việc sử dụng các kháng sinh không thông thường và/hoặc phối hợp những nhóm kháng sinh đặc biệt được để xuất dựa vào những dữ liệu trên *in vitro* và hiệu quả điều trị cho bệnh nhân trên lâm sàng. Do các chủng vi khuẩn phân lập trên lâm sàng có nhiều cơ chế đề kháng nên mỗi chủng cần phải được thử mức độ nhạy cảm với kháng sinh một cách cẩn thận với từng kháng sinh và các phối hợp sử dụng các kỹ thuật phù hợp trên lâm sàng. Ngoài ra, các phối hợp kháng sinh cũng phải được chọn phù hợp dựa vào cả các dữ liệu trên động vật thực nghiệm. Mặc dù vi khuẩn cũng đề kháng với ciprofloxacin, việc phối hợp các fluoroquinolone thế hệ mới như levofloxacin với imipenem hoặc amikacin trên động vật thực nghiệm cho kết quả rất hứa hẹn. Các kết quả trên *in vitro* vẫn còn phải thảo luận thêm, tuy nhiên, kết quả trên động vật thực nghiệm khá đồng nhất với hiệu quả trên lâm sàng.

5.2. Phòng bệnh

Kiểm soát nhiễm trùng bệnh viện có vai trò rất quan trọng trong phòng lây nhiễm *Acinetobacter* và những nhiễm trùng do vi khuẩn này gây ra. Thực hiện rửa tay đúng quy trình, khử trùng các đồ dùng, thiết bị, và môi trường theo thường quy. Nhiều nghiên cứu cho thấy, các chủng *Acinetobacter* đa kháng thuốc vẫn rất nhạy cảm với các chất sát khuẩn. Nếu xác định được nguồn lây, đường lây và có biện pháp ngăn chặn kịp thời, hiệu quả phòng bệnh được cải thiện đáng kể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bouvet P and Grimont P. Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov. *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov. *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

emended descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii* Int. J. Syst. Bacteriol. 1986 (36): 228–240.

2. Enoch DA, et al. Investigation and management of an outbreak of multidrug–carbapenem–resistant *Acinetobacter baumannii* in Cambridge, UK. J Hosp Infect. 2008 (70): 109–18.
3. Gillespie SH, Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Second edition. John Wiley & Sons, Ltd. 2006.
4. Isneros JM and Rodriguez–Bano J. Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. Clin Microbiol Infect. 2002 (8): 687–93.
5. Trottier V, et al. Outcomes of *Acinetobacter baumannii* infection in critically ill surgical patients. Surg Infect (Larchmt). 2007 (8): 437–43.
6. Wilks M, et al. Control of an outbreak of multidrug–resistant *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in an intensive care unit (ICU) without closing the ICU or placing patients in isolation. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006 (27): 654–8.
7. Wu TL, et al. Molecular epidemiology of nosocomial infection associated with multi–resistant *Acinetobacter baumannii* by infrequent–restriction–site PCR. J Hosp Infect. 2002 (51): 27–32.
8. Zarrilli R et al. Molecular epidemiology of sequential outbreaks of *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit shows the emergence of carbapenem resistance. J Clin Microbiol. 2004 (42): 946–53.
9. Zeana C, et al. The epidemiology of multidrug–resistant *Acinetobacter baumannii*: does the community represent a reservoir? Infect Control Hosp Epidemiol. 2003 (24): 275–9.

HAEMOPHILUS

GIỚI THIỆU CHUNG VỀ *HAEMOPHILUS*

Haemophilus là một chi thuộc họ *Pasteurellaceae*. "Haemophilus" theo gốc từ Hy Lạp có nghĩa là "ưa máu" (haemo – máu, philus – ưa, thích). Thuật ngữ này do Winslow và cộng sự đề xuất năm 1917.

Các thành viên của chi này là các trực khuẩn nhỏ, Gram âm, không di động. *Haemophilus* ký sinh bắt buộc trên niêm mạc của người và nhiều loài động vật, thường ở đường hô hấp trên, có thể gặp ở đường sinh dục, hiếm gặp hơn ở đường tiêu hoá. Chúng là những vi khuẩn khuyết dưỡng (không tự tổng hợp được một

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

số yếu tố cần thiết cho sự phát triển – gọi là *yếu tố phát triển* hay *nhu yếu*). Môi trường nuôi cấy *Haemophilus* bắt buộc phải có thêm một hoặc cả hai yếu tố phát triển (tuỳ từng loài), đó là yếu tố X (hemin, hematin) và yếu tố V (NAD – Nicotinamide adenine dinucleotide).

Chi *Haemophilus* gồm gần 20 loài. Những loài có thể gặp trên người gồm *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *H. haemolyticus*, *H. aegyptius*, *H. ducreyi*, *H. segnis*, *H. aphrophilus* và *H. paraphrophilus*.

Bảng 5.27. Một số tính chất của *Haemophilus* spp. gặp ở người

Loài	Nhu yếu		Tan máu	Lên men*			
	X	V		Glucose	Lactose	Sucrose	Mannose
H. influenzae	+	+	–	+	–	–	–
H. haemolyticus	+	+	+	+	–	–	–
H. ducreyi	+	–	–	–	–	–	–
H. parainfluenzae	–	+	–	+	–	+	+
H. parahaemolyticus	–	+	+	+	–	+	–
H. segnis	–	+	–	+	–	+	–
H. paraphrophilus	–	+	–	+	+	+	+
H. aphrophilus	–	–	–	+	+	+	+

* Môi trường có yếu tố X và V

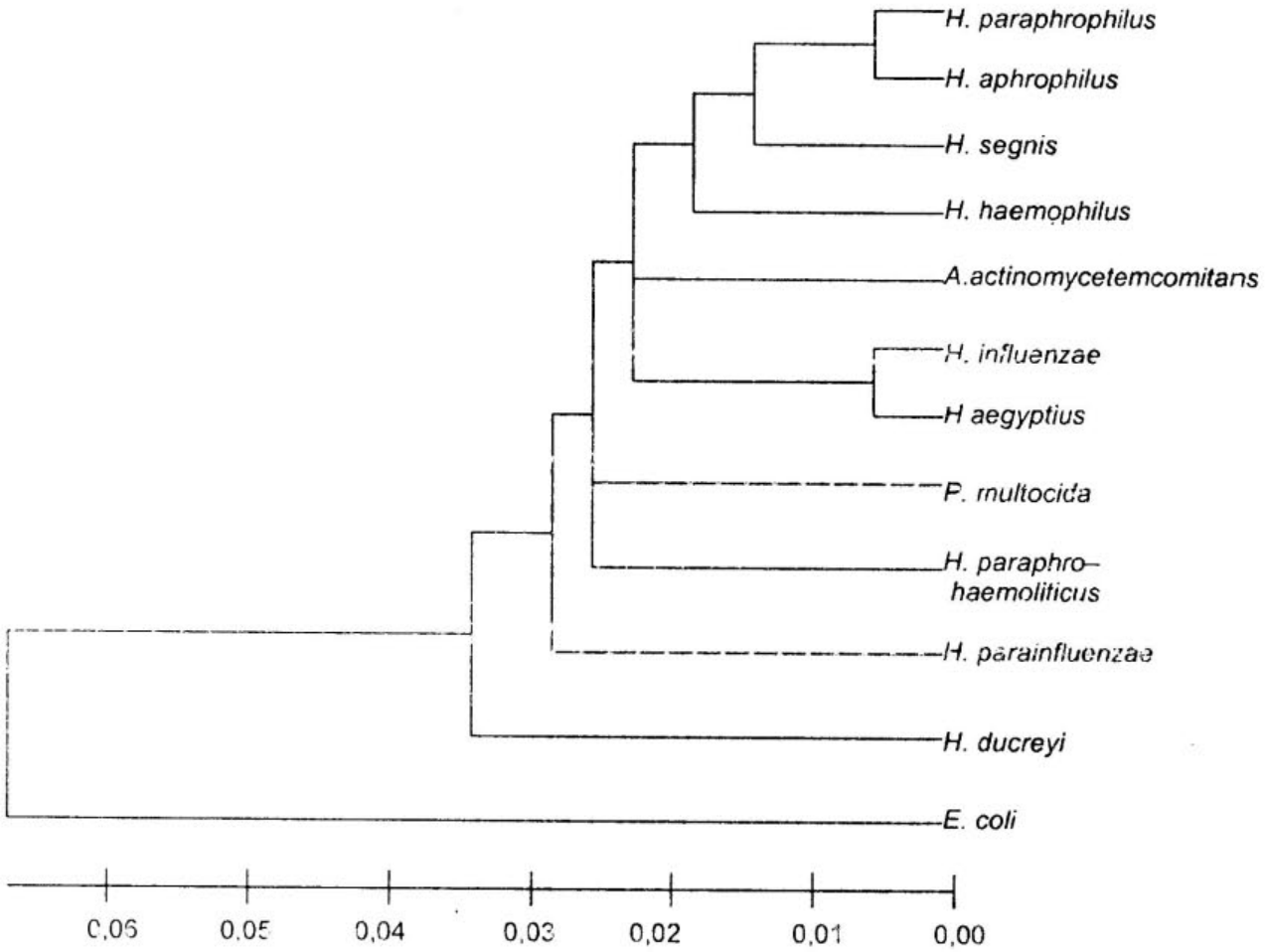
Trong các *Haemophilus spp* thì *H. parainfluenzae* là loài thường gặp nhất ở đường hô hấp trên, rất sớm sau khi sinh, tất cả trẻ em đã mang vi khuẩn này. Tuy hiếm khi gây bệnh, nhưng nó có thể là căn nguyên gây viêm nội tâm mạc, viêm màng não sau phẫu thuật thần kinh, nhiễm trùng nơi ghép bộ phận giả, viêm phổi, áp xe gan, áp xe não.

H. ducreyi gây bệnh đường sinh dục và lây truyền theo đường tình dục. Tổn thương chính là loét sinh dục nên nó làm tăng khả năng lây truyền HIV và làm thay đổi bệnh cảnh HIV/AIDS.

H. influenzae là loài có vai trò gây bệnh cho người quan trọng nhất, được quan tâm nghiên cứu nhiều nhất.

Những loài khác rất hiếm khi gây bệnh. Tuy nhiên đã gặp viêm nội tâm mạc do *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus* và *H. segnis*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Cây phả hệ dựa theo trình tự 16S rRNA so sánh giữa các thành viên chính của chi *Haemophilus* và một số *Pasteurellaceae* liên quan đối chiếu với *E. coli* là thành viên nhóm khác.

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

(Lehmann và Neumann 1896) Winslow 1917

Chủng mẫu: NCTC 8143

H. influenzae được Richard Pfeiffer phân lập lần đầu tiên năm 1892 từ bệnh nhân cúm nên đã từng được gọi là *Bacterium influenzae* (vi khuẩn cúm) vì cho rằng nó là căn nguyên của bệnh cúm. Sau khi virus cúm được phát hiện, *H. influenzae* được xác định là vi khuẩn gây nhiễm trùng thứ phát khi sức đề kháng của cơ thể bị suy giảm. Ngày nay thuật ngữ "vi khuẩn cúm" chỉ còn mang dấu ấn lịch sử, nó không còn được dùng nữa và thuật ngữ *H. influenzae* được để nguyên trong y văn tiếng Việt.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Hình thể điển hình của *H. influenzae* là cầu trực khuẩn nhỏ, Gram âm. Kích thước 0,3–0,5 × 0,5–3,0 μm. Tuy nhiên có thể gặp dạng trực khuẩn dài, mảnh, vì

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

vậy còn được gọi là vi khuẩn đa hình thái. Thường có vỏ, không có lông, không sinh nha bào.

1.2. Nuôi cấy

H. influenzae thuộc loại vi khuẩn khó nuôi cấy. Là vi khuẩn khuyết dưỡng, không phát triển được trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Môi trường nuôi cấy bắt buộc phải có đồng thời cả hai yếu tố X và V.

H. influenzae hiếu khí. Phát triển tốt hơn trong khí trường có 5 đến 10% CO_2. Có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 23 đến 39°C, nhiệt độ tối ưu là 35 đến 37°C.

H. influenzae phát triển tốt trên môi trường chocolate (môi trường thạch máu chín) vì giàu dinh dưỡng và có cả hai yếu tố X và V (khi đun nóng trong quá trình sản xuất môi trường yếu tố V sẽ được giải phóng từ hồng cầu, còn yếu tố X thì vẫn có dù môi trường không được đun nóng). Trên thạch chocolate sau 24 giờ khuẩn lạc khá to (1–2 mm), dẹt, không màu hoặc xám nhạt, không làm đổi màu môi trường. Những chủng sinh vỏ có khuẩn lạc nhày "ướt" hơn những chủng không sinh vỏ – khuẩn lạc màu xám nhạt và "đặc" hơn.

Trên môi trường chocolate có bacitracin với nồng độ 300 µg /ml, *H. influenzae* vẫn mọc tốt, trong khi nhiều vi khuẩn ký sinh ở đường hô hấp trên bị ức chế. Trên cơ sở này, môi trường chocolate có bacitracin rất thích hợp cho việc phân lập *H. influenzae* từ những bệnh phẩm có bội nhiễm tạp khuẩn.

H. influenzae không mọc được trên thạch máu cừu. Có thể mọc trên thạch máu thỏ, nhưng khuẩn lạc nhỏ hơn nhiều so với trên thạch chocolate trong cùng điều kiện và thời gian nuôi cấy. Trên thạch máu có thể thấy hiện tượng những khuẩn lạc của *H. influenzae* ở xung quanh khuẩn lạc của một số vi khuẩn bội nhiễm thì to hơn những khuẩn lạc mọc xa, được gọi là hiện tượng "vệ tinh". Bản chất của hiện tượng này là do một số vi khuẩn (ví dụ như *S. aureus*) có thể sản xuất yếu tố V trên môi trường thạch máu, còn môi trường này đã sẵn có yếu tố X.

1.3. Sức đề kháng

H. influenzae có sức đề kháng kém với các yếu tố ngoại cảnh, dễ bị chết dưới ánh sáng mặt trời, trong điều kiện khô hoặc lạnh (vì vậy bệnh phẩm để phân lập *H. influenzae* không được giữ trong tủ lạnh). Trong bệnh phẩm để ở nhiệt độ phòng nếu trời nóng hoặc lạnh quá vi khuẩn này cũng chết nhanh. Những chủng sinh vỏ quá trình bị làm khô (desiccation) chậm hơn do đó có sức đề kháng cao hơn những chủng không sinh vỏ. Các chất sát khuẩn thông thường dễ dàng tiêu diệt được *H. influenzae*.

1.4. Kháng nguyên

H. influenzae có nhiều loại kháng nguyên như kháng nguyên vỏ, kháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nguyên vách, kháng nguyên pili..., trong đó kháng nguyên vỏ có tầm quan trọng nhất trong y học.

Kháng nguyên vỏ có bản chất là polysaccharide mang tính đặc hiệu type. Vỏ của *H. influenzae* type b là một polymer mạch thẳng gồm các disaccharid của polyribosyl ribitol phosphat (PRP). Các gen mã hoá cho việc tổng hợp kháng nguyên này nằm trên một phức hợp transposon (gen nhảy). Vỏ giúp vi khuẩn chống lại thực bào. Kháng thể kháng vỏ có hiệu lực bảo vệ cơ thể. Trẻ em nhận được kháng thể này từ mẹ, hiệu giá duy trì ở mức độ cao trong khoảng hai tháng đầu sau đó giảm dần.

1.5. Phân loại

Theo cấu trúc kháng nguyên vỏ *H. influenzae* được chia thành sáu type huyết thanh (a, b, c, d, e, f). Căn cứ vào ba tính chất sinh học (khả năng sinh indol, có hay không có urease và ornithin decarboxylase) *H. influenzae* được chia thành 8 type sinh học (I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII – Bảng 5.28).

Bảng 5.28. Các type sinh học của *H. influenzae*

Tính chất để định type sinh học	Tính chất của các type							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Urease	+	+	+	+	–	–	+	–
Indol	+	+	–	–	+	–	–	–
Ornithin decarboxylase	+	–	–	+	+	+	–	–

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Các yếu tố độc lực của *H. influenzae* đã được xác định gồm các yếu tố bám, vỏ và lipopolysaccharide.

Vỏ

Vỏ giúp cho *H. influenzae* có thể xâm nhập vào các mô của cơ thể. Vỏ chống lại hiện tượng thực bào bằng cách ngăn cản sự opsonin hoá của các yếu tố thể dịch.

Lipopolysaccharide (LPS)

LPS của *H. influenzae* gồm hai phần, lipid A và oligosaccharide, là một yếu tố độc lực quan trọng. LPS giúp vi khuẩn tồn tại và nhân lên trong cơ thể vật chủ. Lipid A làm trung gian cho tác động gây độc của LPS. Oligosaccharide có thể ảnh hưởng đến sự tác động qua lại giữa vi khuẩn với các tế bào và các yếu tố dịch thể của cơ thể chủ. LPS là đích tác động của các kháng thể diệt khuẩn và các kháng thể trung hoà nội độc tố.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các yếu tố giúp vi khuẩn bám vào tế bào cơ thể chủ

Những yếu tố này ở *H. influenzae* được xác định là pili và các protein bám dính (adhesion proteins). Pili giúp vi khuẩn bám vào tế bào biểu mô đường hô hấp. Ngoài pili, bốn yếu tố bám dính có bản chất là protein đã được biết đến gồm có Hap, HMW1, HMW2 và Hia/Hsf. Sự phân bố của các yếu tố bám dính có sự khác nhau tuỳ theo từng chủng.

H. influenzae là thành viên của hệ vi khuẩn trên người bình thường. Các công trình nghiên cứu ở nước ta cho thấy từ 60 đến 80% trẻ em dưới 5 tuổi mang *H. influenzae* ở họng mũi (nasopharynx). Tuy nhiên nó là một vi khuẩn gây bệnh cơ hội quan trọng, bệnh thường thứ phát sau các nhiễm trùng do virus hoặc xảy ra ở những trẻ bị suy giảm sức đề kháng vì nhiều nguyên nhân khác.

Trong các type huyết thanh, type *b* là type thường gặp và có vai trò gây bệnh quan trọng nhất. Trong các type sinh học, type I có vai trò gây bệnh quan trọng nhất.

H. influenzae có thể gây nhiều bệnh khác nhau như viêm đường hô hấp trên (viêm thanh quản, viêm tai giữa, viêm xoang), viêm đường hô hấp dưới (viêm phế quản, viêm phổi), viêm màng não, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng trong tim, viêm khớp, viêm đường tiết niệu sinh dục (niệu đạo, âm đạo, tuyến Bartholin, cổ tử cung, vòi trứng).

H. influenzae là vi khuẩn đứng đầu trong các căn nguyên gây viêm màng não mủ ở trẻ em từ 5 tháng tuổi đến 5 tuổi (chủ yếu là trẻ dưới 2 tuổi). Tại các nước đang phát triển *H. influenzae* là căn nguyên của khoảng 50% viêm màng não nhiễm khuẩn ở trẻ em. Viêm màng não do *H. influenzae* là một bệnh nặng, cấp tính. Khi sức đề kháng của trẻ bị suy giảm (suy dinh dưỡng, suy giảm miễn dịch, sau nhiễm trùng do virus...) vi khuẩn có thể từ họng xâm nhập vào máu rồi đến màng não. Cũng có giả thuyết cho rằng vi khuẩn có thể từ đường hô hấp trên qua xoang sàng trực tiếp lên gây viêm màng não.

H. influenzae đứng thứ hai trong các căn nguyên vi khuẩn gây viêm đường hô hấp dưới (viêm phổi, viêm phế quản) chỉ sau phế cầu (*S. pneumoniae*). Viêm phổi do *H. influenzae* cũng chủ yếu ở trẻ dưới 5 tuổi.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Các phương pháp chẩn đoán nhanh

3.1.1. Nhuộm soi

Nhuộm soi rất có giá trị trong chẩn đoán viêm màng não mủ. Lấy cặn ly tâm dịch não tuỷ làm tiêu bản nhuộm Gram. Nếu là viêm màng não mủ do *H. influenzae* sẽ thấy các cầu trực khuẩn Gram âm to nhỏ không đều, rải rác có thể thấy các vi khuẩn dài mảnh. Trên vi trường còn thấy nhiều bạch cầu đa nhân.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.1.2. Phương pháp miễn dịch học

Hiện nay có thể chẩn đoán nhanh các nhiễm trùng do *H. influenzae* type b bằng kỹ thuật miễn dịch phát hiện kháng nguyên vỏ trong bệnh phẩm dịch não tuỷ, máu hoặc nước tiểu. Các phương pháp miễn dịch được sử dụng là ngưng kết thụ động, đồng ngưng kết, miễn dịch điện di, ELISA.

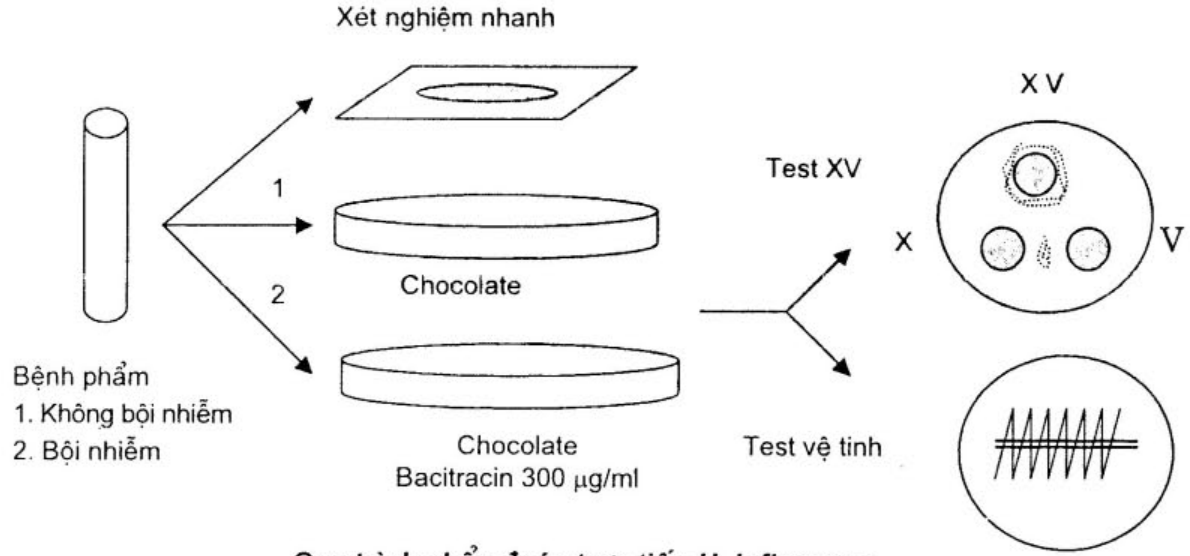
Kỹ thuật ngưng kết thụ động được sử dụng rộng rãi hơn vì dễ thực hiện, cho kết quả nhanh, đọc bằng mắt thường và có tính đặc hiệu cao. Nguyên lý của kỹ thuật này là: kháng thể kháng kháng nguyên vỏ được gắn lên bề mặt các hạt latex, khi kháng thể kết hợp với kháng nguyên trong bệnh phẩm thì các hạt latex sẽ bị ngưng kết (một cách thụ động).

3.2. Nuôi cấy

Loại bệnh phẩm tuỳ theo bệnh. Đối với các nhiễm khuẩn đường hô hấp bệnh phẩm thường là đờm (người lớn) và dịch họng mũi (trẻ em); dịch hút khí, phế quản chỉ kết hợp lấy khi lâm sàng có chỉ định nội soi. Đối với viêm màng não mủ bệnh phẩm là dịch não tuỷ. Bệnh phẩm cần được cấy sớm vào môi trường phân lập thích hợp.

Loại bệnh phẩm không bị bội nhiễm (như dịch não tuỷ) được cấy lên thạch chocolate thường. Những bệnh phẩm bội nhiễm (như đờm, nhày họng) được cấy lên thạch chocolate có bacitracin (nồng độ 300 µg/ml) để ức chế các tạp khuẩn. Đặt môi trường đã cấy bệnh phẩm vào tủ ấm 37°C với khí trường 5–10% CO_2. Sau 18–24 giờ (thường nuôi cấy qua đêm là được), chọn khuẩn lạc nghi ngờ, nhuộm soi xem hình thể và tính chất bắt màu, tiếp theo xác định nhu yếu bằng thử nghiệm XV hoặc thử nghiệm vệ tinh.

Tại các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng, thường dừng lại ở định danh đến loài *H. influenzae*. Trong nghiên cứu dịch tễ học, tuỳ mục tiêu nghiên cứu, có thể tiến hành thêm định type huyết thanh và type sinh học.



Quy trình chẩn đoán trực tiếp *H. influenzae*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Định type huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết hoặc phản ứng phình vỏ với các kháng huyết thanh mẫu (từ a đến f). Tất nhiên phản ứng phình vỏ chỉ thực hiện với các chủng sinh vỏ.

Định type sinh học bằng việc thực hiện thử nghiệm khả năng sinh indol, có hay không có urease và ornithin decarboxylase *(xem Bảng 5.28)*.

3.3. Phương pháp sinh học phân tử

Có thể dùng phản ứng khuếch đại gen PCR (polymerase chain reaction) để phát hiện ADN đặc trưng của *H. influenzae* trong bệnh phẩm. Phương pháp này có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhưng chưa được sử dụng rộng rãi vì ít phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng có đủ điều kiện thực hiện.

4. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

4.1. Điều trị

Tới thập niên 90 của thế kỷ trước theo khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới, kháng sinh được chỉ định điều trị nhiễm trùng do *H. influenzae* là chloramphenicol hoặc/và ampicillin. Tuy nhiên theo Chương trình Quốc gia giám sát tính kháng thuốc của các vi khuẩn gây bệnh thường gặp, ở nước ta hiện nay tỷ lệ các chủng *H. influenzae* kháng lại hai kháng sinh này đã tăng cao.

Những chủng *H. influenzae* kháng ampicillin do sinh enzym beta–lactamase bẻ gẫy vòng beta–lactam. Những chủng kháng chloramphenicol do sinh men chloramphenicol acetyl transferase – enzym xúc tác quá trình chuyển hai nhóm acetyl từ coenzym A tới những vị trí hoạt động của chloramphenicol làm mất khả năng ức chế tổng hợp protein của kháng sinh này.

Để chọn kháng sinh thích hợp điều trị nhiễm trùng do *H. influenzae* nên dựa vào kết quả kháng sinh đồ. Khi không có điều kiện làm kháng sinh đồ, kháng sinh được ưu tiên lựa chọn hiện nay là cephalosporin thế hệ ba như ceftriaxone và cefotaxime. Những kháng sinh này có khả năng khuếch tán mạnh vào nước não tuỷ nên rất thích hợp với điều trị viêm màng não.

4.2. Phòng bệnh

4.2.1. Phòng không đặc hiệu

Cách ly bệnh nhân: Viêm màng não do *H. influenzae* type b có khả năng lây truyền theo đường hô hấp nên cần thiết phải cách ly bệnh nhân. Người lành tiếp xúc với bệnh nhân cần uống kháng sinh dự phòng, tuy nhiên chỉ hạn chế đối với những trẻ em chưa được tiêm phòng vắc xin.

Nâng cao thể trạng: *H. influenzae* là vi khuẩn gây bệnh cơ hội, cần nâng cao sức đề kháng cho trẻ, nhất là sau các nhiễm trùng do virus như cúm, sởi.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.2.2. Phòng đặc hiệu

Phương pháp phòng bệnh đặc hiệu đang được sử dụng là tiêm vắc xin chế từ polysaccharide vỏ của *H. influenzae* type b (vắc xin Hib).

Vắc xin thế hệ thứ nhất: được tinh chế từ vỏ polysaccharide của *H. influenzae* type b. Thực tế cho thấy nhóm trẻ trên hai tuổi đáp ứng miễn dịch tốt với vắc xin này, nhưng nhóm trẻ dưới hai tuổi đáp ứng miễn dịch rất kém. Đây là hạn chế chính của vắc xin thế hệ thứ nhất vì trẻ dưới hai tuổi có nguy cơ mắc bệnh cao nhất.

Vắc xin thế hệ thứ hai: Polysaccharide vỏ của *H. influenzae* được gắn với một protein khác đóng vai trò là chất phụ gia miễn dịch (tá chất). Loại protein thường được lựa chọn hiện nay là giải độc tố uốn ván hoặc giải độc tố bạch hầu. Giải độc tố trong loại vắc xin liên kết như vậy đã đóng hai "vai", vừa tăng cường đáp ứng miễn dịch của cơ thể đối với kháng nguyên vỏ *H. influenzae* và kích thích cơ thể sản xuất kháng độc tố tương ứng với nó.

Vắc xin của Pháp có tên Act–Hib là loại vắc xin liên kết, thành phần gồm polysaccharide vỏ của *H. influenzae* type b gắn với giải độc tố của vi khuẩn uốn ván. Vắc xin này được dùng cho trẻ từ 5 tuổi trở xuống theo đường dưới da hoặc tiêm bắp mỗi mũi 0,5 ml. Trẻ dưới 6 tháng tuổi tiêm 3 mũi cách nhau 1 tháng. Trẻ 6 đến 12 tháng tuổi tiêm 2 mũi cách nhau 1 tháng. Trẻ từ 1 đến 5 tuổi chỉ tiêm 1 mũi.

Việc tiêm chủng vắc xin phòng bệnh đã làm thay đổi hẳn tình hình dịch tễ học các bệnh do *H. influenzae*. Tỷ lệ mắc bệnh rất thấp tại các nước được tiêm chủng rộng rãi vắc xin. Tuy nhiên, cho đến nay ước tính còn khoảng 60% trẻ em trên thế giới chưa được tiêm chủng vắc xin này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Huy Chính, Đàm Viết Cương, Ninh Đức Dự, Đinh Hữu Dung, Bùi Khắc Hậu, Nguyễn Hữu Hồng, Lê Hồng Hinh, Lê Thị Oanh, Lê Văn Phủng, Nguyễn Thị Tuyến và Nguyễn Thị Vinh. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001
2. Lê Huy Chính, Đinh Hữu Dung, Bùi Khắc Hậu, Lê Hồng Hinh, Lê Thị Oanh, Lê Văn Phủng, Nguyễn Thị Tuyến, Nguyễn Vũ Trung và Nguyễn Thị Vinh. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. Blows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. 1991.
4. Cowan MK and Talaro PK. Microbiology – A system approach. McGraw–Hill Companies, Inc. 2006.

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5. Gillespie SH and Hankey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Son, Ltd. 2006.
6. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical Microbiology. Mosby, Inc. 1998.
7. Nester EW, Anderson DG, Roberts CE, Pearsall NN, Nester MT. Microbiology – A human perspective. McGraw–Hill Companies, Inc. 2004.
8. WHO. Manual for National Surveillace of antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. 1991.

BORDETELLA

Moreno–López 1952

Loài mẫu: *Bordetella pertussis* (Bergey et al. 1923) Moreno–López 1952

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Vi khuẩn thuộc chi *Bordetella* có kích thước nhỏ, ái khí và thuộc nhóm cầu trực khuẩn Gram âm. Hiện nay, chi này bao gồm bảy loài: *Bordetella pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. avium*, *B. hinzii*, *B. holmesii* và *B. trematum*. Có thể phân biệt được các loài với nhau dựa trên các đặc điểm sinh học của chúng *(Bảng 5.29)*. Tất cả các loài, trừ *B. avium,* đều có thể phân lập được từ bệnh phẩm lâm sàng. Trong số các loài này, *B. pertussis*, *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica* là các tác nhân gây bệnh quan trọng nhất trên người.

Bảng 5.29. Đặc điểm của các loài *Bordetella*

Đặc điểm	*B. pertussis*	*B. parapertussis*	*B. bronchiseptica*	*B. avium*	*B. hinzii*	*B. holmesii*	*B. trematum*
Vật chủ	Người	Người, cừu	Động vật có vú	Chim, bò sát	Chim, người	Người?	Người?
Gây bệnh	Ho gà	Ho gà (nhẹ)	Các bệnh đường hô hấp khác nhau	Turkey Coryza	Nhiễm khuẩn huyết với các bệnh nội tại	Nhiễm khuẩn huyết, biểu hiện giống ho gà	Chưa rõ
Vị trí phân lập trên người	Đường hô hấp	Đường hô hấp	Đường hô hấp, máu		Đường hô hấp, máu	Đường hô hấp, máu	Vết thương, nhiễm trùng tai
Mọc trên:							
Thạch máu	–	+	+	+	+	+	+
MacConkey	–	+/–	+	+	+	+	+

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Đặc điểm	*B. pertussis*	*B. parapertussis*	*B. bronchiseptica*	*B. avium*	*B. hinzii*	*B. holmesii*	*B. trematum*
Oxidase	+	–	+	+	+	–	–
Khử nitrate	–	–	+	–	–	–	+/–
Sinh urease	–	+ (24 h)	+ (4 h)	–	+/–	–	–
Di động (37°C)	–	–	+	+	+	–	–
Thành phần G+C mol%	67,7	68,1	68,1	61,6	65–67	61,5–62,3	64–65
Kích thước genome (bp)	4.086.186	4.773.551	5.339.179	3.732.255	Chưa rõ	Chưa rõ	Chưa rõ

+, mọc hoặc có hoạt tính; –, không có; +/–, có thể có hoặc không

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA CÁC LOÀI *BORDETELLA*

2.1. *Bordetella pertussis* (Bergey, Harrison, Breed, Hammer và Huntoon 1923) Moreno–López 1952

Chủng mẫu: ATCC 9797

Bordetella pertussis được phân lập lần đầu tiên vào năm 1906 (Bordet và Gengou, 1906) và được xếp vào nhóm *Haemophilus* (*Haemophilus pertussis*) do đặc tính cần phải có máu trong môi trường nuôi cấy. Tuy nhiên, không giống như *Haemophilus, B. pertussis* không cần đến yếu tố sinh trưởng X (haematin) và V (nicotinamide adenine dinucleotide). Từ năm 1960 trở đi, *Bordetella* được sử dụng như tên của một chi vi khuẩn mới để ghi nhận đóng góp của Bordet, người đầu tiên phân lập được vi khuẩn này.

Bordetella pertussis là tác nhân quan trọng nhất gây bệnh ho gà trên người. Cho tới nay, người ta chưa phát hiện được ổ chứa của vi khuẩn này trên động vật hay môi giới trung gian. *Bordetella pertussis* đòi hỏi môi trường nuôi cấy phức tạp và mọc chậm (thời gian thế hệ khoảng 2,3–5 giờ). Các khuẩn lạc của *B. pertussis* chỉ có thể nhìn rõ sau 3–4 ngày nuôi cấy *(Xem hình P43 ở Phụ bản).*

2.2. *Bordetella parapertussis* (Eldering và Kendrick 1938) Moreno–López 1952

Chủng mẫu: NCTC 5952

Bordetella parapertussis được mô tả lần đầu tiên vào năm 1937. *Bordetella parapertussis* thường gây bệnh ho gà kèm theo nôn tương tự như triệu chứng do *B. pertussis* gây ra nhưng thường biểu hiện nhẹ hơn. Một số trường hợp nặng do *B. parapertussis* cũng đã được công bố. Tỷ lệ mới mắc *B. parapertussis* trên người vẫn chưa được xác định chính xác. Theo ước tính hiện nay, tỷ lệ này có vẻ quá thấp. *Bordetella pertussis*, *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica* cùng có chung

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

một số yếu tố độc lực và ái tính với các tế bào có lông chuyển đường hô hấp. Không giống như *B. pertussis, B. parapertussis* không bài tiết độc tố ho gà *(Bảng 5.30). Bordetella parapertussis* đòi hỏi môi trường nuôi cấy ít phức tạp hơn so với *B. pertussis*. Khuẩn lạc của *B. parapertussis* trên đĩa cấy thường thấy rõ sau 2–3 ngày nuôi cấy.

Bordetella parapertussis cũng được phát hiện trên cừu và chúng là tác nhân gây bệnh viêm phổi không tiến triển mạn tính trên cừu. Các chủng phân lập trên cừu và người có khác biệt về di truyền học cho thấy, khó có thể xảy ra sự truyền bệnh giữa cừu và người.

2.3. *Bordetella bronchiseptica* (Ferry 1912) Moreno–López 1952

Chủng mẫu: ATCC 19395

Bordetella bronchiseptica là tác nhân gây bệnh đường hô hấp phổ biến trên một diện rộng các loài động vật có vú bao gồm mèo, chó, ngựa, thỏ và lợn. Trên người, chỉ có một số ít các báo cáo về bệnh hô hấp do *B. bronchiseptica* và thường liên quan đến trẻ em và các bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Ngay từ năm 1926, *B. bronchiseptica* được phân lập từ một trẻ bệnh với các dấu hiệu và triệu chứng giống như ho gà.

Bordetella bronchiseptica có chung một số đặc tính cơ bản về các yếu tố độc lực như của *B. pertussis* và *B. parapertussis. Bordetella bronchiseptica* không sinh độc tố ho gà *(Bảng 5.30). Bordetella bronchiseptica* mọc nhanh hơn so với *B. pertussis* và *B. parapertussis*, và khuẩn lạc thường thấy rõ sau 24 giờ nuôi cấy.

Bảng 5.30. Các yếu tố độc lực tạo ra do ba loài thuộc chi *Bordetella* được nghiên cứu nhiều nhất

Yếu tố độc lực	*B. pertussis*	*B. parapertussis*	*B. bronchiseptica*
Độc tố ho gà[b] (pertussis toxin)	+	–	–
Filamentous haemagglutinin[b]	+	+	+
Fimbriae[b]	+	+	+
Pertactin[b]	+	+	+
Adenylate cyclase toxin/haemolysin	+	+	+
Dermonecrotic toxin	+	+	+
Tracheal cytotoxin[c]	+	+	+
Lipopolysaccharide	+	+	+
Tracheal colonization factor	+	–	–
Locus kháng huyết thanh (BrkA)	+	+	+/–
Flagella	–	–	+

+, có tạo ra; –, gen ẩn hoặc không có; +/–, có tạo ra ở một số chủng

[b] bao gồm các vắc xin ho gà vô bào

[c] sản xuất tracheal cytotoxin (độc tố tế bào khí quản) không bị điều hòa bởi locus bvg

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.4. Bộ gen của *Bordetella*

Trình tự bộ gen của *B. pertussis*, *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica* đã được giải mã hoàn toàn *(Bảng 5.29)* (http://www.sanger.ac.uk/projects/Microbes/). Trình tự bộ gen của *B. avium* chỉ vừa được giải mã xong. Các chủng đại diện được sử dụng để giải mã trình tự gen là chủng Tohama I thuộc *B. pertussis*, chủng 12822 của *B. parapertussis* và chủng RB50 của *B. bronchiseptica*. Tohama I được phân lập vào năm 1950 tại Nhật Bản và sau đó được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu thí nghiệm và trong sản xuất một số vắc xin hc gà vô bào. Chủng 12822 thuộc *Bordetella parapertussis* được phân lập tại Đức năm 1993. Chủng RB50 thuộc *B. bronchiseptica* được phân lập từ niêm mạc mũi của một con thỏ trắng New Zealand 3 tháng tuổi. Bộ gen của *B. pertussis* nhỏ hơn đáng kể so với bộ gen của *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica*. Hiện nay, người ta vẫn chưa xác định được việc thích nghi của *B. pertussis* trên người như một vật chủ duy nhất là do việc đứt đoạn của một số gen của chủng *B. bronchiseptica* hay là sự thích nghi này cũng cần đòi hỏi sự sát nhập của một số lớn các vật liệu di truyền mới thông qua việc chuyển đoạn ngang. Bộ gen của *B. avium* cũng nhỏ hơn nhiều so với của *B. bronchiseptica*.

2.5. Phân loại học và sự tiến hóa

Về mặt di truyền, *B. pertussis*, *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica* có mối quan hệ gần gũi và có thể được xem là các subspecies của một loài đơn độc (thuộc nhóm *B. bronchiseptica* cluster) với đặc tính thích nghi trên các vật chủ khác nhau. Chúng cũng có khả năng biến đổi đa dạng hơn so với một gốc nguyên thủy ban đầu. Tuy nhiên, sự khác biệt điển hình nhất giữa ba loài này đã được phát hiện. Đó là việc các yếu tố độc lực, độc tố ho gà và các yếu tố hình thành khả năng tụ tập trên khí quản chỉ thấy có ở *B. pertussis*. Một locus di truyền lớn cần thiết cho việc sinh tổng hợp kháng nguyên O được tìm thấy trên *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica*. Locus này bị thay thế chèn vào bởi một đoạn chèn vào (insertion sequence, IS) từ *B. pertussis*. Ba yếu tố IS đã được giải mã trong số các loài *Bordetella (Bảng 5.29)*. IS481 và IS1002 được tìm thấy trên tất cả các chủng *B. pertussis* trong khi IS1001 chỉ được tìm thấy trên một số chủng *B. bronchiseptica*. Đối với *B. parapertussis*, cả IS1002 và IS1001 được tìm thấy trên các chủng phân lập từ người và chỉ có yếu tố IS1001 được phân lập từ cừu. Các chủng *B. parapertussis* phân lập từ người có đặc tính đồng nhất trong khi các chủng *B. parapertussis* phân lập từ cừu lại có đặc tính không đồng nhất (heterogenous). Yếu tố IS481 được tìm thấy trên các chủng *B. holmesii* trong khi cả ba yếu tố IS này đều không tìm thấy trên *B. avium*, *B. hinzii* và *B. trematum*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.31. Các yếu tố IS (số bản copy) trong genome của các loài *Bordetella*

Loài (vật chủ)	IS481	IS1001	IS1002
B. pertussis	+ (80–100)	–	+ (4–7)
B. parapertussis (người)	–	+ (20–21)	+ (9)
B. parapertussis (cừu)	–	+ (23–29)	–
B. bronchiseptica (chủ yếu trên lợn)	–	+ (1–7)	–
B. bronchiseptica (lợn/ngựa guinea)	+ (1–2)	–	–
B. bronchiseptica (koala)	–	–	+ (1)
B. holmesii (người)	+ (8–10)	+	–
B. avium	–	–	–
B. hinzii	–	–	–
B. trematum	–	–	–

+, có yếu tố IS; –, không có yếu tố IS

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Cơ chế bệnh sinh

Các yếu tố độc lực chính của *B. pertussis* có thể được chia thành hai nhóm là bám dính (adhesion) và độc tố (toxin). Các yếu tố bám dính hỗ trợ việc bám dính của vi khuẩn lên các tế bào biểu mô đường hô hấp và các tế bào có thẩm quyền miễn dịch, còn độc tố vi khuẩn tham gia vào quá trình gây bệnh bằng tác động tại chỗ hoặc toàn thân. Bệnh sinh của các bệnh truyền nhiễm gây ra do *B. pertussis*, *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica* đã được nghiên cứu rộng rãi trong khi bệnh sinh của các bệnh gây ra do các loài *Bordetella* khác lại chưa rõ ràng. Sự tổng hợp (biểu hiện – expression) của hầu như tất cả các loại yếu tố bám dính và độc tố được điều hòa thuận bởi các sản phẩm của locus *bvgAS*. BvgA và BvgS bao gồm một hệ thống hai thành phần phát tín hiệu dẫn truyền có nhiệm vụ phát truyền dẫn giữa ba pha xác định – pha độc lực (Bvg^+), pha không gây độc lực (Bvg^-) và pha trung gian (Bvg^i) – tương ứng với các tín hiệu môi trường đặc hiệu. Pha Bvg^+ được xác định là điều kiện cần và đủ để vi khuẩn tập trung trên đường hô hấp. Pha Bvg^i được cho là có liên quan đến quá trình truyền bệnh qua đường không khí. Trong pha Bvg^-, *B. pertussis* và *B. bronchiseptica* tổng hợp các bộ protein khác nhau. Pha Bvg^- ở *B. bronchiseptica* được xác định là yếu tố cần và đủ việc tồn tại của vi khuẩn ở các điều kiện thiếu dinh dưỡng. Sự tương tác giữa *B. pertussis* và các tế bào vật chủ là một quá trình phức tạp. Bằng phương pháp phân tích mật độ cao ADN microarray, một nghiên cứu *in vitro* cho thấy *B. pertussis* gây kích thích quá trình tổng hợp mucin ở các tế bào biểu mô phế quản người và sau đó chống lại phản ứng bảo vệ này bằng việc sử dụng ngay mucin làm cơ chất để bám dính. Phản ứng tổng hợp protein sớm của những tế bào

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

này trước sự có mặt của *B. pertussis* được chi phối bởi sự thay đổi quá trình tổng hợp của các cytokine, các protein bám dính ADN và các gen điều hòa NF–kB.

3.2. Các yếu tố độc lực

3.2.1. Các yếu tố bám dính (adhesin)

Filamentous Haemagglutinin (FHA)

FHA là một protein bề mặt, trọng lượng phân tử 220 kDa đóng vai trò như một yếu tố bám dính của *B. pertussis*. Gen mã hóa cho FHA, *fhaB,* có khả năng mã hóa cho một protein có trọng lượng phân tử 367 kDa. Hơn một phần ba của chất tiền protein này sau đó được cắt chỉnh thông qua một quá trình hoàn thiện sau tổng hợp protein để bộc lộ nhóm polypeptide hoạt hóa có chức năng sinh học. FHA chứa một trình tự peptide Arginine–Glycine–Aspartic (Arg–Gly–Asp) có chức năng gắn dính các glycosaminoglycan sulfate lên các proteoglycan bề mặt tế bào. Mất đoạn gen FHA ở các chủng *B. pertussis* đột biến làm giảm khả năng bám dính của vi khuẩn lên các tế bào biểu mô tới 70%. Một nghiên cứu in vitro gần đây cho thấy FHA loại bài tiết tự do và loại phối hợp tế bào có khả năng loại trừ phản ứng tiền viêm và tiền chết theo chương trình (proapoptotic) trên các tế bào đơn nhân của người và các tế bào biểu mô phế quản, điều này cho thấy vai trò chưa được biết trước đây của FHA trong quá trình tương tác giữa *B. pertussis* và vật chủ.

Gây miễn dịch bằng FHA có khả năng bảo vệ chuột chống lại các tác nhân gây bệnh qua đường không khí do *B. pertussis*. Trên người, việc cho thêm FHA vào vắc xin ho gà vô bào chỉ chứa PT làm tăng khả năng bảo vệ chống lại ho gà trong một nghiên cứu thử nghiệm hiệu quả vắc xin. FHA được thêm vào trong các vắc xin ho gà vô bào nhiều thành phần.

Fimbriae (FIM)

FIM, còn được gọi là pili, nó là một ngưng kết nguyên (agglutinogen), là các sợi nhú mọc ra từ bề mặt tế bào vi khuẩn, có tác dụng hỗ trợ việc bám dính của vi khuẩn lên bề mặt tế bào vật chủ. *Bordetella pertussis* sản xuất ra hai loại FIM có đặc tính kháng nguyên khác nhau có tên gọi là serotype 2 và serotype 3. Hai loại này được cấu tạo bởi một tiểu đơn vị chính, lần lượt được mã hóa bởi gen *fim2* và *fim3*, và một tiểu đơn vị phụ mã hóa bởi *fimD*. Fim2 và Fim3 là các protein có trọng lượng phân tử lần lượt là 22 và 22,5 kDa. Cả Fim2 và Fim3 đóng vai trò gắn kết *B. pertussis* với các tế bào hệ thống miễn dịch bao gồm tế bào đơn nhân, trong khi FimD của vi khuẩn tương tác với integrin của tế bào vật chủ.

Loại Fim đã tinh chiết được phát hiện là có tác dụng bảo vệ chuột chống lại nhiễm khuẩn hô hấp do *B. pertussis*. Sự bảo vệ này có tính đặc hiệu theo type huyết thanh. Trên người, khả năng bảo vệ tạo ra bởi vắc xin toàn tế bào (whole–cell) cũng có một phần đặc hiệu theo type huyết thanh. Các vắc xin vô bào

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(acellular) có chứa Fim, ngoài các thành phần PT, FHA và Pertactin (Prn), có tác dụng bảo vệ ho gà tốt hơn loại không chứa Fim.

Pertactin

Pertactin (Prn) của *B. pertussis* là một protein màng ngoài trọng lượng phân tử 69 kDa có mặt trong tất cả các chủng vi khuẩn có độc lực. Kích thước của các phân tử Prn thuộc *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica* có trọng lượng phân tử lần lượt là 70 và 68 kDa. Prn có vai trò gắn kết và xâm lấn lên các tế bào vật chủ. Tương tự như FHA, Prn có vị trí gắn Arg–Gly–Asp tương tác với các integrin vật chủ. Prn có hai vùng quyết định kháng nguyên, 1 và 2, được cấu tạo bởi các đơn vị lặp lại lần lượt của năm (GGXXP) và ba (PQP) acid amin (Charles và cộng sự, 1991). Vùng 1 nằm ngay cạnh motif Arg–Gly–Asp. Cấu trúc dạng tinh thể của Prn cho thấy vùng 1 hình thành lên một vòng nhô lên từ một β–sheet.

Prn làm mất khả năng miễn dịch bảo vệ trên cả động vật và người (Storsaeter và cộng sự, 1998). Trong một nghiên cứu thử nghiệm hiệu quả vắc xin, khi cho thêm Prn vào vắc xin vô bào có chứa PT và FHA đã làm tăng khả năng bảo vệ chống lại ho gà. Prn cũng được cho vào hầu hết các loại vắc xin vô bào chống ho gà.

Gần đây, sự đa dạng cũng được thấy giữa Prn của các chủng *B. pertussis* dùng để sản xuất vắc xin và các chủng lưu hành. Sự đa hình này về cơ bản được giới hạn cho vùng 1. Ba biến thể Prn phổ biến nhất đó là Prn1–3. Các chủng sản xuất vắc xin sinh ra Prn1, trong khi Prn2 là loại chiếm ưu thế trong các chủng lưu hành. Prn1 và Prn3 có đặc điểm tương tự nhau, chỉ khác biệt hai acid amin, trong khi Prn2 có thêm một vùng lặp. Tầm quan trọng sinh học của sự đa dạng này vẫn chưa được làm sáng tỏ. Một nghiên cứu gần đây cho thấy những cá thể bị nhiễm chủng Prn2 có kháng thể với Prn1 ít hơn nhiều so với những cá thể bị nhiễm Prn3 hoặc những cá thể được tiêm chủng với một liều nhắc lại vắc xin vô bào chứa Prn1. Hơn nữa, trái ngược với các cá thể được tiêm vắc xin và các đối tượng bị nhiễm chủng Prn3, các cá thể nhiễm chủng Prn2 có rất ít kháng thể với vùng biến đổi của Prn1.

Sự đa hình cũng được tìm thấy với Prn của *B. bronchiseptica*. Sự đa dạng xuất hiện trên tất cả các vùng có thẩm quyền miễn dịch. Prn của *B. parapertussis* có vẻ như ổn định hơn so với *B. pertussis* và *B. bronchiseptica*.

3.2.2. Độc tố

Độc tố ho gà (Pertussis Toxin)

Pertussis toxin (PT) là một protein hình lục lăng có trọng lượng phân tử 106 kDa với rất nhiều hoạt tính sinh học trên *in vitro*. PT là một thành viên của siêu họ độc tố vi khuẩn A–B và bao gồm năm tiểu đơn vị riêng biệt, S1–S5). Tỷ lệ phân tử của các tiểu đơn vị so với phân tử gốc là 1:1:1:2:1. Phần A hoặc tiểu đơn

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

vị S1 có các đặc tính enzym, xúc tác cho việc chuyển một nửa ADP–ribose của NAD^+ đến một dãy của các protein G, có liên quan đến đường dẫn truyền tín hiệu bên trong tế bào vật chủ. Oligomer B (S2–S5) hỗ trợ sự gắn kết của PT lên tế bào vật chủ và phân phối tác dụng độc tố của tiểu đơn vị S1 lên tế bào. Các gen mã hóa cho các tiểu đơn vị PT được tập hợp lại thành một operon đại diện cho rất nhiều các loại độc tố của các loại vi khuẩn khác. Phân tích di truyền cho thấy từng tiểu đơn vị được dịch mã riêng rẽ và được trang bị một đoạn trình tự có tín hiệu đầu kết thúc, đoạn sẽ được cắt đi trong quá trình di chuyển ra khoảng quanh bào tương. Holotoxin sau đó được lắp ghép bên trong khoảng gian bào tương (periplasmic space) và được bài tiết qua màng ngoài vào bên trong môi trường của vi khuẩn.

Tiêm chủng với PT có tác dụng bảo vệ chống lại các tác nhân gây bệnh qua đường hô hấp do *B. pertussis*. PT được cho vào tất cả các loại vắc xin ho gà vô bào. Sự đa dạng được tìm thấy trong PT tiểu đơn vị S1 giữa các chủng *B. pertussis* dùng làm vắc xin và các chủng lưu hành. Hầu hết các chủng lưu hành hiện nay ở châu Âu và Mỹ có độc tố PTs khác biệt so với các chủng được sử dụng làm vắc xin. Vai trò sinh học của sự biến đổi khác nguyên này vẫn chưa được làm rõ.

Trong các loài *Bordetella*, chỉ có *B. pertussis* sản sinh độc tố PT. Mặc dù *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica* có chứa một operon PT, nhưng các vi khuẩn này không có khả năng sản sinh độc tố bởi vì một số đột biến xảy ra ở vùng promoter của các gen mã hóa cho các PT tiểu đơn vị.

3.2.3. Các yếu tố độc lực khác

Độc tố adenylate cyclase là một protein có hai chức năng thuộc họ RTX (repeat in toxin). Độc tố này được kích hoạt bởi calmodulin bên trong tế bào, tại đây chất này sẽ xúc tác cho quá trình hình thành với nồng độ cao của AMP vòng. Chủng ngừa với độc tố adenylate cyclase tạo phản ứng bảo vệ chống lại sự tụ tập của vi khuẩn trên các mô hình động vật thí nghiệm. Kháng thể trong huyết thanh chống lại độc tố được tìm thấy trên bệnh nhân bị ho gà.

Protein BrkA (Bordetella resistance to killing) là một phân tử điều hòa, Bvg có chức năng kích hoạt khả năng kháng huyết thanh và bám dính của vi khuẩn. Chất này có chung sự giống nhau về trình tự di truyền (sequence identity) với *B. pertussis* Prn và là một thành viên của nhóm đa dạng các protein được tìm thấy trên vi khuẩn Gram âm được bài tiết qua cơ chế tự vận chuyển (autotransporter). Huyết thanh lấy từ các đối tượng được tiêm chủng vắc xin vô bào hoặc các cá thể có bệnh sử nhiễm *B. pertussis* không có khả năng tiêu diệt chủng *B. pertussis* tự nhiên (wild–type) nhưng có khả năng tiêu diệt các chủng đột biến BrkA. Các protein BrkA có tác dụng chống lại khả năng tiêu diệt *B. pertussis* thông qua đường truyền thông thường phụ thuộc kháng thể của các bổ thể.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Với các vi khuẩn Gram âm, lipopolysaccharide (LPS) thường bao gồm lipid A, một oligosaccharide lõi và là một polysaccharide dài của kháng nguyên O. Phân tử LPS của *B. pertussis* không mang kháng nguyên O do locus di truyền cần thiết cho sự sinh tổng hợp kháng nguyên O bị thay thế bởi một phần tử IS. Phân tử LPS của *B. pertussis* có đặc tính kháng nguyên và điều hòa miễn dịch. LPS có thể hoạt động phối hợp với cytotoxin hoặc các độc tố khác tại khí quản. Mặt khác, chất này còn có các hoạt tính của một nội độc tố.

Độc tố tế bào tại khí quản là một mảnh đặc hiệu của peptidoglycan thành tế bào *B. pertussis* có khả năng gây nên tình trạng ngưng động của lông chuyển (ciliostasis) và hủy hoại các tế bào biểu mô có lông chuyển. Độc tính của chất này được kích hoạt bởi sự hình thành các interleukin–1 và nitric oxide bên trong tế bào.

Yếu tố tụ tập trên khí quản (Tracheal colonization factor, Tcf) là một yếu tố độc lực được mã hóa bởi gen *tcf*A. Tcf được sinh ra bởi *B. pertussis* nhưng không được tổng hợp trên *B. parapertussis* và *B. bronchiseptica*. Nửa đầu tận cùng C (C–terminal) có hơn 50% tính tương đồng so với đầu tận C của tiền protein Prns của các loài *Bordetella*, và nửa đầu tận cùng N của nó có ba motif Arg–Gly–Asp. Khi dùng một chủng *B. pertussis* bị mất protein này gây nhiễm cho chuột qua đường không khí, số lượng vi khuẩn phân lập được từ khí quản chỉ còn 10% so với lượng phân lập được từ chủng gốc. Tính đa hình của gen *tcf*A cũng đã được công bố.

3.3. Dịch tễ học

Đặc điểm dịch tễ học của bệnh ho gà

Ho gà là một bệnh dịch với đỉnh dịch xảy ra sau mỗi 2–5 năm. Đặc điểm theo mùa của bệnh không rõ ràng. Sự thay đổi về đặc điểm theo mùa của ho gà được ghi nhận trong một báo cáo gần đây trong một đợt dịch lớn ở British Columbia, Canada. Trong đợt dịch năm 2000 này, số báo cáo dịch về ho gà bắt đầu tăng lên trong tháng 3, đạt đỉnh vào tháng 6 và giảm rõ rệt vào tháng 7. Tuy nhiên, khoảng 10 năm trước đó, trong thời kỳ có dịch và không có dịch, số báo cáo dịch về ho gà bắt đầu tăng trong tháng 6, đạt đỉnh vào khoảng giữa cuối tháng 8 và tháng 11.

Ho gà lây truyền bệnh qua đường không khí thông từ các cá thể bị ho. Khả năng lây truyền cao nhất trong khoảng 2 tuần đầu của bệnh. Tỷ lệ gây bệnh (attack rate) trong các cá thể có nguy cơ là 50–100% tùy theo đặc điểm phơi nhiễm bệnh. Tỷ lệ mắc bệnh và tử vong do ho gà ở nữ giới thường cao hơn ở nam giới. Người ta chưa phát hiện được trường hợp người lành mang vi khuẩn ho gà (carrier) trong thời gian dài. Ho gà có khả năng gây bệnh như nhau cho tất cả các chủng tộc người.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nhiễm bệnh do *B. parapertussis* không phải là trường hợp hiếm gặp. Không thể phân biệt được biểu hiện lâm sàng của các bệnh nhân nhiễm *B. parapertussis* so với biểu hiện của ho gà. Tuy nhiên, bệnh có xu hướng ít trầm trọng hơn so với ho gà và thời gian bệnh cũng ngắn hơn so với ho gà. Các tế bào viêm lympho không thấy xuất hiện trong nhiễm *B. parapertussis* và không tạo ra PT. Nhiễm trùng kép do cả *B. pertussis* và *B. parapertussis* cũng đã được ghi nhận.

Tỷ lệ mới mắc và tử vong

Trong thời kỳ trước khi có tiêm chủng vắc xin, hầu hết các trẻ em đều bị nhiễm ho gà. Ở Mỹ, ho gà là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trong số các bệnh truyền nhiễm có thể dự phòng được bằng vắc xin ở trẻ dưới 14 tuổi. Từ những năm 1950, vắc xin ho gà tiêu chuẩn được sản xuất từ vi khuẩn ho gà chết (killed whole–cell *B. pertussis*) được đưa vào sử dụng và được dùng ở hầu hết các nước châu Âu và Mỹ. Sau thời gian sử dụng rộng rãi vắc xin tại các quốc gia này, tỷ lệ mới mắc và tỷ lệ tử vong đã giảm đi rõ rệt. Hiện nay, theo ước tính hằng năm có khoảng 40 triệu trường hợp mắc ho gà và ho gà là nguyên nhân của 300.000 trường hợp tử vong.

Ho gà ở trẻ lớn và người lớn

Các nghiên cứu ở các quốc gia có tỷ lệ bao phủ tiêm phòng cao cho thấy mắc ho gà chuyển dịch từ trẻ em mới sinh sang các nhóm tuổi lớn hơn, điều này cho thấy tiêm phòng ho gà và mắc ho gà từ nhỏ không tạo được miễn dịch suốt đời.

Các nghiên cứu tiến cứu gần đây thực hiện ở Pháp, Anh, Mỹ và các quốc gia có tỷ lệ bao phủ tiêm phòng cao cho thấy tỷ lệ mới mắc ho gà ở người lớn dao động trong khoảng 330 đến 508 trên 100.000 dân. Tuy nhiên, tỷ lệ mới mắc ho gà được công bố ở người lớn chỉ là 0–4 trong cùng một thời điểm. Điều này có thể phản ánh khả năng thấp trong chẩn đoán bệnh ho gà trên người lớn tuổi. Nhóm đối tượng còn lại không được chẩn đoán ho gà trong số trẻ lớn và người lớn là nguồn mang trùng có khả năng truyền bệnh nặng cho các trẻ nhỏ chưa được tiêm phòng.

Tái bùng phát dịch ho gà ở cộng đồng đã được tiêm chủng

Trong vòng 10 năm qua, tái phát dịch ho gà được ghi nhận ở một số quốc gia có tỷ lệ bao phủ tiêm phòng cao bằng vắc xin toàn bộ tế bào. Năm 1996, sự gia tăng đột ngột của tỷ lệ mới mắc ho gà được ghi nhận ở Hà Lan (tổng số các trường hợp được ghi nhận: 319 năm 1995 so với 2778 năm 1996). Với chu kỳ dịch dự đoán là sau mỗi 3–5 năm và một đợt dịch gần đây năm 1994, sự gia tăng này là ngoài dự đoán. Các trường hợp mắc bệnh được ghi nhận từ đó tiếp tục duy trì ở mức cao. Năm 2000, lại có 4837 trường hợp mắc được ghi nhận từ Hà Lan. Khá nhiều giải thích được đưa ra cho việc tái phát dịch ho gà ở các quốc gia có tỷ lệ bao phủ tiêm phòng tốt như là: nhận thức tốt hơn về bệnh ho gà của các thầy thuốc lâm sàng, hệ thống giám sát dịch được cải thiện, áp dụng các phương pháp

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

sinh học phân tử trong chẩn đoán, khuyến cáo về việc miễn dịch tạo nên do tiêm phòng, chất lượng vắc xin được sử dụng tại một số nước và sự thích nghi của *B. pertussis* với miễn dịch tạo nên do vắc xin. Như đã đề cập ở trên, sự đa dạng kháng nguyên được phát hiện giữa các chủng *B. pertussis* dùng để sản xuất vắc xin và các chủng lưu hành ở một số nước.

3.4. Biểu hiện lâm sàng

Thời gian ủ bệnh của ho gà dao động từ 6 – 20 ngày. Sau thời gian ủ bệnh là sự xuất hiện các dấu hiệu và triệu chứng lâm sàng của giai đoạn xuất tiết. Bệnh cảnh lâm sàng điển hình của ho gà bao gồm ba giai đoạn: xuất tiết, kịch phát và phục hồi. Giai đoạn xuất tiết thường kéo dài dưới 2 tuần. Ho trong giai đoạn xuất tiết nặng dần lên và dần dần chuyển sang giai đoạn kịch phát, kéo dài khoảng 1 – 4 tuần. Trong giai đoạn kịch phát, bệnh nhân có thể gập người về phía trước với mắt bị lồi ra và chảy nhiều nước mắt. Dần dần, mặt bệnh nhân trở nên đỏ ửng hoặc thậm chí là xanh tím, và cuối cùng tiến triển với dấu hiệu khục khặc điển hình sau mỗi lần hít vào. Tuy nhiên dấu hiệu khục khặc ít khi gặp ở trẻ lớn hoặc người lớn. Giai đoạn hồi phục bắt đầu với việc giảm mức độ nặng của các cơn ho và tần suất của các đợt kịch phát. Giai đoạn này có thể kéo dài trong vài tuần và thậm chí vài tháng. Ở nhóm bệnh nhân đã được tiêm phòng, thường xảy ra các bệnh cảnh lâm sàng nhẹ hoặc không điển hình. Hầu hết các biến chứng của ho gà như viêm phổi, tổn thương phổi, viêm não và tử vong xảy ra trong giai đoạn kịch phát. Ho gà thường biểu hiện nặng nhất trên bệnh nhi nhỏ tuổi mới sinh.

Đặc điểm của các trường hợp mắc ho gà được ghi nhận trên các trẻ mới sinh dưới 12 tháng tuổi ở Mỹ đã được nghiên cứu. Trong số 18.500 trường hợp ghi nhận trong những năm 1990, 91% có ho kịch phát, 68% có nôn, 60% có ho khục khặc, 56% khó thở, 22% viêm phổi, 1,9% có co giật và 0,3% có biến chứng não. Trong số này, 67% được nhập viện và 0,5% tử vong. Trong số 93 trường hợp tử vong, 85% có thâm nhiễm phổi khi nhập viện, 73% khó thở, 41% có tăng áp lực phổi, 19% co giật và 12% có biến chứng não.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Chẩn đoán phòng thí nghiệm với ho gà có vai trò rất quan trọng, đặc biệt đối với các đối tượng đã được chủng ngừa, bởi vì các dấu hiệu và triệu chứng lâm sàng của ho gà trên bệnh nhân thường nhẹ hoặc không điển hình. Các phương pháp cận lâm sàng có thể được chia thành hai nhóm chính: các test xác định vi khuẩn gây bệnh và các cấu thành bao gồm nuôi cấy, PCR và test kháng thể huỳnh quang trực tiếp (DFA), và các test đánh giá phản ứng của vật chủ với tác nhân gây bệnh bao gồm phản ứng kết dính vi khuẩn và miễn dịch enzym (EIA).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tất cả các phương pháp đều có những điểm hạn chế về độ đặc hiệu, độ nhạy hoặc khả năng áp dụng trên thực tế, do vậy cần phối hợp nhiều phương pháp với nhau để có kết quả chẩn đoán tối ưu.

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

Nuôi cấy vi khuẩn

Nuôi cấy vẫn là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán. Nên lấy bệnh phẩm từ vùng họng mũi phía sau, tốt nhất là bằng hút dịch trong mũi hoặc bằng que tăm bông. Có thể sử dụng que tăm bông calcium alginate và Dacron để lấy bệnh phẩm. Nếu bệnh phẩm dùng để nuôi cấy thì nên sử dụng que tăm bông calcium alginate hơn là Dacron. Tuy nhiên que Dacron có cán bằng nhựa lại thích hợp để lấy bệnh phẩm cho PCR bởi vì cả thành phần alginate và cán nhôm của que calcium alginate có tác dụng ức chế phản ứng PCR. Bệnh phẩm nên được cấy ngay lập tức trên môi trường thích hợp. Gần đây, thạch charcoal được bổ sung với 10% máu ngựa và 40 mg/L cephalexin là môi trường nuôi cấy thích hợp. *Bordetella* trước tiên được xác định về hình thái khuẩn lạc và nhuộm Gram. *Bordetella parapertussis* mọc nhanh hơn *B. pertussis* và âm tính với oxidase, trong khi *B. pertussis* lại dương tính với oxidase. Hơn nữa, *B. parapertussis* có hoạt tính urease và hình thành hắc tố trên thạch tyrosine. Hai loài này cũng được xác định bằng ngưng kết trên lam kính với kháng huyết thanh.

Tỷ lệ nuôi cấy dương tính thường cao nhất trong hai tuần đầu tiên của bệnh, trong khi nuôi cấy hiếm khi dương tính nếu đợt ho đã kéo dài quá 4 tuần. Thông thường, độ nhạy của phương pháp nuôi cấy thấp hơn 50% (có thể cao hơn ở các trẻ mới sinh chưa được chủng ngừa), và cũng thường gặp các trường hợp âm tính giả. Đĩa nuôi cấy âm tính nên được ủ tiếp ít nhất 7 ngày trước khi vứt bỏ đi. Kéo dài thời gian ủ đĩa cấy tới 12 ngày có thể làm tăng khả năng phục hồi của các loài *Bordetella*.

Kỹ thuật PCR

Với ưu điểm về độ đặc hiệu, độ nhạy và sự nhanh chóng, rất nhiều loại PCR đã được sử dụng trong chẩn đoán ho gà. Một số gen của *B. pertussis* được sử dụng làm gen đích trong chẩn đoán PCR; trong số đó hai gen được sử dụng phổ biến nhất là IS481 và vùng promoter của PT. Phương pháp PCR được xác định là ưu thế hơn so với nuôi cấy trong chẩn đoán các bệnh phẩm vùng mũi họng. Ở một số quốc gia, PCR được sử dụng là phương pháp thường quy trong chẩn đoán ho gà.

Gần đây, LightCycler real–time PCR đã được sử dụng trong chẩn đoán ho gà. IS481 được sử dụng làm gen đích trong các phản ứng PCR này. Các phản ứng trong hệ thống LightCycler xảy ra trong một hệ thống ống mao dẫn thủy tinh kín. Sự tổng hợp các sản phẩm PCR được theo dõi trực tuyến và các sản phẩm này sau đó được xác định bằng các mồi lai huỳnh quang (fluorescent

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hybridization probes) hoặc các chất nhuộm màu gắn vào các sợi kép ADN (SYBR green I). Xác định sản phẩm PCR có thể được hỗ trợ bằng việc đánh giá các đặc điểm Tm đặc hiệu của các sản phẩm PCR. Do vậy, không cần thiết phải tiến hành điện di trên gel hoặc xử lý các sản phẩm PCR, điều này làm giảm nguy cơ nhiễm, thường xảy ra với các thao tác xử lý sản phẩm sau khi chạy PCR.

Phân tích thêm bằng giải trình tự gen và RFLP (restriction fragment length polymorphism) cho thấy IS481 có mặt trong *B. holmesii*. Các kết quả này và nuôi cấy *B. holmesii* từ bệnh phẩm họng mũi ở các bệnh nhân có ho cho thấy độ đặc hiệu và giá trị chẩn đoán của các phản ứng PCR dựa trên IS481 trong chẩn đoán ho gà có thể bị ảnh hưởng. Tỷ lệ nhiễm *B. holmesii* trên người vẫn chưa được xác định.

PCR được áp dụng trong chẩn đoán *B. parapertussis* và IS1001 được sử dụng làm gen đích. PCR có độ hiệu cao và ưu việt hơn so với nuôi cấy trong phân tích các bệnh phẩm họng mũi.

4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Nhiều phương pháp khác nhau được sử dụng để đánh giá các phản ứng kháng thể huyết thanh với *B. pertussis*. Đó là các xét nghiệm kháng thể chức năng như dính kết và trung hòa độc tố hay là EIAs. Phản ứng kết dính không phân biệt được các isotype kháng thể và có độ nhạy thấp hơn EIAs. Các phản ứng trung hòa độc tố đòi hỏi điều kiện trang bị labo hơn và có độ nhạy thấp hơn EIAs. Trong những năm gần đây, EIA đã trở thành phương pháp ưa chuộng trong chẩn đoán huyết thanh bệnh ho gà.

Các kháng nguyên tinh khiết của *B. pertussis* như PT, FHA và Prn hay được sử dụng trong phản ứng EIA bởi vì khi dùng các kháng nguyên này, các phản ứng EIA có độ đặc hiệu cao hơn khi dùng các chất tách từ vi khuẩn nguyên gốc. Sự gia tăng nồng độ của kháng thể IgG với *B. pertussis* trong các mẫu huyết thanh cặp đôi thường là các bằng chứng xác định trong chẩn đoán ho gà. Đo nồng độ kháng thể IgA có thể cải thiện hiệu quả chẩn đoán tốt hơn. Phân tích bệnh phẩm đơn độc là phương pháp khả thi hơn trong chẩn đoán thường quy bởi vì lấy mẫu cặp đôi thường khó có thể thực hiện được. Với phương pháp này, cần tiến hành xác định các giá trị ngưỡng giới hạn (cut–off value) dựa trên phân tích đối tượng chứng cùng độ tuổi. EIA được sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu ho gà ở trẻ em độ tuổi đi học và người lớn. Nói chung, chẩn đoán cận lâm sàng để khẳng định bệnh ho gà thường gặp khó khăn trong các trường hợp bệnh nhân đã tiêm phòng. Do vậy nên phối hợp các phương pháp nuôi cấy, PCR và EIA cùng nhau.

Phân loại type huyết thanh

Các chủng *Bordetella pertussis* kích thích sản xuất ra hỗn hợp các kháng thể khác nhau từ ba kháng nguyên tua (fimbrial antigen: 1, 2 và 3), được phát hiện

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

bằng phản ứng kết dính vi khuẩn với các kháng huyết thanh hoặc các kháng thể đơn dòng chống lại các kháng nguyên này. Kháng nguyên của type huyết thanh 1 có một phần là lipooligosaccharide. Khi nó không thay đổi, kháng nguyên này không được sử dụng để định type huyết thanh. Các chủng *B. pertussis* với ba type huyết thanh (type 1, 2; 1, 2, 3; 1, 3) lưu hành trên quần thể người và có khả năng gây bệnh. Gần đây, các kháng thể đơn dòng được khuyến cáo dùng để định type huyết thanh.

4.3. Genotyping

Trong vòng 10 năm trước đây, một số phương pháp được phát triển và áp dụng để làm genotyping với *B. pertussis*. Đó là giải trình tự gen, MLST, RFLP và PFGE.

Gen typing

Phương pháp giải trình tự gen (sequencing) dựa trên PCR với hai gen độc lực Prn và PT (S1 tiểu đơn vị) đã được áp dụng thành công trong phát hiện các chuyển dạng kháng nguyên ở các quần thể *B. pertussis*. Một trong những ưu điểm của phương pháp này là số liệu sequencing có thể được so sánh dễ dàng giữa các phòng thí nghiệm. Tuy nhiên, việc cùng chấp nhận sử dụng các gen và các đoạn gen để phân tích là cần thiết để tiến hành so sánh. Một phương pháp thay thế cho giải trình tự gen dựa trên LightCycler real–time PCR đã được phát triển để phát hiện nhanh các biến thể của Prn và PT. Phương pháp này hết sức phù hợp trong trường hợp theo dõi sự biến đổi gen của các chủng *B. pertussis* trên một cỡ mẫu lớn.

Multilocus sequencing typing (MLST)

MLST bắt nguồn từ nguyên tắc của phương pháp *multilocus enzyme electrophoresis*. nhưng lại tận dụng được tốc độ và sự đơn giản của giải trình tự gen tự động. Về cơ bản, các mảnh bên trong 450–500 bp của bảy housekeeping gen được giải trình tự từ mỗi chủng vi khuẩn. ADN trên đoạn này có thể được giải trình tự một cách chính xác trên cả hai sợi bằng một cặp mồi duy nhất. Với hầu hết các tác nhân gây bệnh do vi khuẩn, MLST có độ biến động đủ để xác định nhiều allen khác nhau trong cùng một nhóm vi khuẩn.

Bởi vì *B. pertussis* là một loài rất đồng nhất và có rất ít sự đa hình trong các housekeeping gen, các gen mã hóa cho các protein bề mặt được nghiên cứu cho mục đích typing. Sự biến đổi trên allen với một mức độ thấp được tìm thấy trên 15 gen mã hóa cho các protein bề mặt. Mặc dù gen Prn có tính đa hình, gen này không được dùng trong typing bằng MLST, sự biến đổi của nó chủ yếu là do các đoạn lặp được chèn thêm hoặc mất đoạn (đột biến), một quá trình được cho là xảy ra tương đối phổ biến. Do vậy, chỉ các gen mã hóa cho các tiểu đơn vị PT và yếu tố tụ tập tại khí quản (tracheal colonization factor) được sử dụng để xác định type bằng MLST.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Bộ gen của *B. pertussis* chứa hai yếu tố IS, IS481 và IS1002 *(Bảng 5.31)*. Chỉ bốn đến bảy bản copy của IS1002 xảy ra trên toàn bộ genome trong khi số lượng bản copy của IS481 là khoảng 80–100. Bởi vì với số lượng copy lớn, các định dạng dấu ấn dựa trên IS481 (fingerprinting pattern) là quá phức tạp kể cả khi sử dụng phân tích bằng máy tính. Do vậy, phương pháp RFLP dựa trên IS1002 đã được áp dụng trong nghiên cứu cấu trúc quần thể của *B. pertussis*. So với PFGE, phương pháp ghi dấu ấn bằng IS1002 đơn giản hơn và ít đòi hỏi điều kiện labo hơn. Tuy nhiên, do có số lượng bản copy của IS1002 trong genome của *B. pertussis* ít, khả năng phân biệt (discriminatory power) của phương pháp này không tốt bằng kỹ thuật PFGE.

Pulsed–Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Để xây dựng bản đồ giới hạn nhiễm sắc thể (chromosome) của *B. pertussis*, Stibitz và Garletts đã sử dụng enzym cắt giới hạn (rare–cutting restriction enzyme) trong phương pháp PFGE. Hai enzym, *Xba*I và *Spe*I, cắt chromosome của *B. pertussis* lần lượt thành 25 và 16 mảnh, điều này cho thấy hai enzym này có thể được dùng để typing các chủng *B. pertussis* bằng kỹ thuật PFGE. Những năm sau đó, một số nghiên cứu đã cho thấy dùng kỹ thuật PFGE với hai enzym này là một phương pháp hết sức hiệu quả trong nghiên cứu định type *B. pertussis, B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* và *B. holmesii*. PFGE là một phương pháp hiệu quả trong nghiên cứu đánh giá sự lây truyền của bệnh ho gà trong trường học và bệnh viện. Một ưu điểm quan trọng của phương pháp PFGE là sự tương thích về số liệu thu được từ các labo khác nhau.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Điều trị

Liệu pháp kháng sinh

Erythromycin vẫn là thuốc chuẩn được khuyến cáo trong điều trị ho gà. Erythromycin estolate được ưa dùng với liều 40 mg/kg/ngày (tối đa 2 g/ngày). Điều trị bằng erythromycin cho kết quả tiêu diệt được *B. pertussis* vùng họng mũi trong 2–7 ngày (trung bình là 3, 6 ngày) và người ta cho rằng sau 5 ngày từ khi bắt đầu điều trị bằng erythromycin bệnh nhân không còn nguy cơ truyền bệnh nữa. Thời gian điều trị được khuyến cáo là khoảng 14 ngày. Với các trường hợp trẻ đã tiêm chủng, liệu trình điều trị 7 ngày thường có hiệu quả. Các thuốc macrolide thế hệ mới có tác dụng tốt chống *B. pertussis in vitro*. Một số ít nghiên cứu cho thấy kết quả tốt khi điều trị bằng clarithromycin (10 mg/kg/ngày, hai lần một ngày trong 7 ngày) hoặc azithromycin (10 mg/kg/ngày, một lần một ngày trong 5 ngày). Cotrimoxazole cũng được coi là một liệu pháp

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thay thế cho những trường hợp bệnh nhân không dung nạp macrolide, và dựa trên những kết quả *in vitro*, quinolone cũng là một liệu pháp thay thế khác với các bệnh nhân người lớn.

Độ nhạy cảm kháng sinh

Các test đo độ nhạy cảm với kháng sinh của *B. pertussis* và *B. parapertussis* vẫn chưa được chuẩn hóa. Nhiều phương pháp khác nhau đang được sử dụng. Thử nghiệm bằng phương pháp pha loãng canh thang thường cho kết quả với nồng độ ức chế tối thiểu (minimal inhibitory concentration, MIC) cao hơn so với các phương pháp sử dụng pha loãng thạch. Canh thang Mueller–Hinton bổ sung 5% máu ngựa được khuyến cáo là chất liệu nên được sử dụng để test hoạt tính của erythromycin. Các đĩa cấy chứa erythromycin nên được ủ ở nhiệt độ phòng trong khoảng 48 giờ với *B. parapertussis* và 72 giờ với *B. pertussis*. Kỹ thuật E–test được đánh giá về khả năng sử dụng trong thử nghiệm độ nhạy cảm kháng sinh của *B. pertussis* và phương pháp này là một kỹ thuật thay thế tốt cho phương pháp pha loãng trong thạch.

Erythromycin là thuốc thường được sử dụng trong điều trị và dự phòng ho gà, và cho đến gần đây, vẫn chưa cần thiết có xét nghiệm thường quy về độ nhạy của *B. pertussis* vì tất cả các chủng của vi khuẩn này đều nhạy cảm với kháng sinh này. Kháng erythromycin của *B. pertussis* được ghi nhận lần đầu tiên ở Arizona năm 1994. Từ đó tới nay, có thêm ba chủng kháng thuốc được phân lập ở Mỹ. Tỷ lệ kháng erythromycin được phát hiện là < 1% khi chủng *B. pertussis* 1030 được phân lập gần đây và được phân tích ở Mỹ.

Các thuốc mới nhóm macrolides cũng có đặc tính chống *B. pertussis* tương tự như erythromycin trong các nghiên cứu *in vitro*. Một số quinolone có tác dụng rất mạnh chống *B. pertussis* và *B. parapertussis* trên *in vitro*. Các thuốc khác cũng có hoạt tính trên *in vitro* chống lại *B. pertussis* như piperacillin và mezclocillin, ceftazidime, cefotaxime và ceftriaxone.

5.2. Phòng bệnh

Hóa dự phòng

Một số báo cáo cho thấy sự lan truyền rộng rãi của bệnh ho gà trong các gia đình, trường học, nhà trẻ và bệnh viện. Sử dụng sớm liệu pháp hóa dự phòng (bằng macrolide với liều tương đương với liều điều trị) trong các hộ gia đình có tiếp xúc cho kết quả tốt. Vấn đề thường xảy ra trên lâm sàng đó là sự lan truyền bệnh đã xảy ra trước khi trường hợp phơi nhiễm được chẩn đoán bị mắc bệnh. Điều trị dự phòng đặc biệt được chỉ định trong các gia đình có trẻ mới sinh chưa được tiêm phòng bệnh.

Sử dụng các thuốc nhóm macrolide trong trường học hoặc bệnh viện cũng có nhược điểm, và một số nghiên cứu cho thấy nhiều người lớn không hoàn thành

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hết liều điều trị dự phòng của họ. Giá trị chung và khả năng thực tế để sử dụng rộng rãi liều dự phòng trong cộng đồng vẫn còn cần được đánh giá thêm. Một điều quan trọng là cần nâng cao nhận thức về bệnh ho gà với người lớn và trẻ em trong cộng đồng, bắt đầu điều trị sớm nhất có thể trong giai đoạn kịch phát của ho gà và cho liều dự phòng với những đối tượng nguy cơ cao nếu bị nhiễm (trẻ em, các bệnh nhân nguy cơ cao khác). Trong thời gian xảy ra dịch, nhất thiết phải nhấn mạnh tầm quan trọng của tiêm phòng đầy đủ cho trẻ em.

Vắc xin

Tiêm phòng vắc xin được coi là phương pháp hiệu quả nhất để phòng và kiểm soát bệnh ho gà trong cộng đồng. Vắc xin vô bào và toàn tế bào hiện nay đang được sử dụng trên toàn thế giới.

Vắc xin ho gà toàn tế bào (whole–cell)

Ngay sau khi phân lập được *B. pertussis*, người ta đã cố gắng để chế tạo vắc xin cho bệnh ho gà. Từ những năm 1950, vắc xin ho gà chuẩn chứa toàn bộ tế bào chết *B. pertussis* đã được đưa vào sử dụng trong hầu hết các quốc gia phát triển. Việc sử dụng rộng rãi các loại vắc xin này đã có cho kết quả thành công cao trong việc giảm tỷ lệ mới mắc và tử vong của bệnh ho gà tại các nước này. Tuy nhiên, có một số lo lắng về khả năng liên quan giữa tiêm chủng và các biến chứng thần kinh không hồi phục đã làm giảm lượng tiêu thụ vắc xin tại một số quốc gia như tại Anh, Nhật và Thụy Điển. Những vụ dịch ho gà lớn sau đó đã xảy ra tại các quốc gia này. Mặc dù nhiều nghiên cứu với thiết kế chuẩn và quy mô lớn đều không thể khẳng định được bất cứ bằng chứng nào về vai trò của vắc xin toàn bộ tế bào có liên quan đến các biến chứng thần kinh không phục hồi, nhiều nỗ lực đã được thực hiện để phát triển các loại vắc xin vô bào ít gây phản ứng hơn.

Vắc xin ho gà vô bào (acellular pertussis vaccines)

Vắc xin vô bào được sản xuất từ các kháng nguyên *B. pertussis* tinh khiết. Loại vắc xin chỉ chứa PT hoặc FHA được chế tạo lần đầu tiên tại Nhật Bản và được đưa vào sử dụng phổ biến vào năm 1981. Mặc dù việc sử dụng rộng rãi loại vắc xin này cho trẻ em Nhật Bản với bằng chứng về tính phản ứng thấp và hiệu quả đạt yêu cầu, các số liệu cho thấy độ an toàn và hiệu quả của các loại vắc xin này ở trẻ mới sinh là không đạt yêu cầu. Thêm nữa, chưa có sự nhất trí hoàn toàn có tính thuyết phục về kháng nguyên tối ưu và nồng độ của chúng được thêm vào trong các vắc xin này. Kết quả là, nhiều hãng sản xuất đã phát triển nhiều loại sản phẩm để chọn lựa, 13 trong số đó đã được đánh giá trong một thử nghiệm lâm sàng pha 1–2 trong những năm đầu thập kỷ 90. Hơn nữa, đa số các vắc xin vô bào tạo được các phản ứng kháng thể với kháng nguyên của vắc xin với hiệu quả tương đương hoặc mạnh hơn so với vắc xin toàn bộ tế bào. Trong thập kỷ cuối, chín thử nghiệm về hiệu quả của vắc xin vô bào được tiến hành trên nhiều quốc gia khác nhau. Các vắc xin được thử nghiệm có thể là loại một

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thành phần chỉ chứa PT, hai thành phần chứa PT và FHA, ba thành phần chứa PT, FHA và Prn hoặc nhiều thành phần chứa PT, FHA, Prn và FIM. Các loại vắc xin được chế tạo bởi các hãng khác nhau và vắc xin phối hợp bạch hầu–uốn ván và ho gà (toàn bộ tế bào) hay vắc xin bạch hầu–uốn ván được sử dụng là đối chứng. Trong hầu hết các thử nghiệm, ba liều khởi đầu được sử dụng cho trẻ mới sinh dưới 6 tháng tuổi. Các thử nghiệm cũng cho thấy các vắc xin ho gà vô bào có tác dụng phòng ngừa và kiểm soát với ít phản ứng phụ hơn so với vắc xin toàn bộ tế bào. Bởi đặc tính sinh phản ứng thấp, vắc xin ho gà vô bào là loại phù hợp sử dụng cho liều nhắc lại tiêm phòng với trẻ lớn và thậm chí với cả người lớn tuổi

Phản ứng với tiêm chủng và độ bảo tồn miễn dịch

Tiêm chủng thụ động và chủ động trên chuột cho thấy các kháng thể với PT, FHA và Prn của *B. pertussis* có thể cho các mức độ khác nhau về khả năng chống lại tác nhân gây bệnh do vi khuẩn bên trong não hay tại phổi. Nồng độ cao của kháng thể với các kháng nguyên này được tìm thấy trong huyết thanh ở giai đoạn hồi phục của bệnh nhân ho gà. Năm 1940, nồng độ cao của các kháng thể kết dính chống *B. pertussis* được phát hiện là có liên quan với khả năng bảo vệ trên lâm sàng. Tuy nhiên, tới nay người ta đã biết rằng hiệu quả bảo vệ được quan sát thấy trong các nghiên cứu đó chỉ một phần là do các kháng thể kháng FIM và PRN. Trong các nghiên cứu thử nghiệm vắc xin, các kháng thể với nồng độ cao chống lại các kháng nguyên của vắc xin đã được ghi nhận. Mặc dù ít có khả năng nồng độ cao các kháng thể kháng Prn, FIM hay PT trong huyết thanh tiền phơi nhiễm có liên quan đến nhiễm ho gà trong hộ gia đình, không có một marker huyết thanh đơn độc nào hoặc phối hợp một số marker được dùng để xác định chính xác khả năng bảo vệ chống ho gà. Điều này cho thấy ngoài kháng thể, các phần khác của hệ miễn dịch cũng liên quan tới quá trình bảo vệ.

B. pertussis được phát hiện là có khả năng tồn tại trong các tế bào động vật có vú và vai trò của miễn dịch tế bào (cell–mediated immunity) trong việc kiểm soát nhiễm *B. pertussis* đã được chứng minh trong các nghiên cứu trên chuột. Do vậy, miễn dịch tế bào tạo ra sau khi tiêm phòng và mắc bệnh đã được nghiên cứu. Nói chung, kết quả đạt được tới nay cho thấy miễn dịch sinh ra do tiêm phòng vắc xin toàn bộ tế bào, như là miễn dịch tự nhiên, được kích hoạt bởi các tế bào T helper 1 trong khi cả cytokine Th1 và Th2 đều được tìm thấy trong các cá thể được tiêm chủng với vắc xin vô bào.

Cả tiêm phòng vắc xin và mắc bệnh tự nhiên đều không tạo được miễn dịch lâu dài. Sự bảo vệ tạo ra bởi vắc xin toàn tế bào có thời gian tồn tại ngắn với ước tính khoảng 6–12 năm. Tuy nhiên, số liệu về khả năng bảo vệ với tiêm phòng bằng vắc xin vô bào vẫn còn thiếu. Các nghiên cứu bước đầu cho thấy hiệu quả của các vắc xin vô bào nhiều thành phần và một vài thành phần hay hai thành

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

phần có thể được duy trì trong vài năm. Sự duy trì khả năng miễn dịch phụ thuộc vào loại vắc xin được sử dụng, lịch tiêm chủng, số lượng liều dùng và đặc điểm dịch tễ học của quần thể nghiên cứu.

Lịch tiêm phòng

Các loại vắc xin ho gà và các chương trình tiêm chủng thay đổi khác nhau tùy từng quốc gia *(Bảng 5.32)*. Ở hầu hết các nước Tây Âu, khuyến cáo được sử dụng là liều bạch hầu–uốn ván–ho gà (toàn tế bào hoặc vô bào) trước 7 tháng tuổi và liều nhắc lại lúc 11–18 tháng tuổi. Ở Mỹ, khuyến cáo tiêm phòng là DTaP cho cả liều khởi đầu lúc 2, 4 và 6 tháng tuổi và liều nhắc lại lúc 15–18 tháng và 4–6 tuổi. Ở vùng Bắc Âu (Scandinavia), một số nước gần đây đã áp dụng lịch tiêm phòng cho trẻ 3, 5 và 12 tháng tuổi.

Gần đây tỷ lệ mới mắc ho gà tăng lên ở nhóm trẻ tuổi đi học, trẻ thiếu niên và người lớn; vì vậy, cần phải nhấn mạnh tầm quan trọng của việc tiêm phòng nhắc lại trong các quần thể này. Ở Phần Lan, liều nhắc lại lần thứ 2 ở độ tuổi 4–6 gần đây đã được áp dụng vào trong các chương trình tiêm chủng. Ở Pháp và Đức, liều nhắc lại lần thứ 2 được tiêm ở độ tuổi 11.

Bảng 5.32. Lịch tiêm chủng phòng ho gà hiện nay ở một số nước Tây Âu

Quốc gia	Loại vắc xin sử dụng*	Tháng tuổi
Áo	DTaP	2, 3, 4, 13
Bỉ	DTaP	2, 3, 4, 15
Đan Mạch	DTaP	3, 5, 12
Phần Lan	DTwP	3, 5, 12
Pháp	DTaP hoặc DTwP	3, 4, 5, 18–24
Đức	DTaP	2, 3, 4, 16
Hy Lạp	DTwP hoặc DTaP	2, 3, 4, 11
CH Ai Len	DTaP	2, 4, 6, 18–24
Ý	DTaP	3, 5, 12 hoặc 2, 4, 6
Luxembourg	DTaP	2, 4, 10
Hà Lan	DTwP	2, 3, 4, 11
Na Uy	DTaP	2, 3, 4, 11
Bồ Đào Nha	DTwP	2, 4, 6, 15
Tây Ban Nha	DTwP hoặc DTaP	2, 4, 6, 18–24
Thụy Điển	DTaP	3, 5, 12
Thụy Sỹ	DTaP	2, 4, 6, 15
Anh	DTwP	2, 3, 4

*DTaP (Vắc xin Bạch hầu–Uốn ván–Ho gà vô bào) hoặc DTwP (Vắc xin Bạch hầu–Uốn ván–Ho gà toàn tế bào) được sử dụng phối hợp với các vắc xin khác.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tóm lại, mặc dù vắc xin vô bào được chứng minh là có hiệu quả cao chống lại bệnh ho gà, những vấn đề quan trọng cần được quan tâm:

- Các loại kháng nguyên tối ưu và hàm lượng của chúng được sử dụng trong sản xuất vắc xin vô bào – sự đa dạng khác nhau của kháng nguyên Prn và PT đã được tìm thấy giữa các chủng *B. pertussis* dùng để sản xuất vắc xin và các chủng lưu hành, cần tiếp tục nghiên cứu thêm rằng, vắc xin vô bào có thực sự tạo được khả năng bảo vệ như nhau, chống lại các chủng *B. pertussis* chế tạo vắc xin và các chủng khác không.
- Các tỷ lệ khuyến cáo về miễn dịch với ho gà sau tiêm phòng khi dùng các loại vắc xin khác nhau.
- Chiến lược tối ưu trong tiêm nhắc lại (rộng rãi cho mọi đối tượng – đối tượng hạn chế) để phòng ngừa ho gà cho thiếu niên và người lớn tuổi.
- Cơ chế của sự gia tăng các phản ứng tại chỗ thường thấy sau khi tiêm phòng nhắc lại.
- Tìm hiểu sâu hơn về các kháng nguyên trong vai trò tương tác với các đặc tính phản ứng và đặc tính miễn dịch khi sử dụng phối hợp vắc xin.
- Cung cấp các vắc xin có hiệu quả tại các quốc gia đang phát triển với giá thành hợp lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gillespie SH and Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd. 2nd ed. 2006.
2. Holt, JG. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Lippincott Williams & Wilkins. 9th ed. 1994.
3. Krieg NR et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins. Volume 1. 1984.
4. Myron ML et al. New Generation Vaccines. Marcel Dekker, Inc. 4th ed. 2009.
5. Nancy Jo Trun et al. Fundamental Bacterial Genetics. 1st ed. Wiley–Blackwell. 2003.
6. Stanley AP et al. Vaccines. Sauders. 4th ed. 2004.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

BRUCELLA

Meyer và Shaw 1920

Loài mẫu: *Brucella melitensis* (Hughes 1893) Meyer và Shaw 1920

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Vi khuẩn *Brucella* thuộc họ *Parvobacteriaceae,* gồm 3 tộc: *Pasteurelleae, Bruceleae* và *Hemophileae*. Tộc *Brucelleae* chỉ có một chi là *Brucella.*

Brucella được phát hiện đầu tiên vào năm 1887, bởi Bruce tại đảo Malte. Bang (1897) phân lập được vi khuẩn ở cừu. Kerr và MacNeal (1910), đã phân lập được vi khuẩn *Brucella* tại Mỹ. Năm 1914, Traum đã xác định vi khuẩn *Brucela* gây nên bệnh như Bang đã mô tả tại Đan Mạch vào năm 1897. *Brucella* gây bệnh cho động vật và từ đây chúng gây bệnh cho người. Vì vậy *Brucella* được xếp vào loại vi khuẩn gây bệnh cho động vật và lây sang người. Bệnh brucellosis được phát hiện vào thế kỷ XIX trong thời kỳ chiến tranh giữa quân đội Nga Hoàng và các nước đồng minh (Pháp, Anh, Vương quốc Sardinia và đế chế Ottoman).

Brucella được đặt theo tên tác giả phát hiện ra chúng và bệnh thì được gọi là brucellosis. Bệnh brucellosis cũng được gọi với các tên khác như là bệnh sốt Malta, bệnh sốt làn sóng, bệnh của Bang (gọi tắt là bệnh Bang).

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể

Brucella là trực khuẩn, dài từ 0,5 – 1,5 µm, bề rộng khoảng 0,5 µm. Thường có hình cầu, không di động, không sinh nha bào, đôi khi có vỏ. Trong nuôi cấy non, có thể thấy vi khuẩn xếp thành chuỗi. *Brucella* không bắt màu thuốc nhuộm Gram. Do cấu tạo vách của vi khuẩn có nhiều lipid nên một số chủng có khả năng kháng acid.

2.2. Nuôi cấy

Brucella hiếu khí tuyệt đối, phát triển kém trên các môi trường nuôi cấy thông thường, nhưng phát triển tốt trên các môi trường giàu chất dinh dưỡng. Nhiệt độ thích hợp là 37°C, pH 6,8. Môi trường nuôi cấy có thể là thạch máu *(Xem hình P44 ở Phụ bản)*, canh thang gan cục, các môi trường đặc hiệu của Difco (canh thang tryptose), B.B.L (canh thang trypticase), thạch dinh dưỡng có thêm huyết thanh và glucose hoặc thạch khoai tây. Đối với *B. melitensis* và *B. suis* chỉ cần nuôi cấy ở khí trường bình thường nhưng đối với *B. abortus* khí trường nuôi cấy cần có từ 5–10% $C0_2$ vi khuẩn mới có khả năng phát triển được.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.3. Đặc điểm hoá sinh

Brucella không hoá lỏng gelatin và không làm đông huyết tương, làm kiềm hoá nhưng không làm đông sữa, không sinh indol trong nước pepton, có khả năng sinh H_2S, song số lượng H_2S sinh ra nhiều hay ít còn tuỳ thuộc vào loài vi khuẩn. Khả năng thuỷ phân urê mạnh trong môi trường ure–indol, chỉ sau một vài phút ở nhiệt độ 37°C là đã làm chuyển màu chất chỉ thị. Hai tính chất của *Brucella* là sinh H_2S và thủy phân urê luôn được ứng dụng trong chẩn đoán *Brucella*. Vi khuẩn chuyển hóa glucose không sinh hơi, các loại đường khác thì chuyển hoá chậm. *Brucella* không có khả năng làm tan máu trên môi trường thạch máu. Vi khuẩn có men catalase, một vài chủng có men oxidase hoặc men lipase hoặc men amylase. Bảng 5.33 sau đây nêu lên một số đặc điểm chủ yếu của *Brucella*.

Bảng 5.33 Một số đặc điểm chủ yếu của *Brucella*

Loài	Cần có CO_2	Sinh H_2S	Sự phát triển khi có mặt của:			Ngưng kết kháng huyết thanh đơn giá	Ly giải bởi phage Tb**
			Fuchsin		Thionine		
			0,002%	0,004%	0,002%		
B. melitensis (Biotype 1)	–	–	+	–	+	+	–
B. abortus (Biotype 1)	+*	+	+	–	–	+	+
B. suis (Biotype 1)	–	+	–	+	+	+	–
B. neotomae	–	+	–	–	–	+	–
B. ovis	+	–	+	+	+	+	–
B. canis	–	–	–	+	+	+	–

* Lúc phân lập đầu tiên; **: phage Tbilisi

2.4. Khả năng đề kháng

Brucella nhạy cảm với sức nóng ở nhiệt độ 60°C và các chất diệt khuẩn. Với sức nóng như vậy và chất diệt khuẩn thì trong 60 phút có thể diệt được vi khuẩn. Đặc biệt *B. abortus* và *B. suis* ở nhiệt độ từ 143–145°C trong 3 phút mới chết. Tuy vậy, khả năng sống của chúng rất lớn trong môi trường nuôi cấy cũng như ở môi trường bên ngoài (bùn, nước tiểu, đất, nước, bụi) chúng có thể tồn tại từ một đến ba tháng. Ở nhiệt độ thấp, *Brucella* có thể sống một thời gian dài trong đất về mùa đông. Chúng có thể sống được một tuần trong sữa và nhiều tuần trong thịt. Tuy vậy vi khuẩn sẽ bị giết chết bởi lò tiệt khuẩn Pasteur.

2.5. Độc tố

Brucella không sinh ngoại độc tố nhưng có một nội độc tố là phức hợp của vách tế bào vi khuẩn. Bản chất của nội độc tố vi khuẩn *Brucella* là một lipopolysaccharide tương tự như nội độc tố của vi khuẩn đường ruột. Người ta

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thấy trong chất lọc môi trường nuôi cấy *Brucella* để ở thời gian lâu có một số chất gọi là brucellin hoặc melitin xuất hiện. Đây là những chất có khả năng gây dị ứng. Roux đã phân chia độc tố của *Brucella* thành hai yếu tố: lipid vách gắn liền với kháng nguyên glucido–lipido–proteic. Yếu tố này có ở tất cả các *Brucella*. Một yếu tố khác là protein nguyên tương, yếu tố này chỉ có ở các chủng *Brucella* độc.

2.6. Các loại kháng nguyên

Brucella có hai loại kháng nguyên với tỷ lệ nhiều ít khác nhau tuỳ theo loài: kháng nguyên A và M. Kháng nguyên A có nhiều ở *B. abortus* và *B. suis*. Kháng nguyên M có nhiều ở *B. melitensis*. Theo tính toán của Miles thì kháng nguyên A và M của các *Brucella* như sau:

B. melitensis A/M = 1/20

B. abortus A/M = 20/1

B. suis A/M = 2/1

Trong thực nghiệm người ta chứng minh được sự tồn tại kháng nguyên chung của *Brucella* bằng cách gây miễn dịch cho thỏ với bất kỳ loài *Brucella* nào, trong huyết thanh thỏ cũng xuất hiện kháng thể ngưng kết với các *Brucella* khác loài.

2.7. Phân loại

Brucella được phân thành các loài có tên như sau:

- *B. melitensis* do Bruce phát hiện vào năm 1887 ở dê và cừu bị bệnh tại đảo Malte.
- *B. abortus* do Bang phát hiện vào năm 1897 ở cừu bị bệnh tại Đan Mạch.
- *B. suis* do Traum phát hiện vào năm 1914 tại Mỹ ở loài lợn cái bị bệnh.
- *B. intermedia* do Renoux phát hiện vào năm 1952, loài này có khả năng gây nhiễm một số động vật.
- *B. neotomae* do Stoenner và Lackman phát hiện vào năm 1957, loài này gây bệnh ở chuột hoang dã.
- *B. canis* do Carmichael phát hiện vào năm1966, loài này được chứng minh là có khả năng gây bệnh cho người.
- *B. ovis* được phát hiện vào năm 1956, chúng có khả năng gây nhiễm ở loài cừu.

Gần đây, người ta phát hiện thêm một loài *B. cetaceae* nhiễm ở các loài giáp xác và *B. pinipediae* có khả năng gây bệnh cho một số loài động vật có vú sống ở dưới nước.

Cho đến nay, người ta đã chứng minh được có bốn loài có khả năng gây bệnh cho người, đó là: *B. melitensis, B. abortus, B. canis* và *B. suis*. Bộ gen của bốn loài này cũng đã được xác định hoàn chỉnh. Các gen của *Brucella* nằm trên hai nhiễm sắc thể dạng vòng, có kích thước 2,1 và 1,2 Mb. Tỷ lệ các base nitơ G và C chiếm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khoảng 57mol%. Có độ tương đồng lớn (khoảng 90%) trong bộ gen của *Brucella* gây bệnh trên các loài động vật khác nhau.

Các loài của chi *Brucella* được phân biệt dựa vào tỷ lệ hai phức hợp kháng nguyên A và M, các tính chất sinh vật hoá học như khả năng phát triển trong môi trường có chất ức chế (fucshin), sự cần thiết có khí trường CO_2, khả năng sinh H_2S, ngưng kết với kháng huyết thanh đa giá và ngưng kết với phage Tbilisi.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Khả năng gây bệnh

Gây bệnh cho động vật

Brucella thực chất là vi khuẩn ký sinh ở động vật; trong điều kiện thuận lợi, chúng trở nên gây bệnh cho túc chủ. *Brucella* có khả năng gây bệnh cho nhiều loài động vật, song mỗi loài *Brucella* có vật chủ thích hợp hơn; ví dụ, *B. melitensis* là dê và ngựa; *B. suis* là lợn và *B. abortus* là bò.

Một số động vật khác như chó, thỏ cũng có thể mắc bệnh brucellosis. Bệnh ở động vật cái thường gây sẩy thai và khi vi khuẩn xâm nhập vào tuyến sinh dục của động vật giống đực thì có thể gây bệnh thể ẩn.

Gây bệnh cho người

Brucella là loài vi khuẩn gây bệnh cho động vật, từ động vật bị bệnh chúng lây sang cho người do tiếp xúc trực tiếp với động vật ốm hoặc sữa, thịt của động vật bị bệnh. Cho đến nay chưa xác định được bệnh brucellosis có lây từ người sang người hay không. Người bị nhiễm *Brucella* có thời gian ủ bệnh từ 2–4 tuần lễ. Tiếp đến là sốt, mệt mỏi và đau vùng có tổn thương. Vi khuẩn vào hệ thống bạch huyết gây nên ổ nhiễm khuẩn nguyên phát, thường là ở hạch. Thời kỳ này cũng có thể dẫn tới bệnh brucellosis cấp tính với nhiễm khuẩn huyết. Nếu điều trị không tốt, sốt có thể kéo dài từ 2–4 tháng. Tiếp theo giai đoạn nhiễm khuẩn huyết có thể hình thành những ổ nhiễm khuẩn thứ phát, đó là bệnh brucellosis bán cấp khư trú. Các ổ nhiễm khuẩn chủ yếu gặp ở khớp, các phủ tạng, bộ phận sinh dục hoặc ở màng não. Brucellosis có thể xuất hiện sớm hoặc muộn (nhiều tháng hoặc vài năm) sau giai đoạn cấp tính thường thì bệnh nhân mắc brucellosis mạn tính, triệu chứng không điển hình, chủ yếu là sốt nhẹ, kéo dài, mệt mỏi, đau nhiều hay ít ở vùng tổn thương (chủ yếu là các khớp xương), đặc biệt là có các dấu hiệu về thần kinh.

Gây bệnh thực nghiệm

Trong các loài động vật dùng thực nghiệm thì chuột lang là loại nhạy cảm nhất đối với vi khuẩn *Brucella* và khi tiến hành thực nghiệm thường được tiêm vi khuẩn vào màng bụng. Sau khi tiêm một thời gian ngắn sẽ có hiện tượng nhiễm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn huyết xảy ra. Nếu tiêm vào vùng bẹn, sẽ xuất hiện hiện tượng làm sưng hạch và viêm khớp gần nơi tiêm. Trường hợp nhiễm khuẩn huyết, chuột có thể bị chết; hiện tượng viêm hạch và sưng khớp có thể khỏi hoặc gầy yếu dần rồi chết.

3.2. Cơ chế gây bệnh

Vi khuẩn *Brucella* xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hoá do ăn phải thức ăn, sữa bị nhiễm khuẩn hoặc theo đường hô hấp do hít phải bụi có mang vi khuẩn, hoặc qua da do tiếp xúc trực tiếp với vật phẩm có mầm bệnh. Từ các đường xâm nhập khác nhau, *Brucella* đi vào hệ thống bạch huyết rồi vào máu; sau đó *Brucella* đến các cơ quan như gan, lách... tạo nên các ổ nhiễm khuẩn nguyên phát. Song song với giai đoạn này, cũng có thể có tình trạng cấp tính do *Brucella* đi vào máu gây nên bệnh cảnh nhiễm khuẩn huyết. Trong cơ thể, *Brucella* ký sinh nội bào, vì vậy gây nên tình trạng bệnh mạn tính, kéo dài.

Vi khuẩn *Brucella* cũng có thể xâm nhập qua da để vào cơ thể, do vậy những người tiếp xúc với động vật bị brucellosis cũng có nguy cơ bị lây nhiễm bệnh.

3.3. Dịch tễ học

Ổ chứa vi khuẩn *Brucella* là các loại động vật ăn cỏ như dê, cừu, trâu, bò, ngựa. Trong các loài động vật mang mầm bệnh thì giống đực truyền sang cho giống cái và gây sẩy thai. Hầu hết người mắc brucellosis do lây trực tiếp từ động vật bị bệnh. Nguồn lây bệnh chính của người là do bàn tay bẩn bởi sự chăm sóc động vật bị bệnh (thường gặp nhất là bệnh sẩy thai ở dê, cừu, bò...) và tiếp xúc với thịt, phủ tạng động vật bị brucellosis. Vi khuẩn từ bàn tay được đưa vào miệng. Một nguyên nhân nữa không kém phần quan trọng là sữa và các sản phẩm từ sữa của các động vật bị brucellosis không được tiệt khuẩn đúng tiêu chuẩn. Ở môi trường bên ngoài vi khuẩn có thể gieo rắc khắp nơi do súc vật, gia cầm mang đi (chó, gà...) hoặc do người làm lây lan bởi giày, dép, guốc... Phân và nước tiểu của động vật bị bệnh cũng là nguồn chứa vi khuẩn *Brucella* có khả năng lây sang người khi tiếp xúc với chúng. Bệnh thường gặp ở nông dân, những người chăn nuôi gia súc, những người làm công tác thú y và cả những công nhân ở các lò sát sinh.

3.4. Miễn dịch

Sau khi mắc bệnh brucellosis thì có được miễn dịch lâu dài, điều đó có nghĩa là một người nào đó mắc bệnh brucellosis thì ít có khả năng bị mắc lại. Người ta xác định đó là loại miễn dịch chéo giữa nhiều loài *Brucella*. Miễn dịch chống *Brucella* chủ yếu là miễn dịch qua trung gian tế bào; lympho T và đại thực bào đóng vai trò chủ yếu trong cơ chế đề kháng của cơ thể. Các nhân tố dịch thể như yếu tố opsonin, ngưng kết tố, kháng thể kết hợp bổ thể cũng góp phần hạn chế

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

tác hại của vi khuẩn. Miễn dịch chống *Brucella* đưa lại cho cơ thể một hiện tượng quá mẫn muộn đối với *Brucella* hoặc chất chiết xuất từ *Brucella*. Hiện tượng này tồn tại suốt đời.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm có thể là máu, mủ hoặc hạch. Trong trường hợp cần thiết điều tra dịch tễ học có thể lấy phủ tạng động vật chết hoặc thịt, sữa của động vật ốm.

4.2. Tìm trực tiếp

Nhuộm Gram là phương pháp thường được áp dụng. Trong trường hợp cần thiết, có thể quan sát dưới kính hiển vi điện tử. Hiện nay có thể dùng kỹ thuật sinh học phân tử PCR (polymerase chain reaction) để xác định vi khuẩn một cách chính xác.

4.3. Nuôi cấy

Bệnh phẩm được cấy vào môi trường thạch máu hoặc môi trường lỏng đặc biệt có nhiều chất dinh dưỡng; khí trường 10% CO_2 (để bao phủ cả *B. abortus*). Thông thường sau 7 ngày là quan sát được khuẩn lạc, có thể theo dõi thêm từ 4 – 6 tuần, nếu không mọc mới được kết luận là âm tính. Cấy máu chỉ thực hiện khi bệnh đang ở giai đoạn cấp tính, khoảng 15 ngày của bệnh và chỉ thực hiện khi bệnh nhân chưa dùng kháng sinh. Người ta khuyên khi thấy có kết quả cấy máu dương tính nên thử ngay với test urease để phân biệt với nhiễm khuẩn huyết do *Salmonella*.

4.4. Chẩn đoán huyết thanh

Làm phản ứng xác định kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân. Hiệu giá kháng thể tăng trong giai đoạn cấp tính của bệnh; thường tiến hành phản ứng sau 15–20 ngày kể từ khi mắc bệnh.

4.5. Phản ứng da

Dùng nước lọc canh khuẩn hoặc protein chiết xuất từ canh thang nuôi cấy vi khuẩn tiêm vào trong da (0,1 ml). Trong 24 giờ, nơi tiêm nề đỏ, đường kính trên 40 mm là phản ứng dương tính.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh chung

Cần phát hiện sớm động vật bị bệnh để cách ly hoặc giết các động vật bị nhiễm bệnh. Tuyệt đối không ăn thịt các động vật bị ốm hoặc chết nghi do

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

brucellosis mà phải chôn thật sâu, xa nguồn nước, xa khu dân cư, xa trường học, chợ, những nơi thường có nhiều người tụ tập. Cần có chất sát khuẩn mạnh chôn cùng với xác động vật bị bệnh.

Khử khuẩn sữa và các sản phẩm của sữa đúng tiêu chuẩn trước khi đưa ra sử dụng.

Tránh tiếp xúc với các gia súc đẻ non. Thận trọng khi xử lý các chất bài tiết và các phủ tạng súc vật bị ốm.

5.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Tiêm vắc xin cho những đối tượng có nguy cơ mắc bệnh (người chăn nuôi súc vật, nhân viên thú y, công nhân lò sát sinh).

Có hai loại vắc xin (vắc xin sống và vắc xin chết). Ngoài việc tiêm phòng bệnh cho người, người ta cũng cần tiêm phòng bệnh cho động vật.

5.3. Điều trị

Trong brucellosis cấp hoặc bán cấp, thường dùng kháng sinh phối hợp. Ngày nay người ta khuyên nên dùng kháng sinh rifampicin và doxycycline. Đối với thể mạn tính, ngoài việc sử dụng kháng sinh, người ta khuyên nên kết hợp giải mẫn cảm cho bệnh nhân bằng kháng nguyên liệu pháp (tiêm vắc xin vào dưới da với các liều thấp).

ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS

(Kinger 1912) Topley và Wilson 1929

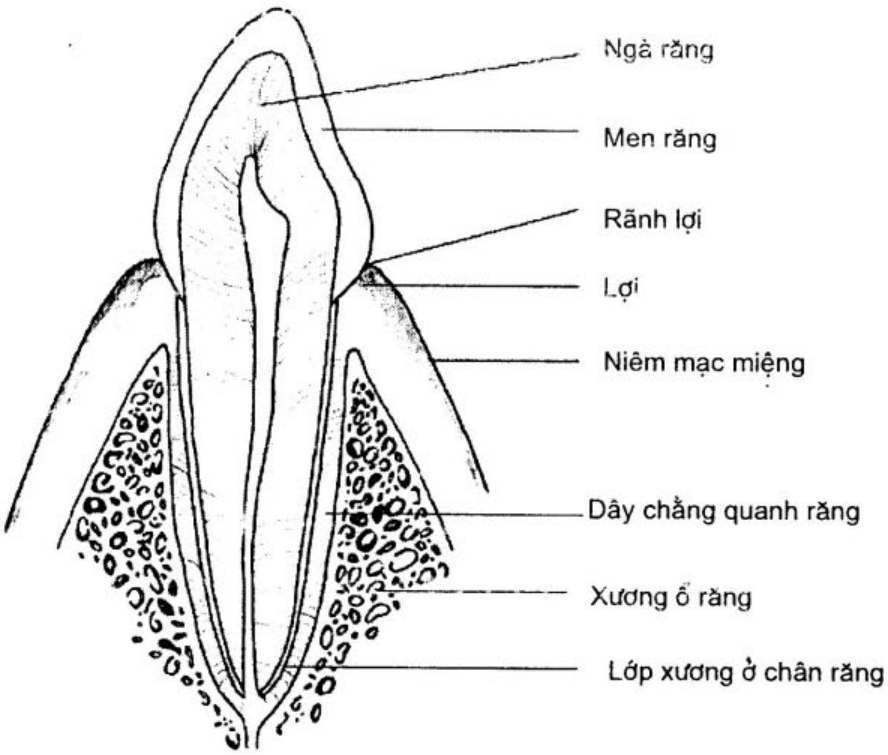
Chủng mẫu: NCTC 9710

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Hai bệnh lý hay gặp ở vùng răng miệng do vi khuẩn gây ra là sâu răng và bệnh vùng quanh răng. Sâu răng ảnh hưởng đến cấu trúc của răng và bệnh vùng quanh răng ảnh hưởng đến mô cùng tổ chức nâng đỡ của răng. Bệnh vùng quanh răng có thể cấp tính như viêm lợi hoặc mạn tính như viêm quanh răng. Bệnh này gây ra tình trạng viêm của lợi, phá huỷ mô, dây chằng quanh răng và xương ổ răng (tổ chức gắn kết giữa răng và xương hàm) (Hình 22.1). Trên lâm sàng có một số dạng viêm quanh răng. Dạng nặng nhất của viêm quanh răng là viêm quanh răng tiến triển khu trú (localize aggressive periodontitis–LAP), trước đây gọi là viêm quanh răng ở người trẻ tuổi, nguyên nhân của bệnh lý này là *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Actinomyces spp. gây ra một tổn thương viêm mạn tính gọi là actinomycosis. Đây là một vi khuẩn Gram âm do Klinger đặt tên năm 1912 từ một tổn thương. Vi khuẩn sau này được đặt tên là *Bacterium actinomycetum comitans*. Từ đó bắt đầu một quá trình thay đổi tên vi khuẩn từ *Bacterium comitans* rồi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Mối quan tâm về vi khuẩn này đã bắt đầu từ việc tìm thấy vi khuẩn trong các tổn thương actinomycosis trong đó, *Actinomyces* spp. đã bị loại trừ do tác động của kháng sinh. Tuy nhiên, các nghiên cứu sau này đã cho thấy *A. actinomycetemcomitans* là một thành viên của khuẩn chí trong miệng của người và nó có liên quan đến bệnh lý vùng quanh răng cũng như nhiều tổn thương khác ở ngoài miệng. Mối quan tâm đối với vi khuẩn này đã ngày càng tăng lên trong hơn 20 năm qua và toàn bộ bộ gen của vi khuẩn đã được giải trình tự. Kết quả cho thấy, vi khuẩn có mối liên hệ rất chặt chẽ với các thành viên của họ *Pasteurellaceae* như *Haemophilus influenzae*.



Hình 5.4. Sơ đồ cấu trúc của vùng quanh răng

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

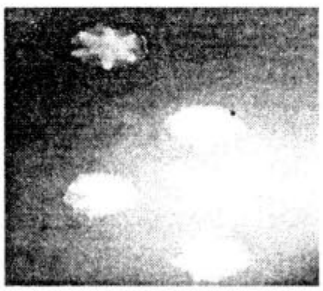
2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

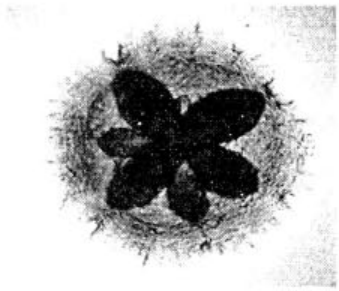
Actinobacillus actinomycetemcomitans là trực khuẩn Gram âm, kích thước 0,4–0,5 x 1–1,5 µm, không di động, không sinh nha bào, kỵ khí tuỳ tiện. Dưới kính hiển vi, các tế bào vi khuẩn trông giống như cầu trực khuẩn. Để lâu hoặc trên môi trường lỏng có glucose, vi khuẩn có kích thước dài hơn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn khó nuôi cấy. Chúng mọc tốt nhất trong điều kiện hiếu khí và có 5–10% CO_2, mặc dù vi khuẩn có thể mọc trong điều kiện kỵ khí. Trên môi trường chocolate hoặc thạch máu, khuẩn lạc của *A. actinomycetemcomitans* thường nhỏ, đường kính 1–2 mm, trong, hơi ráp, không tròn, hơi lồi, không tan máu, hình ngôi sao và có thể dính vào bề mặt thạch. Khuẩn lạc trông rõ trên môi trường đặc sau 2–3 ngày nuôi cấy.





Hình 5.5. Khuẩn lạc của *A. actinomycetemcomitans* trên môi trường TSBV cho thấy hình ảnh khuẩn lạc trung tâm hình ngôi sao

2.3. Tính chất sinh vật hoá học

Vi khuẩn sinh catalase, urease, indole, phân huỷ nitrate, thuỷ phân esculin, test ONPG (+). *A. actinomycetemcomitans* không sinh acid từ quá trình chuyển hoá glucose, galactose, maltose, lactose, sucrose, trehalose, salicin, sorbitol.

2.4. Tính chất kháng nguyên

Kháng nguyên quyết định tính miễn dịch của *A. actinomycetemcomitans* là một polysaccharide có trọng lượng phân tử cao trong cấu trúc lipopolysaccharide. Cho tới nay, người ta đã tìm ra 6 type huyết thanh a, b, c, d, e và f. Kháng nguyên đặc hiệu của một type huyết thanh chỉ chứa 6–deoxyhexose, 6–deoxy–D–talose. Cấu trúc này là duy nhất trong số các loại vi khuẩn và cho tới nay, người ta chưa tìm thấy các gen tham gia vào quá trình tổng hợp 6-deoxy-D-talan. Nghiên cứu về sự phân bố các type huyết thanh và loại khuẩn lạc của *A. actinomycetemcomitans* ở Bắc Âu, Bắc Mỹ và quần thể người Mỹ–Phi cho thấy, chỉ có một type huyết thanh/type gen của vi khuẩn này cư trú. Type huyết thanh b thường gặp với tỷ lệ cao hơn cả ở bệnh nhân bị viêm quanh răng và các tổn thương ngoài miệng khác so với người khoẻ mạnh. Ngược lại, type huyết thanh c thường gặp ở người khoẻ mạnh hơn người bị bệnh. Người ta thấy rằng, vi khuẩn có thể được xếp vào 3 nhóm chính gồm: (i) các chủng thuộc type huyết thanh b; (ii) các chủng thuộc type huyết thanh c và (iii) các chủng thuộc type huyết thanh a, d, e và f. Các nghiên cứu về di truyền quần thể của *A. actinomycetemcomitans* gợi ý rằng, một dòng vi khuẩn chứa nhiều nhóm khác biệt với nhau về mặt di truyền có mối liên quan với các type huyết thanh đã biết. Tuy nhiên, người ta

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cũng cho rằng, LAP thực chất là chỉ hai bệnh lý khác biệt. Ở quần thể người da trắng ở Bắc Âu, LAP thường có liên quan với một nhóm vi khuẩn. Ở vùng gen khởi động sản xuất ra độc tố gây độc bạch cầu của chúng không bị mất một đoạn 530 bp (xem phần độc tố của *A. actinomycetemcomitans toxins*). Sự lý giải đơn giản nhất cho trường hợp LAP này là do các chủng *A. actinomycetemcomitans* từ ngay chính khuẩn chí trong cơ thể và chúng là căn nguyên gây nhiễm trùng cơ hội. Các nghiên cứu khác trên quần thể bao gồm cả những người có nguồn gốc từ châu Phi cho thấy có sự phối hợp giữa LAP trong những cá thể và một chủng thuộc type huyết thanh b với việc mất một đoạn 530 bp trong vùng gen khởi động việc sản xuất độc tố gây độc bạch cầu. Sự mất đoạn này dẫn đến sự thúc đẩy đáng kể việc sản xuất độc tố gây độc bạch cầu. Các kỹ thuật xác định dấu ấn ADN và kỹ thuật điện di enzym đa locus gợi ý rằng, những chủng này thuộc một dòng riêng có tên là JP2. Bệnh do dòng vi khuẩn này gây ra tạo thành dịch ở Morocco. Tuy nhiên, gần đây, Kaplan và cộng sự đã thay đổi sự giải thích này và cần có thêm các nghiên cứu khác để làm sáng tỏ thêm.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Yếu tố độc lực

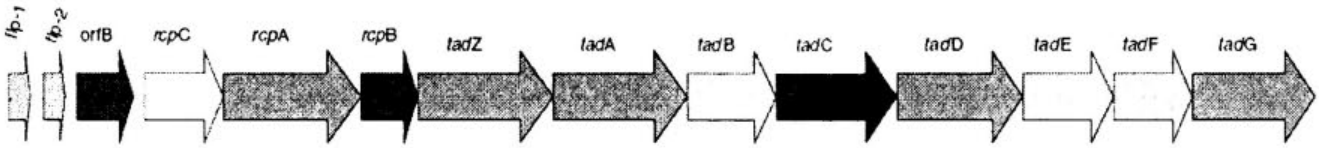
A. actinomycetemcomitans là căn nguyên của LAP. Đây là một bệnh chỉ gây tổn thương ở vùng răng cửa và răng hàm nhỏ. Bệnh gây phá huỷ rất nhanh các dây chằng quanh răng và xương ổ răng. Như đã mô tả, bệnh này rất phổ biến ở những người có nguồn gốc từ châu Phi. Có bốn cơ chế góp phần vào độc lực của *A. actinomycetemcomitans*. Đầu tiên là một hệ thống bám dính. Hệ thống này lần đầu tiên được tìm thấy ở *A. actinomycetemcomitans*. Nó được mã hoá bởi một locus tên là *tad* (tight adherence). Gần đây, nó được đổi tên thành "widespread colonization island", một hệ thống tiết loại IV được thay đổi, hệ thống này tồn tại ở nhiều loài vi khuẩn và cả trong *Archaea*. Hệ thống các yếu tố quyết định độc lực thứ hai chính là các độc tố: độc tố gây độc bạch cầu, độc tố gây sưng. Hệ thống thứ ba tập hợp các protein màng tế bào có chức năng điều hoà miễn dịch và hoặc có khả năng kích thích quá trình phá huỷ mô. Các đặc điểm độc lực cuối cùng là khả năng xâm nhập vào các tế bào của vật chủ bởi các cơ chế hoàn toàn mới. Tuy nhiên, do thiếu các mô hình thực nghiệm trên động vật và thiếu các chủng *A. actinomycetemcomitans* bị loại bỏ gen, các cơ chế liên quan đến yếu tố độc lực đang còn được nghiên cứu thêm.

3.1.1. Sự bám dính của A. actinomycetemcomitans

Hình thái khuẩn lạc kết dính, loại ráp của *A. actinomycetemcomitans* có liên quan đến việc tập trung rất nhiều các sợi trên bề mặt. Trong thực nghiệm, khi sử dụng transposon IS903 *kan*, để tạo ra những biến chủng được chèn thêm đoạn

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

gen, người ta thấy, hình thái khuẩn lạc ráp và sự bám dính chặt của *A. actinomycetemcomitans* liên quan đến cụm gen *tad*. *Tad* chứa 14 gen (Hình 5.6), 12 trong số đó cần cho quá trình tổng hợp và tiết lên bề mặt tế bào.



Hình 5.6. Cụm gen *tad* của *A. actinomycetemcomitans* chứa các gen mã hoá cho hệ thống tiết loại IV có khả năng tiết các protein *flp*–1 và 2 lên bề mặt tế bào.

Bảy loại allen mã hoá cho *flp–1* đã được xác định và chúng rất khác nhau. Một số gen trong locus *tad* dường như là khá giống nhau đối với các gen mã hoá cho hệ thống tiết II và IV của vi khuẩn. Hiện nay, người ta biết rằng, các gen liên quan đến *tad* được tìm thấy trong cả các loài vi khuẩn và *Archaeal* gồm cả các loài gây bệnh cho người như *Bordetella pertussis*, *Haemophilus ducreyi* và *Mycobacterium tuberculosis*. Locus *tad* giải thích được sự bám dính rất chặt của *A. actinomycetemcomitans*, và nó đóng góp quan trọng vào yếu tố độc lực của vi khuẩn. Các chủng gọi là "ráp" có khả năng cư trú khá tốt ở miệng nhiều hơn so với các chủng "nhẵn". Có nghiên cứu cho thấy, việc loại bỏ gen *tad*A (một ATPase tham gia vào việc cung cấp năng lượng cho sự tiết protein Flp) hoặc là gen *flp1* và *flp2* ở *H. ducreyi*, tác nhân gây tổn thương dạng săng, có ảnh hưởng rất ít đến độc lực trên động vật thí nghiệm. Tuy nhiên, khi đưa *A. actinomycetemcomitans* vào chuột cống, sự cư trú của vi khuẩn bị giảm, đáp ứng miễn dịch giảm và không có sự tiêu xương khi vi khuẩn thiếu một trong hai gen *tadA* hoặc *flp–1* so với đáp ứng của chủng hoang dại. Do đó, hệ thống bám dính dường như là yếu tố quyết định độc lực của *A. actinomycetemcomitans*.

3.1.2. Độc tố của Actinobacillus actinomycetemcomitans

Vi khuẩn này sinh ra hai độc tố. Độc tố được nghiên cứu nhiều nhất là RTX (repeat in toxin) hay còn được gọi là độc tố bạch cầu–leukotoxin (LtxA). Vùng gen cho độc tố RTX có chứa 4 gen *rtx*C, A, B và D theo trật tự sao mã. Độc tố RtxA, yêu cầu một quá trình thay đổi sau dịch mã thông qua sự acyl hoá lipid và thuỷ phân bởi RtxC để trở thành dạng hoạt động sinh học. Các protein vận chuyển do *rtx*B và *rtx*D mã hoá thúc đẩy sự vận chuyển của độc tố từ nguyên sinh chất ra bề mặt tế bào. Độc tố diệt bạch cầu làm chết các tế bào của hạch lympho, tuỷ xương của người và động vật linh trưởng khác. Cơ chế đặc hiệu này là do độc tố bám vào các tế bào của người thông qua thụ cảm thể intergrin, LFA–1. Ở nồng độ thấp, các LtxA thúc đẩy việc giáng hoá bạch cầu trung tính dẫn đến việc giải phóng protease phân huỷ collagen, metalloproteinase 8, nhưng nó cũng ức chế quá trình thực bào có thể bằng cơ chế tăng calci nội bào. Nồng độ cao LtxA có thể gây ly giải tế bào trên *in vitro*, và nó cũng có thể làm cho bạch cầu bị chết tế bào theo chương trình. Đã có bằng chứng thực nghiệm ủng hộ giả thuyết rằng LtxA

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

làm thay đổi trực tiếp chức năng của ty thể gây ra hiện tượng chết tế bào theo chương trình. Có những sự khác biệt rõ nét ở mức độ chủng về sự biểu hiện độc tố bạch cầu ở chủng độc lực cao, JP2. Chủng này tạo ra một lượng lớn độc tố, nguyên nhân là do sự mất đoạn 528 bp ở vùng promoter. Độc tố bạch cầu của *A. actinomycetemcomitans* là duy nhất trong số các độc tố RTX không phải vì quá trình tiết mà vì sự liên quan với màng tế bào. Người ta đã thấy rằng, sự bám dính vào bề mặt tế bào có liên quan đến việc có một locus *tad* dạng hoạt động vì các đột biến trong locus này gây giải phóng độc tố bạch cầu. Đó là một sự tương tác khá thú vị giữa hai cơ chế độc lực của vi khuẩn này. Độc tố thứ hai là CDT. Độc tố này do một vùng gen (*cdt*ABC) mã hoá. Vùng này được tìm thấy khá phổ biến ở các chủng vi khuẩn khác như *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Campylobacter jejuni* và *H. ducreyi*. Độc tố CDT ức chế sự tiến triển của chu kỳ tế bào đến phase G_2. Các tế bào bị nhiễm độc sẽ chuyển sang giai đoạn chết tế bào theo chương trình. Cơ chế ở đây là sự cắt đoạn trên nhiễm sắc thể do CdtB. Yếu tố này có hoạt tính nuclease dẫn đến hoạt hoá đáp ứng phá huỷ ADN và làm ngừng chu kỳ tế bào. Việc CdtB đi được vào trong tế bào được cho là có sự hỗ trợ các tác động của CdtA và CdtC. Hầu hết các *A. actinomycetemcomitans* có ít nhất một gen *cdt*. Người ta cũng chưa biết chính xác vì sao vi khuẩn lại có hai độc tố đó. Giả thuyết đơn giản nhất là cả hai độc tố đều tham gia vào sự né tránh miễn dịch. Theo những người ủng hộ giả thiết này, đã có các nghiên cứu về vai trò của CdtB ức chế sự phát triển của các tế bào lympho CD4 và tạo ra sự chết tế bào theo chương trình cho các tế bào này.

3.1.3. Các yếu tố độc lực ngoại tiết và trên bề mặt tế bào

Người ta đã xác định được khá nhiều các yếu tố độc lực ngoại tiết và/hoặc phối hợp với các yếu tố trên bề mặt tế bào vi khuẩn. Một trong những yếu tố đáng quan tâm nhất là chaperonin 60. Protein này được giải phóng từ quá trình nuôi cấy *A. actinomycetemcomitans* và có vai trò trong quá trình tiêu huỷ xương. Người ta đã xác định được protein này ở trên bề mặt tế bào vi khuẩn. Chaperonin 60 có tác dụng gây độc đối với các tế bào biểu mô. Bằng cách sử dụng kết quả nghiên cứu hệ gen chức năng dựa vào bộ gen của *A. actinomycetemcomitans*, người ta đã xác định được các yếu tố độc lực ngoại tiết của vi khuẩn này.

3.1.4. Sự xâm nhập tế bào của A. actinomycetemcomitans

Có khá nhiều vi khuẩn có khả năng xâm nhập các tế bào không thực bào của vật chủ. *A. actinomycetemcomitans*, một thành viên của khuẩn chí trong miệng được tìm thấy bên trong tế bào biểu mô của miệng. Hơn 25% các chủng phân lập trên lâm sàng có khả năng xâm nhập. Các thụ cảm thể liên quan đến việc thu nhận vi khuẩn vào trong tế bào bao gồm thụ cảm thể liên quan đến transferrin và thụ cảm thể hoạt hoá tiểu cầu. Vẫn còn có khá nhiều vấn đề chưa rõ về cơ chế

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

xâm nhập của *A. actinomycetemcomitans*, và bản thân vi khuẩn cũng có một số hiện tượng không bình thường liên quan đến cơ chế xâm nhập. Ví dụ, sự nhân lên của vi khuẩn trong các tế bào vật chủ nhanh hơn rất nhiều lần đối với các vi khuẩn tồn tại trong điều kiện bên ngoài tế bào. Một sự bất thường khác liên quan đến sự xâm nhập vào tế bào biểu mô của vi khuẩn đó là sự giải phóng vi khuẩn rất nhanh sau quá trình xâm nhập và khả năng vi khuẩn chuyển từ tế bào này sang tế bào khác. Cả hai cơ chế này đều phụ thuộc vào các sợi liên kết giữa tế bào vi khuẩn và vật chủ. Có thể kết luận rằng, *A. actinomycetemcomitans* được trang bị một loạt các yếu tố đóng góp rất quan trọng vào cơ chế gây bệnh của vi khuẩn. Cần có nhiều nghiên cứu hơn nữa để tạo ra các chủng đột biến và kiểm tra chúng trên các mô hình động vật thực nghiệm hoặc trên người tình nguyện để có thể xác định thật sự những vấn đề liên quan và không liên quan đến yếu tố độc lực của vi khuẩn.

3.2. Dịch tễ học

Các bệnh vùng quanh răng là một trong những vấn đề khó chịu và rất phổ biến của loài người. Khoảng 10–15% dân số thế giới bị viêm quanh răng. Bệnh không gây tử vong nên cũng không được nghiên cứu nhiều. *A. actinomycetemcomitans* và *Tannerella forsythensis* (trước đây gọi là *Bacteroides forsythus*) và *Porphyromonas gingivalis* được coi là những căn nguyên của bệnh lý này từ năm 1996. *A. actinomycetemcomitans* có mặt ở 95% số các tổn thương ở bệnh nhân LAP. Tuy nhiên, ngược lại với kết quả nghiên cứu này, các nghiên cứu khác lại cho thấy vi khuẩn này phân lập với tỷ lệ thấp hơn nhiều ở những bệnh nhân bị bệnh. Thêm vào đó, vi khuẩn này cũng có thể được phân lập từ miệng của người khoẻ mạnh. Những quan sát này gợi ý rằng, sự cảm nhiễm của vật chủ là một yếu tố quan trọng trong sự phát triển của bệnh lý này. Trong một nghiên cứu ở Mỹ, người ta thấy tỷ lệ LAP ở quần thể người trẻ tuổi khoảng 0,5%. Tỷ lệ này có mối liên quan đến các nhóm chủng tộc, các nhóm dân tộc thiểu số (African–American và Asian–American) có tỷ lệ bị bệnh cao gấp 15 lần đối với người da trắng. Những người gốc Phi có một dòng *A. actinomycetemcomitans* (JP2) đặc thù. Một kết quả nghiên cứu mới đây cho thấy, LAP phối hợp với bất thường chức năng của tế bào bạch cầu trung tính như giảm sự hoá ứng động, giảm chức năng thực bào và sự bất thường này có liên quan đến yếu tố gia đình. Các đột biến trên hai thụ cảm thể quan trọng của bạch cầu trung tính, *N*–formylpeptide và Fc gamma có vai trò quan trọng trong sự phát triển của LAP ở những người Mỹ gốc Phi. Sự lan truyền của *A. actinomycetemcomitans* ở các thành viên trong gia đình xảy ra giữa cặp vợ chồng và từ cha mẹ cho con. Điều này cũng đóng vai trò quan trọng đối với sự gia tăng tỷ lệ của viêm quanh răng ở một số gia đình đặc biệt.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3.3. Đặc điểm lâm sàng

A. actinomycetemcomitans được coi là căn nguyên quan trọng trong bệnh vùng quanh răng. Viêm quanh răng là tình trạng viêm ở tổ chức quanh răng. Bệnh xuất hiện là do hậu quả phản ứng của cơ thể đối với mảng bám vi khuẩn ở răng. Bệnh đặc trưng bằng viêm lợi, phá huỷ cấu trúc của xương ổ răng và dây chằng quanh răng, thường được gọi là mất sự bám dính. Biểu hiện lâm sàng của viêm quanh răng có thể là hôi miệng, chảy máu lợi, sưng, đau, tụt lợi, răng lung lay và di chuyển. *A. actinomycetemcomitans* đặc biệt phối hợp với LAP. Ở đây có hiện tượng mất xương vùng răng cửa, răng hàm và mặt trước của răng hàm thứ hai. Việc mất mô chống đỡ cho răng là bằng chứng hiển nhiên của việc di chuyển mô liên kết đến vùng cuống và chiều ngang giữa các bề mặt răng và rãnh lợi tạo ra sự hình thành túi quanh răng. Bệnh có thể tiến triển dẫn đến phá huỷ xương dọc theo bề mặt răng bị ảnh hưởng. Điều này thể hiện hoặc là mất xương theo chiều ngang với sự phá huỷ toàn bộ độ dày của xương ổ răng hoặc là mất xương theo chiều dọc khi mà chỉ một phần xương bị tổn thương. Nếu không điều trị, viêm quanh răng có thể dẫn đến áp xe cấp tính vùng quanh răng và dẫn đến mất răng.

A. actinomycetemcomitans cũng là một vi khuẩn gây nhiễm trùng cơ hội và nó cũng được phân lập từ bệnh nhân bị tổn thương do *Actinomyces*, viêm nội tâm mạc, viêm xương tuỷ, áp xe não và áp xe dưới da, hiếm hơn là viêm nội nhãn. Nhiễm nấm *Actinomyces* là một nhiễm trùng mạn tính vùng cổ và mặt. Nó thường xảy ra ở nam giới do kết quả của nhiễm *Actinomyces* spp., có thể kết hợp thêm một hoặc một số vi sinh vật khác như *A. actinomycetemcomitans*, *H. aphrophilus*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella* spp. và *Fusobacterium* spp. Các dấu hiệu lâm sàng xuất hiện sớm bao gồm những tổn thương sưng, nhỏ, cứng ở miệng, cổ và hàm. Tiếp theo là sự xuất hiện rất nhiều các ổ áp xe nhỏ, thông nhau và có những cục xung quanh. Ngoài ra còn có các ổ chảy dịch và những hạn lổn nhổn. Nhiễm trùng có thể lan toả vào não, xương và mô mềm. Đôi khi có bệnh nhân bị viêm phổi hoặc nhiễm trùng ổ bụng. Nhiễm *Actinomyces* cũng ảnh hưởng đến amydal, lưỡi, má môi sau khi sang chấn tại các vùng này.

A. actinomycetemcomitans rất hiếm khi gặp phối hợp với viêm nội tâm mạc ở bệnh nhân nhưng vi khuẩn này đóng vai trò quan trọng. Nhiễm trùng có thể xảy ra ở bệnh nhân bị bất thường van tim hoặc sau khi thay van nhân tạo. Vi khuẩn này cũng nằm trong số các vi khuẩn có tên là HACEK (*H. aphrophilus*, *A. actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *E. corrodens* và *Kingella kingae*). Các vi khuẩn này ước tính gây khoảng 3% các trường hợp viêm nội tâm mạc tại cộng đồng. Do các vi khuẩn trong miệng có thể vào hệ tuần hoàn thông qua các tổn thương ở lợi, vì vậy, tình trạng đề kháng trong miệng không được tốt là một yếu tố nguy cơ quan trọng của viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn. Nhiều quá

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trình trong miệng cũng tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn xâm nhập vào máu mặc dù tỷ lệ viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn thông qua những quá trình này ở những bệnh nhân có nguy cơ là rất thấp.

Các triệu chứng của viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn không đặc hiệu và rất khác nhau. Nếu không được chẩn đoán đúng, viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn có thể dẫn đến tình trạng sốt không rõ nguyên nhân. Các triệu chứng chung có thể gồm sốt, mệt mỏi, sút cân, xuất huyết dưới móng ở ngón chân, móng tay hình dùi, lách to, thiếu máu, khó thở, có tiếng thổi ở tim.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm thích hợp để phân lập *A. actinomycetemcomitans* là mảng bám răng, mô sinh thiết, dịch hút, máu. Các bệnh phẩm lấy từ các tổn thương trong miệng phải đảm bảo tránh nhiễm với các vi khuẩn thuộc khuẩn chí trong miệng. Không nên sử dụng tăm bông do dễ bị nhiễm nước bọt. Kim tiêm và xy lanh được dùng để lấy bệnh phẩm từ ổ áp xe và các tổn thương. Nên sử dụng que nạo vô trùng hoặc kim giấy sau khi đã loại bỏ cao răng dưới lợi để lấy các mảng bám dưới lợi ở những bệnh nhân bị viêm quanh răng. Sau khi đã lấy được bệnh phẩm, cần bảo quản ngay trong môi trường vận chuyển không có oxy và chuyển về phòng xét nghiệm để có thể xử lý ngay trong vòng 30 phút. Viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn có thể được chẩn đoán dựa vào kết quả cấy máu dương tính theo thường quy ở labo vi sinh. Thông thường, cấy máu cho kết quả dương tính sau 3–4 ngày. Các chai cấy máu phát hiện căn nguyên gây viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn nên được theo dõi trong 14 ngày.

4.1.2. Nuôi cấy phân lập

Bệnh phẩm cần được cấy trên môi trường thạch máu hoặc thạch chocolate có 5% máu cừu loại fibrin, trong điều kiện 5–10% CO_2. *A. actinomycetemcomitans* cũng mọc trong điều kiện kỵ khí trên các đĩa thạch chuyên dụng. Sau 24 h có thể quan sát thấy khuẩn lạc hơi mờ. Sau 48–72 giờ khuẩn lạc có kích thước 1–3 mm. Các khuẩn lạc thường tròn, hơi phồng, không màu. Giữa trung tâm khuẩn lạc có nếp nhăn và dính vào bề mặt thạch. Các khuẩn lạc nuôi cấy từ 4–7 ngày trong môi trường có huyết thanh sẽ có cấu trúc hình ngôi sao ở trung tâm khi nhìn qua kính hiển vi. Hình thái khuẩn lạc ráp, hình ngôi sao như vậy có thể bị mất khi cấy chuyển để trở thành khuẩn lạc nhẵn ít dính trên bề mặt thạch. Có nhiều loại môi trường chọn lọc được dùng trong nuôi cấy, phân lập *A. actinomycetemcomitans* trực tiếp từ các bệnh phẩm trên lâm sàng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Môi trường hay dùng nhất là thạch Tryptic Soy–serum–Bacitracin–Vancomycin (TSBV) chứa 10% huyết thanh, 75 mg/L bacitracin và 5 mg/L vancomycin. Sự có mặt của các kháng sinh sẽ ức chế sự phát triển của các vi khuẩn Gram (+). Trong môi trường này không có máu nên không tạo điều kiện *Haemophilus* phát triển. Ngoài ra, cũng có thể tiến hành trực tiếp test catalase trên các khuẩn lạc ở môi trường. Huyết thanh trong môi trường tạo điều kiện cho sự hình thành khuẩn lạc dạng ngôi sao.

4.1.3. Xác định

Dựa một số đặc điểm của *A. actinomycetemcomitans* để xác định vi khuẩn này. Khuẩn lạc hình ngôi sao, dính vào bề mặt môi trường. Vi khuẩn sinh catalase, phân huỷ nitrate thành nitrite, lên men glucose, galactose và maltose nhưng không lên men lactose, sucrose, trehalose, salicin hoặc sorbitol. Vi khuẩn không sinh urease, indole, không thuỷ phân aesculin và không sinh o–nitrophenyl–β–D–galactopyranoside. Có một số kít thương phẩm dùng để xác định *A. actinomycetemcomitans*. Các phòng xét nghiệm có thể dùng PCR trong khẳng định chẩn đoán bằng các cặp mồi đặc hiệu cho gen mã hóa 16S rRNA (16S rDNA). 16S rDNA chứa các vùng khá ổn định trong vi khuẩn và những vùng rất thay đổi và đặc hiệu loài. Các đoạn mồi (primer) thiết kế cho 16S rDNA đã được sử dụng để khuếch đại các vùng hay biến đổi ở *A. actinomycetemcomitans*. Kỹ thuật này thực hiện đơn giản, nhanh và có độ tin cậy cao, phù hợp với kết quả nuôi cấy phân lập. Gần đây, người ta có sử dụng phản ứng PCR đa mồi để phát hiện cùng một lúc nhiều căn nguyên gây bệnh viêm quanh răng trong một mẫu bệnh phẩm chỉ bằng một phản ứng. Kỹ thuật PCR cũng có thể được dùng để phát hiện chủng JP2 bằng các cặp mồi đặc hiệu cho vùng khởi động của gen sản xuất ra độc tố gây độc bạch cầu (leukotoxin).

4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Sự phù hợp về lâm sàng với nồng độ kháng thể kháng *A. actinomycetemcomitans* trong huyết thanh vẫn còn nhiều tranh cãi. ELISA là kỹ thuật được sử dụng phổ biến để xác định kháng thể trong máu. Tuy nhiên, điều này chủ yếu dựa vào chủng thuộc type huyết thanh b được sử dụng làm kháng nguyên. Điều này dẫn đến khả năng nhiều type huyết thanh khác không được phát hiện. Một số nghiên cứu cho thấy, nồng độ IgG đặc hiệu với *A. actinomycetemcomitans* ở nhóm bị viêm quanh răng cao hơn so với nhóm người lành đối với type huyết thanh a và b. Ngược lại, những người khoẻ mạnh có nồng độ IgG cao hơn đối với type huyết thanh c. Điều này chứng tỏ rằng, type huyết thanh a, b hay gặp ở người bị viêm quanh răng và type huyết thanh c hay gặp ở người khoẻ mạnh.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

Điều trị bệnh vùng quanh răng nhằm mục đích giảm số lượng vi khuẩn ở bề mặt chân răng. Điều này có thể đạt được đối với phần lớn các trường hợp trên lâm sàng nhờ các biện pháp cơ học có hoặc không kèm theo sử dụng kháng sinh. Một chu trình điều trị chuẩn cho bệnh vùng quanh răng bao gồm hướng dẫn vệ sinh răng miệng, làm sạch răng và bề mặt chân răng. Hướng dẫn vệ sinh răng miệng để kiểm soát mảng bám răng là một phần rất quan trọng cho kế hoạch điều trị đối với bệnh nhân bị bệnh vùng quanh răng. Việc loại bỏ cao răng trên và dưới lợi, các mảng bám trên bề mặt răng có vai trò quan trọng trong quá trình liền tổn thương. Một số trường hợp cần phải phẫu thuật. Kháng sinh cũng có thể được sử dụng trong điều trị. Hiện nay, Hiệp hội Hoá trị liệu của Anh chưa có khuyến cáo về xác định mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các chủng *A. actinomycetemcomitans*. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cũng đã đánh giá mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn này sử dụng các phương pháp đã được thay đổi với môi trường Muller–Hinton, môi trường cho *Haemophilus*, Wilkins–Chalgren có 5% máu ngựa loại fibrin. Các nghiên cứu này sử dụng kỹ thuật khoanh giấy khuếch tán, E–test và kỹ thuật pha loãng trong thạch ở 37^{0}C khí trường 5–10% CO_2 trong thời gian 24–48 h. Các chủng *A. actinomycetemcomitans* thường nhạy cảm với ciprofloxacin. Tuy nhiên, một số chủng đề kháng với penicillin (10–94%), amoxicillin (0–25%), erythromycin (4–10%) và tetracycline (0–4%).

Tại Anh, tetracycline được khuyến cáo dùng cho các trường hợp bệnh vùng quanh răng khó chữa. Tuy nhiên, sự phối hợp kháng sinh trong điều trị cũng rất quan trọng. Thông thường, người ta phối hợp metronidazole–amoxycillin và metronidazole–ciprofloxacin. Một số bệnh nhân không đáp ứng với các chế độ điều trị trên và để đề phòng mất răng, người ta cũng đang nghiên cứu và áp dụng một số biện pháp khác. Người ta có thể dùng các vật liệu thay thế xương có hoặc không kèm theo yếu tố phát triển xương. Trong tương lai, người ta đang hy vọng có thể dùng các chế phẩm sinh học như kháng thể kháng cytokine, hoặc các receptor đối với cytokine dạng hoà tan để ngăn chặn tác dụng của cytokine như interleukin–1 hoặc yếu tố hoại tử mô.

5.2. Phòng bệnh

Sử dụng dung dịch chlorhexidine 0,2% để súc rửa miệng sau điều trị trong 2 tuần thường được khuyến cáo để kiểm soát mảng bám răng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gillespie SH, Hawkey PM. Principles and Practice of Cilinical Bacteriology. Second edition. John Wiley & Sons, Ltd. 2006.
2. Irfan UM, Dawson DV and Bissada NF. Epidemiology of periodontal disease: a review and clinical perspectives. Journal of the International Academy of Periodontology. 2001 (3): 14–21.
3. Kaplan JB, Kokeguchi S, Murayama Y and Fine DH. Sequence diversity in the major fimbrial subunit gene (flp–1) of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Oral Microbiology and Immunology. 2002 (17): 354–359.
4. Muller HP, Holderrieth S, Burkhardt U and Hoffler U. In vitro antimicrobial susceptibility of oral strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to seven antibiotics. Journal of Clinical Periodontology. 2002 (29): 736–742.
5. Planet PJ, Kachlany SC, Fine DH et al. The widespread colonisation island of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Nature Genetics. 2003 (34): 193–198.
6. Schreiner HC, Sinatra K, Kaplan JB et al. Tight–adherence genes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* are required for virulence in a rat model. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2003 (100): 7295–7300.
7. Slots J and Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. Periodontology. 2000 (20): 82–121.

BARTONELLA

Strong, Tyzzer và Sellards 1915

Loài mẫu: *Bartonella bacilliformis* (Strong, Tyzzer, Brues, Sellards và Gastiaburu 1913) Strong, Tyzzer và Sellards 1915.

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Bartonella là chi duy nhất thuộc họ *Bartonellaceae*, nằm trong dưới nhóm α2 của lớp Proteobacteria. *Bartonella* được đặt theo tên của bác sĩ A. L. Barton, người đầu tiên mô tả một loài vi khuẩn ái hồng cầu *Bartonella bacilliformis* năm 1909. Chi *Bartonella* hiện nay bao gồm nhiều loài thuộc cả ba chi *Bartonella*, *Rochalimaea* và *Grahamella*. Xét theo mức độ tương đồng về trình tự gen mã hóa cho 16S rRNA, *Bartonella* có quan hệ gần nhất với *Brucella* và *Agrobacterium*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các loài *Bartonella* bắt đầu được quan tâm từ khi chúng được biết là căn nguyên gây nên một số bệnh cảnh lâm sàng phổ biến như bệnh mèo cào (cat–scratch diease), bệnh tăng sinh mạch do trực khuẩn hay còn được biết đến là bệnh viêm nội tâm mạc cấy máu âm tính. Hiện nay, chi *Bartonella* gồm có 21 loài, trong đó 8 loài có khả năng gây bệnh cho người: *B. bacilliormis, B. quintana, B. henselae, B. visonii* subsp. *berkhoffii*, *B. visonii* subsp. *arupensis*, *B. grahamii, B. elizabethae*, và *B. washoensis*. Các vi khuẩn *Bartonella* có một đặc điểm duy nhất khác biệt với các vi khuẩn thuộc Prokaryotes là khả năng tạo khối u mạch máu. Người thường bị nhiễm trùng do *Bartonella* một cách tình cờ, trừ hai loài *Bartonella bacilliormis* và *B. quintana* có vật chủ là chó và mèo. Nhiễm trùng *Bartonella* ở người bao gồm các bệnh đã được mô tả từ rất lâu, và các bệnh mới được biết đến gần đây.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thái

Bartonella là các trực khuẩn nhỏ, hơi cong, kích thước 0,2–0,6 µl × 0,5–1,0 µm, bắt màu Gram âm nhạt. Chúng bắt màu rõ khi nhuộm Giemsa hoặc nhuộm Romanowski. Tất cả các loài trong chi *Bartonella*, trừ *B. bacilliformis* và *B. clarridgeiae*, không có lông. Sự có mặt của pili liên quan đến khả năng bám của vi khuẩn và đóng vai trò trung gian trong sự tương tác đặc hiệu giữa vi khuẩn với tế bào biểu mô và với tế bào hồng cầu của vật chủ, giúp cho vi khuẩn cư trú được bên trong các tế bào này.

2.2. Tính chất nuôi cấy

Bartonella thuộc loại hiếu khí tùy tiện, ký sinh nội tế bào. Chúng có thể mọc được trên môi trường nhân tạo nhưng thuộc loại khó nuôi cấy. Sự phát triển của các vi khuẩn *Bartonella* phụ thuộc vào thành phần hemin và với một số loài đòi hỏi phải có CO_2 trong khí trường nuôi cấy. Môi trường có máu thỏ hoặc máu cừu đều có thể dùng để nuôi cấy và phân lập vi khuẩn *Bartonella*. Trên môi trường nuôi cấy, ở 20–37°C, khí trường 5% CO_2, khuẩn lạc mọc sau 5 đến 15 ngày, thậm chí có loài mọc sau 45 ngày. Khuẩn lạc của các chủng mới phân lập thường có dạng R, sau nhiều lần cấy chuyển, khuẩn lạc có dạng S. Khuẩn lạc khi mới phân lập của *B. henselae, B. clarridgeiae, B. vinsonii* và *B. elizabethae* có màu trắng, khô, xù xì, lồi và ăn sâu vào môi trường. Khuẩn lạc của chúng rất khó bị phá vỡ hay khó lấy ra khỏi môi trường nuôi cấy khi cần cấy chuyển. Các loài *Bartonella* khác như *B. quintana*, khuẩn lạc nhỏ hơn, màu xám, trong, và hơi dính hoặc hơi nhày. *Bartonella* thường được coi là các vi khuẩn ký sinh nội bào tùy tiện vì tế bào đích của các vi khuẩn này ở động vật có thể là các tế bào nội mô hoặc các tế bào hồng cầu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.3. Tính chất sinh vật hóa học

Các *Bartonella* trơ về mặt sinh vật hóa học rất điển hình. Oxidase và catalase đều âm. Không tạo ra acid từ carbohydrate. *B. quintana* và *B. vinsonii* không có các enzym ly giải glycol nhưng chuyển hóa được succinate, pyruvate, và glutamine.

2.4. Đặc điểm di truyền học

Bộ gen của các loài *Bartonella* ước tính khoảng 1,6–2×10^6 bp. Không thấy có mặt plasmid trong bào tương của các vi khuẩn này. Tỷ lệ G+C mol% của bộ gen chiếm khoảng 39--41%. Trước đây, *B. quintana* được cho là có liên quan mật thiết với các loài *Rickettsia* nên được gọi tên là *Rickettsia quintana*. Sau đó, nó được chuyển sang chi mới là *Rochalimaea quintana* vì có khả năng nuôi cấy trên môi trường thạch có bổ sung máu người hoặc máu ngựa. Đặc điểm nuôi cấy không phụ thuộc tế bào đã loại *B. quintana* ra khỏi chi *Rickettsia*. Các kết quả về lai DNA--DNA cho thấy *B. quintana* và *B. vinsonii* chỉ có 30% tương đồng với *R. prowazekii*. Sự khác biệt về trình tự gen mã hóa cho citrate synthetase của *B. henselae* và *R. prowazekii* cũng khác biệt đến 30%. Các bằng chứng về sinh học phân tử trên đây khẳng định sự khác biệt rõ rệt giữa chi *Bartonella* và chi *Rickettsia*.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Cơ chế gây bệnh

Trong cơ thể, *B. bacilliformis* được tìm thấy trong tế bào hồng cầu ở những bệnh nhân sốt Oroya, *B. quintana* có mặt ở tế bào hồng cầu ở những người vô gia cư và thậm chí *B. quintana* còn được tìm thấy trong tế bào hồng cầu non ở tủy xương của những người vô gia cư bị nhiễm khuẩn huyết. Ở mèo, *B. henselae* và *B. koehlerae* cũng tìm thấy trong tế bào hồng cầu. Còn ở chuột, cũng đã quan sát thấy trong tế bào hồng cầu có *B. tribocorum*. Trong tế bào hồng cầu chuột, số lượng các vi khuẩn *B. tribocorum* nhân lên chỉ giới hạn nhiều nhất là 8 tế bào/hồng cầu. Cơ chế giới hạn về số lượng vi khuẩn trong tế bào này đến nay vẫn chưa được làm sáng tỏ, nhưng nó lý giải cho hiện tượng các tế bào vi khuẩn *Bartonella* tồn tại dai dẳng trong các tế bào hồng cầu mà không gây ly giải hồng cầu. *B. bacilliormis* bám vào tế bào hồng cầu nhờ lông. Các loài *Bartonella* khác không có lông, nhưng vẫn bám được vào tế bào hồng cầu thông qua các bó pili. Người ta cho rằng sự bám của *Bartonella* vào spectrin trên bề mặt hồng cầu là bước đầu tiên cần thiết làm biến đổi màng hồng cầu, giúp cho vi khuẩn có thể xâm nhập được vào trong tế bào hồng cầu. Tuy nhiên, còn có một protein của vi khuẩn có tên là deformin cũng có tham gia vào quá trình này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ngoài khả năng xâm nhập vào các tế bào hồng cầu, *Bartonella* còn có khả năng khởi động quá trình tạo mạch. Sự hướng động của các vi khuẩn này với các tế bào nội mô có liên quan chặt chẽ với khả năng tạo nên các tổn thương phình mạch trong bệnh verruga peruana do nhiễm trùng *B. bacilliformis* và tổn thương tăng sinh mạch do nhiễm trùng *B. henselae* và *B. quintana*. Nuôi cấy *B. henselae* hoặc *B. quintana* trong tế bào nội mô, khi kéo dài thời gian nuôi cấy sẽ làm kích thích sự phân chia tế bào và dẫn đến sự thay đổi về mặt hình thái tế bào tương tự như khi có các yếu tố tạo mạch tác động vào. Tác động tạo mạch chủ yếu là do sản sinh ra yếu tố tăng trưởng tế bào nội mô mao mạch khi tế bào biểu mô nội mạc bị nhiễm *Bartonella*. Thời gian nuôi cấy, phân lập các vi khuẩn *B. bacilliformis*, *B. henselae*, và *B. quintana* trong các tế bào nội mô người chỉ mất khoảng 10–15 ngày. Receptor trên các nội bào tiếp nhận *Bartonella* là các phân tử gắn nội bào 1 (intercellular adhesion molecule–1 – ICAM–1). *Bartonella* vào tế bào nội mô bằng cơ chế xâm nhập hoặc cơ chế thực bào.

3.2. Dịch tễ học

B. bacilliormis là căn nguyên gây bệnh Carrion và được truyền qua ruồi cát Lutzomyia ở vùng Peruvian Andes (Peru, Ecuador và Colombia). Người là ổ chứa duy nhất được biết của căn nguyên này. Ở những vùng này, tỷ lệ mắc rất cao, trong đó chủ yếu là các trường hợp nhiễm trùng không triệu chứng. Tuy nhiên, bệnh này cũng gặp ở những vùng không có mặt của Lutzomyia, chứng tỏ rằng có vai trò của các vector truyền bệnh khác.

Nhiễm trùng *B. quintana* được truyền qua chấy rận. Người là ổ chứa duy nhất của loài vi khuẩn này. Lần đầu tiên nhiễm trùng *B. quintana* được biết đến như là bệnh sốt hầm hào trong chiến tranh thế giới thứ nhất. Vi khuẩn này sau đó được phát hiện có trong bọ chét mèo, chứng tỏ rằng hoặc có vector truyền bệnh khác chấy rận, hoặc có ổ chứa là động vật. Sau chiến tranh thế giới thứ nhất, tỷ lệ mới mắc của bệnh sốt hầm hào có giảm. Tuy nhiên, trong chiến tranh thế giới thứ hai, bệnh lại tăng trở lại. Đã có rất nhiều nghiên cứu công bố sự gia tăng đáng ngại của nhiễm trùng *B. quintana* bao gồm nhiễm trùng huyết ở người vô gia cư, viêm nội tâm mạc và phình mạch trực khuẩn ở châu Âu và Mỹ. Các yếu tố dịch tễ học có liên quan một cách có ý nghĩa với nhiễm trùng *B. quintana* là điều kiện sống nghèo khổ, mất vệ sinh, có chấy rận trên người, và nghiện rượu. Một nghiên cứu ở Mỹ cho thấy dùng thuốc đường tĩnh mạch là một yếu tố nguy cơ nhiễm trùng *B. quintana*.

B. henselae được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1990. Nó là tác nhân gây bệnh mèo cào, bệnh phình mạch trực khuẩn, và viêm gan xuất huyết ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Mèo là ổ chứa chính của *B. henselae*. Mèo bị nhiễm khuẩn huyết không có biểu hiện triệu chứng gì. Vi khuẩn được truyền qua bọ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chét mèo *Ctenocephalides felis*. Người bị nhiễm qua vết cắn hay vết mèo cào. Bọ chét mèo đóng vai trò là vector truyền bệnh cho người.

Dịch tễ học của các loài *Bartonella* gây bệnh khác chưa được hiểu biết đầy đủ nhưng vai trò của một số vector truyền bệnh như ve, chấy rận, đã được chứng minh bằng phương pháp khuếch đại ADN.

3.3. Đặc điểm lâm sàng của các bệnh nhiễm trùng *Bartonella*

Bệnh Carrion

Bệnh Carrion có hai trạng thái biểu hiện: (i) nhiễm trùng huyết cấp có tan máu là biểu hiện của bệnh sốt Oroya; (ii) nhiễm trùng mạn tính với tổn thương là các u nhú mạch ở da là biểu hiện đặc trưng của bệnh verruga peruana.

Sốt Oroya thường tiến triển từ 3 đến 12 tuần sau thời kỳ ủ bệnh. Trong các trường hợp nhẹ, dạng tiến triển thầm lặng, sốt thường thuyên giảm trong vòng 1 tuần. Trong trường hợp khởi phát bệnh đột ngột, bệnh nhân sốt cao, rét run, toát mồ hôi, đau đầu, có những thay đổi về mặt tâm thần song hành với tình trạng thiếu máu cấp và trầm trọng do vi khuẩn xâm nhập ồ ạt vào trong tế bào hồng cầu. Đau cơ, khớp dữ dội, bệnh hạch lympho, giảm hồng cầu, và các biến chứng như tai biến mạch, mê sảng, viêm não màng não, khó thở, đau thắt ngực có thể xảy ra trong giai đoạn này. Hầu hết các biến chứng này là do tình trạng thiếu máu nặng nề và tắc nghẽn ở các vi mạch đưa đến tình trạng thiếu máu cục bộ. Giai đoạn nhiễm trùng cấp tương ứng với thời kỳ vi khuẩn xâm nhập vào tế bào hồng cầu ồ ạt. Nếu không điều trị, tỷ lệ tử vong ở giai đoạn cấp có thể từ 40% đến 85%. Ở những người sống sót, trong giai đoạn hồi phục, sốt giảm dần, vi khuẩn không còn tìm thấy trên tiêu bản máu nhưng có thể bệnh nhân lại rất nhạy cảm với các nhiễm trùng cơ hội như nhiễm trùng do *Salmonella* và *Toxoplasma*. Các nhiễm trùng thứ phát này là nguyên nhân chủ yếu gây tử vong ở các bệnh nhân sốt Oroya. Tình trạng nhiễm trùng huyết kéo dài không triệu chứng có thể gặp ở khoảng 15% số người sống sót sau giai đoạn nhiễm trùng cấp tính. Trong suốt giai đoạn cấp tính, dễ dàng phát hiện được vi khuẩn khi nhuộm Giemsa hoặc nhuộm miễn dịch huỳnh quang tế bào hồng cầu.

Bệnh verruga peruana có biểu hiện lâm sàng đặc trưng là các tổn thương mao mạch da lành tính dạng u cục nhỏ. Các tổn thương mạch lành tính này rất dễ vỡ và chảy máu. Mô bệnh học đặc trưng của tổn thương này là sự tăng sinh của các mao mạch tân tạo với sự có mặt của các tế bào vi khuẩn trong khoảng kẽ. Sự xâm nhập, nhân lên của vi khuẩn bên trong tế bào nội mô mà trước đây được cho là yếu tố sinh bệnh học của các hạt vùi trong bào tương tế bào lần đầu tiên được Roccha–Lima mô tả rất hiếm thấy. Các u cục này có thể tồn tại trong nhiều tháng đến nhiều năm và cuối cùng trở nên xơ hóa và teo nhỏ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bệnh sốt hầm hào và nhiễm trùng huyết mạn tính

Sốt hầm hào còn gọi là sốt quintan, là trạng thái nhiễm trùng huyết *B. quintana*. Bệnh lây truyền qua chấy rận. Giai đoạn ủ bệnh kéo dài từ 15 đến 25 ngày. Biểu hiện lâm sàng của bệnh sốt hầm hào có thể ở trạng thái không triệu chứng đến rất nặng. Triệu chứng cổ điển của bệnh sốt hầm hào được mô tả trong thời kỳ chiến tranh thế giới thứ nhất ở binh lính gồm có sốt cao đột ngột, có tính chất chu kỳ, kèm theo đau đầu dữ dội, đau các xương dài ở chân. Thuật ngữ sốt quinta có nghĩa là sốt có chu kỳ, cứ 5 ngày lại xuất hiện cơn sốt. Mặc dù sốt hầm hào dẫn đến tình trạng bệnh tật kéo dài, không có ca tử vong nào được nhắc tới. Rất ít các trường hợp diễn biến thành mạn tính với những đợt sốt và đau. Nhiễm trùng huyết kéo dài là một triệu chứng của nhiễm trùng *B. quintana* ở binh lính trong các thời kỳ chiến tranh thế giới. *B. quintana* còn là căn nguyên gây nhiễm trùng huyết ở những người vô gia cư và ở bệnh nhân AIDS. Ở những người này, nhiễm trùng *B. quintana* có thể diễn biến cấp tính và trầm trọng nhưng thường ở trạng thái nhiễm trùng tiềm tàng trong nhiều tháng, có ít hay không hề có triệu chứng lâm sàng.

Bệnh mèo cào

Triệu chứng cổ điển của bệnh mèo cào được xem là các triệu chứng điển hình của bệnh, các biểu hiện lâm sàng khác của nhiễm *B. henselae* được coi là bệnh mèo cào không điển hình. Ở các trường hợp bệnh mèo cào điển hình, khoảng 89% có ú nhú hoặc mụn mủ trên da xuất hiện trong vòng 1 tuần sau khi tiếp xúc với con vật ở chỗ vết cắn hoặc vết cào, hầu như tất cả các bệnh nhân đều có tiền sử bị mèo cào hoặc cắn. Một vài ngày sau khi bị mèo cào, các hạch lympho lân cận bị sưng. Nhiễm trùng thường tự khỏi, nhưng ở giai đoạn cuối của bệnh, khoảng 10% bệnh nhân có hạch lympho bị mưng mủ nếu không được dẫn lưu. Hầu hết các bệnh nhân bị bệnh mèo cào điển hình thường không sốt, không mệt mỏi trong suốt giai đoạn của bệnh. Ở hầu hết các bệnh nhân, đều thấy có sưng hạch lympho lân cận vị trí vết mèo cắn, cào, đặc biệt hay gặp hạch ở nách, cổ, và bẹn. Giải phẫu mô bệnh học các hạch là hỗn hợp của các phản ứng viêm không đặc hiệu dạng u hạt và hoại tử dạng hình sao.

Những bệnh nhân bị bệnh mèo cào không điển hình, thường có sốt kéo dài trên 2 tuần, mệt mỏi, khó chịu, đau cơ, đau khớp, sút cân, và lách to. Ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch, đặc biệt là các bệnh nhân nhiễm HIV, các triệu chứng lâm sàng thường biểu hiện nặng nề, lan tỏa và tiến triển ngày một trầm trọng. Nếu không được điều trị kịp thời và đúng đắn, nhiễm trùng sẽ lan tỏa toàn thân, đến các cơ quan và thường dẫn đến tử vong. Các biểu hiện nội tạng của bệnh mèo cào ở trẻ em là biểu hiện lâm sàng không điển hình của bệnh mèo cào. Triệu chứng lâm sàng khác không điển hình là u hạt kết mạc mắt cùng với viêm hạch mang tai. Triệu chứng này sẽ giảm dần sau vài tuần đến vài tháng. Đây là

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

biểu hiện hay gặp nhất ở các thể bệnh mèo cào không điển hình. Bệnh lây truyền do tiếp xúc với mèo bị nhiễm vi khuẩn *Bartonella*. Bệnh lý não trong bệnh mèo cào gặp khoảng 0,17–2%. Khởi đầu của các biến chứng thần kinh rất khác nhau, có thể từ vài ngày đến 2 tháng sau khi có biểu hiện bệnh lý hạch lympho. Các triệu chứng gồm có co giật, đau đầu liên tục, khó chịu và hôn mê, kéo dài một đến vài tuần. Biểu hiện mất thị lực thoáng qua với tổn thương dạng viêm võng mạc hình sao do *B. henselae* bao gồm mất thị lực một bên, ám điểm trung tâm, sưng gai thị và hình thành các thương tổn hình sao nhưng hồi phục ngay và lấy lại được thị lực trong vòng 1–3 tháng. Cả bệnh lý não và viêm võng mạc thần kinh đều là các biến chứng hiếm gặp của bệnh mèo cào.

Mặc dù *B. quintana* không được coi là tác nhân của bệnh mèo cào, vi khuẩn này đã từng được phân lập từ máu của bệnh nhân bị bệnh hạch lympho. Trong các ca bệnh được Raoult và Drancourt mô tả, yếu tố nguy cơ dịch tễ được xác định là sự có mặt của các con bọ chét mèo nhiễm vi khuẩn và gần đây ADN của *B. quintana* đã được tìm thấy trong các con bọ chét mèo.

Chẩn đoán bệnh mèo cào rất dễ dàng bị bỏ qua nếu bác sĩ lâm sàng không khai thác đầy đủ tiền sử, đặc biệt là trong những ca bệnh không điển hình. Tuy nhiên, có một điều rất may mắn là cho dù bị bệnh mèo cào ở dạng điển hình hay không điển hình bệnh nhân sẽ tự khỏi sau 2–4 tháng.

Viêm nội tâm mạc

B. quintana, B. henselae, B. elizabethae, và *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* được tìm thấy ở những bệnh nhân bị viêm nội tâm mạc do vi khuẩn. Ca viêm nội tâm mạc do *Bartonella* đầu tiên được xác nhận ở bệnh nhân nam quan hệ đồng giới nhiễm HIV năm 1993. Viêm nội tâm mạc do *B. quintana* sau đó được ghi nhận ở 3 người đàn ông vô gia cư không nhiễm HIV ở Pháp. Tất cả các bệnh nhân đều tổn thương van tim nặng cần được thay thế. Tiếp sau các ca bệnh này, một loạt các ca viêm nội tâm mạc do *B. quintana, B. henselae* và *Bartonella* spp được chẩn đoán. Viêm nội tâm mạc do *B. quintana* được chẩn đoán phân biệt với viêm nội tâm mạc do *B. henselae* chủ yếu dựa vào yếu tố dịch tễ học. Viêm nội tâm mạc do *B. quintana* thường gặp ở những người vô gia cư, ở người nghiện rượu mà chưa hề có các tổn thương van tim trước đó. Trái lại, viêm nội tâm mạc do *B. henselae* chủ yếu gặp ở những bệnh nhân đã có bệnh lý van tim, và đã từng tiếp xúc với mèo.

Tăng sinh mạch trực khuẩn và viêm gan xuất huyết

Tăng sinh mạch trực khuẩn là bệnh tăng sinh tân mạch máu, thường ở da nhưng cũng có thể lan tỏa tới các cơ quan. Bệnh tăng sinh mạch lần đầu tiên được phát hiện ở những bệnh nhân nhiễm HIV và những người được ghép mô, cơ quan. *B. quintana* và *B. henselae* đều là các căn nguyên gây tăng sinh mạch được chứng minh bằng các bằng chứng nuôi cấy trực tiếp và PCR khuếch đại gen mã

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hóa cho 16S rRNA. Các thương tổn trên da ở bệnh tăng sinh mạch trực khuẩn này là các biểu hiện lâm sàng nặng nề nhất. Các tổn thương da đầu tiên ở dạng mụn nhỏ, sau đó to dần lên hình thành các khối u. Đặc điểm cơ bản của tổn thương là các u, cục trên da hoặc dưới da, các nhú có dạng vòm, màu da hoặc đỏ, tím, có thể có một u nhú duy nhất nhưng cũng có khi có rất nhiều. Các tổn thương này có thể bị loét ra, chảy máu hoặc huyết thanh, có vỏ cứng (crusting). Đường kính các u nhú có thể từ vài mm đến vài cm, số lượng từ một đến vài trăm, có thể cố định nhưng cũng có thể di động tự do, kèm theo các hạch lympho lân cận bị sưng to. Các tổn thương có thể có ở bề mặt niêm mạc, ở các mô mềm và chảy máu rất nhiều khi bị chọc vỡ. Các thương tổn ở nội tạng cũng khá là nghiêm trọng về cả số lượng và các hình thái tổn thương. Trên lâm sàng cần chẩn đoán phân biệt với u hạt sinh mủ, u máu, u dưới da, sarcoma Kaposi. Về mô học, tổn thương trong bệnh tăng sinh mạch trực khuẩn có thể phân biệt được khá rõ với các khối u mạch khác. Tổn thương u nhú trong bệnh tăng sinh mạch trực khuẩn bao gồm sự tăng sinh phân thùy của các mao mạch nhỏ chứa các tế bào biểu mô hình khối, căng tròn cùng với các tế bào viêm mà chủ yếu là bạch cầu đa nhân trung tính nằm rải rác trong đó. Tổn thương tăng sinh mạch trực khuẩn ở da thường song hành với các tổn thương ở tủy xương, gan, lách, và hạch lympho. Tuy nhiên, không có nghĩa là tổn thương ở da luôn có mặt trong bệnh tăng sinh mạch trực khuẩn. Bệnh nhân có thể chỉ có nhiễm trùng ở lách, gan, hoặc ở hạch lympho.

Viêm gan xuất huyết là do sự tăng sinh các mao mạch cửa trong gan làm cho trong gan đầy ứ máu. Bệnh này lần đầu tiên được mô tả ở bệnh nhân lao và bệnh nhân ung thư tiến triển. *B. henselae* gần đây được công nhận là căn nguyên gây nên viêm gan xuất huyết ở những bệnh nhân HIV. Viêm gan xuất huyết có thể coi là một biểu hiện tổn thương nội tạng của bệnh tăng sinh mạch trực khuẩn. Cũng vì thế mà thuật ngữ xuất huyết trực khuẩn được chấp nhận sử dụng.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Các triệu chứng lâm sàng thường không đặc trưng nên đòi hỏi khẳng định chẩn đoán bằng các xét nghiệm cận lâm sàng. Chẩn đoán nhiễm trùng do *Bartonella* khá khó khăn do vi khuẩn khó nuôi cấy và các phương pháp chẩn đoán huyết thanh học còn nhiều hạn chế. Cho đến nay, xét nghiệm mô bệnh học mảnh sinh thiết và PCR là phương pháp hữu hiệu để chẩn đoán căn nguyên này.

4.1. Bệnh phẩm

Các loại bệnh phẩm được sử dụng cho chẩn đoán phát hiện *Bartonella* bao gồm: máu, mảnh sinh thiết, các vector. Thu thập bệnh phẩm tiến hành càng sớm càng tốt. Máu chống đông bằng citrate dùng cho nuôi cấy, còn để cho chẩn đoán bằng PCR cần chống đông bằng EDTA. Không nên dùng máu chống đông bằng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

EDTA cho nuôi cấy vì nó làm bong các tế bào một lớp khỏi chai nuôi cấy. Máu nên được lấy trước khi dùng kháng sinh. Nếu không thể tiến hành nuôi cấy tế bào hoặc làm PCR ngay trong vòng 24 giờ, cần bảo quản huyết tương, tế bào bạch cầu, hoặc máu toàn phần ở –70°C hoặc trong nitơ lỏng.

Cho chẩn đoán huyết thanh học, máu phải được lấy hai lần. Lần đầu trong giai đoạn sớm của bệnh. Lần 2 lấy máu cách lần đầu 1–2 tuần. Huyết thanh cần được bảo quản ở –20°C hoặc ở nhiệt độ thấp hơn để kháng thể nếu có, không bị giáng hóa. Tiêu bản máu đàn rất có giá trị trong chẩn đoán bệnh Carrion.

Bệnh phẩm sinh thiết có giá trị cho chẩn đoán bệnh mèo cào là các hạch lympho. Để chẩn đoán viêm nội tâm mạc do *Bartonela*, bệnh phẩm sinh thiết tốt nhất là van tim, mảnh mạch máu tăng sinh.

Bartonella có thể phát hiện bằng PCR, nuôi cấy, huyết thanh học chẩn đoán ở các côn trùng tiết túc vector như ve, chấy rận, bọ chét. Các con côn trùng tiết túc phải được khử trùng trước khi nghiền nhỏ và nuôi cấy. Bệnh phẩm côn trùng tiết túc có thể giữ khô trong lọ kín gửi bưu điện về các phòng xét nghiệm chuẩn thức để khẳng định chẩn đoán.

4.2. Phương pháp chẩn đoán trực tiếp

Nuôi cấy

Có thể phân lập vi khuẩn *Bartonella* trên môi trường axenic hoặc trên hệ thống nuôi cấy tế bào. *Bartonella* có thể mọc trên môi trường thạch máu có 5% CO_2, ở 37°C, trừ *B. bacilliformis* mọc tốt ở 30°C. Thời gian phân lập lần đầu cần 12–15 ngày, thậm chí có thể kéo dài đến 45 ngày. Do đó, đĩa nuôi cấy cần theo dõi trong 2 tháng. Khả năng bắt được vi khuẩn sẽ cao hơn nếu bệnh phẩm được làm đông băng hoặc làm ly giải tế bào. Cả hai kỹ thuật nuôi cấy cần được sử dụng để phân lập *Bartonella* đó là nuôi cấy trong môi trường có axenic và nuôi cấy trên tế bào để tăng khả năng phân lập được vi khuẩn. Hầu hết các chủng *Bartonella* mọc tốt trên môi trường HI có bổ sung 5–10% máu thỏ hay máu ngựa chống đông hơn trên môi trường chocolate hoặc thạch máu cừu 5%. Các loài *Bartonella* nói chung mọc tốt nhất trên môi trường đặc và thạch mềm. Trong canh thang, chúng không làm đục canh thang. Thông thường các vi khuẩn này không chuyển đổi hợp chất chứa oxy thành CO_2 để có thể phát hiện được bằng hệ thống nuôi cấy tự động. Có thể nuôi cấy phân lập *Bartonella* từ bệnh phẩm máu bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết, bệnh phẩm van tim, bệnh phẩm da, hạch lympho, và các mảnh sinh thiết các mô, cơ quan. *B. henselae* và *B. quintana* có thể phân lập được từ nhiều loại mô khác nhau. Trong hầu hết các trường hợp có thể nuôi cấy trực tiếp trên thạch đĩa hoặc đồng nuôi cấy với dòng tế bào biểu mô. Kỹ thuật đồng nuôi cấy không khả thi cho hầu hết các phòng xét nghiệm vi sinh lâm sàng. Nếu không đồng nuôi cấy với dòng tế bào biểu mô, phải hơn 1 tháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

mới hình thành khuẩn lạc khi nuôi cấy từ bệnh phẩm mô. Khuẩn lạc của các loài *Bartonella* rất dính. Có hai dạng khuẩn lạc, một là dạng khuẩn lạc lớn, lồi, khô ráp, xù xì, màu hơi trắng, bờ không đều, một loại khuẩn lạc nhỏ hơn, tròn, màu nâu vàng, bề mặt ướt. Cả hai dạng khuẩn lạc đều xuất hiện trên đĩa nuôi cấy. Tuy nhiên, mức độ hỗn tạp các loại khuẩn lạc khác nhau ở các loài khác nhau. Các chủng *B. henselae* khi mới nuôi cấy chủ yếu là dạng khuẩn lạc to. Khi cấy chuyển nhiều lần, các khuẩn lạc nhỏ chiếm đa số.

Khi tiến hành nhuộm Gram từ khuẩn lạc nuôi cấy thấy hình ảnh các trực khuẩn nhỏ, hơi cong nhẹ, Gram âm gần giống như *Haemophilus*, *Campylobacter* hay *Helicobacter*. Soi tươi thấy hình ảnh các vi khuẩn chuyển động giật lùi. Có thể định hướng chẩn đoán *B. henselae* và *B. quintana* dựa trên đặc điểm khuẩn lạc, hình ảnh nhuộm Gram, đặc điểm di động, thời gian nuôi cấy kéo dài trên 7 ngày, catalase và oxidase âm, không tạo thành acid từ carbohydrate.

Rất hiếm khi phân lập được *B. henselae* ở bệnh nhân bị bệnh mèo cào.

Miễn dịch học chẩn đoán

Phương pháp miễn dịch học được sử dụng để chẩn đoán *Bartonella* trong mảnh sinh thiết da của bệnh nhân tăng sinh mạch trực khuẩn, viêm gan xuất huyết, bệnh mèo cào thể lympho, và van tim của bệnh nhân bị viêm nội tâm mạc do *Bartonella*.

Phương pháp huỳnh quang miễn dịch phát hiện *B. henselae* trong bệnh mèo cào được tiến hành trực tiếp trên tiêu bản nhuộm hạch lympho. Huỳnh quang miễn dịch phát hiện *B. quintana* trong tế bào hồng cầu ở bệnh nhân vô gia cư nhiễm trùng huyết và những bệnh nhân sốt Oroya cũng đã được thực hiện.

Sinh học phân tử

PCR khuếch đại các đoạn gen của các gen khác nhau như *gltA* (citrate synthetase gene), 16S rRNA, 16S–23S rRNA ITS (16S–23S internal transcribed spacer), *groEL* (60 kDa heat–shock protein gene), và *pap31* (31–kDa major protein gene) đã được sử dụng để chẩn đoán các nhiễm trùng do *Bartonella*. Các đoạn gen sau khi đã được khuếch đại sẽ được kiểm tra bằng giải trình tự, lai, hoặc cắt bằng enzym giới hạn để khẳng định chẩn đoán. Độ đặc hiệu của phương pháp sinh học phân tử rất cao, song độ nhạy thì khác nhau tùy thuộc vào từng loại bệnh phẩm. Do đó, chiến lược chẩn đoán *Bartonella* hiện nay là sử dụng hai gen đích khác nhau để phát hiện *Bartonella*. Nếu kết quả của hai gen không thống nhất thì cần sử dụng thêm một gen đích thứ ba (*groEL*) để khẳng định chẩn đoán. Các mẫu bệnh phẩm chỉ được kết luận dương tính khi ít nhất hai gen đích cho kết quả dương tính và trình tự đoạn gen được khuếch đại đã được khẳng định. Khuếch đại ADN của *Bartonella* trong bệnh phẩm sinh thiết rất có ý nghĩa để chẩn đoán bệnh mèo cào, bệnh phình mạch trực khuẩn, và viêm nội tâm mạc.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.3. Phương pháp chẩn đoán gián tiếp

Huyết thanh học chẩn đoán là phương pháp chẩn đoán duy nhất không can thiệp cho bệnh mèo cào, nhiễm trùng huyết, và viêm nội tâm mạc. Có hai kỹ thuật huyết thanh học đã được phát triển để chẩn đoán các nhiễm trùng do *Bartonella* là huỳnh quang miễn dịch IFA và ELISA. Vấn đề khó khăn nhất của phương pháp chẩn đoán huyết thanh học là hiệu giá kháng thể xác định được khác nhau tùy thuộc vào cách xử lý kháng nguyên. Kháng nguyên có thể được tách từ các tế bào vi khuẩn nuôi cấy trên môi trường thạch hoặc từ vi khuẩn nuôi cấy trên tế bào. Tuy vậy, đây vẫn là kỹ thuật thường dùng nhất để chẩn đoán bệnh mèo cào cho dù độ nhạy của nó rất khác nhau, có thể dao động từ dưới 30% đến 100%. Độ nhạy và độ đặc hiệu của các thử nghiệm huyết thanh học còn phụ thuộc vào giá trị ngưỡng (cut–off) của từng thử nghiệm. Vì bệnh mèo cào tổn thương hạch lympho có thể kéo dài nhiều tháng nên khi xét nghiệm có thể phản ứng huyết thanh học dương tính nhưng PCR âm tính, chứng tỏ bệnh nhân đã bị bệnh trước đó và hiện tại không còn trạng thái nhiễm trùng cấp tính nữa. Đây cũng là lý do vì sao mà phân lập vi khuẩn từ hạch lympho rất khó khi mà phản ứng huyết thanh học vẫn dương tính.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Kháng sinh đồ

Thử nghiệm kháng sinh đồ in vitro cho thấy rất nhiều các thuốc kháng sinh có tính kháng khuẩn với *Bartonella*. Các loài *Bartonella* nhạy cảm với các aminoglycoside, chloramphenicol, tetracycline, macrolide, rifampin, fluoroquinolone, và cotrimoxazole. Tuy nhiên, nồng độ ức chế tối thiểu trên thử nghiệm in vitro không tương ứng với hiệu quả điều trị cho bệnh nhân trên lâm sàng. Đã có rất nhiều trường hợp điều trị bằng β–lactam, macrolide, tetracycline, rifampin hoặc fluoroquinolone bị thất bại. Bệnh rất dễ tái phát khi ngừng thuốc. Sự khác biệt về kết quả in vitro và in vivo là do các kháng sinh không có khả năng diệt khuẩn đối với *Bartonella*.

5.2. Điều trị

Trước khi có kháng sinh, chỉ có mỗi biện pháp truyền máu cho những trường hợp thiếu máu cấp do sốt Oroya. Tuy nhiên, hiệu quả của phương pháp điều trị này rất thấp và do đó tỷ lệ tử vong khá cao, đến 80%. Chloramphenicol có hiệu quả tốt cho hầu hết các trường hợp nhiễm trùng do *Bartonella*. Các trường hợp thất bại với chloramphenicol, cần kết hợp với các kháng sinh khác, đặc biệt là nhóm β–lactam, để tăng hiệu quả điều trị.

Bệnh mèo cào điển hình không đáp ứng với liệu pháp kháng sinh điều trị.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các biện pháp điều trị triệu chứng như giảm đau, dẫn lưu mủ có thể tiến hành khi cần thiết. Azithromycin không làm giảm tỷ lệ và mức độ khởi ở những bệnh nhân bị bệnh mèo cào nhưng nó có tác dụng làm nhỏ hạch sưng trong tháng đầu tiên điều trị. Khuyến cáo điều trị hiện nay cho các bệnh nhân bị bệnh mèo cào thể trung bình đến nặng là không điều trị gì. Azithromycin có thể được sử dụng trong những trường hợp bệnh nhân có hạch lympho sưng to. Ở những bệnh nhân mà hạch lympho hóa mủ, hút dẫn lưu mủ là biện pháp điều trị tốt nhất kèm theo nên giảm đau cho bệnh nhân trong vòng 24–48 giờ đầu.

Các bệnh nhân bị sốt hầm hào hầu hết gặp ở thời kỳ trước khi phát hiện ra thuốc kháng sinh. Không có ca tử vong nào do sốt hầm hào được ghi nhận trong suốt thời kỳ chiến tranh. Aspirin là thuốc giảm đau hiệu quả nhất. Trong chiến tranh thế giới thứ 2, tetracycline và chloramphenicol cũng mang lại hiệu quả trong điều trị sốt hầm hào. Các nghiên cứu thử nghiệm tối ưu hóa điều trị nhiễm khuẩn huyết mạn tính do *B. quintana* cho thấy liệu trình điều trị gentamicin (3 mg/kg tiêm 1 lần/ngày) trong 14 ngày và doxycycline (200 mg/ngày uống 1 lần/ngày) trong 28 ngày là hiệu quả nhất. Các bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết mạn tính cần xem xét và theo dõi viêm nội tâm mạc.

Vấn đề sử dụng kháng sinh trong điều trị bệnh tăng sinh mạch trực khuẩn và viêm gan xuất huyết chưa bao giờ được nghiên cứu một cách hệ thống. Bệnh nhân đầu tiên được mô tả được điều trị theo kinh nghiệm bằng erythromycin và các tổn thương khỏi hoàn toàn. Kể từ đó, erythromycin là kháng sinh hàng đầu được lựa chọn để điều trị cho các bệnh nhân tăng sinh mạch trực khuẩn. Doxycycline và fluoroquinolone có thể là các kháng sinh thay thế cho erythromycin. Nếu bệnh nhân nặng, nên tiêm tĩnh mạch erythromycin. Điều trị phối hợp rifampin với erythromycin hoặc với doxycycline được chỉ định cho bệnh nhân ức chế miễn dịch bị nhiễm trùng *Bartonella* cấp tính và trầm trọng. Liệu pháp điều trị phải được tiến hành ít nhất 3 tháng đối với bệnh nhân tăng sinh mạch trực khuẩn và 4 tháng đối với bệnh nhân viêm gan xuất huyết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anderson BE, Neuman MA. *Bartonella* spp. As emerging human pathogen. Clin. Microbiol. Rev. 1997 (10): 203–219.
2. Anderson B, Friedman H, Bendinelli M. Rickettsial Infection and Immunity. Kluwer Academic Publisher. New York. 2002.
3. Chomel BB, Rolain JM. *Bartonella*. In Manual of Clinical Microbiology. Murray PR et al eds. 9th ed, 2007. ASM Press. Washington DC.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. Dehio C. Molecular and Cellular Basis of *Bartonella* Pathogenesis. Annu. Rev. Microbiol. 2004 (58): 365–390.
5. Kirby JE, Nekorchuk DM. *Bartonella*–associated endothelial proliferation depends on inhibition of apoptosis. PNAS. 2002 (99): 4656–4661.
6. Stephan H. Gillespie and Peter M. Hawkey eds. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. 2nd ed, 2006. John Wiley & Sons, Ltd.

MYCOPLASMA

Nowak 1929

Loài mẫu: *Mycoplasma mycoides* (Borrel, Dujardin–Beaumetz, Jeantet và Jouan 1910) Freundt 1955.

1. GIỚI THIỆU

Mycoplasma được phân lập lần đầu tiên vào năm 1898, từ một con bò bị viêm phổi–màng phổi truyền nhiễm. Vì vậy, nhiều loài được phát hiện sau đó đã được gọi tên là PPLO – Pleuro–Pneumonia Like Organisms. Ghi lại trường hợp người bệnh đầu tiên là mô tả của Dienes và Edsall về một áp xe tuyến Bartholin năm 1937; có thể đó là do *Mycoplasma hominis*. Năm 1954 Shepard phân lập được *Mycoplasma* từ đường sinh dục–tiết niệu. Đó là *Mycoplasma* tạo khuẩn lạc nhỏ được gọi là chủng T (*tiny*: nhỏ); ngày nay chúng ta biết đó là *Ureaplasma*. Năm 1962 Chanock, Hayflick và Barile đã thành công trong việc nuôi cấy *Mycoplasma pneumoniae* gây viêm phổi không điển hình trên môi trường nhân tạo, không cần tế bào sống. Họ xác định chất Eaton mà trước đó được nuôi cấy trên bào thai gà là *Mycoplasma*. Năm 1981 *M. genitalium* được phân lập từ dịch niệu đạo của một bệnh nhân nam bị viêm tiết niệu không do lậu. Loài *M. fermentans* được biết từ 1952 và *M. penetrans* được biết từ 1991. Gần đây được tìm thấy nhiều hơn ở bệnh nhân nhiễm HIV.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Phân loại

Mycoplasma hoàn toàn không có vách nên được xếp vào lớp *Mollicutes* (mollis: mềm, cutis: da). Dựa vào nơi sinh sống tự nhiên của chúng, nhu cầu sterol và một số đặc điểm khác, lớp này chia thành bốn bộ gồm: *Mycoplasmatales, Entomoplasmatales, Acholesplasmatales* và *Anaeroplasmatales*. Ít nhất có 183 loài trong lớp *Mollicutes* đã được biết.

Những loài phân lập được từ người, chủ yếu nằm trong bộ *Mycoplasmatales*,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

họ *Mycoplasmataceae*, gồm hai chi *Mycoplasma* và *Ureaplasma*. Ba mươi trong số 107 loài *Mycoplasma* và một trong bảy loài *Ureaplasma* được phân lập từ người; số còn lại được phân lập từ động vật. *Ureaplasma urealyticum* là loài dị gen (heterogenous) nên được chia tiếp thành hai loài riêng biệt là *U. urealyticum* và *U. parvum*; trước đây gọi là biovars 1 và 2 (dạng sinh học 1 và 2). Chúng được gọi chung là *Ureaplasma spp*. Những loài khác thuộc 2 chi *Mycoplasma* và *Ureaplasma* có nguồn gốc từ động vật. *Acholeplasma laidlawii* thuộc chi *Acholeplasma* và *A. oculi* được mô tả là hiếm thấy ở người. *Entomoplasmatales* có túc chủ là côn trùng và cây cỏ.

Giải trình tự 16S rRNA cho thấy *Mycoplasma* có quan hệ họ hàng gần với trực khuẩn Gram dương, kỵ khí – *Clostridia*; chúng cùng có tỷ lệ G + C (guanine + cytosine) thấp. Có thể cùng chung một tổ tiên, những vi khuẩn mất vách và giảm bớt bộ gen (genome) đã tiến hoá thành *Mycoplasma*.

2.2. Hình thể

Mycoplasma có kích thước rất nhỏ (0,2 – 0,3 µm). *Mycoplasma* là vi khuẩn Gram âm, nhưng nhuộm màu không tốt, nhuộm Giemsa cho kết quả tốt hơn. *Mycoplasma* bị biến dạng qua bước cố định tiêu bản thông thường, nên thường được quan sát sống trong môi trường lỏng. Dưới kính hiển vi phản pha thấy *Mycoplasma* đa hình thái, dạng hình cầu hoặc dạng sợi tuỳ từng loài và tuỳ điều kiện nuôi cấy. Dưới kính hiển vi điện tử thấy rõ chúng có một cấu trúc tận cùng đặc biệt, ví như các "chi" có vai trò quan trọng để bám vào tế bào chủ và để di động.

2.3. Cấu tạo

Mycoplasma hoàn toàn không có vách nên đa hình thái và khác với dạng L (L–form), vì dạng L có tiền chất peptidoglycan và có protein gắn penicillin (penicillin binding proteins). Vì không có vách nên *Mycoplasma* có thể qua được màng lọc vi khuẩn. Tất cả các loài của chi *Mycoplasma* và *Ureaplasma* đều có cholesterol trong màng bào tương; chất này hầu như chỉ có ở màng tế bào nhân thật (eukacryote). Trong tế bào, lượng lipid toàn phần khá cao (10–20%). Ở *M. pneumoniae* có một chất giống như actin, có thể giữ vai trò làm "khung xương" tạo hình dạng cho tế bào và làm nhiệm vụ di động. Không thấy *Mycoplasma* có mesosom, pili, lông và vỏ. *Mycoplasma* sinh sản theo kiểu song phân giống như vi khuẩn, nhưng không nhờ vách ngang mà do màng bào tương thắt lại. Lúc đầu chúng chưa ngắt ra khỏi nhau, nên còn nằm lại với nhau tạo ra dạng sợi.

2.4. Di truyền

Bộ gen của các loài thuộc chi *Mycoplasma* có kích thước rất nhỏ, chỉ từ 580 đến1360 kb (kilo base pair – nghìn cặp base) và thuộc chi *Ureaplasma* từ 750 đến

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

1170 kbp. Tỷ lệ G + C từ 23–40 mol% ở chi *Mycoplasma* và 27–30 mol% ở chi *Ureaplasma*. Chúng chỉ có một hoặc hai operon rRNA và số lượng operon tRNA giảm. Đến nay, việc giải trình tự toàn bộ genom của 8 *Mycoplasma* đã hoàn thành, trong đó có những loài gây bệnh cho người là *M. genitalium* (1995), *M. pneumoniae* (1996), *M. penetrans* (2002) và *U. parvum* (2000).

Vì *Mycoplasma* là vi khuẩn nhỏ nhất có khả năng tự sao chép, nên việc nghiên cứu di truyền phân tử ở chúng có vai trò đặc biệt nhằm tìm hiểu hoạt động của những gen tối thiểu cần thiết cho sự sống.

2.5. Sức đề kháng

Mycoplasma nhạy cảm với điều kiện bên ngoài như khô hanh, vì không có vách. Nhưng cũng vì vậy, *Mycoplasma* đề kháng các kháng sinh lớp beta–lactam có tác dụng ức chế sinh tổng hợp vách của vi khuẩn.

2.6. Tính chất nuôi cấy

Mycoplasma sống ký sinh nhưng có thể nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Khả năng sinh tổng hợp chất của *Mycoplasma* hạn chế là do bộ gen nhỏ bé của nó.

Nhu cầu dinh dưỡng: *Mycoplasma* cần các tiền chất acid nucleic (chiết xuất nấm men), acid amin, acid béo và cholesterol (có trong huyết thanh). Vì vậy, chúng phải ký sinh.

Nhu cầu khí trường: khác nhau tuỳ theo loài. *M. pneumoniae* và *M. genitalium* hiếu khí, nhưng sự phát triển được kích thích trong khí trường có 5% CO_2. *M. hominis* và *Ureaplasma spp.* không có nhu cầu, nhưng phát triển tốt hơn trong khí trường có 5% CO_2.

Nhiệt độ nuôi cấy thích hợp là 36–38°C.

Thời gian giữa hai lần chia: trong môi trường lỏng, khoảng cách một thế hệ thay đổi từ 1 giờ cho *Ureaplasma spp.* đến 6 giờ cho *M. pneumoniae* và nhiều hơn cho *M. genitalium*. Trong canh thang, chúng thường không làm đục môi trường. Trên môi trường thạch, khuẩn lạc được hình thành chậm (sau 2–8 ngày) và rất nhỏ (15–300 µm), nên phải quan sát bằng kính lúp. Hình dạng khuẩn lạc có khác nhau nhưng điển hình là dạng "trứng ốp lếp", vì vi khuẩn ăn sâu vào thạch ở vùng trung tâm. Khuẩn lạc của *Ureaplasma spp.* rất nhỏ và không đều.

2.7. Tính chất sinh vật hoá học

Mycoplasma không có hệ cytochrom. Chúng tạo năng lượng bằng chuyển hoá glucose, phân huỷ acid amin hoặc oxy hoá acid béo. Dựa vào chuyển hoá glucose, *Mycoplasma* phân lập từ người được xếp thành hai nhóm: lên men và không lên men. Lên men glucose gồm *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *M. fermentans* và *M. penetrans*. Không lên men như *M. hominis* lấy năng lượng từ thuỷ phân

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

arginin. *M. fermentans* và *M. penetrans* sử dụng cả arginin và glucose. Nguồn năng lượng cho *Ureaplasma spp.* là phân huỷ urê. Những đặc điểm này được sử dụng để xác định *Mycoplasma* có nguồn gốc từ người.

M. pneumoniae có khả năng khử 2,3,5–triphenyl tetrazolium chloride, hấp phụ và ngưng kết hồng cầu gà; sinh H_2O_2 gây tan máu (vì chuỗi hô hấp tận cùng tạo ra H_2O_2, nhưng do không có peroxidase hay catalase nên peroxide được thải ra ngoài tế bào).

2.8. Cấu trúc kháng nguyên

Kháng nguyên màng có thể đóng vai trò thiết yếu trong đáp ứng miễn dịch của cơ thể cảm thụ. *M. pneumoniae* có một glucolipid đặc hiệu không hoàn toàn và nhiều protein gắn màng có vai trò bám dính. Protein P1 (170 kDa) có nhiều ở đầu tận cùng (các "chi"), là chất bám dính chính cùng với sự tham gia của các protein khác như P30, HMW1–3 (high molecular weight). Protein bám dính P1 của các chủng khác nhau nên được chia thành hai nhóm: *M. pneumoniae* là loài đồng gen (homogenous); loài *M. hominis* dị gen (heterogenous) nhiều hơn nhưng không có các thứ loài (subspecies) hoặc các type huyết thanh (serovars) trong các chủng *M. hominis*. *Ureaplasma spp.* lại có những protein kháng nguyên khác nhau, loài *U. urealyticum* có các type huyết thanh 2, 4, 5 và 7–13 và loài *U. parvum* có các type huyết thanh 1, 3, 6 và 14.

2.9. Nơi sinh sống

Mười sáu loài *Mycoplasma* tìm thấy ở người được liệt kê trong *Bảng 5.34*

Dựa vào nơi cư trú, *Mycoplasma* được chia thành hai nhóm: đường hô hấp và đường sinh dục–tiết niệu.

Hầu hết *Mycoplasma* phân lập từ họng miệng là những vi khuẩn hội sinh đơn thuần (*M. salivarium, M. orale, M. buccale, M. faucium, M. lipophilum* và *A. laidlawii*). Chỉ có *M. pneumoniae* cư trú ở đường hô hấp dưới là có khả năng gây bệnh.

Có bảy loài được xem là *Mycoplasma* đường sinh dục, hai trong số đó: *Ureaplasma spp.* và *M. hominis* là thành viên của vi khuẩn hội sinh thuộc vi hệ ở đường sinh dục của đa số người bình thường. Tỷ lệ mang hai loài này thay đổi tuỳ theo lứa tuổi, yếu tố nội tiết, chủng tộc và hoạt động tình dục. Đánh giá tỷ lệ mang vi khuẩn này trong quần thể là rất khó, nhưng một điều rõ ràng là tỷ lệ này ở nữ giới cao hơn ở nam giới. Ở phụ nữ, có thể tới 50% có *Ureaplasma spp.* ở âm đạo, trong khi *M. hominis* có thể thấp hơn 10%. Cả hai loài này đều có khả năng gây bệnh. Vai trò của các loài khác: *M. genitalium, M. fermentans* và *M. penetrans* được biết rất ít, vì hiếm khi phát hiện được bằng nuôi cấy. Tuy vậy, dùng kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction) cho phép chúng ta biết về sự tồn tại của *M. genitalium* và ở nhiều bệnh. Hiếm khi phát hiện được *M. spermatophilum* và *M. prirmatum*. Nơi sinh sống tự nhiên của *M. pirum* cũng chưa rõ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Đôi khi, *Mycoplasma* động vật cũng được phân lập ở người bị ức chế miễn dịch.

Ngoài ra, *Mycoplasma* còn hay gặp là tác nhân gây bội nhiễm các nuôi cấy tế bào, nhất là các dòng tế bào được cấy chuyển liên tục. Có năm loài: *M. hyorhinis, M. fermentans, M. orale, M. arginini* và *A. laidlawii* là thủ phạm của 95% các bội nhiễm này. Vì vậy, việc giám sát thường xuyên tần suất nhiễm và hậu quả có thể gây ra trong việc sử dụng các dòng tế bào nuôi cấy là cần thiết.

Bảng 5.34. Tổng hợp một số đặc điểm sinh học của *Mycoplasma* phân lập từ người.

Tên loài	Nơi cư trú		Chuyển hoá		Vai trò gây bệnh*
	Họng miệng	Đường tiết niệu-sinh dục	Glucose	Arginin	
M. pneumoniae	+	–	+	–	(+)
M. salivarium	+	–	–	+	(–)
M. orale	+	–	–	+	(–)
M. buccale	+	–	–	+	(–)
M. faucium	+	–	–	+	(–)
M. lipophilum	+	–	–	+	(–)
M. hominis	–	+	–	+	(+)
M. genitalium	–	+	+	–	(+)
M. fermentans	+	+	+	+	(?)
M. penetrans	–	+	+	+	(?)
M. primatum	–	+	–	+	(–)
M. spermatophilum	–	+	–	+	(–)
M. pirum	?	?	+	+	(–)
Ureaplasma spp.	–	+	–	–	(+)
A. laidlawii	+	–	+	–	(–)
A. oculi	?	?	+	–	(–)

* ở người có miễn dịch bình thường. (+): đã được chứng minh; (?): chưa rõ; (–): không gây bệnh.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Nhiễm khuẩn đường hô hấp

3.1.1. Mycoplasma pneumoniae

Gây bệnh thực nghiệm

Các mô hình thực nghiệm khác nhau như nuôi cấy tế bào và động vật thí nghiệm (cấy vào mũi chuột Hamster và tinh tinh) được thiết kế để nghiên cứu cơ chế bệnh sinh của *M. pneumoniae*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cơ chế gây bệnh

Do đa hình thái, nhỏ và cơ chế bám dính, *M. pneumoniae* gắn vào biểu mô đường hô hấp, gây tổn thương tế bào tại chỗ và gây rối loạn bệnh lý có thể dẫn tới thương tổn cả ở những nơi khác ngoài đường hô hấp. *M. pneumoniae* bám vào tế bào hồng cầu, tế bào biểu mô đường hô hấp và có thể bám được vào chất nền, chất dẻo, thuỷ tinh. Bằng cách nầy, in vivo *M. pneumoniae* tiếp xúc gần gũi với màng tế bào và lẩn tránh được sự chuyển động của nhung mao. Vai trò này được chứng minh bằng những chủng không có khả năng bám dính nên không gây bệnh cho Hamster. *M. pneumoniae* gắn vào tế bào nhờ các "chi" – cấu trúc tận cùng với nhiều phân tử protein, trong đó có P1 – chất bám tế bào (cytoadhesin). Điểm tiếp nhận (receptor) của tế bào chủ có chứa acid sialic. Việc bám dính làm cản trở hoạt động của nhung mao và gây biến đổi tế bào do *M. pneumoniae* sản sinh ra peroxide, superoxide có tác dụng như haemolysin. Cơ chế bệnh lý miễn dịch cho rằng: còn nhiều tổn thương nữa do *M. pneumoniae* gây ra. Bằng chứng là những biểu hiện tổ chức học ở vị trí tổn thương, sự hiện diện của tổn thương ở những vị trí khác, nơi mà hiếm khi phân lập được *M. pneumoniae* ở đó và sự có mặt của tự kháng thể phản ứng với nhiều mô khác nhau của cơ thể.

Hình ảnh lâm sàng

Nhiễm trùng thường có khởi đầu như một viêm khí–phế quản. *M. pneumoniae* là một trong những tác nhân thường gây viêm phổi mắc phải ở cộng đồng; có thể chiếm tới 15–20% các trường hợp viêm phổi được xác minh bằng X.quang. Nét đặc trưng của bệnh là viêm phổi không điển hình nguyên phát với sốt, các triệu chứng đường hô hấp trên như ho khan và có tổn thương trên X.quang. Bệnh tiến triển chậm và tăng dần, nhưng thường là bệnh nhẹ. Nếu chỉ nhìn vào các triệu chứng đường hô hấp thì không thể phân biệt được *M. pneumoniae* với các tác nhân khác gây viêm phổi không điển hình. Các triệu chứng khác đi kèm để nhận biết dễ hơn là tổn thương ở da (hội chứng Steven Johnson và ban đa dạng), viêm tai giữa, viêm họng, có thể cả triệu chứng thần kinh (viêm màng não và viêm màng não–não), có vấn đề về máu tụ, viêm khớp, viêm cơ tim, viêm màng ngoài tim và có thể kèm theo hội chứng của tụy, đường tiêu hoá và thận. Những biến chứng này có thể xảy ra đơn lẻ, nên khó gắn kết được với tác nhân gây ra chúng. Mặc dù tự miễn dịch được cho rằng có vai trò trong những biến chứng ngoài phổi, *M. pneumoniae* đã được phân lập hoặc xác định bằng PCR ở những vị trí khác ngoài phổi như dịch não tủy, dịch màng ngoài tim và hoạt dịch. Liệu vai trò của nó là một yếu tố bệnh sinh hoặc là yếu tố làm tăng hen phế quản còn là vấn đề đang tranh luận.

Dịch tễ học

M. pneumoniae lây truyền trực tiếp hay gián tiếp qua các giọt nhỏ trong không khí. Nguồn bệnh duy nhất là người bị bệnh. *M. pneumoniae* gây nhiễm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn hô hấp cấp, rất hay gặp ở trẻ từ 4 tuổi tới thanh niên, song cũng có thể xảy ra ở trẻ nhỏ hơn và người cao tuổi. Bệnh có thể gây thành dịch nhỏ ở từng vùng, đỉnh điểm có thể cứ sau mỗi 4–7 năm. Ví dụ: dịch đã xảy ra ở châu Âu vào các năm 1987, 1992 và 1999. Mặc dù bệnh hay xảy ra vào mùa lạnh, nhưng không có xu hướng rõ rệt theo mùa. Bệnh không truyền nhiễm rộng, thường là lây lan trong gia đình hoặc nơi có mật độ người đông đúc. Tính cố thủ của *M. pneumoniae* ở đường hô hấp góp phần làm cho bệnh có thể thành dịch nhỏ. Trong vụ dịch, có thể tìm thấy *M. pneumoniae* ở họng–miệng người khoẻ mạnh, thông thường không tìm thấy nó trong vi hệ hội sinh ở đường hô hấp.

3.1.2. Các Mycoplasma khác

Ở người lớn, tất cả các *Mycoplasma* hội sinh đều có thể gây bệnh cơ hội, trừ *M. fermentans*. Đã có báo cáo về một số trường hợp nhiễm khuẩn phổi với hội chứng suy hô hấp có hoặc không có triệu chứng toàn thân ở các đối tượng trước đó khoẻ mạnh. Ở mô hình thực nghiệm trên súc vật cho thấy, *M. fermentans* có tạo ra tổn thương tế bào, nhưng hiện còn được biết rất ít về khả năng gây nhiễm khuẩn đường hô hấp của *M. fermentans*.

3.2. Nhiễm khuẩn đường tiết niệu–sinh dục

3.2.1. Cơ chế gây bệnh

Cơ chế bệnh sinh của các nhiễm trùng do *Mycoplasma* ở đường sinh dục còn ít được biết. Mô hình thực nghiệm trên nhiều động vật như chuột, tinh tinh và khỉ đã được nghiên cứu.

Khả năng bám dính được mô tả ở ba loài: *Ureaplasma* spp., *M. hominis* và *M. genitalium*. *M. genitalium* có một chất bám dính tế bào MgPa rất giống với P1 của *M. pneumoniae* và có khả năng bám vào tế bao biểu mô. Những yếu tố này ở *Ureaplasma spp.* hoặc *M. hominis* còn chưa được biết nhiều.

Hoạt tính của nhiều enzym khác nhau như urease và IgA1 protease của *Ureaplasma* spp., phospholipase của *Ureaplasma* spp. và *M. hominis*, tiêu hủy arginin của *M. hominis*, và sinh ra các sản phẩm chuyển hoá như ammoniac đã giải thích được một phần cơ chế gây bệnh của chúng. Còn chưa rõ, một trong hai loài nào của *Ureaplasma* spp. có khả năng gây bệnh đặc biệt.

Mặc dù, *Mycoplasma* được xem là vi khuẩn ký sinh ngoài tế bào nhưng đã có những báo cáo về sự tồn tại bên trong tế bào của nhiều loài: *M. genitalium, M. hominis, M. penetrans* cũng như *M. pneumoniae*. Nằm trong tế bào, *Mycoplasma* được bảo vệ trước sự chống đỡ của cơ thể và tạo điều kiện cho bệnh trở thành mạn tính.

3.2.2. Gây bệnh ở nam giới

Ureaplasma spp. và *M. genitalium* là tác nhân gây bệnh viêm tiết niệu không

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

do lậu không do *Chlamydia* – NGU (nonchlamydial nongonococcal urethritis). *Ureaplasma* spp. được coi là tác nhân gây NGU cấp từ lâu, dựa trên các nghiên cứu nuôi cấy phân lập, nghiên cứu huyết thanh học & theo dõi điều trị và những thử nghiệm gây nhiễm trên động vật thí nghiệm & trên người. Tuy vậy, cụ thể bao nhiêu phần trăm các trường hợp là do *Ureaplasma* spp. thì vẫn còn chưa rõ và còn tranh luận, vì việc phân lập được *Ureaplasma* spp. ở đường tiểu của đàn ông khoẻ mạnh cũng với những tần suất không nhỏ. Về căn nguyên gây NGU cấp tính, nó chỉ đứng sau *Chlamydia trachomatis* và *M. genitalium*. Gần đây, *Ureaplasma* spp. lại được cho là gây ra NGU mạn tính với các triệu chứng hoặc dấu hiệu tái nhiễm sau điều trị.

Nhờ kỹ thuật PCR, chúng ta đã hiểu biết nhiều hơn về vai trò gây bệnh của *M. genitalium*. *M. genitalium* gắn liền với những NGU cấp tính, không phụ thuộc vào sự có mặt của *C. trachomatis* hay *Ureaplasma*, vì báo cáo từ nhiều nước trên thế giới cho hay, không tìm thấy *C. trachomatis* hoặc *Ureaplasma* ở những người bệnh này. Có thể 15–25% trường hợp NGU là do *M. genitalium*. Nó cũng liên can tới NGU mạn tính sau điều trị. *M. genitalium* và *Ureaplasma spp.* được tìm thấy ở một số trường hợp viêm khớp phản ứng do bệnh lây qua đường tình dục. Không có bằng chứng về vai trò của *M. hominis* đối với NGU.

Về vai trò của *Mycoplasma* đường sinh dục đối với viêm tuyến tiền liệt vẫn còn nhiều tranh luận. Bằng kỹ thuật PCR, *M. genitalium* được tìm thấy ở 4% các sinh thiết từ viêm tuyến tiền liệt tự phát mạn tính. Có một số báo cáo rằng: *Ureaplasma* hoặc *M. hominis* là nguyên nhân gây ra viêm mào tinh. Tuy vậy, vai trò của *Mycoplasma* trong viêm tuyến tiền liệt hoặc viêm mào tinh dường như rất nhỏ.

3.2.3. Gây bệnh ở nữ giới

Mycoplasma không gây viêm âm đạo (vaginitis) nhưng phát triển mạnh ở phụ nữ bị viêm âm đạo do vi khuẩn – BV (bacterial vaginosis) cùng với các vi khuẩn khác như *Gardnerella vaginalis* và các vi khuẩn kỵ khí. *M. hominis* có liên quan mật thiết với BV và được tìm thấy ở âm đạo của 2/3 phụ nữ bị BV, cao hơn nhiều so với chỉ gần 10% ở phụ nữ khoẻ mạnh. *Ureaplasma* spp. cũng có liên quan đến BV nhưng ít hơn và trong một số trường hợp có thể là nguyên nhân gây những triệu chứng đường tiết niệu ở phụ nữ. Dường như, *M. genitalium* không có vai trò gì trong BV nhưng lại có liên quan tới viêm cổ tử cung nhày mủ. BV có thể dẫn đến bệnh viêm khung chậu – PID (pelvic inflammatory disease) và *M. hominis* đã được phân lập từ màng trong tử cung và ống dẫn trứng của 10% phụ nữ bị viêm vòi tử cung, cùng với sự gia tăng kháng thể rõ rệt. Tuy nhiên, PID là bệnh do nhiều yếu tố bệnh lý, liệu *M. hominis* là nguyên nhân khởi phát hay tác động phối hợp với các vi khuẩn khác trong BV, điều đó còn đang tranh luận. Có ít bằng chứng về vai trò của *Ureaplasma* spp. trong PID. Những kết quả nuôi cấy

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và số liệu huyết thanh học chỉ rõ: *M. genitalium* có liên quan mật thiết với viêm tử cung và viêm niêm mạc tử cung, có thể đó là một tác nhân gây PID.

3.2.4 Những rối loạn sinh sản và nhiễm trùng thai sản

Vai trò của *Mycoplasma* trong vô sinh còn chưa rõ. Bằng chứng để buộc tội cho *Ureaplasma spp.* gây vô sinh ở nam và nữ còn thưa thớt. *Ureaplasma spp* được báo cáo là làm giảm tính vận động và thay đổi hình dạng của tinh trùng. Mô hình thí nghiệm cho thấy, *Ureaplasma* và gần đây là *M. genitalium* có thể bám vào tinh trùng. Liệu có cần phải đi tìm và điều trị *Mycoplasma* đường sinh dục trong các thụ tinh in vitro, đó là vấn đề có thể để bàn luận.

Cũng còn có nghi ngờ về vai trò của *Mycoplasma* đường sinh dục trong các trường hợp sảy thai ngẫu nhiên lặp lại, đẻ thai chết, đẻ non hoặc sinh trẻ nhẹ cân.

M. hominis và *Ureaplasma* spp. có thể chịu trách nhiệm trong một số trường hợp viêm màng ối–màng đệm và viêm màng trong tử cung. Chúng cũng được buộc tội trong những ca sốt sau sảy thai hoặc sau đẻ, do phân lập được cả hai vi khuẩn này từ máu bệnh nhân. Trong một số trường hợp, chúng có thể xâm nhập vào máu gây vãng khuẩn huyết sau đẻ đường âm đạo hoặc chúng có thể gây nhiễm khuẩn máu thật sự cho trẻ sơ sinh. Cần lưu ý rằng, *M. hominis* được tìm thấy nhiều hơn *Ureaplasma* spp. trong những ca sốt sau đẻ.

3.2.5. Rối loạn đường tiết niệu

Từ nghiên cứu trên động vật thí nghiệm và các phân lập từ người bệnh, một khả năng được đề xuất: *Ureaplasma spp.* cùng tham gia làm tiến triển bệnh sỏi nhiễm trùng. Cơ chế có thể liên quan tới hoạt tính của enzym urease của *Ureaplasma*, hình thành nên tinh thể từ struvite và phosphat calci trong nước tiểu.

Trong một số ít trường hợp, *M. hominis* là nguyên nhân gây viêm thận–bể thận ở người bệnh có đủ thẩm quyền miễn dịch, dựa trên cơ sở phân lập được vi khuẩn từ niệu đạo, kèm theo có đáp ứng kháng thể đặc hiệu.

3.2.6. Nhiễm khuẩn ở trẻ sơ sinh

Việc *Mycoplasma* đường sinh dục cư trú ở trẻ sơ sinh có thể xảy ra từ lúc ở trong tử cung, nhưng hay gặp hơn là lúc sinh đẻ, do tiếp xúc với *Mycoplasma* ở đường sinh dục dưới của người mẹ. Tần suất trẻ sơ sinh có *Mycoplasma* cư trú có thể tới 50%, nếu người mẹ mang vi khuẩn này. Tần suất cao nhất là trẻ nhẹ cân. Số lượng *Mycoplasma* giảm nhanh sau 3 tháng.

Biểu hiện lâm sàng rất đa dạng, như nhiễm khuẩn máu, nhiễm khuẩn hô hấp, nhiễm khuẩn hệ thần kinh trung ương do cả *M. hominis* và *Ureaplasma* spp.. Ở nhiễm khuẩn hô hấp thì hầu hết là viêm phổi, hiếm hơn là triệu chứng suy hô hấp. Từ năm 1988, nhiều nghiên cứu đã báo cáo về sự kết hợp của *Ureaplasma spp.* cư trú ở đường hô hấp và loạn sản phế quản–phổi ở trẻ đẻ nhẹ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cân (<1000 gram). Mối liên quan này chưa được khẳng định, vì loạn sản phế quản–phổi là một bệnh lý phức tạp do nhiều yếu tố gây nên. Tuy vậy, nếu mối liên quan này được khẳng định thì dẫn đến sẽ phải thay đổi cơ bản phác đồ điều trị căn bệnh này.

Cả hai loài *Mycoplasma* đường sinh dục thường gặp đều có thể xâm nhập vào dịch não tuỷ của trẻ sơ sinh, gây viêm màng não–não với tổn thương thần kinh hoặc một số trường hợp tử vong. Tuy nhiên hầu hết trẻ bị nhiễm, bị viêm màng não với biểu hiện lâm sàng nhẹ và không có di chứng.

3.2.7. Nhiễm khuẩn toàn thân

Mycoplasma có thể gây nhiễm nhiều cơ quan ngoài đường hô hấp và đường sinh dục. Tất nhiên những trường hợp này luôn bị đánh giá thấp, vì trong chẩn đoán, *Mycoplasma* thường được xem xét đến một cách muộn màng, chỉ khi kết quả xét nghiệm các vi khuẩn khác âm tính hoặc khi điều trị thất bại.

Nhiễm trùng ngoài phổi hay ngoài đường sinh dục (chủ yếu là viêm khớp nhiễm khuẩn) thường xảy ra ở tình trạng suy giảm miễn dịch. *Mycoplasma* được xác định bằng nuôi cấy hoặc bằng PCR khoảng 40% trường hợp viêm khớp nhiễm khuẩn ở những người bệnh thiếu hụt gamma–globulin. *Ureaplasma* spp. được phân lập nhiều nhất, tiếp theo là *M. hominis, M. pneumoniae* và các loài khác trong một số trường hợp. Nhìn chung, những viêm khớp này được điều trị thành công bằng kháng sinh, nhưng phải đi đôi với điều trị đàn áp miễn dịch.

Các nhiễm trùng khác do *Mycoplasma* được phát hiện một cách tình cờ, vì *M. hominis* phát triển được trên môi trường thạch máu, loại môi trường được dùng hằng ngày ở phòng xét nghiệm vi sinh nên nó được phân lập nhiều hơn các loài khác. *M. hominis* được mô tả đã gây nhiễm khuẩn máu, áp xe sau màng bụng và viêm màng bụng, các nhiễm trùng có liên quan đến catheter và mạch, nhiễm trùng vết thương xương ức kết hợp với viêm trung thất sau phẫu thuật lồng ngực, viêm màng trong tim sau thay van tim, áp xe não và viêm phổi chủ yếu do lây nhiễm qua đường máu. Hầu hết những trường hợp này xảy ra ở bệnh nhân được cấy ghép hoặc bị tổn thương hệ miễn dịch hoặc bị phá vỡ hàng rào giải phẫu hay đa chấn thương.

Ngoại lệ, có trường hợp người bị nhiễm *Mycoplasma* của động vật như *M. arginini* và *M. felis* ở bệnh nhân bị tổn thương miễn dịch.

Vai trò có thể của *Mycoplasma* trong bệnh AIDS đã được tranh luận. Blanchard và Montagnier (1994) đã cung cấp thông tin: *Mycoplasma* có thể đẩy mạnh việc sao chép HIV in vitro/ hoặc kết hợp với HIV phá huỷ tế bào nuôi cấy.

Vai trò của *M. fermentans* và *M. penetrans* phân lập từ nước tiểu của bệnh nhân đồng tính luyến ái nam có HIV (+) đã được đưa ra trong một số bài báo. Tuy nhiên, không có bằng chứng nào thuyết phục được điều khác với vai trò cơ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

hội dành cho *Mycoplasma* ở các bệnh nhân nhiễm HIV. Gần đây, *M. penetrans* còn được phân lập từ máu và từ họng một bệnh nhân HIV (–) có triệu chứng kháng phospholipid nguyên phát.

Gần đây, một vấn đề khác cũng được tranh luận là sự kết hợp của nhiễm *M. fermentans* phát hiện bằng cả huyết thanh học và bằng PCR ở bệnh Gulf War hay triệu chứng mệt mỏi mạn tính. Tuy vậy, Blanchard và Besbear cho rằng, không có bằng chứng nào nói lên được việc nhiễm *M. fermentans* đi liền với sự tiến triển của những căn bệnh đó.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Có thể chẩn đoán *M. pneumoniae* bằng nuôi cấy hoặc bằng kỹ thuật PCR hay huyết thanh học. Với *Mycoplasma* đường sinh dục chỉ áp dụng được phương pháp chẩn đoán trực tiếp.

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Bệnh phẩm

Nguyên tắc là phải lấy được bệnh phẩm có tế bào mà *Mycoplosma* bám dính. Hầu hết bệnh phẩm để nuôi cấy cũng dùng được cho PCR.

Có nhiều cách khác nhau để lấy bệnh phẩm đường hô hấp. Đờm lẫn nhiều tạp nên không tốt. Tăm bông ngoáy họng hoặc hút dịch mũi họng ở trẻ em cho kết quả tốt. Cũng có thể lấy bệnh phẩm là dịch rửa phế quản, dịch màng phổi và sinh thiết.

Với *Mycoplasma* đường sinh dục có thể lấy bệnh phẩm để nuôi cấy là: tăm bông lấy dịch đường tiết niệu, nước tiểu (tiết ra đầu tiên), tinh dịch, dịch tiết tuyến tiền liệt, dịch âm đạo–cổ tử cung, sinh thiết màng trong tử cung, dịch rửa ống dẫn trứng, dịch túi cùng Douglas, dịch màng ối, nhau thai, dịch nội khí quản của trẻ sơ sinh ...

Cũng có thể tìm thấy *Mycoplasma* ở các bệnh phẩm khác như dịch não tuỷ, máu, dịch hoạt dịch, sinh thiết và bệnh phẩm màng nhày. Tuy vậy, môi trường cấy máu kinh điển có chất chống đông, nên có thể nó ức chế sự phát triển của *Mycoplasma*.

Bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm: ngay sau khi lấy, bệnh phẩm phải được đưa vào môi trường vận chuyển thích hợp nhanh nhất để tránh bị khô. Có thể sử dụng những môi trường khác nhau cho bảo quản và vận chuyển như môi trường vận chuyển (2SP) phosphat sucrose chứa 5% huyết thanh bào thai bò, không có kháng sinh và cũng có thể dùng các môi trường nuôi cấy và môi trường vận chuyển thương mại (có trên thị trường) dành cho cả *Mycoplasma* và *Chlamydia* phục vụ nuôi cấy hoặc PCR.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tất cả các loại bệnh phẩm phải được vận chuyển nhanh nhất tới phòng xét nghiệm. Nếu không thể nuôi cấy ngay, bệnh phẩm phải được bảo quản ở 4°C trong vòng không quá 48 giờ hoặc giữ ở –70°C hay trong nitơ lỏng.

4.1.2. Nuôi cấy

Việc nuôi cấy một số loài *Mycoplasma* tương đối đơn giản, như *M. hominis* và *Ureaplasma* spp.; khó tính hơn là *M. pneumoniae*; rất khó và hiếm khi thành công là *M. genitalium, M. fermentans* và *M. penetrans.*

Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy thường là môi trường tổng hợp và có tác dụng ức chế các vi khuẩn khác bằng cách cho thêm penicillin hay ampicillin, đôi khi có thể thêm polymyxin.

Để nuôi cấy, thường dùng môi trường Hayflick cải tiến là BHI (**b**roth **h**eart **i**nfusion) có bổ sung 10% (v/v – thể tích/thể tích) chất chiết xuất nấm men tươi (25% wt/v – trọng lượng/thể tích) và 20% huyết thanh ngựa. Môi trường SP–4 tổng hợp hơn và có huyết thanh bào thai bò. Một số loài phát triển tốt hơn trong môi trường này. Môi trường lỏng chứa 0,5% glucose và đỏ phenol 0,002%. *M. hominis* phát triển trên môi trường Hayflick cải tiến và môi trường SP–4 trong khoảng pH 7,4–7,6. Dạng lỏng của hai môi trường này có arginin 1% thay cho glucose. *M. hominis* cũng phát triển trong môi trường pH 6,0 dùng để nuôi cấy *Ureaplasma* spp.

Ureaplasma spp. được nuôi cấy ở pH 6,0. Môi trường cơ bản là BTS (**b**roth **t**rypticase **s**oy), được làm giàu bằng chất chiết xuất nấm men, huyết thanh ngựa, cystein và urê. Chất chỉ thị pH của môi trường lỏng là đỏ phenol.

Môi trường SP–4 là thích hợp nhất cho sự phát triển của các loài cần nhiều chất dinh dưỡng. Môi trường được làm giàu bằng glucose cho *M. genitalium* và bằng glucose đôi khi thêm arginin cho *M. fermentans, M. penetrans* và *M. pirum*.

Dù nuôi cấy loài nào, tốt hơn là dùng cả hai môi trường lỏng và đặc cho lần đầu hoặc cho cấy chuyển. Môi trường lỏng nên pha loãng tiếp tục (10 lần) từ 10^{-1} đến 10^{-4}, để loại bỏ chất ức chế, nếu có trong mô và để định lượng. Cấy vào thạch bằng cách đưa lên mặt thạch. Những bệnh phẩm lỏng (ví dụ nước tiểu) cần phải ly tâm trước khi cấy. Nhất thiết phải kiểm tra chất lượng môi trường, vì *Mycoplasma* là loại vi khuẩn cần nhiều chất dinh dưỡng.

Phát hiện sự phát triển

Trong môi trường lỏng có glucose, những loài lên men glucose (đặc biệt là *M. pneumoniae*) được phát hiện bằng việc chuyển đổi chỉ thị màu pH môi trường (sang acid). Sự phát triển của *Ureaplasma* spp. làm kiềm hoá môi trường có urê, giống như *M. hominis* và các loài khác trong môi trường lỏng có arginin. Sự đổi màu xảy ra sau 18–24 giờ cho *Ureaplasma* spp., 48 giờ cho *M. hominis*, 6–20 ngày cho *M. pneumoniae* và thậm chí lâu hơn cho những loài khó nuôi cấy hơn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sau khi cấy bệnh phẩm lên đĩa và ủ ấm trong điều kiện thích hợp cho từng loài cần tìm, phải quan sát khuẩn lạc bằng kính lúp. Khuẩn lạc mỗi loài có hình dạng khác nhau, của *M. pneumoniae* thường dạng hạt, của *M. hominis* nhỏ 200–300 µm, giống "trứng ốp lếp". Khuẩn lạc của *Ureaplasma* spp. không đều và rất nhỏ (15–60 µm). Khuẩn lạc trên môi trường đặc chứa urê và mangan hoặc clorua calci, màu đen sẽ dễ nhận ra nhưng khó phân biệt được với các tinh thể trong môi trường. Những khuẩn lạc này có thể được quan sát trực tiếp sau khi nuôi cấy trên thạch hoặc để kiểm tra, cấy chuyển sang môi trường lỏng (quan sát sự đổi màu môi trường).

Xác định

M. pneumoniae được xác định dựa vào một số tính chất sinh vật hoá học như lên men glucose, không thuỷ phân arginin, hấp phụ hồng cầu hoặc ngưng kết hồng cầu gà (*Mycoplasma* hội sinh ở đường hô hấp không có đặc tính này) và làm tan máu. Xác định kháng nguyên hiếm được sử dụng, vì không có kháng huyết thanh thương mại (trên thị trường). Hơn nữa, rất khó tách bạch được *M. pneumoniae* và *M. genitalium* khi áp dụng phương pháp này, vì kháng nguyên của chúng khá giống nhau và tính chất sinh vật hoá học cũng tương tự nhau. Lúc này, PCR là phương pháp tuyệt vời để định danh.

Xác định *Ureaplasma* spp. và *M. hominis* tương đối đơn giản. Nguyên tắc là dựa vào các tính chất của khuẩn lạc và sự đổi màu môi trường do chuyển hoá chất. Nhất thiết phải kiểm tra đặc điểm khuẩn lạc, vì đổi màu môi trường có thể còn do sự có mặt của vi khuẩn khác hoặc do tế bào. Hiếm khi xác định kháng nguyên và việc xác định type huyết thanh hiện nay cũng không có tính thực tiễn. Định danh hai loài *Ureaplasma urealyticum* và *U. parvum* có thể thực hiện bằng PCR.

Các bộ kit khác nhau trên thị trường hiện nay đã giúp phát hiện được *Ureaplasma spp.* và *M. hominis* trong bệnh phẩm từ đường sinh dục. Chúng cho kết quả đáp ứng được yêu cầu, khi việc xác định các đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường thạch có nhiều khó khăn.

Báo cáo kết quả nuôi cấy

Việc phân lập được *M. pneumoniae* ở bệnh nhân bị nhiễm trùng đường hô hấp là một chỉ điểm quan trọng, vì vi khuẩn này không thuộc vi hệ bình thường.

Việc phân lập được *Ureaplasma* spp. hoặc *M. hominis* là vấn đề khó hơn khi báo cáo kết quả. Nếu phân lập được từ một bệnh phẩm bình thường là vô trùng thì vấn đề đã rõ ràng; nhưng từ những bệnh phẩm khác thì chúng có thể là hội sinh và do đó định lượng là hữu ích. Tiêu chuẩn cho NGU như sau: 10^4 CCU/ml (color changing unity) – đơn vị đổi màu cho tăm bông lấy dịch đường tiểu và 10^3 CCU/ml cho nước tiểu (tiết ra đầu tiên, first–void urine). Sự hiện diện của

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ureaplasma spp. từ tăm bông lấy dịch âm đạo–cổ tử cung thì rất khó kết luận, vì tần suất cư trú tự nhiên của nó. *M. hominis* có thể được tìm thấy với số lượng lớn $\geq 10^4$ CCU/ml khi đang viêm âm đạo. Sự có mặt của nó cũng có thể được cho là khả năng bị nhiễm trùng cao hơn ở đường sinh dục. Trong trường hợp này, cần phải kết hợp cả dấu hiệu lâm sàng và kết quả xét nghiệm vi sinh. *Mycoplasma* có mặt trong bệnh phẩm lấy ở trẻ sơ sinh (phía ngoài) có thể chỉ là bội nhiễm, nhưng phân lập được từ các bệnh phẩm nội khí quản với số lượng cao ($\geq 10^3$ CCU/ml) thì đã có ý nghĩa hơn.

4.1.3. Các phương pháp không nuôi cấy

Phương pháp nuôi cấy tìm *Ureaplasma* spp. và *M. hominis* chấp nhận được với các bệnh phẩm dễ lấy như từ đường tiết niệu–sinh dục.

Phương pháp không nuôi cấy tiện lợi hơn cho các *Mycoplasma* có nhu cầu dinh dưỡng cao và phát triển chậm như *M. pneumoniae, M. genitalium* và áp dụng cho cả các loài *Mycoplasma* khác, kể cả cho *Ureaplasma* spp. và *M. hominis* với bệnh phẩm lấy từ những vị trí chúng khó phát triển như dịch hoạt dịch hay mô.

Có thể tìm kháng nguyên để xác định *M. pneumoniae*, nhưng vì độ nhạy kém nên đã được thay thế bằng kỹ thuật PCR. Ví dụ, gen 16S rRNA của hầu hết các loài *Mycoplasma* đã được giải trình tự toàn bộ, nên có thể chọn đoạn đích để thử nghiệm bằng PCR. Mặc dù, PCR được triển khai rất nhiều để tìm *Mycoplasma*, nhưng vẫn còn thiếu sự chuẩn hoá về kỹ thuật.

– PCR cho *M. pneumoniae*

Áp dụng PCR để tìm *M. pneumoniae* được đưa ra từ năm 1989. Kỹ thuật khuếch đại đoạn ADN có độ nhạy cao và đặc hiệu có thể trở thành một xét nghiệm ưa chuộng cho chẩn đoán nhiễm trùng do *M. pneumoniae,* khi giá thành phải chăng và được chuẩn hoá.

Có nhiều phương pháp tách chiết khác nhau. *Mycoplasma* có cấu tạo đơn giản, nên chỉ đun sôi mẫu đông băng là được (Ieven và cộng sự, 1996). Có nhiều vùng đích đã được sử dụng, đoạn gen của 16S rRNA, gen operon ATPase, gen *tuf* và gen *P1* (quy định chất bám dính). Nghiên cứu so sánh thấy rằng, các mồi–primers cho gen *P1* cho kết quả nhạy hơn các primers cho gen 16S rRNA. Kỹ thuật PCR lồng cũng đã được đề xuất (Abele–Horn và cộng sự, 1998). Như vậy, có thể sử dụng nhiều kỹ thuật khác nhau để khuếch đại sản phẩm.

Thử nghiệm PCR đa mồi có thể là khá tiện ích để tìm *M. pneumoniae* và các vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp khác như *C. pneumoniae* và *Legionella pneumophila,* nhưng chắc chắn cần phát triển PCR real–time để định lượng ADN *M. pneumoniae* (Ursi và cộng sự, 2003).

Phục vụ dịch tễ học có thể áp dụng PCR để phân chia ra hai nhóm trong các chủng *M. pneumoniae* (Cousin–Allery và cộng sự, 2000).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– PCR cho các *Mycoplasma* khác

Trong thực tế, PCR là phương pháp duy nhất để tìm *M. genitalium*. Đích được sử dụng hầu hết là gen *MgPa* (quy định chất bám dính). Gần đây, PCR real–time cũng được đề xuất.

Với các loài *Mycoplasma* khác thì, PCR là phương pháp tốt nhất để tìm *M. fermentans* và *M. penetrans* bằng khuếch đại đoạn giống như chuỗi gắn. PCR khuếch đại gen mã hoá urease cũng rất đáng quan tâm để tìm *Ureaplasma* spp. trong những bệnh phẩm đặc biệt hoặc khuếch đại những đích khác cho phép xác định 2 loài *Ureaplasma urealyticum* và *U. parvum*. PCR cũng được áp dụng rộng rãi để xác định bội nhiễm do *Mycoplasma* ở các nuôi cấy tế bào.

4.2. Chẩn đoán huyết thanh học

4.2.1. Cho M. pneumoniae

Test huyết thanh học đơn giản nên thường được sử dụng để chẩn đoán các nhiễm trùng đường hô hấp, chủ yếu là cho bệnh nặng. Kể cả khi thực hiện được PCR và nuôi cấy, thì thử nghiệm huyết thanh học cho kết quả bổ sung về đáp ứng miễn dịch của người bệnh. Nhược điểm của nó là chỉ cho phép chẩn đoán hồi cứu. Đáp ứng kháng thể đối với protein và glucolipid của *M. pneumoniae* có thể phát hiện được khoảng 1 tuần sau nhiễm bệnh và đạt đỉnh sau 3–6 tuần, sau đó giảm dần. Yếu tố quan trọng cho chẩn đoán là sự gia tăng hiệu giá kháng thể (gấp 4 lần) giữa hai mẫu huyết thanh cách nhau 2–4 tuần, hoặc chỉ một lần nhưng hiệu giá kháng thể rất cao hoặc ở giai đoạn muộn. Sự hiện diện của IgM là bằng chứng cho một nhiễm trùng cấp tính, đặc biệt đáng quan tâm vì áp dụng để chẩn đoán ở trẻ em. Ít thấy IgM ở người lớn.

Phản ứng cố định bổ thể tìm kháng thể chống glucolipid trước đây có được sử dụng, nhưng độ nhạy và đặc hiệu đều kém, có thể còn cho kết quả dương tính giả ở người bị bệnh tụy hoặc thần kinh.

Những kỹ thuật khác có độ nhạy cao hơn đã được đưa ra như miễn dịch huỳnh quang, ngưng kết hạt (latex) và miễn dịch gắn enzym ELISA (Enzyme–linked Immunosorbent Assays). ELISA được sử dụng nhiều nhất, với nhiều chế phẩm kháng nguyên khác nhau và mẫu mã khác nhau (phiến microtiter 96 giếng, băng 8 giếng và ELISA nhanh). Chúng có thể phát hiện IgG và IgM đồng thời hay riêng biệt.

Yếu tố ngưng kết lạnh, kháng thể IgM chống kháng nguyên I của hồng cầu chỉ được tìm thấy ở 30–50% nhiễm trùng do *M. pneumoniae*. Hơn nữa, sự có mặt của nó với hiệu giá cao (> 64) cũng không đặc hiệu cho những nhiễm trùng này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.2.2. Cho Mycoplasma đường sinh dục

Có nhiều kỹ thuật đã được đề xuất để phát hiện kháng thể trong các nhiễm trùng do *Ureaplasma* spp. và *M. hominis*, nhưng rất khó để đưa ra kết luận cho chẩn đoán bằng kết quả của thử nghiệm, vì 2 loài này vốn thường tồn tại ở người và không có cơ sở về mức độ miễn dịch trong quần thể. Những nỗ lực để thử nghiệm huyết thanh học cho *M. genitalium* bị cản trở vì kháng nguyên của nó rất giống với *M. pneumoniae*. Không có test huyết thanh học nào cho *Mycoplasma* đường sinh dục trên thị trường và cũng không được khuyến cáo cho chẩn đoán thường quy.

4.3. Độ nhạy cảm với kháng sinh

4.3.1. Kháng sinh đồ

Vì nhu cầu dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy khác biệt với thường quy chuẩn, nên thực tế không có hướng dẫn riêng cho thử nghiệm xác định độ nhạy cảm của *Mycoplasma* với kháng sinh, nhưng khuyến cáo thì gần đây đã được đưa ra (Waites và cộng sự, 2001).

Có thể sử dụng phương pháp canh thang chuẩn, kháng sinh được pha loãng trong thạch và pha loãng trong canh thang vi lượng để thử nghiệm. Có thể dùng môi trường thạch cho những *Mycoplasma* tạo khuẩn lạc quan sát được dưới kính hiển vi hai mắt (hai thị kính), còn cho *Ureaplasma spp.* thì nên dùng canh thang. Huyền dịch nuôi cấy ban đầu nên định lượng và chứa $10^4 – 10^5$ CCU/ml. Sau khi ủ ấm trong điều kiện thích hợp cho từng loài, đọc kết quả bằng cách phát hiện sự phát triển so với môi trường làm chứng không có kháng sinh. Nồng độ ức chế tối thiểu – MIC (Minimal Inhibitory Concentration) là nồng độ kháng sinh thấp nhất ức chế sự phát triển của vi khuẩn – không có khuẩn lạc hoặc đổi màu chỉ thị pH. Những phương pháp này nếu được thực hiện có kiểm chứng thích hợp, sẽ cho kết quả hữu ích để điều trị bệnh do *Mycoplasma*.

Bộ kit thử nghiệm kháng sinh đồ đã có ở châu Âu, được áp dụng cho *Ureaplasma* spp. và *M. hominis*. Đó là những giếng vi lượng chứa kháng sinh được làm khô, thường với một hoặc hai nồng độ phù hợp để xếp loại nhạy cảm, trung gian hay đề kháng. Những kết quả thu được với bộ kit này thoả mãn được yêu cầu, nhưng sử dụng cho vi khuẩn đã được phân lập thì tốt hơn là trực tiếp ngay cho bệnh phẩm.

Nhìn chung, phương pháp khuếch tán trong thạch không được chấp nhận để thử nghiệm độ nhạy cảm của *Mycoplasma* với kháng sinh. Tuy vậy, gần đây kỹ thuật E–test với nồng độ kháng sinh tăng dần khuếch tán được chấp nhận để thử nghiệm độ nhạy cảm với fluoroquinolone, tetracycline và macrolid cho *Ureaplasma* spp. và *M. hominis*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Đến nay, chưa có giới hạn riêng để xếp loại độ nhạy cảm cho *Mycoplasma*, vì vậy tốt hơn là nên dùng kết quả xác định MIC. Một số phòng thí nghiệm sử dụng luôn giới hạn dành cho các vi khuẩn khác. Nếu MIC ≤1 µg/ml thì được xem là điều trị sẽ có hiệu quả (Taylor–Robinson và Bébear, 1997).

4.3.2. Sự đề kháng kháng sinh

Đề kháng tự nhiên

Do không có vách nên các thành viên của lớp *Mollicutes* đề kháng tự nhiên với nhóm beta–lactam và các kháng sinh ức chế sinh tổng hợp vách khác như vancomycin và fosfomycin.

Ngoài ra, *Mycoplasma* còn đề kháng polymyxin, sulfonamide, trimethoprim, acid nalidixic và rifampicin. Cơ chế đề kháng rifampicin là do đột biến gen *rpoB* mã hoá tiểu đơn vị beta của enzym RNA–polymerase phụ thuộc DNA nên kháng sinh không gắn được vào đích.

Sự đề kháng nhóm MLSK – macrolid, lincosamid, streptogramin và ketolid là khác nhau giữa các loài.

M. pneumoniae và *M. genitalium* nhạy cảm với tất cả kháng sinh nhóm MLSK, trừ lincomycin. *Ureaplasma* spp. nhạy cảm với macrolid và ketolid. *M. hominis* đề kháng erythromycin và azithromycin nhưng lại nhạy cảm với josamycin. *M. hominis* nhạy cảm với lincosamid nhưng không nhạy cảm với telithromycin. Cơ chế đề kháng của *M. hominis* với erythromycin là do đột biến trong peptideyltransferase của 23S rRNA.

Đề kháng thu được

Cơ chế đề kháng do thay đổi đích tác động và cơ chế bơm đẩy đã được mô tả ở *Mycoplasma*. Cả hai cơ chế: đột biến gen và nhận được gen đề kháng đều đã có tài liệu đề cập. Điển hình ở *Mycoplasma* là tần suất đột biến cao và transposon mang gen đề kháng cũng đã được phát hiện.

– Đề kháng tetracycline: không thấy ở *M. pneumoniae*, chỉ ở *Ureaplasma* spp. và *M. hominis*. Sự đề kháng của hai vi khuẩn này ở mức cao (MIC > 8 µg/ml), do sự hiện diện của gen *tet*M nằm trên transposon Tn919 (thuộc họ Tn1545 có thể truyền qua tiếp hợp) – thường tồn tại ở nhiều vi khuẩn đường tiết niệu–sinh dục. Gen *tet*M mã hoá ra protein TetM bảo vệ ribosom trước tác động của tetracycline và tất cả các kháng sinh cùng nhóm. Gen *tet*M cũng là dấu ấn thường được sử dụng để nghiên cứu di truyền của các *Mycoplasma*.

Tỷ lệ đề kháng tetracycline của *Mycoplasma* đường sinh dục ở những vùng địa lý khác nhau là rất khác nhau và có liên quan với tần suất sử dụng kháng sinh ưa chuộng/hàng đầu, ví dụ để điều trị bệnh lây truyền qua đường tình dục.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 5.35. Vùng MIC của một số kháng sinh cho *M. pneumoniae, M. genitalium, M. hominis* và *Ureaplasma* spp.

Kháng sinh	MIC (µg/ml)			
	M. pneumoniae	*M. genitalium*	*M. hominis*	*Ureaplasma* spp.
Nhóm tetracycline:				
Tetracycline	0,06 – 0,25	0,06 – 0,12	0,2 – 2	0,05 – 2
Doxycyclin	0,02 – 0,5	≤ 0,01 – 0,3	0,03 – 2	0,02 – 1
Minocyclin	0,06 – 0,5	≤ 0,01 – 0,2	0,03 – 1	0,06 – 1
Tigecyclin	0,06 – 0,25	ND	0,125 – 0,5	1 –16
Nhóm MLSK:				
Erythromycin	≤ 0,004 – 0,06	≤ 0,01	32 – >1000	0,02 – 4
Roxithromycin	≤ 0,01 – 0,03	≤ 0,01	>16 – >64	0,06 – 4
Clarithromycin	≤ 0,004 – 0,125	≤ 0,01 – 0,06	16 – >256	≤ 0,004 – 2
Azithromycin	≤ 0,004 – 0,01	≤ 0,01 – 0,03	4 – 64	0,06 – 0,5
Spiramycin	≤ 0,01 – 0,25	0,12 – 1	32 – >64	4 – 32
Clindamycin	≤ 0,008 – 2	0,2 – 1	≤ 0,008 – 2	0,2 – 64
Telithromycin	0,0002 – 0,06	≤ 0,015	2 – 32	≤ 0,015 – 0,25
Nhóm Quinolone:				
Norfloxacin	ND	ND	4 – 16	4 – 16
Pefloxacin	2	ND	1 – 4	1 – 8
Ciprofloxacin	0,5 – 2	2	0,5 – 4	0,1 – 4
Ofloxacin	0,05 – 2	1 – 2	0,5 – 4	0,2 – 4
Levofloxacin	0,5 – 1	0,5 – 1	≤ 0,008 – 0,5	0,12 – 2
Moxifloxacin	0,06 – 0,3	0,03	0,06	0,12 – 0,5
Trovafloxacin	≤ 0,008 – 0,5	0,03 – 0,06	≤ 0,008 – 0,06	≤ 0,008 – 0,5
Chloramphenicol	2 – 10	0,5 – 25	4 – 25	0,4 – 8
Gentamicin	4	ND	2 – 16	0,1 – 13

ND: không làm

– Đề kháng nhóm MLSK: thường là hiếm, nhưng đã có báo cáo về thất bại trong một số trường hợp điều trị bằng macrolid cho người bệnh nhiễm *M. pneumoniae*. Một số chủng *M. pneumoniae* đề kháng nhiều thành viên của nhóm macrolid cũng đã thu được in vitro bằng nuôi cấy trên môi trường chọn lọc. Nhiều đột biến khác nhau đã chọn lọc được như: đột biến điểm hoặc đột biến vòng V trong 23S rRNA, thêm vào hoặc bớt đi cặp base trong gen *L4* và *L22* của protein ribosom.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tỷ lệ đề kháng thu được chống macrolid của các chủng *M. hominis* và *Ureaplasma* spp. gây bệnh trên lâm sàng chưa được biết, nhưng giống như *M. pneumoniae*, có thể cũng rất thấp.

– Đề kháng fluoroquinolone: chỉ có báo cáo đề kháng fluoroquinolone ở *Mycoplasma* đường sinh dục. Besbear và cộng sự (1999 và 2003) đã thấy chủng *M. hominis* và *Ureaplasma* spp. đề kháng ở mức cao, phân lập được từ những người bệnh được điều trị bằng fluoroquinolone trước đó. Những chủng này đã có đột biến gen *gyrA* làm thay đổi đích tác động trên enzym gyrase và gen *parC*, *parE* của topoisomerase. Deguchi và cộng sự (2001) đã có báo cáo về thất bại trong điều trị một bệnh nhân NGU với *M. genitalium* (+) bằng levofloxacin là do *M. genitalium* đã có đột biến ở *gyrA* và *parC*.

Ngoài ra, Raherison và cộng sự (2002) có báo cáo về hệ thống bơm đẩy của *M. hominis* với biểu hiện là đề kháng đa kháng sinh và làm tăng MIC của ciprofloxacin.

Đã có mô tả về một số chủng *M. fermentans* phân lập từ nuôi cấy tế bào đề kháng aminoglycoside ở mức cao, nhưng không thấy ở các chủng phân lập từ người bệnh. Gen *aacA –aphD* trên transposon Tn4001 đề kháng gentamicin và gen *cat* mã hoá CAT – chloramphenicol acetyl–transferase cũng được sử dụng làm dấu ấn để nghiên cứu di truyền ở *Mycoplasma*.

4.3.3. Hoạt tính của các kháng sinh dùng trong điều trị Mycoplasma

Số kháng sinh dùng được cho điều trị nhiễm trùng do *Mycoplasma* là hạn chế. Được sử dụng nhiều nhất là tetracycline, nhóm MLSK và fluoroquinolone. Các phenicol và aminoglycoside dành để điều trị những ca đặc biệt.

Tetracycline, MLSK và fluoroquinolone có tác dụng ức chế cả các vi khuẩn kết hợp với *Mycoplasma* gây ra các nhiễm trùng đường hô hấp và nhiễm khuẩn đường sinh dục–tiết niệu và có khả năng đạt được nồng độ cao trong tế bào, nơi mà *Mycoplasma* có thể ký sinh. Tuy vậy, chỉ fluoroquinolone và ketolid có tác dụng diệt *Mycoplasma*.

Vùng MIC của một số kháng sinh thường dùng ở Việt Nam hiện nay để điều trị *M. pneumoniae, M. genitalium, M. hominis* và *Ureaplasma* spp. được tổng hợp ở *Bảng 5.35.*

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

Nhiễm M. pneumoniae

Các tài liệu về đánh giá tác dụng của kháng sinh in vivo trong các nhiễm trùng do *Mycoplasma* còn rất ít. Tuy vậy, dù các kháng sinh có hoạt tính kìm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn hay diệt khuẩn đối với *Mycoplasma*, thì hiệu quả điều trị còn phụ thuộc vào hệ thống miễn dịch của cơ thể.

Vì chưa có một phương pháp chẩn đoán nhanh và đơn giản cho nhiễm trùng do *M. pneumoniae* nên thường phải điều trị trước khi có kết quả xét nghiệm. Macrolid thường được dùng cho bệnh nhân mọi lứa tuổi. Với người lớn có thể dùng fluoroquinolone, khi cần thay thế.

Nhiễm Mycoplasma đường sinh dục

Việc điều trị *Mycoplasma* đường sinh dục chỉ thực hiện khi có bằng chứng về vai trò của nó trong nhiễm trùng hoặc không thấy sự có mặt của các vi khuẩn khác được cho là tác nhân gây bệnh. Việc lựa chọn kháng sinh phải dựa vào chính loài vi khuẩn phân lập được hoặc dựa vào phỏng đoán loài *Mycoplasma* gây bệnh trên cơ sở kết hợp lâm sàng với hoàn cảnh mắc bệnh.

Ở người lớn, điều trị giống như điều trị *Chlamydia trachomatis*, vì nhiều khi chúng thường cùng phối hợp gây bệnh. Nói chung, kháng sinh lựa chọn hàng đầu là tetracycline. Một số điều trị thất bại có liên quan đến đề kháng in vitro. Kháng sinh thay thế là fluoroquinolone. Khi có chống chỉ định, ví dụ người mang thai hoặc trẻ sơ sinh, thì dùng kháng sinh nhóm macrolid nhưng cần được xác định bằng thử nghiệm in vitro. Trường hợp cần thiết – khi chủng vi khuẩn đó đề kháng erythromycin, thì phải dùng tới tetracycline cho trẻ sơ sinh, nhưng trường hợp này hiếm gặp.

Liệu trình điều trị phụ thuộc vào vị trí nhiễm trùng. Vì hầu hết kháng sinh có tác dụng kìm khuẩn nên liệu trình phải đủ dài thì mới loại bỏ được *Mycoplasma*.

Để đánh giá hiệu quả điều trị thì phải dựa vào các tiêu chuẩn sinh học và lâm sàng. Tiêu chuẩn đánh giá là "sạch *Mycoplasma*" cho các vị trí vô trùng (ví dụ máu) là có thể khả thi, nhưng cho các vị trí có *Mycoplasma* cư trú tự nhiên là gần như không thể. Ở người bị ức chế miễn dịch, việc đánh giá hiệu quả điều trị còn phức tạp và khó khăn hơn nhiều.

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh

Nhiễm M. pneumoniae

– Không đặc hiệu: như phòng các bệnh lây truyền theo đường hô hấp khác. Đặc biệt chú ý là bệnh có thể thành dịch nhỏ cho những người sống chung trong gia đình hoặc cùng lớp học với người bị bệnh hoặc những nơi dân cư đông đúc. Hyde và cộng sự (2001) có mô tả về hiệu quả điều trị dự phòng dịch do *M. pneumoniae* bằng azithromycin.

– Đặc hiệu: có nhiều loại vắc xin đã được thử nghiệm, nhưng hiện nay vẫn chưa có trong thực tế. Hầu hết kháng nguyên được dùng là protein P1 tinh chế.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nhiễm Mycoplasma đường sinh dục

Do lây truyền qua đường tình dục nên biện pháp phòng bệnh chung như các bệnh lây truyền qua đường tình dục khác. Cần chú ý đề phòng viêm niệu đạo do nhiễm *Mycoplasma* từ đường sinh dục.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Atlas RM. Microorganisms in our World. Mosby. St. Louis. Baltomore. Berlin. Boston. Carlsbad. Chicago. London. Madrid. Naples. New York. Philadenphia. Sydney. Tokyo. Toronto. 1995.
2. Brandis H und Pulverer G. Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York. 1988.
3. Finegold SM and Baron EJ. Bailey and Scotts Diagostic Microbiology. Mosby Company. St. Louis. Toronto. Princeton. 1986.
4. Koehler W und Mochmann H. Grundriss der Medizinischen Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag Jena. 1968.
5. Stephan H. Gillespie and Peter M. Hawkey eds. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd. 2nd ed. 2006.
6. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P and Heuck CC.. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. WHO. Geneva. 2003.

LEGIONELLA

Brenner, Steigerwalt và McDade 1979

Loài mẫu: *Legionella pneumophila* Brenner, Steigerwalt và McDade 1979

1. GIỚI THIỆU

Tháng giêng năm 1976, một vụ dịch viêm phổi xảy ra ở quân đội lê dương ở thành phố Philadelphia nước Mỹ. Vụ dịch có tới 4400 người mắc, 28 người bị tử vong và người ta đặt tên bệnh dưới các tên khác nhau như: Philly Killer, Legion Fever, Legion Malady và Legionnaires. Đến năm 1977, McDade mới tìm ra căn nguyên gây bệnh Legionnaires là vi khuẩn. Năm 1979, Brenner, Steigerwalt và McDade xếp *Legionella* thuộc họ *Legionellaceae*, chi *Legionella* và có một loài duy nhất là *L. pneumophila*. Hiện nay, chi *Legionella* gồm 49 loài và 70 type huyết thanh.

Legionella có thể tìm thấy trong môi trường như: nước ao, hồ, bể bơi, nước

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

của hệ thống điều hoà... Để gây thành dịch thường phải có số lượng đủ lớn. Loài vi khuẩn thường gặp gây bệnh ở người là *L. pneumophila*, tác nhân gây viêm long đường hô hấp giống cúm, viêm phổi đơn thuần hoặc kèm theo các triệu chứng viêm dạ dày ruột như nôn, đau bụng, ỉa chảy, đôi khi kèm theo nhức đầu.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Legionella là những trực khuẩn bắt màu Gram âm, trong bệnh phẩm, kích thước rộng 0,3–0,9 µm, dài 2– 6 µm *(Xem hình P45 ở Phụ bản)*. Trong môi trường giàu chất dinh dưỡng, vi khuẩn có thể dài từ 6– 20 µm. Không có nha bào, di động.

2.2. Tính chất nuôi cấy

Legionella không phát triển trên các môi trường nuôi cấy thông thường, mà chỉ phát triển được trong môi trường thạch có than (ngăn ngừa sự hình thành các chất oxy hoá mạnh), alpha–ketoglutarate, acid amin... như môi trường BCYE hoặc môi trường BCYE–L–cys.

Legionella có thể phát triển được ở nhiệt độ 29–40°C, nhiệt độ tối ưu là 35°C và khí trường có 2,5% CO_2. Tuy nhiên, *Legionella* có thể tồn tại được ở nhiệt độ 50°C hoặc hơn trong 30 phút.

Legionella phát triển chậm trên môi trường nuôi cấy, khuẩn lạc được hình thành sau 2–5 ngày, khuẩn lạc lúc đầu có màu xanh sáng, hoặc màu hồng nhạt và dần dần chuyển sang màu xám.

2.3. Tính chất sinh hoá

Bảng 5.36. Một số tính chất sinh hoá của các loài *Legionella*

Thử nghiệm	Kết quả	Loài
Nhuộm Gram	Gram âm	Tất cả các loài
Catalase	+	Tất cả các loài (*L. pnemophila* chỉ 1 tuần)
Oxidase	–	Tất cả các loài
Thủy phân Hippurate	+ –	*L. pneumophila* Các loài khác
Khuẩn lạc dưới đèn UV 365 nm	Màu đỏ huỳnh quang Màu huỳnh quang xanh trắng Không có màu huỳnh quang	*L. erythra, L. taurinensis* *L. rubrilucens* *L. anisa, L. bozemanii, L. cherrii, L. dumoffii, L. gormanii, L. gratiana, L. parisiensis, L. steigerwaltii, L. tucsonensis* Các loài khác
Bromocresol–purple	+	*L. micdadei, L. maceachernii* Các loài khác

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Legionella thường tồn tại trong nguồn nước: như nước ao hồ, bể bơi, nước điều hoà nhiệt độ, nước tụ đọng của những thiết bị công nghiệp, đỉnh tháp ở vùng lạnh... *Legionella* tồn tại được ở nhiệt độ từ 20–50°C hoặc cao hơn. Tuy nhiên, để gây bệnh được, vi khuẩn phải có số lượng đủ lớn trong môi trường, thường phải lớn hơn 10^2 vi khuẩn/ml.

Legionella thường lây qua đường hô hấp và gây viêm phổi, có thể nhiều người cùng mắc khi sử dụng điều hoà trung tâm trong nhà máy hoặc trong bệnh viện. Ngoài viêm phổi, bệnh nhân có thể bị sốt, nhức đầu, rối loạn tiêu hoá, buồn nôn, ỉa chảy.

Hiện nay, đã phát hiện 21 loài có thể gây bệnh cho người, nhưng thường gặp nhất là *L. pneumophila*, còn các loài khác rất hiếm gặp.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Phương pháp chẩn đoán trực tiếp

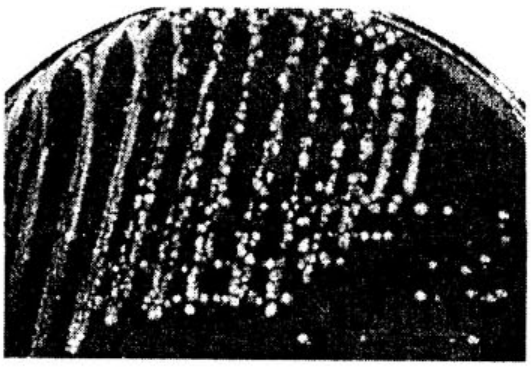
4.1.1. Bệnh phẩm

Trong trường hợp viêm phổi, bệnh phẩm là đờm. Bệnh phẩm đờm được chứa trong lọ vô trùng và đậy kín để chuyển về phòng xét nghiệm. Bệnh phẩm nếu không có điều kiện xử lý ngay, có thể bảo quản ở 4°C trong vòng 48 giờ.

4.1.2. Phương pháp nuôi cấy phân lập

– Nuôi cấy trên môi trường thạch BCYE, ủ ở nhiệt độ 35°C, 3–5% CO_2, theo dõi 2–7 ngày, có khi ủ kéo dài 14 ngày.

– Xác định tính chất sinh vật hoá học.



Hình 5.7. Khuẩn lạc của *Legionella* trên môi trường BCYE

4.2. Các phương pháp chẩn đoán khác

– Phát hiện kháng nguyên của *Legionella* trong nước tiểu bằng phản ứng EIA, nhưng giá trị chẩn đoán thấp.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Sử dụng kỹ thuật PCR, nhưng chỉ chẩn đoán từ bệnh phẩm ở người, không sử dụng để chẩn đoán bệnh phẩm từ môi trường vì độ nhạy kém.

– Sử dụng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp để phát hiện kháng thể.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh

Phòng chủ yếu kiểm tra phát hiện vi khuẩn trong môi trường để có các biện pháp ngăn ngừa. Các nhà máy, bệnh viện, sử dụng điều hoà trung tâm, cần định kỳ lấy mẫu để xét nghiệm kiểm tra. Các bể bơi, thường xuyên lấy mẫu kiểm tra...

5.2. Điều trị

Hiện nay, erythromycin là kháng sinh được khuyến cáo sử dụng trong điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh Y học. Nhà xuất bản Y học. 2001.
2. Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội. Vi sinh vật Y học. Nhà xuất bản Y học. 2007.
3. Albert Balows, William J. Hausler, Kenneth L. Herrmann. 1991.
4. Fritz HK, Kurt AB, Johannes E, Rolf MZ. Medical Microbiology. 2006.
5. Gillespie SH and Hawkey PM. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. John Wiley & Sons, Ltd. 2nd ed, 2006.

HELICOBACTER PYLORI

(Marshall et al. 1985) Goodwin et al. 1989

Chủng mẫu: ATCC 49396

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Helicobacter pylori được phát hiện rất sớm, từ năm 1874, bởi Bottcher và năm 1893, bởi Bizzozero. Về sau các tác giả như Salomon (1896), Krienitz (1906), Rosenow và Sandford (1915), Lim (1920), Doenges (1938), Freedberg và Barron (1940) đã ghi nhận trong dạ dày của chó, mèo và người có một loài vi khuẩn hình cong; tuy vậy vẫn chưa nuôi cấy được và cũng chưa đặt tên cho chúng. Steer (1975), có nhận xét rằng dưới lớp thượng bì của niêm mạc dạ dày bị viêm có sự xen lẫn giữa các vi khuẩn hình cong và tế bào bạch cầu. Năm 1979, tại bệnh viện

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Perth thuộc Hoàng gia Anh, Robin Warren một nhà mô bệnh học nhận xét tương tự như nhận xét của Steer. Barry Marshall (1983), đã theo dõi những bệnh nhân viêm hang vị dạ dày được điều trị bằng tetracycline, sau một thời gian kiểm tra lại mô bệnh học niêm mạc dạ dày của những bệnh nhân đó thì đã thấy sự biến mất của vi khuẩn hình cong. Từ đây (1983), với sự giúp đỡ và cộng tác của Goodwin và Pearmen, qua nhiều lần phân lập, Barry Marshall đã thành công trong việc nuôi cấy vi khuẩn hình cong, Gram âm rất phù hợp với hình thể trên tiêu bản mô bệnh học sinh thiết từ niêm mạc dạ dày bị viêm cùng tiến hành trên một bệnh nhân. Năm 2005, hai tác giả Warren và Marshall đã vinh dự được nhận giải thưởng Nobel về y học. Xoắn khuẩn hình cong phân lập ở niêm mạc của những bệnh nhân có hội chứng dạ dày được đặt tên là *Campylobacter pylori*. Goodwin và cộng sự (1988), nghiên cứu về siêu cấu trúc, thành phần acid béo của tế bào và trình tự chuỗi 16S rRNA của hai loài *Campylobacter pylori* và *Campylobacter mustelae* thấy chúng có cấu trúc và thành phần khác hẳn với chi *Campylobacter*. Trên cơ sở các dữ liệu nghiên cứu thu thập được, Goodwin và cộng sự đã xếp *Campylobacter pylori* và *Campylobacter mustelae* vào một chi mới–chi *Helicobacter*. Tên khoa học hiện nay của chúng là *Helicobacter pylori* và *Helicobacter mustelae*.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thái

H. pylori là vi khuẩn hình xoắn, hơi cong, Gram âm, đường kính từ 0,3 – 1,0 µm, dài 1,5 – 5 µm. Trong bệnh phẩm sinh thiết tại niêm mạc dạ dày–tá tràng, khi nhuộm Gram, vi khuẩn có hình cong, mảnh (hình dấu hỏi, dấu ngã, hoặc chữ S...). Trên môi trường nuôi cấy, đa số có hình cong, mức độ xoắn không điển hình như trên tiêu bản nhuộm Gram từ mảnh sinh thiết dạ dày, tá tràng. Trên các nuôi cấy dài ngày, nếu nhuộm Gram, có thể quan sát thấy một số có hình dạng hình cầu. *H. pylori* di động trong môi trường lỏng nhờ lông ở một đầu, thông thường có từ hai đến sáu lông, đôi khi chỉ có một lông như loài *H. cinaedi, H. fenneliae*.

2.2. Nuôi cấy

H. pylori là loài vi khuẩn rất khó nuôi cấy, chúng thuộc loài vi khuẩn vi hiếu khí. Vì vậy để nuôi cấy thành công, cần có môi trường giàu chất dinh dưỡng trong đó có chứa một số yếu tố đặc biệt. Một môi trường lý tưởng là thạch máu (pH 6,0–8,0), loại máu thường được dùng khi làm thạch máu là máu ngựa hoặc máu cừu. Ngoài ra trong các loại môi trường dùng để phân lập *H. pylori* người ta cho thêm một số vitamin và một số kháng sinh như amphotericin B (2 µg/ml), trimethoprim (5 µg/ml), nalidixic acid (10 µg/ml), vancomycin... để ức chế sự phát triển của vi nấm và một số vi khuẩn khác mà không ảnh hưởng đến sự phát triển của *H. pylori*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bên cạnh môi trường chọn lọc đặc hiệu, *H. pylori* rất cần khí trường thích hợp: 5% O_2, 7% CO_2, 8% H_2, 70% N_2 và 10% các khí khác. Nhiệt độ thích hợp là 37°C. Sau từ 48 – 72 giờ nuôi cấy (có khi phải vài tuần), trên môi trường sẽ xuất hiện khuẩn lạc. Khuẩn lạc của *H. pylori* trên môi trường thạch máu thì trong, tròn, bóng, bờ đều (đôi khi xám nhạt), có thể gây tan máu dạng α, đường kính của khuẩn lạc khoảng từ 0,5– 1 mm.

2.3. Đặc điểm hoá sinh

H. pylori không phân giải hydrat carbon cũng như không lên men và không oxy hoá, nhưng chúng lại có men urease hoạt động rất mạnh. *H. pylori* sản sinh ra men urease để phân hủy urê. Men urease của *H. pylori* có hoạt tính cao nhất trong tất cả các loại vi khuẩn có khả năng sản sinh ra men urease. Khi urê bị phân hủy để thành ammoniac bởi men urease thì môi trường trở thành kiềm hóa. Đây là đặc điểm quan trọng để phân biệt *H. pylori* với *Campylobacter* và một số vi khuẩn có khả năng sản sinh ra men urease. *H. pylori* có thể sống lâu trong môi trường acid của dạ dày nhờ sự có mặt của urease. *H. pylori* cũng có hoạt tính mạnh về catalase, phosphatase kiềm và acid, cytochrome oxidase, không khử được nitrat cũng như không phân giải hippurat.

2.4. Khả năng đề kháng

Khả năng đề kháng của *H. pylori* yếu khi ra ngoại cảnh, nhưng chúng lại có khả năng sống lâu ở môi trường có độ acid cao của dạ dày. So sánh với một số vi khuẩn đường ruột thì *H. pylori* có khả năng đề kháng cao hơn một số vi khuẩn đường ruột khác nhưng *H. pylori* không phải là vi khuẩn ưa acid như một số quan niệm trước đây. Tại sao trên in vitro, chúng bị tiêu diệt nhanh bởi nồng độ acid cao nhưng ở dạ dày, nơi mà pH từ 2,5 đến 3,0 chúng lại tồn tại lâu? Điều này liên quan đến một loại men của *H. pylori* là urease. *H. pylori* có khả năng bài tiết urease rất mạnh, nó phân giải urê trong dạ dày tạo thành amoniac kiềm hóa môi trường bao quanh vi khuẩn khiến cho chúng có thể lẩn tránh được môi trường acid của dạ dày.

2.5. Các gen liên quan đến gây bệnh

Bộ gen (genome) của vi khuẩn *H. pylori* có kích thước vào từ 1,6– 1,73 Mb và có khoảng 1600 gen, trong đó, có chừng 60 gen quan trọng của chúng đã được xác định và có một số gen liên quan mật thiết đến độc lực của *H. pylori*. Các gen đó là *vacA*, *cagA*, *babA* và *iceA*. Người ta ước tính có khoảng 40% các chủng *H. pylori* có mang plasmid nhưng chưa xác định được các yếu tố gây độc của chúng.

– Gen *vacA*: gen này mã hóa cho một loại độc tố VacA (vacuolating toxin A). Loại độc tố này gây tổn thương tế bào niêm mạc dạ dày– tá tràng. Gen *vacA* chỉ có trong khoảng từ 40–50% ở các chủng lưu hành.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Gen *cagA*: gen này mã hóa cho một loại protein mà protein đó có liên quan đến tính độc lực của vi khuẩn, có tên là CagA (mã hóa bởi gen CagA, cytotoxin associated gene A). Loại gen này người ta cũng thấy chỉ xuất hiện ở khoảng từ 50–70% các chủng *H. pylori* phân lập được ở bệnh nhân có hội chứng dạ dày– tá tràng.

– Gen *iceA*: chức năng của chúng chưa được nghiên cứu đầy đủ.

Những nghiên cứu về sinh học phân tử của *H. pylori* cho thấy rằng trật tự gen của chúng rất đa dạng giữa các chủng. Tính đa dạng trong mỗi chuỗi gen của các chủng *H. pylori* có những vùng mang đặc tính đột biến và tái tổ hợp, chính điều đó làm cho *H. pylori* thích ứng cao với môi trường.

2.6. Type sinh học

Type sinh học của *H. pylori* đang được nghiên cứu tiếp tục. Figuna N (1997), lần đầu tiên qua phân tích các kết quả nghiên cứu về cấu trúc phân tử của *H. pylori* đã chia *H. pylori* thành 3 type: type I, II và type trung gian. Mỗi type có kiểu gen khác nhau. Type I thì có cả *cagA* và *vacA*; type II không có *cagA* và *vacA*; type trung gian hoặc có *cagA* hoặc có *vacA*. Vì vậy độc lực của các type cũng có sự khác nhau. Type I có độc lực cao, type II độc lực thấp và type trung gian có độc lực trung bình. Mấy năm sau đó (2000) một nhóm tác giả gồm Dengeruta K, Asish K.M, Billie V, Manuel L.B và cộng sự qua những kết quả xét nghiệm về PCR và phân tích trình tự ADN cho thấy, *H. pylori* có ít nhất 5 type khác nhau (type I, II, III, IV và V) và mỗi type có một số dưới type (subtype) như Ia, Ib, Ic, IIIa, IIIb.

2.7. Kháng nguyên và độc tố

H. pylori có hai kháng nguyên chính: kháng nguyên lông và kháng nguyên thân. Kháng nguyên lông có bản chất là protein, còn kháng nguyên thân có bản chất là lipopolysaccharide chịu nhiệt. Nhờ vào bản đồ gen hoàn chỉnh của hai chủng *H. pylori* (J99 và 26695) đã được công bố bởi Alm R.A và Trus T.J (2001), người ta thấy có tới 10 vùng trong genome của *H. pylori* thường xuyên thay đổi trật tự các gen. Các vùng đó liên quan mật thiết đến khả năng gây bệnh của *H. pylori*, trong đó được chú ý nhất là vùng chứa các gen FrucT mã hóa cho kháng nguyên Lewis. Kháng nguyên Lewis (Le) gồm có Le^a, Le^b, Le^x và Le^y là các fucosylated glycoconjugates thuộc 2 dạng mono và difucosylate. Hầu hết các chủng *H. pylori* có kháng nguyên Le^x hoặc Le^y hoặc có cả hai. Một số chủng *H. pylori* có kháng nguyên Le^a hoặc Le^b. Đây là kháng nguyên hỗn hợp của các *H. pylori* gây bệnh cho động vật có vú. Kháng nguyên O có tính độc đối với tế bào túc chủ mà chúng ký sinh. Ngoài ra, *H. pylori* còn có một số kháng nguyên đóng vai trò quan trọng trong mối liên quan đến khả năng gây bệnh của chúng, đó là các men urease, catalase, superoxide; hismatase và kháng nguyên adhesin. Kháng nguyên gây độc tế bào (cytotoxin) được mã hoá bởi gen *cagA* và một kháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nguyên mới được phát hiện. Kháng nguyên này có liên quan chặt chẽ với kháng nguyên gây độc tế bào được mã hoá bởi gen *cagA*.

Phân loại độc tố từ các chủng khác nhau, người ta đã xác định được hai loại chính:

- Độc tố gây loét dạ dày–tá tràng, chiếm 60% số chủng.
- Độc tố gây tăng tiết dịch vị chiếm 40% số chủng.

Ngoài ra còn có một số độc tố khác như chất gây dị ứng.

2.8. Phân loại

Người ta phân tích 16S rRNA có cùng chi và mối liên quan với hai nhóm của loài *Helicobacter*: nhóm ký sinh, có thể gây bệnh ở dạ dày và nhóm ký sinh khác, có thể gây bệnh ở ruột.

– Nhóm ở dạ dày:

Bảng 5.37. Loài vi khuẩn có ở dạ dày vật chủ tự nhiên

Loài vi khuẩn	Vật chủ tự nhiên
H. bovis	Gia súc có sừng
H. suis	Lợn
H. actinonychis	Báo châu Phi
H. bizzozeronii	Chó
H. cetorum	Cá heo, cá voi
H. felis	Chó, mèo
H. heilmannii	Người, vượn
H. mustelae	Thỏ
H. nemestrinae	Khỉ
H. pylori	Người, khỉ rhesus
H. salomonis	Chó
H. suncus	Chuột chù

– Nhóm ở ruột:

Bảng 5.38. Loài vi khuẩn có ở ruột và vật chủ tự nhiên của chúng

Loài vi khuẩn	Vật chủ tự nhiên
H. aurati	Chuột túi
H. bilis	Chuột, chó, người
H. canadensis	Người
H. canis	Chó, người
H. cholecystus	Chuột túi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Loài vi khuẩn	Vật chủ tự nhiên
H. cinaedi	Người, chuột túi
H. fennelliae	Người
H. ganmani	Chuột
H. hepaticus	Chuột
H. mainz	Người
H. marmotae	Mèo
H. mesocricetorum	Chuột
H. muridarum	Chuột
H. pametensis	Chim hải âu
H. pullorum	Gà con, người
H. rappinii	Cừu, người
H. rodentium	Chuột
H. trogontum	Chuột
H. typehlonius	Chuột
H. westmeadii	Người
H. winghamensis	Người

Trong số các loài này chỉ có *H. pylori* là có khả năng gây viêm, loét dạ dày–tá tràng cho người.

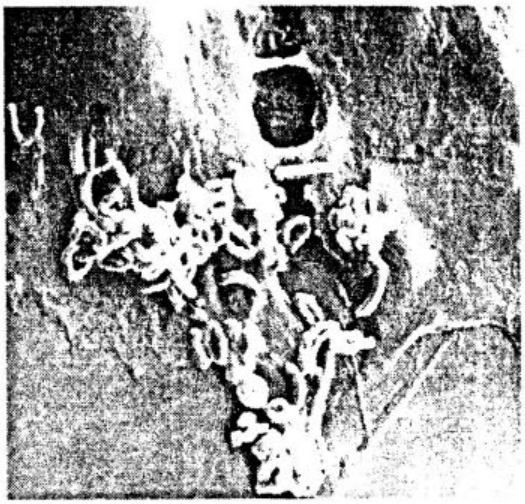
3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Khả năng gây bệnh

Từ khi Marshall phân lập được vi khuẩn *H. pylori* thì nhiều công trình nghiên cứu về các lĩnh vực khác nhau cũng được tiến hành, trong đó những công trình giải trình tự gen cũng đã được xác lập. Việc xác lập thành công bản đồ gen của hai chủng *H. pylori* (chủng J99 và chủng 26695) đưa lại nhiều điều lý thú. Thành công trong nghiên cứu về vai trò gây bệnh của *H. pylori* cũng đã được thực hiện trên người tình nguyện cũng như trên động vật thí nghiệm. Trên người tình nguyện đã được xác định không bị viêm loét dạ dày-- tá tràng trước khi họ được uống một liều *H. pylori*, sau một thời gian nhất định họ bị viêm dạ dày–tá tràng. Người ta lại dùng kháng sinh đặc hiệu cho những đối tượng này uống đủ liều lượng để tiêu diệt *H. pylori*, kiểm tra lại thấy những đối tượng này hết viêm dạ dày–tá tràng. Trên động vật thí nghiệm cũng theo phương pháp tương tự như thực hiện trên người tình nguyện, người ta cũng thu được những kết quả như mong muốn. Nhiều tác giả có nhận xét rằng hầu hết những người bị viêm, loét dạ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

dày – tá tràng đều có liên quan đến nhiễm *H. pylori*, đặc biệt trong thể viêm teo niêm mạc dạ dày có liên quan mật thiết đến ung thư dạ dày bởi vì người ta cũng thấy sự có mặt của vi khuẩn ở một số bệnh nhân.



Hình 5.8. Hình ảnh *H. pylori* bám vào tế bào niêm mạc dạ dày dưới kính hiển vi điện tử

3.2. Cơ chế gây bệnh

H. pylori có khả năng tiết urease, men này có hoạt tính rất mạnh để phân giải urê thành amoniac. Urê là sản phẩm chuyển hoá của các mô tế bào, chúng vào máu một phần và được đào thải ra ngoài qua thận. Một lượng urê tương đương từ máu qua lớp niêm mạc dạ dày vào dịch dạ dày. Amoniac có phản ứng kiềm, tạo thành một lớp đệm bao quanh *H. pylori* giúp cho chúng tránh được tác động của môi trường acid cao của dạ dày. Mặt khác, amoniac sinh ra cũng gây độc trực tiếp đối với tế bào niêm mạc dạ dày. Các men catalase, lipase và glycoproteinase của *H. pylori* phân giải chất nhày giúp cho chúng xâm nhập vào niêm mạc sâu hơn và phơi bày các thụ thể tế bào cho các adhezin của *H. pylori* gắn vào đó và dần dần phá huỷ tế bào. *H. pylori* cũng tiết ra các độc tố tế bào, các độc tố này cũng gây độc và phá huỷ tế bào.

Gần đây, người ta phát hiện thấy kháng nguyên CagA làm tăng tiết interleukin–8, nó cũng là một trong các yếu tố mà người ta nghĩ có thể làm bệnh tiến triển đến ung thư.

3.3. Dịch tễ học

Tại cuộc hội thảo quốc tế tại Dublin, Ireland năm 1992, nhiều ý kiến cho rằng có tới một nửa dân số trên thế giới bị nhiễm *H. pylori* và chúng phân bố khắp các khu vực, quốc gia trên toàn cầu. Tuy nhiên mức độ lưu hành *H. pylori* giữa các vùng và các quốc gia có khác nhau do phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó yếu tố kinh tế được coi là quan trọng nhất. Tình trạng kinh tế của xã hội có ảnh hưởng lớn đến hiện tượng nhiễm *H. pylori*. Ngay ở Mỹ, tỷ lệ nhiễm *H. pylori*

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ở người da đen cũng cao hơn người da trắng, bởi vì liên quan tới đời sống tinh thần, vật chất và vệ sinh môi trường.

Nguồn truyền nhiễm là người, có thể gặp ở khỉ Rhesus và cừu nhưng không đáng kể. Đường lây chủ yếu là người truyền sang người. Mặc dù sự phân bố của *H. pylori* rộng khắp trên thế giới nhưng đường lây nhiễm của chúng cũng chưa hiểu biết một cách đầy đủ. Nhiều tác giả có nhận xét rằng phương thức lây truyền là đường phân–miệng và đường miệng–miệng. Trong đó, đường phân–miệng đóng vai trò chủ yếu.

3.4. Miễn dịch

Miễn dịch tại chỗ

Tại nơi *H. pylori* xâm nhập, xuất hiện hiện tượng tập trung một số lượng lớn các bạch cầu trung tính và tế bào lympho. Các tế bào lympho và bạch cầu giải phóng ra các interleukin và các gốc tự do oxy hoá nhằm tấn công vi khuẩn, song phản ứng viêm tại chỗ này không có khả năng thanh toán *H. pylori*.

Đáp ứng miễn dịch dịch thể

Khi nghiên cứu tìm kháng thể trong máu những bệnh nhân viêm, loét dạ dày–tá tràng có mặt *H. pylori*, người ta đã phát hiện thấy có sự gia tăng kháng thể IgG, IgA và đặc biệt là IgM. Các kháng thể này, giảm một cách có ý nghĩa sau khi tiệt trừ hết *H. pylori*.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm là mảnh sinh thiết từ nơi viêm hoặc ổ loét dạ dày–tá tràng hoặc phân, chất nôn... tùy theo từng phương pháp và mục tiêu chẩn đoán mà lấy bệnh phẩm cho phù hợp.

4.2. Chẩn đoán trực tiếp

Nhuộm soi

Có thể nhuộm Gram hoặc Giemsa, nhưng thông dụng nhất vẫn là kỹ thuật nhuộm Gram để quan sát hình thể và tính chất bắt màu của *H. pylori*. Phương pháp nhuộm Gram là một phương pháp có nhiều ưu điểm để nhận dạng và quan sát tính chất bắt màu thuốc nhuộm Gram của vi khuẩn *H. pylori*. Tuy vậy một số nhược điểm của phương pháp này là phải thực hiện kỹ thuật nội soi dạ dày gây phiền phức cho người bệnh, tốn kém và đòi hỏi có máy nội soi, bác sĩ nội soi có kinh nghiệm. Đồng thời có nguy cơ làm lây nhiễm mầm bệnh từ người này qua người khác nếu các ống mềm và kìm dùng để sinh thiết bệnh phẩm trong nội soi không thực sự vô khuẩn sau mỗi một trường hợp được nội soi. Kết quả của nhuộm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Gram từ mảnh sinh thiết cũng phụ thuộc đáng kể vào vị trí lấy bệnh phẩm, nếu bác sĩ nội soi lấy không đúng vị trí tổn thương (viêm, loét) thì rất dễ đưa đến kết quả nhuộm Gram không thấy vi khuẩn.

Gần đây, người ta xác định nhanh *H. pylori* bằng kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction). Đây là một loại kỹ thuật sinh học phân tử khuếch đại gen. Nguyên lý của kỹ thuật này là dùng phản ứng chuỗi polymerase cùng với đầu mồi (primer) gen của *H. pylori* để khuếch đại nhiều lần các gen đặc trưng của *H. pylori*. Kỹ thuật PCR là một loại kỹ thuật cho độ nhạy và độ đặc hiệu cao (trên 95%) so với một số kỹ thuật khác để tìm trực tiếp vi khuẩn. Một điều ích lợi nữa của kỹ thuật này là dù trong bệnh phẩm vi khuẩn đã chết hoặc có số lượng ít vẫn cho kết quả dương tính. Tuy vậy, kỹ thuật này đòi hỏi phải có máy PCR, các loại sinh phẩm và mồi mà hiện nay giá thành còn cao vì vậy không phải phòng thí nghiệm nào cũng thực hiện được. Bên cạnh đó, để tránh hiện tượng dương tính giả bởi kìm bấm sinh thiết và ống mềm dùng trong nội soi dạ dày, phải tuyệt đối vô khuẩn các dụng cụ này sau mỗi một lần nội soi cho bệnh nhân.

Nuôi cấy

Nuôi cấy vi khuẩn là tiêu chuẩn vàng để xác định vi khuẩn mỗi khi trong bệnh phẩm có vi khuẩn với số lượng đủ lớn và chúng vẫn còn sống. Môi trường để nuôi cấy *H. pylori* có rất nhiều loại, tuỳ theo điều kiện và kinh nghiệm của từng phòng thí nghiệm mà sử dụng các môi trường khác nhau, như môi trường Pylori–agar, Skirow's cải tiến, Columbia, Brucella hoặc BHI–agar có thêm 7–10% máu ngựa, ủ ở 37°C với 10% CO_2 và độ ẩm thích hợp. Thông thường các môi trường chọn lọc người ta cho thêm kháng sinh diệt tạp khuẩn như vancomycin, trimethoprim và kháng sinh diệt nấm như amphotericin B. Bệnh phẩm để nuôi cấy vi khuẩn *H. pylori* cần đưa đến phòng thí nghiệm trước 2 giờ, được ngâm trong dung dịch bảo quản và giữ ở nhiệt độ 4°C. Nếu có điều kiện nên sử dụng môi trường bảo quản, ví dụ như môi trường Portagerm pylori của hãng BioMerieux. Trong môi trường bảo quản này, vi khuẩn có thể sống được khoảng 2 ngày.

Khuẩn lạc xuất hiện trên môi trường nuôi cấy đặc hiệu từ 3–5 ngày (có thể thời gian còn dài hơn), tròn, bóng, màu xám, trong, đường kính khoảng từ 0,5–1 mm, không gây tan máu hoặc gây tan máu α. Phương pháp nuôi cấy tuy được gọi là tiêu chuẩn vàng cho việc xác định có vi khuẩn *H. pylori* nhưng phương pháp này phụ thuộc vào nhiều yếu tố có khả năng làm sai lệch kết quả (nuôi cấy không thấy vi khuẩn mọc) như việc sinh thiết không đúng vị trí tổn thương nên không có vi khuẩn; sau khi có bệnh phẩm thì khâu bảo quản không tốt, đưa về phòng thí nghiệm muộn, khi nội soi dùng nhiều chất lidocain hoặc bệnh nhân đang dùng loại kháng sinh nhạy cảm... làm cho vi khuẩn bị chết.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.3. Chẩn đoán gián tiếp

Xác định men urease có ở mảnh sinh thiết (CLO test)

Đây là kỹ thuật cho kết quả nhanh, chẩn đoán sơ bộ xem có mặt của *H. pylori* trong bệnh phẩm hay không, thí nghiệm này dựa vào khả năng sản sinh ra một lượng lớn men urease của *H. pylori*. Men này có khả năng phân hủy urê. Nguyên tắc của phương pháp này là đưa mảnh sinh thiết dạ dày–tá tràng vào một lượng nhỏ urê có chỉ thị màu. Hoạt động của men urease (nếu có) sẽ nhanh chóng phân hủy urê thành ammoniac làm cho môi trường trở thành kiềm hóa và chất chỉ thị sẽ thay đổi màu. Thử nghiệm sẽ được đọc kết quả trong vòng 24 giờ, sau thời gian đó độ đặc hiệu của nó sẽ giảm do hoạt tính urease của các tổ chức mô và một số vi khuẩn bội nhiễm khác như vi khuẩn *Proteus*... Nhiều tác giả đưa ra nhận xét rằng nếu thử nghiệm urease dương tính trước 20 phút thì gần như không có hiện tượng dương tính giả. Tuy vậy nếu lượng vi khuẩn *H. pylori* ít quá trong mẫu thử nghiệm (<10^5/mảnh sinh thiết thử nghiệm) thì có thể có hiện tượng âm tính giả.

Xác định urê qua hơi thở

Người ta sử dụng sự hiện diện của men urease trong trường hợp niêm mạc dạ dày bị nhiễm *H. pylori*, thông qua việc gắn chất đồng vị phóng xạ ^{14}C vào dạ dày, nếu có men urease thì sẽ nhanh chóng phân giải urê ^{14}C thành amoniac và hình thành dioxit phóng xạ ^{14}C. Dioxit carbon phóng xạ này sẽ nhanh chóng đi vào máu, tới phổi và có thể phát hiện dược chúng qua hơi thở của bệnh nhân.

Xác định kháng thể đặc hiệu IgG hoặc IgA trong huyết thanh bệnh nhân

Phương pháp này rất có ích trong nghiên cứu dịch tễ học.

Ngày nay người ta có thể dùng phương pháp ELISA (enzyme linked immunosorbent assay). Đây là một phương pháp chẩn đoán huyết thanh học có giá trị tương đối cao. Nguyên tắc của phản ứng là dùng kháng nguyên của vi khuẩn *H. pylori* phủ lên các giếng của phiến nhựa; kháng thể kháng *H. pylori* trong huyết thanh của bệnh nhân nghi viêm loét dạ dày–tá tràng sẽ được gắn lên kháng nguyên đặc hiệu trong các giếng ở lần ủ thứ nhất; kháng thể kháng người (kháng thể thứ 2) có gắn men peroxidase sẽ bám vào phức hợp kháng nguyên – kháng thể thứ nhất ở lần ủ thứ 2. Phức hợp kháng nguyên – kháng thể kháng *H. pylori*–kháng người gắn men được phát hiện khi cho thêm cơ chất của men làm hiện màu phản ứng. Người ta cũng dựa theo phương pháp ELISA để sản xuất ra một loại test nhanh.

Miễn dịch huỳnh quang

Nguyên lý của kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp là sử dụng kháng nguyên toàn phần của vi khuẩn *H. pylori* gắn lên lam kính, ủ với huyết thanh bệnh nhân nghi có kháng thể kháng *H. pylori* ở các nồng độ khác nhau. Kháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thể của *H. pylori* trong huyết thanh bệnh nhân sẽ gắn với kháng nguyên trên lam kính. Dùng kháng thể kháng người gắn chất màu huỳnh quang để gắn với phức hợp kháng nguyên–kháng thể *H. pylori*. Phức hợp kháng nguyên – kháng thể kháng *H. pylori* –kháng thể kháng người gắn huỳnh quang sẽ phát sáng dưới kính hiển vi huỳnh quang.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh chung

Bệnh dạ dày–tá tràng phụ thuộc rất nhiều vào các điều kiện kinh tế–xã hội. Việc nâng cao đời sống cho nhân dân là rất cần thiết, trong đó vấn đề vệ sinh môi trường, vệ sinh an toàn thực phẩm, vệ sinh hoàn cảnh bao gồm cả vệ sinh cá nhân (vệ sinh răng, miệng hằng ngày) cũng đóng vai trò quan trọng trong việc đề phòng mắc bệnh hoặc lây bệnh cho người khác.

Phòng bệnh đặc hiệu

Phòng bệnh có hiệu quả và lý tưởng nhất là dùng vắc xin. Hiện nay, vấn đề nghiên cứu một loại vắc xin phòng bệnh viêm loét dạ dày–tá tràng đang được các nhà nghiên cứu trên thế giới quan tâm và thí nghiệm, hy vọng trong tương lai gần sẽ có vắc xin để phòng bệnh này.

5.2. Điều trị

Người ta khuyên rằng điều trị bệnh viêm, loét dạ dày–tá tràng cần phối hợp giữa điều trị tiêu diệt vi khuẩn *H. pylori*, thuốc che chở niêm mạc, chống viêm và chất đối kháng thụ thể H2 với histamin. Thuốc kháng sinh người ta cũng lưu ý không nên dùng một loại đơn độc mà nên có sự kết hợp nhằm giảm sự đề kháng của vi khuẩn. Theo Malfertheiler và cộng sự (2002) thì nên kết hợp clarithromicin với metronidazole và amoxicillin với tetracycline.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Asshi M, Azuma T, Ito S, et al. *Helicobacter pylori* CagA can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. J. Exp. Med. 2000 (191): 593–602.
2. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. J. Infect. Dis. 1990 (161): 626–633.
3. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in chronic active gastritic. Lancet. 1983 (1): 1273–1275.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

CAMPYLOBACTER Sebald và Veron 1963

Loài mẫu: *Campylobacter fetus* (Smith và Taylor 1919) Sebald và Veron 1963

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Campylobacter được phát hiện năm 1963 bởi Véron và Sebald. *Campylobacter* thuộc họ *Campylobacteraceae*, gồm hai chi là *Campylobacter* và *Arcobacter*; gần đây người ta phát hiện thêm một chi mới được đặt tên là *Sulfurospirillum*. Chi này có sự liên quan đến loài *Bacteroides ureolyticus*.

Chi *Campylobacter* mà điển hình là hai loài *C. jejuni* và *C. fetus* có khả năng gây bệnh tiêu chảy, nhiễm khuẩn huyết và ngộ độc thực phẩm.

Chi *Arcobacter*, theo Ellis (1977), được phân loài dựa theo 16S rARN, bao gồm bốn loài: *A. nitrofiligis*, *A. cryaerophilus*, *A. butzleri* và *A. skirowii*. Về mặt hình thể và tính chất bắt màu thuốc nhuộm Gram, *Arcobacter* tương tự như *Campylobacter*. Về đặc điểm nuôi cấy, chúng có khác với *Campylobacter* bởi hai tính chất chính: có khả năng phát triển ở nhiệt độ 25°C và không phụ vào khí trường.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Hầu hết các loài vi khuẩn có hình cong, một số có hình xoắn, không bắt màu thuốc nhuộm Gram. Có bốn loài (*C. showae, C. rectus, C. gracilis* và *C. homminus sp*) là các trực khuẩn thẳng. Hầu hết các loài di động nhờ có một đến năm lông một đầu hoặc hai đầu, trừ *C. showae*. Vi khuẩn không hình thành nha bào, có men oxidase.

2.2. Tính chất nuôi cấy

Hầu hết *Campylobacter* phát triển được trong điều kiện vi hiếu khí và một số có thể phát triển trong điều kiện hiếu khí hoặc kỵ khí. Môi trường đặc hiệu để nuôi cấy có máu ngựa và cho thêm một tỷ lệ kháng sinh nhất định như vancomycin, trimethoprim và polymycin B nhằm mục đích làm ức chế một số vi khuẩn đường ruột khác mà không làm ảnh hưởng đến sự phát triển của *Campylobacter*. Để phân lập *C. jejuni* có thể dùng môi trường chọn lọc Skirrow, trong môi trường này có cho thêm kháng sinh cephalothin nhằm mục đích ức chế một số *Campylobacter* khác. Goossens và Butzler (1991) thì dùng môi trường thạch máu mềm (semisolid) để xác định tính chất di động của vi khuẩn ở nhiệt độ 42°C thu kết quả tốt. Để cho vi khuẩn phát triển tốt thì khi nuôi cấy *Campylobacter* cần có một lượng oxy 5%, 10% carbon dioxide và 85% nitơ. Cả hai chi *Campylobacter* và *Arcobacter* đều phát triển tốt trong môi trường đặc hiệu CCDA (cefoperazone desoxycholate agar) ở nhiệt độ 37°C.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.3. Đề kháng

Vi khuẩn khi ra môi trường bên ngoài có khả năng sống khá lâu vì vậy chúng có thể làm lây lan vào môi trường xung quanh.

2.4. Phân loại

2.4.1. Chi Campylobacter được chia thành ba nhóm:

Nhóm 1: gồm các loài gây bệnh đường ruột như *C. jejuni, C. jejuni* subsp. *jejuni, C. coli, C. clari, C. upsaliensis, C. helveticus.*

Nhóm 2: gồm các loài gây bệnh cho động vật và có thể gây bệnh cho người gồm các vi khuẩn: *C. fetus* subsp. *fetus, C. fetus* subsp. *hyointestinalis, C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii.* C. sputorum biovar sputorum, C. sputorum biovar faecalis, *C. sputorum* biovar paraureolyticuss, *C. mucosalis, C. lanienae* sp. nov.

Nhóm 3: gồm các loài vi khuẩn gây bệnh phối hợp như: *C. consisus, C. curvus, C. rectus, C. showae, C. gracilis, C. hominis* sp. nov.

Campylobacter có hai loài *C. jejuni* và *C. fetus* thường hay gặp nhất trong gây bệnh tiêu chảy, nhiễm khuẩn huyết và ngộ độc thực phẩm.

2.4.2. Chi Arcobacter: gồm các loài *A. nitrofigilis, A. cryaeophilus, A. butzleri, A. skirrowii.*

2.4.3. Chi Sulfurospirillum: gồm các loài *S. arcachonnes, S. arsenophilum, S. barnesii, S. deleyianum.*

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Dịch tễ học

Campylobacter là vi khuẩn có khả năng tồn tại ở môi trường bên ngoài. Các loại động vật nuôi trong nhà như chó, mèo và gia cầm (gà) có thể là ổ chứa *Campylobacter.* Từ đây vi khuẩn có thể lây sang cho người. Cơ chế truyền bệnh của *Campylobacter* là theo đường phân–miệng và do tiếp xúc người – người.

3.2. Gây bệnh cho người

Vi khuẩn có thể gây bệnh tiêu chảy, nhiễm khuẩn huyết và ngộ độc thực phẩm. Bệnh tiêu chảy, nhiễm khuẩn huyết và bệnh ngộ độc thực phẩm là mối đe dọa đến tính mạng con người khắp toàn cầu không chỉ ở các nước đang phát triển mà ngay cả các nước phát triển. Vi khuẩn *Campylobacter* gây bệnh cho người còn hơn cả tác nhân gây bệnh đường ruột như *Salmonella, Shigella*. Theo ước tính của Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa bệnh của Mỹ (CDC) thì mỗi năm có khoảng 2,4 triệu người Mỹ mắc bệnh nhiễm khuẩn bởi *Campylobacter*. Trong

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

bệnh viêm ruột do *Campylobcter* (campylobacteriosis), loài *C. jejuni* subsp. *jejuni* chiếm đến 89–93%, *C. coli* chỉ chiếm khoảng 7–10% và *C. lari* chiếm một tỷ lệ không đáng kể, khoảng 0,1– 0,2%. Hầu hết các bệnh nhân campylobacteriosis nếu phát hiện sớm và điều trị đúng phác đồ, chỉ sau vài ngày là bệnh sẽ khỏi nhưng nếu người bệnh là đối tượng suy yếu miễn dịch hoặc suy giảm miễn dịch trầm trọng (AIDS), tính mạng người bệnh dễ bị đe dọa. Ngoài ra, có một biến chứng nghiêm trọng nhưng hiếm gặp của campylobacteriosis là chứng rối loạn tự miễn dịch, còn gọi là hội chứng liệt Guillain–Barré.

3.3. Cơ chế gây bệnh

Một số chủng *C. jejuni* sản sinh ra độc tố ruột giống vi khuẩn tả gây nên ỉa chảy, mất nước trầm trọng. Theo một báo cáo của Watson tại cuộc họp thường niên của Hội sinh học tế bào tổ chức tại San Diego (Mỹ) vào tháng 12/2007 thì vi khuẩn *Campylobacter* xâm nhập vào đường nội bào là con đường mà các tế bào sử dụng để tái tạo lại các phân tử từ bề mặt của chúng, sau đó chúng nhanh chóng chuyển hướng và tạo ra một mạng lưới nội bào riêng gồm các không bào chứa đầy vi khuẩn *Campylobacter* (hay còn gọi là các túi tế bào). Các túi tế bào này sẽ tiến dần đến nhân và cuối cùng khu trú gần bộ máy Golgi–trung tâm vận chuyển của tế bào.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Bệnh phẩm

Tùy theo thể bệnh mà lấy bệnh phẩm: phân, máu tĩnh mạch, thực phẩm mà nghi là bị nhiễm vi khuẩn *Campylobacter*.

4.2. Nhuộm trực tiếp

Nhuộm Gram trực tiếp từ bệnh phẩm phân ít có giá trị. Có thể dùng kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction) để xác định vi khuẩn thì rất chính xác nhưng phải có đủ điều kiện về trang thiết bị, sinh phẩm cũng như kỹ thuật viên.

4.3. Nuôi cấy

Bệnh phẩm được nuôi cấy vào môi trường đặc hiệu như môi trường thạch máu ngựa (môi trường Skirrow) có cho thêm vancomycin, trimethoprim và polymyxin B hoặc môi trường thạch máu ngựa có thêm cephalexin hoặc môi trường thạch máu–kháng sinh chọn lọc CCDA (cefoperazone desoxycholate agar), ủ ấm ở nhiệt độ 42°C, thử tính chất sinh vật hóa học sau khi có khuẩn lạc điển hình hoặc nghi ngờ như xác định men oxidase, tính di động trong môi trường thạch máu mềm. Riêng *C. jejuni* không mọc ở nhiệt độ 25°C.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh

Phòng bệnh chung: vệ sinh môi trường, vệ sinh hoàn cảnh, vệ sinh an toàn thực phẩm, quản lý phân và chất thải của người bệnh campylobacteriosis.

Phòng bệnh đặc hiệu: hiện tại chưa có vắc xin để phòng bệnh.

5.2. Nguyên tắc điều trị

Ngoài việc điều trị các triệu chứng tùy theo thể bệnh. Việc dùng kháng sinh nên dựa vào kết quả kháng sinh đồ để có sự tham khảo cần thiết cho điều trị campylobacteriosis bởi vì theo một số nghiên cứu gần đây đã thấy xuất hiện *Campylobacter* kháng lại ciprofloxacin, tetracycline, erythromycin. Địa phương nào chưa có điều kiện làm kỹ thuật kháng sinh đồ thì cần phải dựa vào phác đồ hướng dẫn điều trị của Bộ Y tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Marshall BJ, Armtrong JA. Attempt to fufill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. Med J Aus. 1985 (142): 436–439.
2. Rashid ST, Dakuna I. Identification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*. J Clin Microbiol. 2000 (38): 1488–1494.

THƯ VIỆN HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 6

XOẮN KHUẨN

LEPTOSPIRA

Noguchi 1917

Loài mẫu: *Leptospira interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926

1. GIỚI THIỆU

Leptospira có mặt ở khắp mọi nơi trên thế giới. *Leptospira* gây bệnh Leptospirosis. Leptospirosis là bệnh của động vật nhưng có thể lây sang người.

Bệnh Leptospirosis được Adolf Weil (bác sĩ người Đức) mô tả lần đầu tiên năm 1886 ở Heidelberg và sau đó bệnh này được mang tên ông – bệnh Weil. Đó là một bệnh truyền nhiễm với triệu chứng nhiễm trùng nhiều cơ quan, có vàng da và viêm thận.

Năm 1914 –1915 tác nhân gây bệnh đồng thời được phát hiện bởi các nhà khoa học Nhật Bản và Đức mà không có phụ thuộc vào nhau. Inada và Ido tìm thấy xoắn khuẩn và kháng thể đặc hiệu ở những người thợ mỏ Nhật Bản bị bệnh vàng da truyền nhiễm. Sau đó, Huebener và Reiter cũng như Uhlenhuth và Fromme đã phát hiện xoắn khuẩn ở máu của những người lính Đức bị "bệnh Pháp" trong chiến hào trên đất Pháp.

Năm 1917, chuột được phát hiện là ổ chứa mầm bệnh cho người. Đến những năm 1930 và 1940, *Leptospira* gây bệnh cho chó và gia súc đã được ghi nhận.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Phân loại

Leptospira là một trong năm chi thuộc họ *Spirochaetaceae*, bộ *Spirochaetales*. Cách xếp loại truyền thống đã chia *Leptospira* (được phân lập từ môi trường) thành hai loài: *L. interrogans* gồm tất cả các chủng gây bệnh và *L. biflexa* gồm những chủng không gây bệnh.

Hiện nay, cách xếp loại dựa vào kiểu hình như trên được thay thế bằng xếp loại theo kiểu gen (genotypic), khi cả 16 loài *Leptospira* đã được xác định bằng kỹ thuật lai ADN (DNA hybridization). Do vậy, các thứ huyết thanh (serovars) gây

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

bệnh và không gây bệnh có thể cùng nằm trong một loài *(Bảng 6.1)*. Ngoài ra, có nhiều mẫu của thứ huyết thanh lại có dạng di truyền khác biệt nên được xếp vào những loài khác nhau.

Bảng 6.1. Tên loài *Leptospira* và phân bố các nhóm huyết thanh

Loài	Bao gồm một số serovars của nhóm huyết thanh
L. alexanderi	Manhao Hebdomdis* Javanica* Mini*
*L. biflexa***	Semaranga*, ^
L. borgpetersenii	Javanica Ballum Hebdomdis* Sejroe* Tarassovi* Mini
L. fainai	Hurstbridge
*L. inadai***	Lyme
L. interrogans	Icterohaemorrhagiae* Canicola Pomona* Australis* Autumnalis* Pyrogens* Grippothyphosa* Djasiman Hebdomdis* Sejroe* Bataviae
L. kirschneri	Grippothyphosa* Autumnalis* Cynopteri Hebdomdis* Australis* Pomona*
*L. meyeri***	Ranarum Semaranga*, ^
L. noguchii	Panama Autumnalis* Pyrogens* Louisiana

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Loài	Bao gồm một số serovars của nhóm huyết thanh
L. santarosai	Shermanii Hebdomdis* Tarassovi*
L. weilii	Celledoni Icterohaemorrhagiae* Sarmin
L. wolbachii	Codice^

*: Những serovars của các nhóm huyết thanh này được tìm thấy trong hai hoặc nhiều loài di truyền (genospecies –loài được xếp theo chất liệu di truyền).

**: *L. biflexa*, *L. inadai* và *L. wolbachii* là những loài gồm toàn chủng không gây bệnh. *L. meyeri* gồm cả chủng gây bệnh và không gây bệnh.

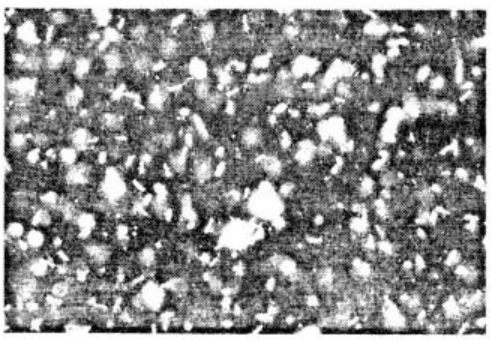
^: Nhóm huyết thanh này gồm những chủng không gây bệnh.

Leptospira có nhiều yếu tố kháng nguyên trùng chéo. Dựa vào phản ứng ngưng kết và hấp phụ chất ngưng kết chéo (cross–agglutinin) *Leptospira* được chia thành nhiều thứ huyết thanh (serovars). Những thứ huyết thanh có kháng nguyên gần gũi được xếp chung vào một nhóm huyết thanh (serogroup). *L. biflexa* có trên 60 serovars, trong *L. interrogans* có trên 230 serovars và được xếp vào 23 serogroups. Một số serovars mới được phân lập sẽ được công bố tiếp.

2.2. Hình thể và cấu tạo

Leptospira có hình dạng xoắn lò xo, các vòng xoắn đều nhưng rất nhỏ, di động mạnh. Khác với *Borrelia*, *Leptospira* rất mảnh mai, thường là 0,1 µm × 6 – 20 µm; trong môi trường nuôi cấy có thể dài hơn, ví dụ *L. biflexa* dài tới 40 µm. Điểm đặc biệt là một hoặc cả hai đầu tận cùng cong lại như móc câu, tuy vậy khó có thể phân biệt được các loài *Leptospira* bằng hình thể. *Leptospira* là vi khuẩn Gram âm, nhưng khó phát hiện bằng phương pháp nhuộm Gram. Phương pháp truyền thống để phát hiện xoắn khoẩn dưới kính hiển vi là nhuộm Fontana–Tribondeau (nhuộm thấm bạc), vi khuẩn có màu vàng nâu.

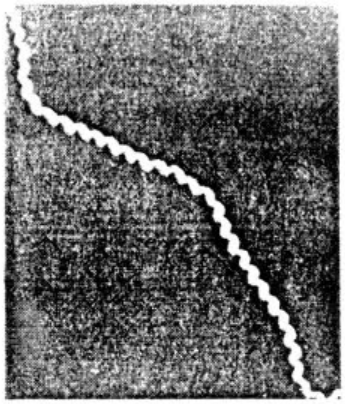
Thực tế, người ta thường dùng kính hiển vi nền đen để quan sát hình thể và tính chất di động của *Leptospira*.



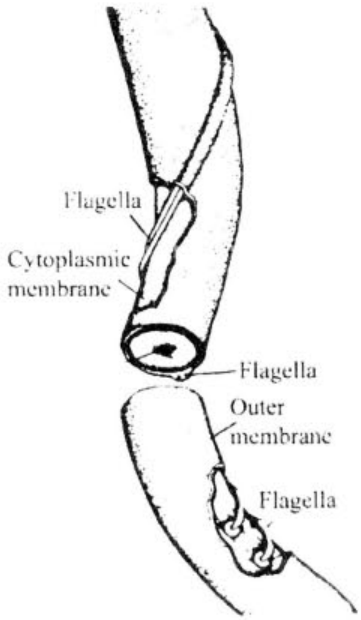
Hình 6.1. *Leptospira* dưới kính hiển vi nền đen

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Quan sát bằng kính hiển vi điện tử (phóng đại trên 10.000 lần), người ta thấy rõ các vòng xoắn đều đặn của *Leptospira* và hình móc ở đầu.



Hình 6.2. *Leptospira grippotyphosa* dưới kính hiển vi điện tử, phóng đại 15000 lần



Hình 6.3. Endoflagella

Khác với các vi khuẩn có vách cứng – hình dạng cố định, *Leptospira* có vách mềm mại nên có thể uốn lượn thay đổi hình dạng khi di động. Chúng di động là nhờ các sợi/bó sợi fibrin bao quanh, dọc theo ống bào tương; do đó bộ phận này còn được gọi là endoflagella.

Nghiên cứu di truyền ở *Leptospira* cho thấy có bằng chứng về truyền ngang chất liệu di truyền giữa các loài *Leptospira*.

2.3. Tính chất nuôi cấy

Leptospira là vi khuẩn hiếu khí tuyệt đối, nhiệt độ thích hợp là 28–30°C. Môi trường nuôi cấy thường là môi trường lỏng Korthof – ngoài pepton còn có huyết thanh thỏ với pH ổn định 7,2 – 7,4; do vậy thường phải dùng dung dịch đệm phosphat. Theo Johnson và Faine (1984) *Leptospira* có thể phát triển trong môi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trường thông thường có thêm yếu tố sinh trưởng vitamin B2 và B12, acid béo chuỗi dài và muối amonium. *Leptospira* phát triển chậm ở lần nuôi cấy đầu tiên, nhưng khi cấy chuyển các dòng thuần trong môi trường lỏng thì chúng phát triển nhanh hơn, thường sau 10–14 ngày chúng đã phát triển tốt. Nếu vi khuẩn mọc tốt, khi lắc môi trường có vẩn nhẹ như khói thuốc lá.

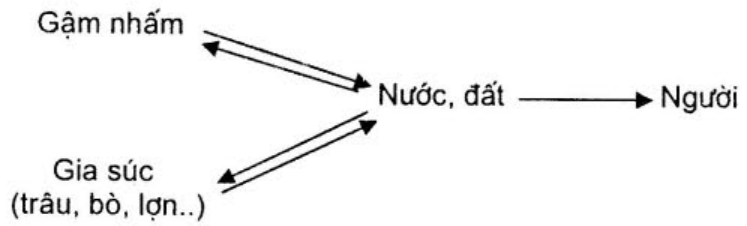
2.4. Sức đề kháng

Ở ngoài môi trường, nếu trong điều kiện nước tĩnh hoặc đất ướt, tuỳ thuộc vào pH và nhiệt độ, *Leptospira* có thể sống được nhiều tuần hoặc hằng tháng. Trong điều kiện khô hanh hoặc môi trường acid, nhất là trực tiếp dưới ánh sáng mặt trời, chúng sẽ chết nhanh. Nói chung, *Leptospira* nhạy cảm với các tác nhân bên ngoài: vật lý, hoá học và kháng sinh.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Dây chuyền dịch tễ

Leptospirosis là một trong những bệnh của động vật xảy ra khắp mọi nơi trên thế giới. Tỷ lệ mắc bệnh ở những nước có khí hậu nóng ấm cao hơn những nước vùng ôn đới. *Leptospira* tồn tại được trong đất bùn, đất ẩm ướt, ở nhiệt độ 25–30°C và pH hơi kiềm. Ở vùng nhiệt đới, động vật là những ổ chứa đầy tiềm năng và mang nhiều serovars khác nhau. Ngược lại, ở vùng ôn đới và các nước phát triển thì chỉ một số ít động vật là ổ chứa mầm bệnh và cũng ít serovars hơn. Một số serovars đã thích ứng với túc chủ; ví dụ chuột nâu – *Rattus norvegicus* thường mang serovar *icterohaemorrhagiae*. Một số gia súc cũng có thể là túc chủ mang một số serovars, ví dụ bò sữa hay mang serovar *hardjo*, trong khi đó lợn hay mang *pomona*, *tarassovi* hoặc *bratislava*. Những serovars nào hay gặp ở những túc chủ nào tại những địa phương thường xảy ra bệnh là vấn đề cần được giám sát nhằm phòng bệnh cho người tốt hơn.



Sơ đồ dây chuyền dịch tễ bệnh Leptospirosis

Như vậy, ổ chứa thường xuyên là chuột và các loài gậm nhấm; chuột và gậm nhấm con bị nhiễm xoắn khuẩn ngay từ khi ở trong ổ. Mầm bệnh tồn tại trong các ống thận và bể thận nên có thể được đào thải thường xuyên ra môi trường. Đây là nguồn dự trữ mầm bệnh gây nhiễm cho gia súc như trâu bò, chó, ngựa,... và người. Một số động vật hoang dại như sói, nhím,... cũng có thể mang vi khuẩn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chúng đào thải vi khuẩn trong nước tiểu, gây ô nhiễm đất và nước nơi chúng sinh sống. Con người do ngẫu nhiên tiếp xúc với đất, nước bị ô nhiễm hoặc tiếp xúc với súc vật bị bệnh mà nhiễm vi khuẩn.

Theo những báo cáo trước đây, ở nước ta thường gặp 12 serovars sau:

L. australis	*L. grippothyphosa*	*L. poi*
L. autumnalis	*L. hebdomadis*	*L. pomona*
L. bataviae	*L. icterohaemorrhagiae*	*L. saxkoebing*
L. canicola	*L. mini*	*L. sejroe*

3.2. Khả năng gây bệnh ở người

Người bị bệnh Leptospirosis là do tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với mô động vật bị bệnh hoặc nước tiểu của chúng. Do vậy, một lần nữa cần nhấn mạnh: Leptospirosis là bệnh của động vật có thể lây sang người và bệnh Leptospirosis có liên quan tới một số nghề nghiệp nhất định. Bệnh thường tản phát hoặc thành dịch nhỏ vào cuối hè sang thu ở các đối tượng như nông dân làm ruộng, chăn nuôi, công nhân thuỷ nông, công nhân lâm trường, thợ mỏ, công nhân lò sát sinh, nhân viên thú y, bộ đội dã ngoại, thanh niên đi cắm trại (tắm ao hồ,...). Ở Việt Nam, đã phát hiện một số ổ dịch tự nhiên ở Đá Chông (Sơn Tây), Yên Thế (Bắc Giang), Xuân Mai (Hoà Bình),....

3.2.1. Đường vào cơ thể

Khi tiếp xúc trực tiếp với nước, bùn nhiễm *Leptospira* hoặc nước tiểu hay mô động vật bị bệnh có *Leptospira*, xoắn khuẩn vào cơ thể người qua vết thương trên da hoặc qua niêm mạc đường hô hấp trên; thậm chí bơi lặn trong hồ nước có xoắn khuẩn, người bị nhiễm qua niêm mạc miệng và kết mạc cũng đã được đề cập. Nhiều vụ dịch đã bùng phát do lây truyền qua nước bị nhiễm xoắn khuẩn đã được ghi nhận.

3.2.2. Hình ảnh lâm sàng

Các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhiễm *Leptospira* rất phong phú. Các triệu chứng của bệnh Weil chỉ biểu hiện ở hầu hết những trường hợp nặng. Trước đây, người ta cho rằng: triệu chứng lâm sàng thường gắn liền với các serovars nhất định; nhưng đến nay quan niệm này đã bị bác bỏ. Ở người, những trường hợp nặng thường là do các serovars của nhóm *Icterohaemorrhagiae* gây ra nhưng không phải là không thay đổi. Mỗi vùng địa lý thường gặp những serovar nhất định có liên quan tới loài động vật là ổ chứa thường xuyên.

Biểu hiện lâm sàng của bệnh Leptospirosis có hai giai đoạn: giai đoạn một là cấp tính hoặc nhiễm trùng máu, kéo dài khoảng 1 tuần; giai đoạn hai là miễn dịch với sự hình thành kháng thể và đào thải *Leptospira* trong nước tiểu. Sau 4–6 tuần

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

kể từ khi mắc bệnh *Leptospira* được đào thải trong nước tiểu người bệnh. Hầu hết các biến chứng xảy ra ở giai đoạn hai – tuần thứ 2 của bệnh do các mô bị tổn thương. Ở những ca bệnh nặng, có thể không phân định rõ 2 giai đoạn này.

Thời gian ủ bệnh có thể từ 5 – 14 ngày. Phần lớn các trường hợp nhiễm xoắn khuẩn *Leptospira* có biểu hiện lâm sàng nhẹ và vừa, có thể không cần phải điều trị nội trú. Số ít hơn với những biểu hiện nổi trội là: sốt đột ngột cùng các triệu chứng như ớn lạnh, đau đầu, đau cơ, mắt đỏ ngầu (như mắt cá chầy), một số hạch bạch huyết sưng và trường hợp nặng ít gặp hơn có thể có ban xuất huyết ở da và niêm mạc (ở ngày thứ 6 đến ngày thứ 7). Những trường hợp không vàng da, chỉ khoảng 1 tuần sẽ hết triệu chứng do kháng thể được hình thành. Sốt có thể biểu hiện hai pha: giai đoạn một sốt do nhiễm trùng máu; dừng khoảng 3–4 ngày sốt lại do các mô bị tổn thương ở giai đoạn hai. Thường có đau đầu nặng với nhức mắt và sợ ánh sáng. Có thể gặp viêm màng não vô khuẩn (thanh dịch) khoảng 25% trong tất cả các trường hợp Leptospirosis và rất ít gặp trong các trường hợp viêm màng não vô khuẩn. Tỷ lệ tử vong ở Leptospirosis không vàng da hầu như bằng không.

Về biểu hiện lâm sàng, cần chẩn đoán phân biệt với các nhiễm trùng khác do các virus thông thường như cúm, Dengue và do vi khuẩn như thương hàn, *Brucella*. Một loạt các dấu hiệu của các bệnh khác cũng có thể giống như Leptospirosis gồm sốt rét, viêm gan do virus, Rickettsiosis, tăng bạch cầu đơn nhân và chuyển đổi huyết thanh do HIV.

Bệnh Leptospirosis có vàng da là bệnh nặng và diễn biến lâm sàng rất nhanh. Tỷ lệ tử vong khoảng 5–10% bệnh nhân Leptospirosis có vàng da. Hiện tượng vàng da ở Leptospirosis không gắn liền với hoại tử tế bào gan nên chức năng gan trở lại bình thường sau khi hồi phục. Bilirubin huyết thanh có thể cao và phải nhiều tuần sau mới về mức bình thường. Tăng nhẹ transaminase và phosphatase kiềm cũng thường gặp.

Biến chứng của Leptospirosis nặng là suy thận cấp, khoảng 16–40% trường hợp với vô niệu và tăng urê huyết. Trên 50% trường hợp có giảm tiểu cầu (< 100 $\times$ 10^9/L) và đây là dấu hiệu điển hình dự báo cho suy thận cấp. Tuy vậy, giảm tiểu cầu ở Leptospirosis không gây ra đông máu rải rác nội mạch. Hội chứng suy hô hấp cấp là một biến chứng thường gặp khác ở người lớn. Xuất huyết phổi trở nên hay gặp hơn trong những năm gần đây. Amylase huyết thanh thường tăng cao nhưng không thấy viêm tụy.

Tử vong ở Leptospirosis nặng thường là tiếp sau ngừng tim do viêm cơ tim, viêm màng ngoài tim và mất nhịp tim. Biến chứng này lên tới gần 50% và thường gặp ở người cao tuổi.

3.3. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật thí nghiệm nhạy cảm với *Leptospira* là chuột lang, nhất là đối với

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

L. ictero–haemorrhagiae. Với bệnh phẩm lẫn tạp (ví dụ nước tiểu) nếu tiêm vào phúc mạc chuột lang non, thì sau 10 phút, *Leptospira* đã có thể xâm nhập vào máu, trong khi các tạp khuẩn chưa vào được máu. Vì vậy Schuffner đã gọi chuột lang là "cái lọc sống" cho *Leptospira*. Hiện nay, vì nhiều lý do thử nghiệm trên súc vật không được thực hiện nữa.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Chẩn đoán Leptospirosis phụ thuộc nhiều vào chẩn đoán huyết thanh tìm kháng thể đặc hiệu nên nhiều kỹ thuật chẩn đoán huyết thanh hiệu quả đã được phát minh trong những năm gần đây. Có thể chẩn đoán trực tiếp bằng cách nuôi cấy xác định serovar từ máu, dịch não tuỷ hoặc nước tiểu. Tuỳ từng giai đoạn của bệnh mà lấy bệnh phẩm thích hợp cho chẩn đoán vi sinh.

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Soi tươi dưới kính hiển vi

Về lý thuyết có thể soi tươi bệnh phẩm máu, nước tiểu, dịch não tuỷ dưới kính hiển vi nền đen tìm xoắn khuẩn *Leptospira*, nhưng cả độ nhạy và độ đặc hiệu đều thấp, vì nhiều sai sót có thể xảy ra.

4.1.2. Nuôi cấy

Thông thường là môi trường lỏng có thêm huyết thanh hoặc albumin và Tween. Nhiều môi trường có huyết thanh đã được mô tả như Fletcher, Korthof, Stuart và Ellingshausen. Ở nước ta thường dùng môi trường Korthof có thêm huyết thanh thỏ tươi. Bệnh phẩm ở giai đoạn một là máu lúc sốt cao, được lấy ngay tại giường bệnh và cấy ngay vào bình môi trường. Bệnh phẩm ở giai đoạn hai là nước tiểu; cần trung hoà ngay pH và ly tâm 4500 vòng/phút trong 30 phút; hoà tan cặn trong dung dịch đệm và cấy vào môi trường. Nước tiểu lẫn tạp khuẩn cần lọc qua màng lọc 0,22 µm. Nhiệt độ nuôi cấy là 28–30°C. Theo dõi môi trường nuôi cấy hàng tuần bằng cách soi kính hiển vi nền đen (độ phóng đại 100–200 lần). Sau 13 tuần, nếu âm tính mới loại bỏ. Sau khi cấy chuyển có dòng thuần, phải xác định vi khuẩn bằng cách kết hợp cả phương pháp huyết thanh học và phương pháp phân tử. Việc định loại dựa vào xác định thứ tự nucleotid gen 16S rRNA có giá trị cao. Xác định serovar dựa vào các kháng huyết thanh mẫu được thực hiện tại phòng thí nghiệm chuẩn thức. Mặc dù phương pháp chẩn đoán này không hỗ trợ trực tiếp cho việc điều trị người bệnh nhưng có giá trị giám sát dịch tễ học cho từng vùng nhằm phục vụ công tác dự phòng.

Định loại phân tử

Định loại phân tử dựa vào kỹ thuật điện di trường xung (Pulsed field gel electrophoresis – PFGE) đã trở thành phương pháp chuẩn để xác định serovars.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Nhiều kỹ thuật dựa trên cơ sở của phản ứng chuỗi polymerase (Polymerase Chain Reaction – PCR) đã được áp dụng để điều tra nguồn gốc của các chủng *Leptospira* phân lập được. Đặc biệt là một số kỹ thuật mới như PCR–REA (Restriction analysis of PCR) và LSSP–PCR (low–stringency single specific primer – PCR) sử dụng mồi (primer) đặc hiệu có thể phát hiện trực tiếp ADN trong bệnh phẩm, không cần nuôi cấy phân lập *Leptospira* trước đó.

4.2. Chẩn đoán huyết thanh

Hầu hết các trường hợp mắc Leptospirosis được chẩn đoán bằng huyết thanh học, nhưng kháng thể chỉ bắt đầu xuất hiện trong máu ở cuối giai đoạn một, do đó thường là chẩn đoán hồi cứu.

4.2.1. Test ngưng kết soi dưới kính hiển vi

Phương pháp chuẩn là test ngưng kết soi dưới kính hiển vi (Microscopic Agglutination Test – MAT), trước đây còn được gọi là phản ứng Martin–Pettit. Bệnh phẩm là huyết thanh kép: hai mẫu máu của một bệnh nhân cách nhau ít nhất là 3 ngày. Đầu tiên, huyết thanh bệnh nhân được pha loãng 1/20 và trộn với các kháng nguyên – huyền dịch vi khuẩn của các nhóm huyết thanh gây bệnh hay gặp tại địa phương. Đọc kết quả phức hợp kháng nguyên – kháng thể dưới kính hiển vi nền đen: có chùm ngưng kết là dương tính. Huyết thanh bệnh nhân được pha loãng tiếp tục (theo cấp số nhân của 2) và thử nghiệm với những kháng nguyên cho kết quả (+) ở huyết thanh 1/20 để xác định hiệu giá kháng thể.

Nhận định kết quả MAT cần phải thận trọng, vì có nhiều ngưng kết chéo giữa các nhóm huyết thanh, nhất là mẫu máu ở giai đoạn cấp tính. Có thể một mẫu máu có hiệu giá kháng thể tương tự với tất cả các serovars của một nhóm huyết thanh. Tuy vậy, cũng có thể xảy ra điều trái ngược, đó là hiệu giá kháng thể cao nhất lại ở một nhóm huyết thanh không liên quan với nhóm đang gây bệnh.

Khi hiệu giá kháng thể ≥ 1/800 thì được cho là nhiễm trùng cấp tính và được khẳng định bằng sự gia tăng hiệu giá kháng thể (gấp 2 – 4 lần) của mẫu huyết thanh lần 2 so với mẫu lần 1. Hiệu giá kháng thể sau nhiễm trùng cấp tính có thể lên rất cao ≥ 1/25.600 và kéo dài nhiều tháng hoặc một vài năm; sau đó sẽ giảm xuống mức thấp. Thường, phải vài tháng sau nhiễm trùng thì có thể phân biệt được một serovar nổi trội, vì hiệu giá do phản ứng chéo sẽ giảm với tần suất khác nhau. Điều quan trọng vì thế, cần phải thử nghiệm với nhiều mẫu huyết thanh, mỗi tháng một lần sau nhiễm trùng cấp tính để xác định nhóm huyết thanh được dự đoán là tác nhân gây bệnh. Ở một số bệnh nhân, có thể tìm thấy bằng chứng huyết thanh học về nhiễm trùng trước đó với một serovar khác. Trong những trường hợp này, chẩn đoán huyết thanh còn gặp khó khăn nữa là do "ghi nhớ tiền sử", vì sự gia tăng hiệu giá kháng thể đầu tiên thường là chống lại serovar đã gây bệnh lần trước.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Test ngưng kết soi dưới kính hiển vi – MAT là một thử nghiệm có tính tổng thể, bao gồm từ việc kiểm tra các thành phần thử nghiệm đến cách tiến hành và cách nhận định kết quả. Các chuyên gia quốc tế đã xây dựng được một quy trình thử nghiệm chuẩn thức và MAT đã đạt hiệu quả tốt ở nhiều nước.

4.2.2. Các test huyết thanh khác

Do tính tổng thể của MAT, nhiều test nhanh sàng lọc (rapid screening tests) kháng thể chống *Leptospira* đã được triển khai nhằm chẩn đoán sơ bộ tác nhân gây bệnh. Những test này chỉ đặc hiệu tới chi, dựa trên các phản ứng như cố định bổ thể, ngưng kết trên phiến kính, ngưng kết hồng cầu thụ động, ngưng kết latex, điện di miễn dịch và ELISA. Nhiều phương pháp đã được mô tả nhưng chỉ một số ít được áp dụng rộng rãi tại các phòng thí nghiệm.

Có nhiều phương pháp áp dụng nguyên lý của ELISA đã được mô tả và sử dụng kháng nguyên là những serovars khác nhau hoặc tổ hợp các serovars. Kháng thể IgM của người bị bệnh Leptospirosis có phản ứng chéo mạnh, nhưng hiệu giá lại có thay đổi nhẹ tuỳ theo kháng nguyên được gắn trên phiến và serovar gây bệnh. Ở nhiễm khuẩn cấp tính, IgM đạt hiệu giá rất cao (thường ≥ 1/1280). Hiệu giá thấp có thể là không đặc hiệu và cần thử với mẫu máu lần 2 để tìm sự gia tăng hiệu giá. Nếu hiệu giá IgM cao cũng vẫn cần một mẫu máu ở thời kỳ hồi phục, 10–14 ngày sau mẫu máu thời kỳ cấp tính. Trong trường hợp có sự gia tăng hiệu giá IgM gấp 4 lần hoặc hơn thì chẩn đoán là chắc chắn. Có nhiều test IgM–ELISA đã có mặt trên thị trường.

4.2.3. Phương pháp chẩn đoán phân tử

Có nhiều bộ mồi (primers) đã được thiết lập nhằm phục vụ cho kỹ thuật PCR, nhưng chỉ một số ít được đánh giá để sử dụng cho mẫu bệnh phẩm của người hoặc động vật. PCR được cho là rất có ích nhằm khẳng định một chẩn đoán có phải là Leptospirosis hay không, đặc biệt trong những trường hợp nặng nếu bệnh nhân có thể tử vong trước khi có kết quả huyết thanh học. Nguồn bệnh phẩm cho PCR có thể là máu, nước tiểu, dịch não tuỷ, thuỷ dịch, dịch thẩm tách hoặc mô tử thi. Kỹ thuật định lượng real–time PCR làm tăng thêm độ nhạy so với các kỹ thuật trước đây.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

Điều trị Leptospirosis phụ thuộc vào mức độ nặng nhẹ của bệnh.

Những trường hợp nhẹ, với triệu chứng như cảm cúm chỉ cần điều trị triệu chứng, nhưng nên thận trọng, nếu họ có biểu hiện vàng da. Những bệnh nhân nặng, dù không vàng da cũng phải nhập viện và theo dõi chặt chẽ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Những trường hợp Leptospirosis có vàng da, phải theo dõi chức năng thận. Chú ý điều chỉnh nước–điện giải, tăng urê huyết phải truyền dịch; suy thận cần thẩm tách màng bụng hoặc máu. Cần thiết phải theo dõi tim mạch.

Kháng sinh phải được dùng sớm mới có kết quả, tốt nhất là trong vòng 48 giờ đầu của bệnh. Vì ở giai đoạn muộn của nhiều bệnh nhân nặng, khi vi khuẩn đã cố định ở trong mô, kháng sinh hầu như không có tác dụng. Từ nhiều nghiên cứu cho thấy: dùng penicillin G liều cao có cải thiện lâm sàng tốt, như rút ngắn thời gian sốt, ngăn cản vi khuẩn cố định ở mô; song cần chú ý nguy cơ phản ứng không mong muốn (phản ứng Jarisch Herxheimer). Kháng sinh thay thế là tetracycline hoặc doxycyclin, nhưng chống chỉ định cho bệnh nhân có rối loạn chức năng gan, thận. Một số nghiên cứu so sánh hiệu quả điều trị của penicillin với ceftriazon hoặc penicillin với cefotaxim hoặc doxycyclin cho thấy: cả 4 kháng sinh này có tác dụng như nhau; trong số các đối tượng nghiên cứu có non nửa bị vàng da và hầu hết đã dùng kháng sinh trước khi nhập viện.

Điều trị dự phòng: kết quả từ một số nghiên cứu về điều trị dự phòng đều khẳng định vai trò của kháng sinh, nhưng cần phải bắt đầu điều trị càng sớm càng tốt.

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh

5.2.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Phòng bệnh Leptospirosis phải đi liền với việc giám sát ổ chứa – động vật; vì vậy theo dõi thường xuyên Leptospirosis cả ở người và ở động vật là cần thiết và phải chú trọng.

Biện pháp khả thi nhất nhằm cắt đứt dây chuyền dịch tễ là các biện pháp bảo hộ lao động cho người làm việc trong một số ngành nghề có nguy cơ như giết mổ gia súc, thú y, hầm mỏ, nông nghiệp – làm ruộng... Khi người lao động nghi bị nhiễm vi khuẩn, điều trị dự phòng bằng doxycyclin.

Biện pháp thứ hai nhằm cắt dây chuyền dịch tễ là tiêm vắc xin – gây miễn dịch cho gia súc. Với một số trang trại nhất định, việc gây miễn dịch cho gia súc đạt được cả hai mục đích: kinh tế và phòng bệnh cho con người. Vắc xin đang sử dụng hiện nay là vắc xin chết từ toàn bộ tế bào vi khuẩn. Nếu gây miễn dịch cho bò, thường bằng các serovars *hardjo* và *pomona*, cho lợn bằng serovars *pomona*, *tarassovi*, *bratislava*, *grippotypehosa* và *icterohaemorrhagiae* tuỳ theo từng vùng địa lý và kết quả điều tra dịch tễ trước đó

5.2.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Tiêm vắc xin cho người: chỉ áp dụng cho đối tượng có nguy cơ cao bị Leptospirosis. Ở Cuba đã sử dụng vắc xin tam liên (chứa serovars *ictero–haemorrhagiae*, *pomona* và *canicola*).

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

TREPONEMA

Schaudinn 1905

Loài mẫu: *Treponema pallidum* Schaudinn và Hoffmann 1905

1. GIỚI THIỆU

Treponema là những xoắn khuẩn, có vách mềm mại; thuộc chi *Treponema*, họ *Spirochaetaceae*, bộ *Spirochaetales*. Các *Treponema* gây ra bệnh giang mai và Treponematosis dịch tản phát ở người. *T. paralues–cuniculi* chỉ gây bệnh cho thỏ. Các bệnh do *Treponema* gây ra ở người, khác nhau cả về đặc điểm lâm sàng và đặc điểm dịch tễ học: *Treponema pallidum* subspecies (dưới loài) *pallidum* gây bệnh giang mai (syphilis), *Treponema pallidum* subspecies *endemicum* gây bệnh Bejel (endemic syphilis), *Treponema pallidum* subspecies *pertenue* gây bệnh ghẻ cóc (Yaws) và *Treponema carateum* gây bệnh Pinta.

Bảng 6.2. Tóm tắt một số đặc điểm của *Treponema* gây bệnh

Đặc điểm	*T. pallidum* subsp.			*T. carateum*	*T. paralues–cuniculi*
	pallidum	*pertenue*	*endemicum*		
Túc chủ tự nhiên – Người – Thỏ	+	+	+	+	 +
Ổ nhiễm ở túc chủ – Toàn thân – Da	+	 +	 +	 +	 +
Truyền qua đường tình dục	+	–	–	–	+
Phân bố – Toàn thế giới – Các nước nhiệt đới – Trung cận Đông, Bắc Phi – Tây bán cầu	+	 +	 +	 +	

Trong khi bệnh giang mai xảy ra ở khắp mọi nơi trên thế giới thì các bệnh bejel, yaws và pinta chỉ thấy ở một số vùng địa lý, nhất là nơi nóng, ẩm; như bệnh yaws chỉ thường gặp ở các nước nhiệt đới như Đông Nam Á, Trung Phi, Nam Mỹ; bejel thường xảy ra ở Bắc Phi, Trung cận Đông và Nam Âu; bệnh pinta thường ở Trung và Nam Mỹ. Cũng chỉ riêng bệnh giang mai có gây ảnh hưởng cho bào thai và hệ thần kinh trung ương. Bệnh giang mai là bệnh lây truyền qua đường tình dục – bệnh hoa liễu, được mô tả từ lâu trong y văn và trong thế kỷ XIX đã có nhiều nghiên cứu tìm hiểu về tác nhân gây ra bệnh hoa liễu. Rất lâu sau thành công của Albert Neisser phát hiện ra lậu cầu, năm 1905, nhà động vật

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Fritz Schaudin và bác sĩ da liễu Erich Hoffmann đã công bố chung trong một bài báo về một xoắn khuẩn trong dịch tiết từ vết loét giang mai, có màu nhợt nhạt sau 12 giờ xử lý tiêu bản bằng phương pháp nhuộm Giemsa và gọi nó bằng cái tên "*Spirochaeta pallida*". Nhiều tác giả nghiên cứu sau đó đã xác minh và đặt tên xoắn khuẩn là *Treponema pallidum*; đặc biệt với thành công của Hideyo Noguchi: chứng minh *T. pallidum* trong não và dịch não tuỷ, việc xác định tác nhân gây ra bệnh giang mai đã khép lại. Bệnh giang mai đã từng xảy ra thành dịch lẻ tẻ ở một số nơi, như châu Phi, Đông Nam Á và Liên Xô cũ. Những năm gần đây, lại có những đợt bùng phát số người bị bệnh này ở nước Mỹ, thường gặp ở nam đồng tính luyến ái với tần suất đồng nhiễm giang mai và HIV cao. Cùng những tiến bộ của khoa học kỹ thuật, việc giải trình tự bộ gen (genome) của *T. pallidum* và các nghiên cứu sinh học phân tử khác đã và sẽ cung cấp thêm hiểu biết về loài vi khuẩn còn nhiều bí ẩn này.

Khác với *T. pallidum*, một số *Treponema* nuôi cấy được trong điều kiện kỵ khí và môi trường giàu chất dinh dưỡng là những *Treponema* cư trú ở khoang miệng, gồm *T. denticola*, *T. vincentii* (vi khuẩn gây bệnh cơ hội) và *T. scoliodentium*. Có một vài *Treponema* tồn tại ở đường sinh dục nhưng không gây bệnh như *T. refringens* và *T. minutum*. *T. phagedentis* tham gia gây những ổ loét ngoài đường sinh dục ở người. Một số *Treponema* chưa được xác định rõ họ tên như *T. macrodentium* hoặc *T. orale*.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và cấu tạo

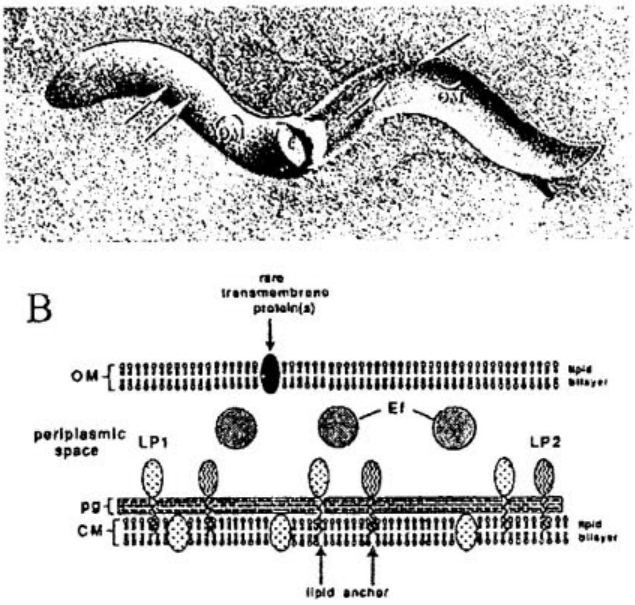
2.1.1. Hình thể

T. pallidum hình xoắn lò xo, có đường kính thân từ 0,16 – 0,20 µm, dài 5 – 15 µm và có 6 – 14 vòng xoắn. Vì đường kính thân rất nhỏ nên xoắn khuẩn khó được nhuộm màu; cái tên *pallidum* (nhợt nhạt) đã xuất phát từ đặc điểm này. Để quan sát hình thể dưới kính hiển vi, phải nhuộm xoắn khuẩn theo phương pháp nhuộm thấm bạc, còn gọi là nhuộm Fontana – Tribondeau, vi khuẩn có màu vàng nâu với sóng hình sin đều đặn. Thông thường *T. pallidum* được quan sát sống dưới kinh hiển vi nền đen; đó là những xoắn khuẩn, sáng trắng trên nền đen và chuyển động xoay tròn hầu như không di rời vị trí *(Xem hình P46 ở Phụ bản)*.

2.1.2. Siêu cấu trúc

T. pallidum là vi khuẩn Gram âm. Các thành phần cấu tạo từ ngoài vào gồm: màng ngoài (outer membrane – OM), khoảng bao quanh bào tương (periplasmic space), lớp peptidoglycan (vách), màng bào tương (cytoplasmic membrane – màng trong) và ống bào tương.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình 6.4. Siêu cấu trúc.

(A) Ảnh chụp dưới kính hiển vi điện tử xoắn khuẩn với vết gãy đông băng; mũi tên chỉ các protein chuyển màng (transmembrane proteins) của màng ngoài – OM. (B) Mô hình cấu trúc của *T. pallidum*: OM với một ít protein chuyển màng và nhiều lipoprotein LP1, LP2 mang tính kháng nguyên cắm ở khoảng bao quanh bào tương; Ef: endoflagella; pg: lớp peptidoglycan; CM: màng bào tương

Màng ngoài của *T. pallidum* khác với OM của các vi khuẩn Gram–âm ở đặc điểm: không có lipopolysaccharide – LPS. Màng bào tương chứa nhiều thể nội màng với rất nhiều lipoprotein mang tính kháng nguyên như Tpp47, Tpp17, Tpp15. Tpp47 là lipoprotein 47 kDa của *T. pallidum*; đó là một protein gắn penicillin (penicillin–binding protein) có hoạt tính carboxypeptidase.

T. pallidum di động nhờ endoflagella; đó là những sợi fibrin chạy dọc theo tế bào, chúng nằm hoàn toàn trong khoảng bao quanh bào tương – đây là điểm khác biệt với lông (flagella) của các vi khuẩn Gram âm. Endoflagella không chỉ có chức năng di động mà nó còn góp một phần vào cơ chế bệnh sinh của *T. pallidum* – giúp vi khuẩn xâm nhập vào mô và phân tán trong cơ thể; quan trọng hơn nữa là nó mang tính kháng nguyên cao, gây đáp ứng kháng thể và kháng thể này duy trì suốt quá trình nhiễm trùng; chính vì thế mà nó trở thành đích nhắm tới của các test huyết thanh học.

2.1.3. Tính chất nuôi cấy

Việc không nuôi cấy được *T. pallidum* in vitro đã gây nhiều trở ngại cho sự hiểu biết về vi khuẩn này. Cho đến nay, việc nuôi cấy vẫn được thực hiện in vivo, bằng cách tiêm vào tinh hoàn thỏ chủng Nichol. Đó là chủng mà Nichol phân lập được năm 1912 từ dịch não tuỷ của một bệnh nhân bị giang mai thần kinh. *T. pallidum* ký sinh tuyệt đối ở người. Kết quả phân tích genom xác nhận thông tin trước đây rằng: *T. pallidum* chỉ có khả năng sinh tổng hợp và chuyển hoá

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các chất ở mức tối thiểu. *T. pallidum* là vi khuẩn vi hiếu khí; nó nhạy cảm với oxy là do không có catalase và enzym phân giải oxy; nhưng có NADH oxidase nên bảo vệ được tế bào chống độc tính của oxy. *T. pallidum* có thời gian phân chia tế bào khá dài: 30 – 35 giờ; có thể đây là nguyên nhân gây khó khăn cho nuôi cấy in vitro và cho điều trị.

2.1.4. Sức đề kháng

Vi khuẩn giang mai rất nhạy cảm với điều kiện bên ngoài, nhất là khô và nóng: ở nhiệt độ 50°C bị chết trong vòng 60 phút; ở nhiệt độ phòng chỉ sống được vài giờ, do đó khó có thể lây qua dụng cụ bị nhiễm vi khuẩn. *T. pallidum* rất nhạy cảm với hoá chất như arsen, thuỷ ngân, bismuth, với pH thấp và kháng sinh.

2.1.5. Sinh học phân tử và kháng nguyên

Nhờ phương pháp điện di protein, kỹ thuật kháng thể đơn dòng và tạo dòng gen (gene cloning) nhiều kháng nguyên của *T. pallidum* đã được nghiên cứu. Giải trình tự genom của *T. pallidum* cho biết: bộ gen là một nhiễm sắc thể vòng tròn, chứa khoảng 1000 kb (kilo base pairs) và không có thành phần di truyền ngoài nhiễm sắc thể. Genom của *T. pallidum* thuộc loại nhỏ nhất trong các genom của tế bào tiền nhân (prokaryote); nó chỉ chứa 1041 bộ khung đọc mở (open-reading frames – ORFs). Trên 50% các ORFs này đã được biết rõ về chức năng sinh học. Không thấy có transposon trong genom của *T. pallidum* và rất ít có sự khác biệt giữa các dưới loài (subspecies) và các chủng *T. pallidum*; có thể là do tính bền vững của ADN. Điều này có thể liên quan đến độ nhạy cảm không thay đổi của *T. pallidum* với penicillin từ trước đến nay.

T. pallidum có nhiều gen lặp lại *tpr*; chúng mã hoá ra 12 protein lặp lại của *T. pallidum*, gọi là Tpr protein (từ TprA tới TprL); những protein này rất đặc hiệu vì cho thấy có sự khác nhau giữa các chủng và ngay trong một chủng. Các protein này đang được nghiên cứu sâu về vai trò bệnh lý và gây miễn dịch của chúng.

Gần đây, nhằm khắc phục khó khăn để có ADN của *T. pallidum*, Smajs và cộng sự (2002) đã cài toàn bộ genom của *T. pallidum* vào *E. coli* tạo ra một nhiễm sắc thể nhân tạo (bacterial artificial chromosome – BAC). BAC chứa 97% ORFs dự đoán của *T. pallidum*; 12 sản phẩm protein đã được xác định; 7 trong số đó phù hợp với các polypeptide của *T. pallidum* đã được biết trước đây. Điều này cho thấy: ít nhất, một số gen của *T. pallidum* đã được biểu hiện ở *E. coli* và sẽ được nghiên cứu tiếp tục về chức năng của chúng. BAC còn được sử dụng để tạo ra các sản phẩm PCR, chứa 96% ORFs dự đoán của *T. pallidum*; các sản phẩm này được tạo dòng trong nhiều plasmid khác nhau, cho phép chuyển thành hàng loạt vectơ chức năng. Tổng cộng, 85 trong 248 protein dự đoán của *T. pallidum* đã được biểu hiện ở *E. coli*; 12 trong số đó được nhận biết bằng kháng huyết

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thanh thỏ; 7 trong số 12 đó đã được xác định là kháng nguyên của *T. pallidum* trước đây; như vậy còn năm kháng nguyên đang được khám phá. Nghiên cứu tiếp theo từ trình tự genom của *T. pallidum* nhằm xác định các protein kháng nguyên hứa hẹn phát triển nhiều test chẩn đoán và có thể cả vắc xin nữa.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Cơ chế gây bệnh

Cơ chế bệnh sinh của *T. pallidum* còn được hiểu biết rất ít. Các thực nghiệm trên thỏ hoặc khỉ, không gây thành bệnh giang mai. Ở bệnh giang mai, nhiễm trùng xảy ra, được cho là do vi khuẩn xuyên qua da hoặc niêm mạc nhày. Một nghiên cứu năm 1956 của Magnuson và cộng sự trên người tình nguyện cho thấy: chỉ một số lượng nhỏ (10) vi khuẩn đã có thể dẫn tới nhiễm trùng. *T. pallidum* có khả năng xâm nhập siêu mạnh; nó tấn công bề mặt tế bào và nhanh chóng chui vào trong tế bào, vào mô. Tại nơi xâm nhập, xoắn khuẩn nhân lên gây tổn thương tại chỗ – vết loét, sau nhiều ngày hoặc nhiều tuần. Ở giai đoạn đầu, xoắn khuẩn còn phân tán tới nhiều nơi trong cơ thể gây ra nhiễm trùng toàn thân. Nghiên cứu trên mô hình động vật trước đây cho thấy: xoắn khuẩn có mặt trong hạch lympho chỉ sau vài phút và phân tán rộng toàn thân trong vòng vài giờ. Nhưng có một điều rõ ràng là, hầu hết những trường hợp bệnh lý còn phụ thuộc vào đáp ứng miễn dịch của cơ thể bị nhiễm. Khả năng xâm nhập của *T. pallidum* cũng là yếu tố quan trọng gây nên nhiễm trùng tiềm tàng (latent infection), vì *T. pallidum* có thể chui vào những vị trí trốn tránh được sự giám sát của hệ thống miễn dịch. Độc tính của *T. pallidum* rất hạn chế, vì OM không có LPS và chỉ có một ít protein chuyển màng; có thể chính vì đích trên bề mặt ít như vậy nên hệ thống miễn dịch của cơ thể không phát hiện ra chúng. Một phân tích trình tự genom nhằm tìm hiểu yếu tố độc lực của *T. pallidum* đã xác định được 67 gen có vai trò bệnh lý, bao gồm gen *tpr* và các gen mã hoá haemolysin, sinh tổng hợp polysaccharide, điều hoà và protein bề mặt. Gần một phần ba số gen này đã được xác định trước đây; từ đó cho thấy bộ gen của *T. pallidum* còn cần nhiều nghiên cứu tiếp tục.

3.2. Dịch tễ học

Bệnh giang mai là bệnh lây truyền qua đường tình dục (Sexually Transmitted Diseases–STD); bệnh còn được lây dọc từ mẹ sang con, do xoắn khuẩn qua được rau thai vào thai nhi trong tử cung (in utero) gây bệnh giang mai bẩm sinh. Tai nạn nghề nghiệp hi hữu: bà đỡ bị nhiễm xoắn khuẩn do đỡ đẻ cho sản phụ bị bệnh giang mai có được mô tả trước đây. Lây do truyền máu hoặc vết thương đâm có được kể tới, nhưng hiện nay rất hiếm gặp. Nguy cơ lây truyền qua đường tình dục được phỏng đoán là khoảng 60% quan hệ. Tỷ lệ mắc giang

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

mai ở các nước công nghiệp đã giảm xuống trong những năm 1980, tiếp sau sự kiện HIV/AIDS. Những năm 90 và gần đây, lại có những đợt bệnh bùng phát. Song song với dịch ở người lớn là sự gia tăng giang mai bẩm sinh; ví dụ: trên 3000 trường hợp trong thời gian đỉnh của dịch ở người lớn năm 1990 ở nước Mỹ đã được ghi nhận. Những năm 2001, 2002 số người bị giang mai gia tăng chủ yếu là nam giới có quan hệ đồng tính và tần suất đồng nhiễm HIV cao ở cả nước Mỹ và nước Anh. Trong những năm 90 tỷ lệ mắc giang mai ở Liên bang Nga cũng gia tăng đột biến, năm 1996 gấp 62 lần so với năm 1988; có thể là phối hợp của nhiều nguyên nhân như nghèo đói, thất nghiệp, cắt giảm dịch vụ y tế, tăng dân số do mở cửa biên giới, ... Cũng giống như ở Mỹ, dịch ở người lớn đã kéo theo dịch giang mai bẩm sinh ở Liên bang Nga, năm 1999 gấp 26 lần so với năm 1991. Không được chăm sóc và điều trị thích hợp, trên 60% bà mẹ bị bệnh đã sinh ra trẻ bị giang mai bẩm sinh và một tỷ lệ chết thai cao.

Các bệnh Treponematosis dịch tản phát lây truyền trực tiếp từ người sang người, qua phần da hở với dịch tiết của tổn thương; bệnh Bejel có thể còn do nguồn nước ăn. Trong điều kiện sống thấp kém, vệ sinh cá nhân và vệ sinh môi trường không đảm bảo, bệnh có thể lây truyền thành dịch ở một số vùng dân cư, nhất là ở trẻ em.

Các bệnh Treponematosis gây ảnh hưởng lớn ở các nước đang phát triển. WHO dự tính trong 12 triệu người lớn mới mắc giang mai năm 1999, có khoảng 4 triệu là ở Nam và Đông Nam Á, 4 triệu ở Sahara châu Phi, 3 triệu ở châu Mỹ Latinh và Caribê. Các bệnh Treponematosis dịch tản phát tác động chủ yếu ở trẻ em dưới 15 tuổi vùng nông thôn các nước nhiệt đới; vùng mắc bệnh Bejel còn được mở rộng hơn. Tuy WHO đã có chương trình giám sát toàn cầu bệnh Treponematosis gây dịch tản phát trong những năm 1950 và 1960 nhưng việc kết hợp với y tế địa phương chưa hiệu quả nên một số vùng bệnh vẫn tồn tại, như nhiều nơi ở châu Phi, Đông Nam Á, các đảo Thái Bình Dương và Nam Mỹ.

3.3. Hình ảnh lâm sàng

3.3.1. Bệnh giang mai

Bệnh giang mai gồm hai loại: giang mai mắc phải và giang mai bẩm sinh; cả hai được chia thành giai đoạn sớm và giai đoạn muộn.

Bệnh giang mai mắc phải (acquired syphilis)

Giai đoạn sớm gồm thời kỳ I (primary syphilis), thời kỳ II (secondary syphilis) và giang mai tiềm tàng sớm (early latent syphilis).

Giai đoạn muộn gồm thời kỳ III (tertiary syphilis) và giang mai tiềm tàng muộn (late latent syphilis).

Thời gian ủ bệnh điển hình là khoảng 3 tuần, có thể thay đổi từ 10 đến 90

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ngày. Biểu hiện đặc trưng của thời kỳ I là vết loét – chancre, ở nơi xoắn khuẩn xâm nhập và có hạch lympho vùng lân cận. Săng (chancre) kinh điển là ở cơ quan sinh dục, đơn lẻ, không ngứa, không đau, loét nông và chân cứng. Trong dịch tiết vết loét và dịch trong hạch có nhiều xoắn khuẩn. Tuy vậy, vết loét có thể không điển hình: nhiều vết loét, đau nhiều, có mủ và ở ngoài bộ phận sinh dục.

Thời kỳ II thường là 4–8 tuần sau khi lành vết loét thời kỳ I, nhưng có thể thay đổi từ 2 tuần tới 6 tháng. Gần một phần ba số bệnh nhân vẫn có chancre. Tổn thương thường thấy ở da và màng nhày; điển hình là dát màu hoa đào (roseola – hồng ban) trên da, kể cả lòng bàn tay và bàn chân, các loại sẩn, nhất là ở vùng da ẩm, có thể có tổn thương niêm mạc da, sốt, rụng tóc... ít gặp hơn là viêm cầu thận, viêm gan, viêm màng xương, viêm màng não, viêm màng mạch nho trước (anterior uveitis)...

Các biểu hiện tổn thương của thời kỳ I và II có thể tự mất đi; sau đó chuyển sang giai đoạn tiềm tàng – nhiễm trùng không có triệu chúng nhưng huyết thanh học dương tính. Giang mai tiềm tàng được xếp thành hai loại sớm và muộn là dựa trên cơ sở của nguy cơ lặp lại. Nếu không điều trị thì khoảng 25% bị lại, tổn thương da niêm mạc tái lại nhiều lần và dễ truyền nhiễm. Khoảng 90% bị lại trong năm đầu và 94% bị lại trong vòng 2 năm, số còn lại xảy ra trong vòng 4 năm. Theo định nghĩa của WHO thì giang mai tiềm tàng sớm là 2 năm đầu tiếp sau nhiễm trùng (ở Mỹ và Anh được định nghĩa là năm đầu tiếp sau nhiễm trùng).

Sau thời gian khác nhau, thường là nhiều năm, khoảng một phần ba người bệnh không điều trị sẽ chuyển sang thời kỳ III, với khoảng 15% bị "gôm" (gummatous syphilis), 10% bị tim mạch (cardiovascular syphilis) và 10% bị thần kinh (neurosyphilis). Gôm (gumma) là tổn thương sâu ở tổ chức, có thể gặp ở bất cứ cơ quan nào nhưng thường là xương và da. Giang mai tim mạch thường ảnh hưởng đến các mạch máu lớn, kinh điển là động mạch chủ lên (ascending aorta), có thể dẫn đến phun ngược trở lại hay phình động mạch chủ. Giang mai thần kinh có thể không có triệu chứng lâm sàng, tuy có bất thường trong dịch não tuỷ, nhưng không có dấu hiệu thần kinh hoặc có triệu chứng hay chỉ có tính chất triệu chứng. Lẽ dĩ nhiên, hệ thần kinh trung ương có thể bị tấn công bất cứ lúc nào ngay cả thời kỳ I, không chỉ thời kỳ III. Kỷ nguyên chưa có penicillin rất hay gặp giang mai thần kinh nhu mô và giang mai thần kinh mạch–não.

Bệnh giang mai bẩm sinh

Giang mai bẩm sinh hầu hết xảy ra trong tử cung (in utero); một số có thể xảy ra lúc sinh đẻ (perinatal -- chu sinh). Hậu quả bao gồm thai chết lưu, trẻ sơ sinh bị chết hoặc trẻ bị giang mai bẩm sinh. Hậu quả phụ thuộc vào giai đoạn nhiễm trùng của người mẹ hoặc giai đoạn mang thai bị nhiễm trùng. Những trường hợp xấu là người mẹ bị giang mai ở giai đoạn sớm; nhưng trái ngược với

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

giang mai truyền do quan hệ tình dục, việc truyền dọc từ mẹ sang con xảy ra ngay cả ở nhiễm trùng tiềm tàng muộn.

Dựa vào lâm sàng giang mai bẩm sinh được chia thành hai dạng: giang mai bẩm sinh sớm và giang mai bẩm sinh muộn. Giang mai bẩm sinh sớm xảy ra trong 2 năm đầu đời; có thể có triệu chứng ngay lúc sinh với tiên lượng xấu hoặc có thể xuất hiện muộn hơn, thường là trong 5 tuần đầu của cuộc sống làm người. Giang mai bẩm sinh muộn bao gồm tất cả những biểu hiện bệnh xảy ra sau năm tuổi thứ hai và thường được phát hiện bằng chẩn đoán huyết thanh học.

Bệnh giang mai và nhiễm HIV

Có ý kiến cho rằng, HIV làm thay đổi diễn biến lâm sàng của bệnh giang mai. Nguy cơ bị chancre kéo dài hơn và nhanh tiến triển sang thời kỳ II với tổn thương viêm loét da cũng như nguy cơ bị giang mai thần kinh nhiều hơn. Thực tế, phần lớn bệnh nhân giang mai bị đồng nhiễm cả HIV và có những biểu hiện điển hình của bệnh giang mai mắc phải.

3.3.2. Bệnh Treponematosis dịch tản phát

Bệnh Treponematosis dịch tản phát cũng được chia thành hai giai đoạn: sớm và muộn. Giai đoạn sớm được xem xét là lây – truyền nhiễm hoặc có tiềm năng truyền nhiễm và kéo dài tới 5 năm, kể từ khi bị nhiễm trùng. Bệnh Treponematosis dịch tản phát có đặc điểm nổi bật là bệnh ngoài da và hay bị lại. Ở pinta chỉ có biểu hiện lâm sàng – bệnh ngoài da; ở yaws và bejel, màng nhày và xương có thể bị ảnh hưởng. Bệnh Treponematosis dịch tản phát không truyền dọc và cũng không gây tổn thương thần kinh như bệnh giang mai.

3.3.3. Các Treponema khoang miệng

Các *Treponema* khoang miệng, đặc biệt là *T. denticola*, kết hợp với các vi khuẩn khác ở chân răng gây bệnh viêm quanh răng. Bộ gen của *T. denticola* đã được giải trình tự và được xem xét là lớn hơn genom của *T. pallidum*.

Fusospirochaetosis là những viêm nhiễm hoại tử khu trú ở niêm mạc do sự phối hợp của trực khuẩn kỵ khí *Fusobacteria* và xoắn khuẩn *Treponema* kỵ khí ở khoang miệng – *T. vincentii* gây ra. Viêm họng Plaut–Vincent là biểu hiện điển hình của bệnh Fusospirochaetosis với tổn thương hoại tử amydal một bên có thể tạo màng trắng xám (khó nuốt, nhiệt độ tăng ít, tăng bạch cầu). *T. vincentii* khác với các *Treponema* gây bệnh giang mai và Treponematosis dịch tản phát ở nhiều đặc điểm: *T. vincentii* nuôi cấy được trong môi trường kỵ khí; phát hiện được bằng phương pháp nhuộm Gram (đường kính thân lớn hơn *T. pallidum*) và các vòng xoắn không đều nhau. Sự phát triển của các kỹ thuật phân tử, ví dụ real–time PCR, hứa hẹn sẽ cung cấp thêm hiểu biết về vai trò bệnh lý của các *Treponema* khoang miệng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Chẩn đoán nhiễm trùng do *Treponema* phải dựa trên cơ sở phối hợp cả biểu hiện lâm sàng, chẩn đoán trực tiếp tìm vi khuẩn và chẩn đoán huyết thanh. Tuỳ từng thời kỳ của bệnh mà áp dụng những phương pháp chẩn đoán thích hợp. Tìm *Treponema* bằng soi kính hiển vi hay bằng PCR, có vai trò đặc biệt quan trọng ở giai đoạn đầu, vì lúc này chưa phát hiện được kháng thể. Tất cả các giai đoạn khác của bệnh đều chẩn đoán bằng phương pháp huyết thanh học.

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Soi kính hiển vi phát hiện T. pallidum

Kinh điển là soi dưới kính hiển vi nền đen dịch tiết vết loét – chancre ở giang mắc phải (hoặc dịch trong mụn tổn thương ở ghẻ cóc) để tìm xoắn khuẩn dựa vào hình dạng đặc trưng và tính di động. Hạn chế của phương pháp này là chỉ áp dụng được cho giai đoạn sớm hoặc chỉ giang mai thời kỳ I. Hạn chế thứ hai là bệnh phẩm – dịch tiết vết loét ở bộ phận sinh dục phải được lấy đúng kỹ thuật: rửa sạch vết loét, lau cồn khử trùng bên ngoài, dùng gạc hoặc gáy dao mổ chà sát vết loét, chờ đến khi huyết tương tiết ra, lấy dịch trong làm tiêu bản soi tươi.

Nếu bệnh phẩm được lấy đúng kỹ thuật và tìm thấy xoắn khuẩn, kết hợp với lâm sàng có thể có được chẩn đoán chắc chắn.

4.1.2. Kỹ thuật PCR

PCR là kỹ thuật cho phép tìm được *Treponema* trong dịch tổn thương cũng như trong các bệnh phẩm khác, ví dụ bệnh phẩm khó chẩn đoán như dịch não tuỷ. Có nhiều quy trình (assays) khác nhau, sử dụng gen đích và được thiết kế để có kích cỡ khác nhau. Phần lớn đích được sử dụng là gen mã hoá lipoprotein 47 kDa – Tpp47. Các đích khác là PCR enzym sao chép ngược cho 16S rRNA và hỗn hợp đa mồi nhằm phát hiện các tác nhân gây viêm loét sinh dục khác như *Haemophilus ducreyi* và *Herpes simplex* virus. Tuy vậy, vẫn còn nhiều ý kiến về độ nhạy, độ đặc hiệu cũng như không rõ chức năng của rất nhiều gen đích. Điều này khích lệ những nỗ lực nhằm tìm ra đích đặc hiệu cho vi khuẩn *T. pallidum* còn nhiều bí ẩn này.

4.1.3. Thử nghiệm gây nhiễm thỏ

Thử nghiệm gây nhiễm thỏ (Rabbit Infectivity Test – RIT) vẫn được sử dụng như "tiêu chuẩn vàng" để đánh giá phương pháp phát hiện vi khuẩn trong bệnh phẩm lâm sàng, ví dụ PCR. Độ nhạy của RIT là 100% nhưng đây là kỹ thuật không thể áp dụng thường quy được.

4.2. Chẩn đoán huyết thanh học

Các phản ứng huyết thanh học phát hiện kháng thể chống *Treponema* được xếp thành hai loại: không đặc hiệu và đặc hiệu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Kháng thể IgM có thể phát hiện được từ khoảng cuối tuần thứ hai và IgG sau khoảng 4 tuần bị nhiễm trùng.

Phương pháp huyết thanh học không thể phân biệt được bệnh giang mai với các bệnh Treponematosis gây dịch tản phát.

Phương pháp huyết thanh học có nhiều ứng dụng: nhằm sàng lọc trong quần thể có nguy cơ thấp, ví dụ cho phụ nữ mang thai hoặc người cho máu; nhằm rà soát trong quần thể có nguy cơ cao, ví dụ những người du lịch tình dục: nhằm chẩn đoán cho bệnh nhân có tiền sử lâm sàng phù hợp với bệnh giang mai hoặc nhằm đánh giá giai đoạn của bệnh hay giám sát hiệu quả điều trị.

4.2.1. Phản ứng không đặc hiệu

Đây là phản ứng lên bông (flocculation test), kháng nguyên sử dụng cho phản ứng này là cardiolipin, một kháng nguyên phospholipid, được chiết xuất từ tim bò nhưng có cấu trúc gần giống chất lipoid của xoắn khuẩn giang mai. Cũng chính vì vậy, chỉ phát hiện được reagin – phản ứng tố trong huyết thanh người bệnh. Reagin hình thành là do kích thích của chất lipoid của xoắn khuẩn và chống lại chất lipoid này.

Với kháng nguyên cardiopilin – có thể tiến hành các test VDRL (Veneral Diseases Research Laboratory) và RPR (Rapid Plasma Reagin). Test này phát hiện được IgG và IgM, các kháng thể này xuất hiện khoảng 3–5 tuần sau khi bị nhiễm trùng. Độ nhạy đạt khoảng 90% cho giang mai thời kỳ I và 100% cho giang mai thời kỳ II. Tuy vậy, vẫn có xảy ra (–) giả, tức là người bệnh bị giang mai nhưng kết quả huyết thanh âm tính và (+) giả – người bị các bệnh cấp hoặc mạn tính khác (ví dụ sốt rét, thận hư nhiễm mỡ, ...) nhưng lại có kết quả huyết thanh dương tính. Do vậy, cần thực hiện test hai lần (cách nhau > 10 ngày) nhằm kiểm tra sự lặp lại của kết quả. Nếu định lượng -- xác định hiệu giá kháng thể, test này có thể theo dõi được đáp ứng điều trị.

Phản ứng không đặc hiệu có ưu điểm là rẻ hoặc không đắt tiền, tiện lợi dễ áp dụng, đáp ứng tốt mục đích rà soát.

4.2.2. Phản ứng đặc hiệu

Kháng nguyên được sử dụng là xoắn khuẩn giang mai bị giết chết hoặc còn sống. Các phản ứng đặc hiệu bao gồm:

TPHA (*Treponema pallidum* Haemagglutination), phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động với kháng nguyên là các mảnh *T. pallidum* gắn trên nền mượn – tế bào hồng cầu.

TPPA (*T. pallidum* Particle Agglutination), phản ứng ngưng kết hạt (thụ động) với kháng nguyên là các mảnh *T. pallidum* gắn trên nền mượn – hạt gelatin.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

FTA–abs (Fluorescent treponemal Antibody – absorbed test), phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp với toàn bộ tế bào xoắn khuẩn được cố định trên tiêu bản.

ELISA / EIA (Enzyme–Linked Immunosorbent Assay/Enzyme Immunoasay), phản ứng miễn dịch gắn enzym với kháng nguyên của *T. pallidum*.

TPI (*Treponema pallidum* Immobilization), phản ứng bất động xoắn khuẩn giang mai (còn gọi là Nelson test) với vi khuẩn sống lấy từ tinh hoàn thỏ bị viêm và giữ trong môi trường cơ bản (Basal medium). Hiện nay, TPI hầu như không được thực hiện, vì lý do không sẵn có chủng vi khuẩn sống, đang còn khả năng di động mạnh.

FTA có thể phát huy tác dụng ở tuần thứ 3 của bệnh và có độ nhạy 85–100% ở thời kỳ I. Mặc dù, test này được cho là "tiêu chuẩn vàng" nhưng nó mang nhiều tính chất chủ quan và thiếu được chuẩn hoá nên ít được sử dụng (Young, 2000). TPHA ít nhạy cảm hơn FTA ở thời kỳ I nhưng lại đặc hiệu hơn. TPPA được cho là nhạy và đặc hiệu hơn TPHA nên có thể sử dụng thay thế khi thử nghiệm nhằm khẳng định. Hiện nay có rất nhiều thương phẩm cho test EIA nhằm phát hiện IgG hoặc IgG và IgM dựa trên cơ sở của các kháng nguyên tái tổ hợp; ví dụ một hoặc nhiều kháng nguyên lipoprotein Tpp15, Tpp17 và Tpp47. Cũng đã có thương phẩm cho EIA đặc hiệu IgM (IgM–specific assays). Chưa có nhiều nghiên cứu đánh giá so sánh độ nhạy và độ đặc hiệu giữa các test đặc hiệu hoặc các test EIA với nhau. Một nghiên cứu của Lefevre và CS (1990) thông báo rằng: độ nhạy của EIA đặc hiệu IgM là 93% cho giang mai thời kỳ I và IgM phát hiện bằng EIA đặc hiệu hơn test FTA tìm IgM. IgM test cũng có thể áp dụng trong chẩn đoán giang mai bẩm sinh, nhưng khuyến cáo là nên thử nhiều lần vì có thể IgM đặc hiệu chưa thể phát hiện được lúc trẻ mới sinh, thậm chí là ở trẻ sơ sinh.

Việc ứng dụng các test huyết thanh cho mục đích rà soát ở mỗi nước không giống nhau hoàn toàn: ở Mỹ và một số nước châu Âu dùng test không đặc hiệu, một số nước châu Âu khác rà soát chỉ bằng TPHA, ở Anh lại phối hợp cả test không đặc hiệu và đặc hiệu, đó là hoặc VDRL với TPHA hoặc RPR với TPHA. Gần đây test đặc hiệu EIA đã được sử dụng nhiều làm test sàng lọc. Nhưng nguyên tắc chung là: nếu test không đặc hiệu (+), cần khẳng định bằng test đặc hiệu và cần lấy bệnh phẩm lần thứ hai nhằm xác định sự lặp lại của kết quả hoặc xác định tính chính xác của bệnh phẩm lần đầu.

Chẩn đoán huyết thanh học hứa hẹn còn nhiều phát triển, vì trình tự genom của *T. pallidum* đã được biết, ví dụ có thể sử dụng protein OM (TpO453) hoặc các kháng nguyên bề mặt của *T. pallidum*.

4.2.3. Miễn dịch đốm (Immunoblots)

Western blots và một dòng thương phẩm EIA tìm kháng thể chống xoắn

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khuẩn giang mai với kháng nguyên tái tổ hợp và kháng nguyên polypeptide tổng hợp đã có trên thị trường. Có thể dùng làm test khẳng định được hay không, còn cần có nghiên cứu đánh giá.

4.2.4. Test nhanh

Nhiều test nhanh, đơn giản bằng các dải băng miễn dịch sắc ký màu (immunochromatographic strip) để tìm kháng thể chống xoắn khuẩn giang mai đã có trên thị trường. WHO đã có đánh giá các test này và công bố kết quả: độ nhạy so với TPHA hoặc TPPA đạt từ 85 – 98%. Các test nhanh là đặc biệt tiện lợi và hữu ích cho các nước đang phát triển, nơi chưa có phòng thí nghiệm với trang thiết bị đầy đủ.

4.2.5. Thử nghiệm dịch não tuỷ

Việc khẳng định giang mai thần kinh bằng xét nghiệm cần xem xét nhiều vấn đề. Hướng dẫn của CDC (Center for Diseases Control and Prevention) đã nhấn mạnh tầm quan trọng phải xem xét: test huyết thanh học, sự bất thường về tế bào hoặc protein trong dịch não tuỷ hay dịch não tuỷ có VDRL (+). Theo CDC (2002) thì dịch não tuỷ (không bị nhiễm máu) có VDRL (+) được xem xét để chẩn đoán là bị giang mai, nhưng có thể xảy ra VDRL (–) giả. Ngược lại, kết quả test đặc hiệu với dịch não tuỷ mà âm tính thì nhìn chung được chấp nhận là không phải giang mai thần kinh.

4.2.6. Theo dõi đáp ứng điều trị

Các test không đặc hiệu sẽ âm tính sau thời gian điều trị, nhất là với giang mai sớm; theo Romanowski (1991) hiện tượng này cũng xảy ra cả với test đặc hiệu. Tần suất giảm hiệu giá kháng thể ở các test không đặc hiệu phụ thuộc vào giai đoạn nhiễm trùng, lúc được phát hiện lần đầu và trước đó đã bị giang mai lần nào hay chưa. Hiệu giá kháng thể giảm khoảng 4 lần trong vòng 6 tháng ở bệnh nhân giang mai thời kỳ I và II. Ở giang mai tiềm tàng giai đoạn sớm, có thể phải 12 tháng hiệu giá mới giảm được xuống 4 lần. Ở giang mai giai đoạn muộn, test không đặc hiệu có thể dương tính với hiệu giá thấp trong nhiều năm. Theo Egglestone và Turner (2000) thì test tìm IgM ít được dùng hơn test không đặc hiệu, vì tuy hoạt tính IgM có thể duy trì trong nhiều tháng, nhưng test không đặc hiệu vẫn thích được dùng để định lượng hơn.

4.2.7. Định loại phân tử (phân loại theo phương pháp phân tử)

Dựa vào kỹ thuật PCR, một hệ thống định loại *T. pallidum* subspecies *pallidum* đã được Pillay và cộng sự sử dụng bằng cách phối hợp kích cỡ dị gen (heterogenity) trong gen *arp* (acidic repeat protein) và kiểu cách RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) của 3 thành viên của gen *tpr* (*tpr* E, G và J). Kỹ thuật này đã được áp dụng để định loại cho các bệnh phẩm đường sinh dục và mẫu máu từ Mỹ, Madagascar và Nam Phi; ở Nam Phi có 35 dưới

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

type (subtypes) đã được xác định, với 82 trong 161 bệnh phẩm (51%) nằm trong 4 subtypes (Pillay và cộng sự, 2002). Điều này cho thấy hệ thống định loại này có thể là hữu ích để nghiên cứu dịch tễ học xoắn khuẩn giang mai.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

Penicillin là kháng sinh lựa chọn hàng đầu cho điều trị giang mai và các Treponematosis dịch tản phát (endemic treponematosis) cũng như Fusospirochaetosis.

Hiệu quả của penicillin trên bệnh giang mai được xác minh bằng cả kết quả thực nghiệm và thực tế lâm sàng. Liều lượng và số ngày dùng thuốc (thường dùng benzathin penicillin hoặc procain benzylpenicillin) tuỳ thuộc vào giai đoạn của bệnh và biểu hiện lâm sàng; yêu cầu phải đạt nồng độ diệt khuẩn: penicillin > 0,018 mg/L trong 7 ngày, với procain benzylpenicillin tiêm bắp hằng ngày (vì thời gian xoắn khuẩn phân chia tế bào là 30–35 giờ) hoặc một liều với benzathin penicillin cho giang mai giai đoạn sớm. Tuy vậy, một số tác giả đã khuyến cáo, với giang mai thời kỳ II và giang mai tiềm tàng sớm, cần điều trị dài ngày hơn: ba tuần với benzathin penicillin hoặc hai tuần với procain benzylpenicillin. Cho tất cả bệnh nhân giang mai giai đoạn muộn thời gian điều trị phải dài hơn: ba tuần, với procain benzylpenicillin tiêm bắp hằng ngày hoặc mỗi tuần một lần với benzathin penicillin, vì lúc này vi khuẩn được cho là phân chia chậm hơn. Kháng sinh được dùng đường tiêm để đạt sinh khả dụng (bioavailability) tốt hơn và việc điều trị phải được theo dõi sát.

Ở người mang thai: cần phải điều trị ngay bất kể tuần mang thai thứ bao nhiêu, với nguyên tắc điều trị đã nêu trên. Ở giang mai bẩm sinh, với liều phù hợp cho trẻ dưới 2 tuổi, penicillin thường có đáp ứng tốt; ở trẻ trên 2 tuổi cần duy trì nồng độ kháng sinh trong máu cao hơn.

Nếu người bệnh dị ứng penicillin thì kháng sinh thay thế là tetracycline hoặc doxycyclin, nhưng chống chỉ định cho người mang thai và trẻ nhỏ; kháng sinh dùng được cho đối tượng này là erythromycin.

Cần phải theo dõi bệnh nhân bị giang mai giai đoạn sớm sau điều trị bằng huyết thanh học (sau 3, 6 và 12 tháng) để đánh giá hiệu quả điều trị và phát hiện tái nhiễm. Test không đặc hiệu có thể lại dương tính với hiệu giá thấp, ngay cả với phác đồ điều trị thích đáng. Những bệnh nhân giang mai tim mạch và giang mai thần kinh cần phải theo dõi trong thời gian ít nhất là 3 năm, ngoài huyết thanh học và lâm sàng còn phải thử nghiệm dịch não tuỷ. Cần phải điều trị lại khi: có dấu hiệu hoặc triệu chứng của giang mai hoạt động tái lại hoặc hoạt động duy trì; có hiệu giá kháng thể cao với test không đặc hiệu (ví dụ 1/8 ở VDRL) kéo dài một năm; có hiệu giá kháng thể thấp nhưng xuất hiện gia tăng (gấp 4 lần) với test không đặc hiệu.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh

Nguyên tắc chung để phòng bệnh giang mai và Treponematosis dịch tản phát là giáo dục sức khoẻ, cắt đứt đường truyền, giảm thời gian nhiễm trùng và phòng ngừa biến chứng.

Giang mai là một bệnh xã hội nên phải phối hợp các biện pháp phòng ngừa của cả xã hội và y tế; nhiệm vụ của xã hội là thanh toán tệ nạn mại dâm, giáo dục tình dục an toàn; nhiệm vụ của y tế là phát hiện người bệnh sớm, ngăn chặn tiếp xúc, điều trị sớm và điều trị triệt để, ngăn ngừa giang mai bẩm sinh.

Với các bệnh Treponematosis dịch tản phát cần có chương trình giám sát ở cộng đồng, kết hợp với điều trị và tăng cường các biện pháp vệ sinh.

Với Fusospirochaetosis cần vệ sinh răng miệng, dinh dưỡng tốt với đủ vitamin.

BORRELIA

Swellengrebel 1907

Loài mẫu: *Borrelia anserina* (Sakharoff 1891) Bergey, Harrison, Breed, Hammer và Huntoon 1925

1. GIỚI THIỆU

Borrelia là những xoắn khuẩn có vách mềm mại, thuộc chi *Borrelia*; *Borrelia* cùng *Treponema* và *Leptospira* nằm trong họ *Spirochaetaceae*, bộ *Spirochaetales*. *Borelia* gây bệnh borreliosis. Borreliosis là bệnh lây truyền qua côn trùng tiết túc, gồm bệnh sốt hồi quy do *Borrelia recurrentis* truyền qua rận và do *B. duttoni* truyền qua ve *Ornithodorus* và bệnh Lyme do *B. burgdorferi* truyền qua ve *Ixodes*.

Năm 1739 mô tả của Rutley về vụ dịch ở Dublin với các triệu chứng điển hình là thông báo đầu tiên về bệnh sốt hồi quy, nhưng không phân biệt được với sốt phát ban. Đến 1843, Henderson đã phân biệt rõ hình ảnh lâm sàng của "sốt lặp lại – relapsing fever" và "sốt phát ban – febris petechialis". Năm 1857, Griesinger gọi tên bệnh là "Febris recurrens". Năm 1868, Otto Obermeyer (trợ lý của Virchow) tại bệnh viện Charite Berlin đã phát hiện thấy xoắn khuẩn trong máu bệnh nhân lúc sốt cao (nhưng đến 1873 mới công bố thông tin này). Milne (1904) và Dutton (1905) nghiên cứu ở Uganda và Côngô đã cho biết, bệnh sốt sau khi bị ve đốt ở châu Phi là do xoắn khuẩn *B. duttoni* gây ra. Cùng năm đó, R. Koch chứng minh sự hiện diện của xoắn khuẩn trong ve *Ornithodorus moubata* và làm rõ được dây chuyền dịch tễ của bệnh sốt hồi quy truyền qua ve (mềm).

Sốt hồi quy truyền qua rận (*Pediculus humanus humanus*) được xác nhận vào năm 1911 với sự xuất hiện hàng loạt người bị bệnh trong thời kỳ chiến tranh và nghèo đói.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

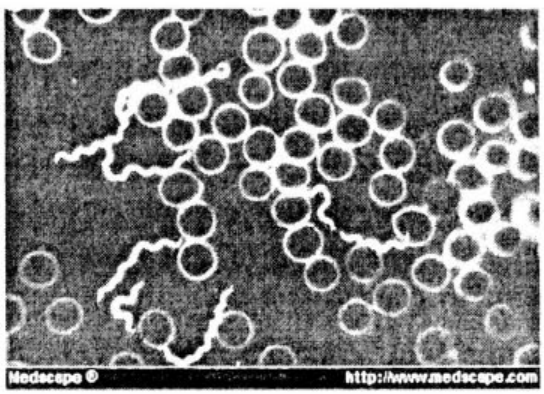
Triệu chứng "erythema chronicum migrans" đã được biết từ cuối thế kỷ 19. Năm 1909, Afzelius có mô tả lần đầu về ban đỏ loang – erythema migrans – xuất hiện tại vị trí bị ve đốt. Những năm 30, Hellenstrom tìm thấy mối liên quan giữa ban đỏ loang với viêm màng não và đầu những năm 40, Bamwarth ghi nhận ban đỏ loang đi kèm với các triệu chứng đau rễ thần kinh, đau chân tay và tăng tế bào trong dịch não tuỷ. Năm 1976, Allen Steere và CS phát hiện mối liên quan giữa ban đỏ loang với một loạt bệnh nhân bị viêm khớp gối ở Old Lyme, Connecticut (USA) và mô tả đó là hội chứng viêm khớp Lyme; sau gọi là bệnh Lyme. Năm 1981, Burgdorfer và cộng sự đã lần đầu tiên phân lập được xoắn khuẩn gây bệnh này từ ve *Ixodes* thu thập ở Shelter Island, New York (công bố năm 1982). Sau đó, xoắn khuẩn còn được tìm thấy trong ruột của ve trưởng thành *Ixodes dammini* và được đặt tên là *Borrelia burgdorferi*. Bằng chứng cuối cùng về tác nhân gây bệnh là xoắn khuẩn *B. burgdorferi* được nuôi cấy từ máu bệnh nhân bị ban đỏ loang và từ chính tổn thương ban đỏ; và từ dịch não tuỷ của bệnh nhân viêm não màng não mà trước đây đã bị ban đỏ. Nhờ những đóng góp to lớn với hàng loạt nghiên cứu sâu và rộng của các nhà khoa học Mỹ, nhiều hiểu biết về triệu chứng, bệnh học và dịch tễ học của bệnh Lyme đã được sáng tỏ.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể, cấu tạo

Hình thể

Về hình dạng, không thấy các *Borrelia* khác nhau; chúng có hình xoắn lò xo, dài 10–30 µm, đường kính thân 0,2–0,5 µm; có 4–10 vòng xoắn không đều. Dưới kính hiển vi nền đen hoặc kính hiển vi phản pha thấy rõ các vòng xoắn với khoảng cách 2–3 µm, với chuyển động uốn lượn như rắn hoặc chuyển động xoay tròn quanh trục dọc, lúc lên lúc xuống, hầu như không rời vị trí (Hình 6.5).



Hình 6.5. *Borrelia* trong máu, soi trên kính hiển vi phản pha

Khác với *Treponema* và *Leptospira*, *Borrelia* nhuộm được bằng thuốc màu anilin; có thể phát hiện được xoắn khuẩn bằng nhuộm Giemsa.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Cấu tạo

Borrelia là vi khuẩn Gram âm. Siêu cấu trúc từ ngoài vào trong giống như *Treponema*, gồm có: màng ngoài (outer–membrane), khoảng bao quanh bào tương (periplasmic space), màng bào tương (cytoplasmic membrane) và trong cùng là ống bào tương với ADN. Xoắn khuẩn di động nhờ endoflagella (12–25 sợi fibrin nằm trong khoảng bao quanh bào tương).

2.2. Tính chất nuôi cấy

Borrelia là vi khuẩn vi hiếu khí. Một số loài *Borrelia* gây bệnh sốt hồi quy có thể nuôi cấy được trong môi trường đặc biệt: lỏng, giàu chất đạm, nhưng kết quả không chắc chắn và không đều. *B. burgdorferi* nuôi cấy được trong môi trường Barbour–Stromer–Kelly. Chính nhờ thành công này mà nhiều nghiên cứu sinh học phân tử tìm hiểu về chất liệu di truyền và chức năng sinh học của các thành phần di truyền đã được triển khai. Kết quả nghiên cứu đã cung cấp nhiều hiểu biết quan trọng về *B. burgdorferi*.

2.3. Sức đề kháng

Borrelia có sức đề kháng yếu; dễ bị tiêu diệt bởi tia cực tím và khô hanh.

2.4. Chất liệu di truyền và kháng nguyên

B. burgdorferi B31 là một chủng của loài *B. burgdorferi* phân lập từ ve *Ixodes scapularis* ở Shelter Island, NY; ADN của chủng này đã được giải trình tự và công bố năm 1997. *B. burgdorferi* có một nhiễm sắc thể dạng sợi thẳng, chứa 950 kb (kilo base pairs); 9 plasmid dạng sợi thẳng và 12 plasmid dạng vòng tròn. Genom của *B. burgdorferi* chứa một lượng lớn mã di truyền cho nhiều lipoprotein. Plasmid mã hoá nhiều protein bề mặt (outer–surface protein) – Osp, từ OspA đến OspF; ví dụ OspA và OspB cùng được mã hoá bởi một plasmid thẳng 50 kb; OspC do plasmid vòng 26 kb quy định. Những chất này cùng các protein bề mặt khác giúp cho xoắn khuẩn thích ứng với môi trường và sống được trong những túc chủ khác nhau: cả côn trùng tiết túc và nhiều loài động vật có vú. Plasmid mã hoá nhiều lipoprotein bề mặt và trình tự nucleotid trong plasmid rất hay thay đổi; điều này cho thấy: việc thay đổi trình tự trong ADN đã trực tiếp tham gia vào sự tương tác giữa vi khuẩn và túc chủ. Vì thế, có nhiều khả năng, đó là những yếu tố độc lực của vi khuẩn. Nhiều kháng nguyên khác cũng đã được phát hiện, như decorin–binding protein A và B (DbpA và DbpB), protein 39 kDa BmpA (*Borrelia* membrane protein A), kháng nguyên lông 41 kDa, protein 66 kDa tích hợp ở màng ngoài có thể giữ chức năng của porin, kháng nguyên 93 kDa là một phần của bào tương, ...

Khi cấy chuyển liên tục in vitro, một số plasmid thẳng và vòng bị mất và xoắn khuẩn cũng mất khả năng gây nhiễm trên động vật thí nghiệm; như vậy, plasmid giữ mật mã của một số gen chủ chốt tạo độc lực cho xoắn khuẩn.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Trên toàn thế giới có 10 loài di truyền (genomic species) của *B. burgdorferi* đã được ghi nhận; hầu hết các loài này phân bố theo vùng địa lý, mỗi vùng tồn tại một loài di truyền nhất định; có thể là do chúng đã thích ứng với quần hợp của ve và các túc chủ – động vật có vú sinh sống ở mỗi khu vực. Các chủng *B. burgdorferi* cùng được phân lập từ ve *I. scapularis* có các allen OspA và OspC rất khác nhau. Ba loài di truyền gây bệnh – được phân lập ở người là *B. burgdorferi*, *B. afzelii* và *B. garinii* tồn tại cả ở Mỹ (USA) và châu Âu; ở USA còn thêm ba loài di truyền mới được phân lập; ở châu Âu có thêm hai loài khác. Ở Nhật Bản chỉ tìm thấy 1 loài di truyền là *B. turdae* và loài di truyền *B. sinica* dường như chỉ hạn chế ở Trung Quốc.

Genom của chủng B31 được cho là mã hoá ra 136 lipoprotein; 38 trong số đó do nhiễm sắc thể quy định và 98 là do plasmid. Tuy vậy, không rõ bao nhiêu lipoprotein được biểu hiện hoặc không rõ hoạt tính miễn dịch của chúng khác nhau như thế nào. Trong tự nhiên, con người là túc chủ cuối cùng của *B. burgdorferi* nên con người không có vai trò quan trọng cho vòng đời của *B. burgdorferi*; vì thế nó không cần phải thích ứng và có thể chính vì vậy mà có nhiều loài di truyền tỏ ra không có khả năng gây bệnh ở người. Có thể tính đa dạng về di truyền và kháng nguyên của OspC ở ba loài di truyền có khả năng gây bệnh ở người đã làm cho nhiễm trùng trở thành mạn tính.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Đặc điểm dịch tễ học

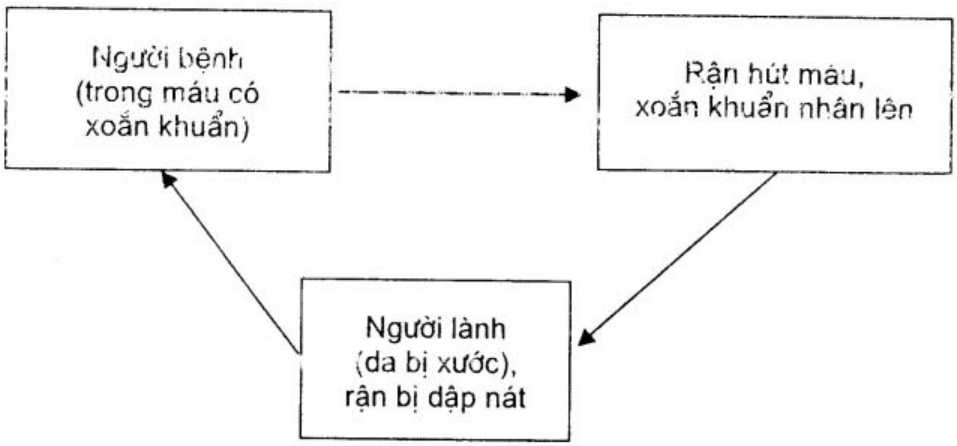
Borreliosis là bệnh truyền qua côn trùng tiết túc; mỗi bệnh được lan truyền với đặc điểm riêng biệt nên cần hiểu rõ dây chuyền dịch tễ của chúng.

Bảng 6.3. Tóm tắt một số đặc điểm dịch tễ học của Borreliosis

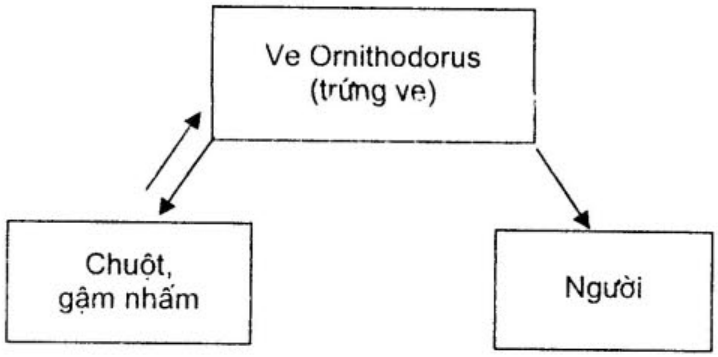
	Sốt hồi quy		Bệnh Lyme (Ban đỏ loang, mạn tính)
	Truyền qua rận	Truyền qua ve	
Vi khuẩn gây bệnh	*B. recurrentis*	*B. duttonii* và các dạng	*B. burgdorferi* và các dạng
Môi giới (vector)	Rận *Pediculus humanus*	Ve mềm Ornithodorus	Ve cứng Ixodes
Ổ chứa	Người bị bệnh	Ve Ornithodorus, truyền qua trứng	Chuột và gặm nhấm
Túc chủ của môi giới	Người	Gặm nhấm Người	Các loài thú nhỏ Người
Mùa mắc bệnh	Mùa đông	Quanh năm	Hè – thu
Tính chất lan truyền	Xu hướng thành dịch	Lẻ tẻ, một người hoặc nhóm người	Lẻ tẻ, một người hoặc nhóm người
Phân bố địa lý	Về lý thuyết là khắp thế giới (cosmopolitan), thịnh hành ở vùng Etiopia	Đông Trung Nam Phi, Địa Trung hải, Kashmir đến Tây Trung Quốc, Trung và Tây Mỹ, Trung và Nam Mỹ	Tây (California) và Đông Bắc tới Trung Bắc Mỹ, châu Âu, Úc

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Rận *(Xem hình P47 ở Phụ bản)* hút máu người bệnh (và người bị nhiễm trùng tiềm tàng) có xoắn khuẩn; có thể thấy xoắn khuẩn trong dạ dày rận, nhưng sau vài giờ xoắn khuẩn bị tiêu hoá, chỉ một số xuyên qua được dạ dày vào ổ bụng, nhân lên và dường như không có hại cho rận. Xoắn khuẩn không vào tuyến nước bọt và không có trong dịch tiết của rận. Do đó, người bị nhiễm xoắn khuẩn không phải do trực tiếp qua vết đốt, mà là do khi bị rập nát, xoắn khuẩn trong cơ thể rận sẽ được giải phóng; chúng di động mạnh nên không chỉ xâm nhập vào cơ thể qua các vết xước hoặc niêm mạc nhày, mà còn có thể xuyên qua được cả da bình thường. Điều này thường xảy ra ở người mang rận, vì họ thường giết rận bằng móng tay. Rận không chịu được sự thay đổi nhiệt độ, dù chỉ vài độ nên sẽ rời khỏi túc chủ khi người bệnh sốt hoặc chết. Trong thực tế, chấy – *Pediculus humanus capitus* không phải là vector quan trọng truyền xoắn khuẩn *B. recurrentis*.



Sơ đồ dây chuyền dịch tễ bệnh sốt hồi quy do rận truyền

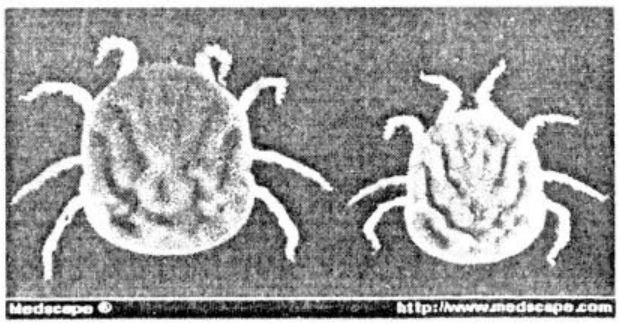


Sơ đồ dây chuyền dịch tễ bệnh sốt hồi quy do ve truyền

Ổ chứa mầm bệnh là một số loài thuộc chi *Ornithodorus* – ve mềm; ngược với ve cứng – chi (genus) Ixodes, có vẩy cứng (như mai) trên lưng; lưng ve *Ornithodorus* không có vẩy cứng mà nhăn nheo *(Xem hình P48, P49 ở Phụ bản)*. Ve vừa là môi giới truyền bệnh vừa là ổ chứa, vì xoắn khuẩn được truyền qua trứng sang thế hệ sau; ve trưởng thành có thể sống nhiều năm. Trong tự nhiên, những loài *Ornithodorus* truyền bệnh cho người chủ yếu chung sống với các loài gậm nhấm như chuột, thỏ hoang dại,... thành quần hợp. Vì vậy, có ý kiến cho rằng: chuột và

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

các loài gặm nhấm có vai trò khuếch đại, làm tăng số lượng xoắn khuẩn hơn là vai trò ổ chứa. Khác với rận – ký sinh liên tục, ve chỉ ký sinh tạm thời trên túc chủ; thường là đêm nó hút máu (hút một lần, rất nhanh) và sau đó ẩn nấp trong các vết nứt ở chuồng trại hoặc trong hang, ổ,... (đây là đặc điểm gây khó khăn cho việc phòng bệnh, ngay cả bằng phun hoá chất diệt côn trùng). Con người chỉ ngẫu nhiên mà bị ve đốt nên người là mắt xích cuối cùng của dây chuyền. Ve *O. moubata* ở Đông và Trung Phi đã thích nghi tới mức sống mới: sống ngay trong nhà của túc chủ, nên dây chuyền lúc này là: ve → người → ve → người. Sau khi ve hút máu có mầm bệnh, xoắn khuẩn phân tán vào khắp các cơ quan nội tạng, nên có mặt cả trong tuyến nước bọt và trong dịch cơ thể của ve. Ve truyền xoắn khuẩn vào người lành khi hút máu (tuyến nước bọt có vi khuẩn) và có thể qua da bị sây xước do gãi (xoắn khuẩn từ dịch cơ thể ve bị dập nát).



Hình 6.6. *Ornithodorus moubata:* ve mềm (lưng nhăn nheo, không có vảy cứng) truyền xoắn khuẩn *Borrelia duttoni* gây bệnh sốt hồi quy

Sơ đồ dây chuyền dịch tễ bệnh Lyme truyền qua ve *Ixodes (Xem hình P49 và P50 ở Phụ bản)* cho thấy: chu trình nhiễm trùng ở động vật được duy trì là do xoắn khuẩn được truyền qua truyền lại giữa ve và túc chủ của nó. Những con nhộng ve truyền *B. burgdorferi* cho chuột; chuột là ổ chứa, truyền xoắn khuẩn cho ấu trùng chưa bị nhiễm. Bằng cách này, một tần suất cao gây nhiễm trùng được duy trì trong quần thể ve, khi mà vi khuẩn, ve, chuột và các loài thú nhỏ cùng sinh sống trong một môi trường.

Từ năm 1982 CDC bắt đầu giám sát bệnh Lyme ở nước Mỹ và số ca bị bệnh tăng một cách kinh hoàng: năm 2002 có 23763 trường hợp được báo cáo; có thể con số được báo cáo chỉ chiếm 10% người bị nhiễm, còn 90% không được báo cáo. Bệnh Lyme xảy ra ở mọi lứa tuổi (từ 2 đến 88, trung bình là 28 tuổi) và đều cả hai giới (nam, nữ). Nguy cơ phụ thuộc vào mật độ ve, thói quen hút máu của ve và túc chủ là các loài thú ở mỗi vùng. Ve truyền xoắn khuẩn *B. burgdorferi* là tổ hợp *Ixodes ricinus*, bao gồm ở Đông Bắc đến Trung Bắc Mỹ là *I. scapularis*, ở phía Tây Bắc (California) Mỹ là *I. pacificus*, ở châu Âu là *I. ricinus* và *I. persulcatus* ở châu Á (theo Nadelman và Wormser, 1998). Trong các vector truyền bệnh thì *I. scapularis* được nghiên cứu nhiều hơn và vòng đời của nó được biết rõ hơn cả. Vòng đời của *I. scapularis* có ba giai đoạn hút máu là ấu trùng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

(larva), nhộng (nymph) và trưởng thành, kéo dài hai năm. Trứng được thụ tinh nở vào cuối mùa xuân. Túc chủ ưa thích là rất nhiều loài thú nhỏ và nó hút máu một lần trong 2 ngày hay nhiều hơn vào khoảng giữa hè. Mùa xuân năm sau, ấu trùng chuyển thành nhộng, vẫn hút máu của túc chủ cũ. Sau lần hút máu thứ 2 này, nhộng ve chuyển sang thể trưởng thành. Ve trưởng thành có phổ túc chủ hẹp hơn, nhưng vẫn ưa thích những động vật có vú nhỏ. Ve cái gặp ve đực trên túc chủ và đẻ trứng; vòng đời lại tiếp tục. Trong 2 năm đó, mỗi giai đoạn (ấu trùng, nhộng, trưởng thành) ve hút máu một lần (mỗi lần trong 2, 3 hoặc 4 ngày): mùa hè cho ấu trùng, mùa xuân tiếp theo cho nhộng và mùa thu cho ve trưởng thành. Vì thế, nhộng ve dường như là vector quan trọng nhất trong việc truyền xoắn khuẩn *B. burgdorferi* cho người. Tối thiểu phải cần 36–48 giờ tấn công, ve mới có khả năng truyền mầm bệnh. Ở Mỹ, hầu hết các trường hợp nhiễm *B. burgdorferi* xảy ra từ tháng 5 đến 8, trùng với thời gian người ta hay đi dã ngoại và nhộng ve hoạt động.

Ở châu Âu, bệnh Lyme thường xảy ra ở vùng có rừng; tần suất cao là ở trung Âu và bán đảo Scandinavia, nhất là ở Đức, Áo, Slovenia và Thuỵ Điển. Bệnh cũng còn thấy ở Nga, Trung Quốc, Nhật Bản, Anh và Úc.

3.2. Cơ chế gây bệnh và hình ảnh lâm sàng

3.2.1. Bệnh sốt hồi quy

Dựa trên hình ảnh lâm sàng, không phân biệt được sốt hồi quy do rận truyền hay sốt hồi quy do ve truyền.

Sau khi qua da, xoắn khuẩn vào đường bạch huyết và đường tuần hoàn, đi tới nhiều cơ quan khác nhau tại đó chúng nhân lên và mỗi chu kỳ phát triển mạnh là tương ứng với biểu hiện sốt trên lâm sàng. Lúc bắt đầu chu kỳ sốt trong máu có nhiều xoắn khuẩn; cuối chu kỳ sốt hầu như toàn bộ xoắn khuẩn biến mất khỏi máu tuần hoàn. Khi hết sốt, số lượng xoắn khuẩn giảm, di động yếu, biến đổi hình dạng (bị ly giải thành những hạt nhỏ hoặc ngưng kết thành các hoa hồng – rosette) là do kháng thể đã hình thành. Trong khoảng giữa (không sốt) hầu như không tìm thấy xoắn khuẩn trong máu.

Giải thích cơ chế của sốt tái lại – sốt hồi quy, nhiều quan sát cho thấy: xoắn khuẩn trong các mô thay đổi kháng nguyên, vượt qua được kháng thể đã được hình thành trước đó; chúng nhân lên và vài ngày sau lại đổ vào đường tuần hoàn gây sốt trở lại. Từ một dòng ve duy nhất đã tìm thấy có 9 dẫn xuất (antigenvariants) kháng nguyên khác nhau của *Borrelia*, như vậy phải có đủ kháng thể chống lại được các kháng nguyên này thì bệnh mới khỏi. Tuy nhiên, cũng lại có phát hiện: sốt hồi quy mà không thấy có sự thay đổi kháng nguyên.

Sau thời gian ủ bệnh từ 4 – 12 ngày, bệnh khởi phát đột ngột với ớn lạnh và sốt lên tới 40 – 41°C. Sau 5 – 7 ngày (do rận truyền) hoặc sau 3 – 4 ngày (do ve

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

truyền) nhiệt độ hạ với vã mồ hôi mạnh có thể xuống dưới mức bình thường. Sau nhiều ngày không sốt (có thể tới hơn 1 tuần), có cảm giác dễ chịu, người bệnh lại bị sốt lại; những đợt sốt càng về sau càng ít ngày hơn và cường độ cũng nhỏ hơn. Số lần sốt lặp lại ở bệnh do rận truyền là 1–2 lần, hiếm khi nhiều hơn; ở bệnh do ve truyền là 4 lần hoặc nhiều hơn (tới 12 lần). Trong khi sốt còn có các triệu chứng khác như đau đầu, đau cổ, đau lưng, đau các chi, khó chịu và nôn, gan lách to; có thể có các triệu chứng xuất huyết như ban da, chảy máu mũi. Biến chứng có thể gặp là viêm phế quản, viêm phế quản phổi, viêm thận, viêm khớp, viêm mống mắt và biểu hiện bệnh lý của hệ thần kinh (trung ương và vận động). Ở người mang thai có thể bị sảy thai.

Tỷ lệ tử vong, nếu không điều trị là 2–5%; nhưng trong các vụ dịch sốt hồi quy do rận truyền trước đây thời chiến tranh, điều kiện sống trong các trại quá tồi tệ và đói khát, thiếu chăm sóc y tế, tỷ lệ tử vong đã lên tới trên 50%.

3.2.2. Bệnh Lyme

Bệnh Lyme được chia làm ba thời kỳ: thời kỳ tại chỗ, sớm; thời kỳ phân tán, sớm và thời kỳ muộn, dai dẳng.

Thời kỳ tại chỗ, sớm

Nhìn chung, từ 3–30 ngày (điển hình là 7–10 ngày) sau khi bị ve đốt (thường là không biết bị đốt) *(Xem hình P51 ở Phụ bản)*, tại nơi bị đốt xuất hiện một ban đỏ có ranh giới (bờ) rõ và loang rộng dần dần trong vài ngày tới vài tuần; kèm theo là ngứa, đau rát và nhiều triệu chứng không đặc hiệu khác. Ban đỏ loang (erythema migrans – EM) là triệu chứng thường gặp nhất của bệnh Lyme (tới 85% người bệnh) ở giai đoạn sớm. Trong một nghiên cứu ở USA, Wormser và cộng sự (2000) đã nuôi cấy được xoắn khuẩn từ mẫu huyết tương của 50% bệnh nhân có EM.

Thời kỳ phân tán, sớm

Nhiều tuần hoặc có thể nhiều năm sau đó, khoảng 50% trường hợp không điều trị bị viêm khớp; hay gặp ở các khớp lớn, nhất là khớp gối. Trong khi hầu hết bệnh nhân bị viêm khớp có đáp ứng tốt với kháng sinh trị liệu, vẫn còn khoảng 10% ở người lớn và ít hơn 5% ở trẻ em bị viêm khớp Lyme, bệnh viêm khớp tiếp tục kéo dài tới hơn 1 năm và có thể dẫn tới khớp bị huỷ hoại. Theo Gross và cộng sự (1998) và Steere và cộng sự (2001) thì tự miễn dịch (autoimmunity) có thể đã tiến triển trong khớp bị viêm ở những bệnh nhân này, vì phân tử của epitop OspA của *B. burgdorferi* giống như kháng nguyên 1 (LFA–1α) trên tế bào lympho của người, mà phân tử này lại có nhiều trên tế bào T ở hoạt dịch (synovium).

Thời kỳ muộn, dai dẳng

Khoảng 20% người bệnh ở giai đoạn muộn có hội chứng thần kinh với hình

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ảnh lâm sàng của viêm màng não, viêm não hoặc các hội chứng thần kinh với cả hai dạng cấp và mạn tính.

Ở USA, khoảng 4–10% bệnh nhân không điều trị ở giai đoạn muộn có hội chứng tim rất đa dạng, hay gặp là tắc nghẽn dẫn truyền nhĩ–thất; đôi khi có viêm màng cơ tim cấp. Bệnh Lyme ở giai đoạn muộn có thể còn gặp u lympho bào (thường là ở trẻ em) và viêm da đầu chi teo mạn tính (đặc biệt hay gặp là phụ nữ cao tuổi ở châu Âu). Một số cơ quan khác cũng có thể bị ảnh hưởng bởi bệnh Lyme như viêm cơ, viêm gan và viêm lách.

Bệnh Lyme có thể kéo dài từ 4 tuần đến 6 năm, trung bình là 7–8 tháng.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Hai phương pháp: chẩn đoán trực tiếp và chẩn đoán huyết thanh học đều áp dụng được cho chẩn đoán bệnh sốt hồi quy và bệnh Lyme, nhưng khả năng ứng dụng thực tế mỗi phương pháp ở mỗi quốc gia là khác nhau.

4.1. Chẩn đoán bệnh sốt hồi quy

Nguyên tắc chẩn đoán bệnh sốt hồi quy do rận truyền là dựa vào cơ sở dịch tễ học, khi dịch đang xảy ra. Với trường hợp lẻ tẻ, cần chẩn đoán phân biệt với bệnh sốt rét, bệnh thương hàn, bệnh Leptospirosis, bệnh sốt do chuột cắn và sốt Dengue

4.1.1. Chẩn đoán trực tiếp

– Soi kính hiển vi là xét nghiệm có giá trị quan trọng nhằm tìm xoắn khuẩn trong máu bệnh nhân lúc sốt cao, bằng cách:

+ Soi tươi dưới kính hiển vi nền đen hoặc kính hiển vi phản pha tìm vi khuẩn dựa vào hình dạng (xoắn lò xo không đều) và chuyển động như rắn giữa các tế bào máu. Một vài xoắn khuẩn còn dính trên bề mặt tế bào hồng cầu.

+ Tiêu bản giọt máu đàn, cố định bằng cồn, nhuộm Giemsa: xoắn khuẩn có màu xanh tím. Vì số lượng vi khuẩn trong máu rất ít nên áp dụng phương pháp "giọt đặc" và nhuộm Giemsa lâu hơn; vì lượng máu tương đối nhiều hơn và khả năng tìm thấy xoắn khuẩn sẽ cao hơn giọt máu đàn.

– Nuôi cấy trong môi trường đặc biệt: dễ bị nhầm lẫn cho chẩn đoán nên không thực hiện.

– Tiêm truyền súc vật thí nghiệm, ví dụ chứng minh sự có mặt của *B. recurrentis* bằng cách tiêm máu bệnh nhân vào phúc mạc chuột non; sau 2–4 ngày, nếu dương tính, lấy máu đuôi chuột kiểm tra dưới kính hiển vi. Súc vật dùng cho thử nghiệm tìm xoắn khuẩn *Borrelia* truyền qua ve là khỉ.

4.1.2. Chẩn đoán huyết thanh

Có nhiều mô tả trong tài liệu về các thử nghiệm huyết thanh học tìm kháng

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thể, ví dụ kháng thể đặc hiệu chống một glycerophosphodiester, nhưng thực tế hầu như không sử dụng.

4.2. Bệnh Lyme

Tuỳ thời kỳ của bệnh mà áp dụng phương pháp chẩn phòng thí nghiệm phù hợp, đặc biệt là có ban đỏ loang (erythema migrans – EM) hay không có.

4.2.1. Chẩn đoán trực tiếp

– Soi kính hiển vi

Bệnh phẩm là sinh thiết da – tổn thương EM, soi tươi trên kính hiển vi nền đen hoặc kính hiển vi phản pha tìm xoắn khuẩn hoặc làm tiêu bản nhuộm Giemsa hoặc nhuộm kháng thể gắn huỳnh quang – miễn dịch huỳnh quang trực tiếp.

Ở thời kỳ muộn, có thể tìm xoắn khuẩn trong mô như hoạt dịch, dịch não tuỷ; nhưng rất hiếm thấy xoắn khuẩn.

– Nuôi cấy trong môi trường Barbour–Stonner–Killy cho bệnh phẩm là sinh thiết tổn thương EM, nhưng xoắn khuẩn có mặt trong tổn thương rất thất thường. Có thể dùng bệnh phẩm huyết tương từ EM nhưng ít được áp dụng hơn. Đôi khi có thể nuôi cấy dịch não tuỷ ở bệnh nhân viêm màng não.

4.2.2. Chẩn đoán huyết thanh

Đáp ứng miễn dịch của cơ thể đối với *B. burgdorferi* trước hết là tế bào lympho T, Lympho B chậm hơn, phải sau vài tháng. Đầu tiên xuất hiện kháng thể IgM chống một hay nhiều kháng nguyên (KN) của *B. burgdorferi*; có sự gia tăng trong vòng 3–4 tuần đầu sau khi nhiễm bệnh và đạt đỉnh sau 6–8 tuần, sau đó giảm dần. Chủ yếu trong thời kỳ sớm là IgM chống kháng nguyên lông 41 kD và OspC; nhưng epitop trên KN 41 kD có phản ứng chéo với epitop trên lông của các *Borrelia* khác và của *Treponema*. KN 41 kD của *B. burgdorferi* cũng có độ tương đồng (homology) cao với protein 33 kD của xoắn khuẩn *Treponema pallidum*. Đáp ứng IgG và IgA đặc hiệu tăng mạnh ở tháng thứ 2 và thứ 3 của bệnh và có thể còn lưu lại nhiều năm. Do có phản ứng chéo như vậy nên có thể có "dương tính giả" với huyết thanh của bệnh nhân viêm khớp dạng thấp, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm khuẩn hoặc viêm màng trong tim nhiễm khuẩn bán cấp.

Các kỹ thuật đang sử dụng nhiều nhất để tìm kháng thể chống *B. burgdorferi* ở Mỹ gồm IFA (indirect immunofluorecens Assay) và ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay). ELISA nhạy hơn IFA, nhưng đều có độ đặc hiệu hạn chế; do áp dụng tiện lợi nên hai phản ứng này được dùng cho mục đích rà soát (screening). Nếu rà soát dương tính thì thử nghiệm tiếp bằng blot miễn dịch (immunoblot) với dúng mẫu huyết thanh đó để tìm IgM và IgG bằng các kháng nguyên của *B. burgdorferi*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.2.3. Chẩn đoán phân tử

Khi áp dụng kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction) đặc hiệu đã mô tả cho bệnh phẩm sinh thiết da, có ý kiến đánh giá là chẩn đoán nhanh và nhạy hơn nuôi cấy; nhưng cũng có ý kiến cho rằng không nhạy hơn. PCR áp dụng cho dịch khớp ở thời kỳ muộn tốt hơn nhiều so với nuôi cấy để tìm xoắn khuẩn. Tìm ADN của *B. burgdorferi* trong dịch não tuỷ bệnh nhân thần kinh mạn tính do *B. burgdorferi* chỉ thành công ở một số ít mẫu. Các mồi mới được thiết lập dựa trên gen 16S rRNA của *B. burgdorferi* để tìm vi khuẩn trong bệnh phẩm máu, hoạt dịch và dịch não tuỷ. Quy trình thử nghiệm PCR với các bệnh phẩm từ người bệnh có triệu chứng lâm sàng của bệnh Lyme là phương pháp chẩn đoán nhanh và nhạy, có thể sử dụng nó cho cả nghiên cứu và chẩn đoán phòng thí nghiệm.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Điều trị

Bệnh sốt hồi quy: kháng sinh hàng đầu là tetracycline, thay thế là erythromycin. Chú ý: phản ứng Jarisch Herxheimer có thể xảy ra chỉ vài giờ sau khi bắt đầu điều trị; vì thế nhiều tác giả khuyến cáo: cần phải dò liều phù hợp.

Bệnh Lyme: với bệnh ở giai đoạn sớm, tổn thương chỉ hạn chế ở da đơn thuần hoặc có triệu chứng toàn thân nhẹ thì kháng sinh trị liệu ngắn ngày bằng đường uống đều có đáp ứng tốt. Các kháng sinh có hiệu quả là amoxicillin, doxycyclin và cefuroxim axetil (lưu ý: cephalosporin thế hệ I không có hiệu quả).

Một số ít bệnh nhân, mặc dù được điều trị thích hợp vẫn còn những triệu chứng như mệt mỏi, đau cơ các chi,... trong nhiều năm nên được gọi là "bệnh Lyme mạn tính".

5.2. Phòng bệnh

Bệnh sốt hồi quy do rận truyền

Biện pháp đầu tiên là loại trừ rận khỏi cơ thể người bệnh; khử trùng quần áo bằng hoá chất và phun thuốc diệt côn trùng. Sau đó là cải thiện điều kiện sống. Về lý thuyết, bệnh sốt hồi quy truyền qua rận có thể xảy ra ở mọi nơi trên thế giới khi hội tụ các điều kiện như có người mang mầm bệnh, nhiều người sống chen chúc, dinh dưỡng thiếu thốn, lạnh,... nhưng thịnh hành là ở vùng Etiopia. Ở châu Âu đã hoàn toàn không còn bệnh dịch này.

Bệnh sốt hồi quy truyền qua ve Ornithodorus

Bệnh chỉ gây dịch lẻ tẻ ở từng vùng địa lý nhất định; hiện có thể thấy ở Đông Trung Nam Phi, Địa Trung hải (Tây Ban Nha, Bồ Đào Nha, Bắc và Tây Phi), đảo Cyprus, Israel, Iran, Trung Á, Kashmir (Ấn Độ) đến Tây Trung Quốc; Trung Tây

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và Nam Mỹ. Bệnh không gây thành dịch lớn như sốt hồi quy do rận truyền, mà chỉ xảy ra ở một người hoặc một nhóm người, nhưng quanh năm. Vì ve và các loài gậm nhấm sống gắn bó thành quần hợp, ve thường ẩn nấp trong các hang, hố nên việc phòng ngừa bằng phun hoá chất diệt côn trùng khó đạt hiệu quả. Biện pháp tốt cho người đến vùng có dịch là bôi thuốc chống côn trùng đốt và trang bị quần áo bảo hộ.

Bệnh Lyme

Biện pháp hàng đầu là tránh những nơi có ve trú ngụ, bảo vệ cá nhân (trang bị quần áo bảo hộ, bôi thuốc chống côn trùng), giám sát loại trừ ve (phun thuốc diệt côn trùng, loại trừ các loài thú nhỏ) và cải thiện vệ sinh môi trường nơi cư trú (ví dụ đốt bụi rậm quanh nhà). Ở Mỹ đã có sử dụng vắc xin phòng bệnh Lyme, nhưng vắc xin này đã bị thu hồi; lý do đưa ra là phản ứng tự miễn dịch có thể tiến triển do sự giống nhau trong phân tử của epitop OspA trên tế bào lympho T và kháng nguyên trên tế bào bạch cầu của người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brandis H und Pulverer G. Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York. 1988.
2. Koehler W und Mochmann H. Grundriss der Medizinischen Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag Jena. 1968.
3. Finegold SM and Baron EJ. Bailey and Scotts Diagostic Microbiology. Mosby Company. St. Louis. Toronto. Princeton. 1986.
4. Atlas RM. Microorganisms in our World. Mosby. St. Louis. Baltomore. Berlin. Boston. Carlsbad. Chicago. London. Madrid. Naples. New York. Philadenphia. Sydney. Tokyo. Toronto. 1995.
5. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P and Heuck CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. WHO. Geneva. 2003.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 7

VI KHUẨN KỴ KHÍ BẮT BUỘC

Dựa vàc chuyển hoá của vi khuẩn trong mối liên quan với oxy không khí, người ta chia chúng thành ba nhóm: hiếu khí tuyệt đối, hiếu kỵ khí tuỳ tiện và kỵ khí tuyệt đối *(Bảng 7.1)*.

Bảng 7.1. Sự tương quan của vi khuẩn với oxy không khí

Nhóm	Kiểu chuyển hoá	
Hiếu khí tuyệt đối (obligate aerobe)	Oxy hoá	Oxy cần thiết cho oxy hoá chất hữu cơ thành CO_2 và H_2O (oxy là chất nhận điện tử cuối cùng của chuỗi hô hấp).
Hiếu kỵ khí tuỳ tiện (facultative anaerobe)	Oxy hoá Lên men hoặc hô hấp kỵ khí	Hình thành sản phẩm cuối cùng/ chất hữu cơ không có oxy.
Kỵ khí tuyết đối (obligate anaerobe)	Lên men	Oxy là độc (vì oxy bị khử thành O_2^- và không có hệ thống cytochrom oxidase).

Oxy là độc, có thể làm chết vi khuẩn kỵ khí tuyệt đối nên phải thận trọng với những bệnh phẩm nhằm mục đích nuôi cấy: ngay sau khi lấy, phải bảo quản trong điều kiện nghiêm ngặt không có oxy và vận chuyển nhanh nhất tới phòng xét nghiệm. Một số vi khuẩn kỵ khí có thể chịu đựng được một lượng nhỏ oxy trong khí trường, được gọi là vi khuẩn dung nạp/chịu khí (aerotolerant).

Chất nhận điện tử trong quá trình lên men hoặc hô hấp kỵ khí là các ion như SO_4^-, HCO_3^-, NO_3^-, ... nên sản phẩm cuối cùng là H_2S, NH_3 hoặc methan, ... – những chất có khả năng thăng hoa và dễ nhận biết qua mùi (hôi, thối) của chúng.

Trong vi hệ bình thường ở cơ thể người, số lượng vi khuẩn kỵ khí ở địa điểm nào cũng chiếm ưu thế, ví dụ ở da, âm đạo tỷ lệ là 10:1; ở niêm mạc miệng là 30:1; ở đại tràng là 100–1000:1. Trong cuộc sống hội sinh này, những vi khuẩn sử dụng oxy đã tạo ra môi trường không có oxy cho vi khuẩn kỵ khí phát triển. Các vết thương dập nát nhiễm phân hoặc đất bẩn có hoại tử tổ chức hoặc tạo ổ áp xe là hậu quả của những nhiễm trùng hỗn hợp này.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Các cầu khuẩn kỵ khí gây bệnh ở người thường gặp hai chi Gram dương là *Peptococcus* và *Peptostreptococcus*, ở các nhiễm trùng đường sinh dục–tiết niệu, ổ bụng, khoang miệng và đường hô hấp và nhiễm trùng vết thương và mô mềm.

Các trực khuẩn Gram âm, kỵ khí, không sinh nha bào thường gây ra năm nhóm nhiễm trùng có nguồn gốc nội sinh là đường ruột, đường sinh dục–tiết niệu, đầu cổ và liên quan đến khoang miệng, mô mềm và nhiễm trùng máu.

Các trực khuẩn Gram dương, kỵ khí, sinh nha bào – *Clostridia* đều tiết ra ngoại độc tố và enzym ngoại bào nên gây bệnh mang tính chất cấp tính và cấp cứu, như hoại thư sinh hơi, uốn ván, ngộ độc thịt và viêm đại tràng giả mạc (liên quan đến dùng kháng sinh).

Bảng 7.2. Những vi khuẩn kỵ khí là thành viên lớn thuộc vi hệ bình thường

Hình dạng	Vi khuẩn	Nơi tồn tại
Cầu khuẩn		
– Gram dương	– *Peptococcus, Peptostreptococcus*	Âm đạo, sinh dục–tiết niệu, miệng, ruột, ...
– Gram âm	– *Veillonella*	Miệng,
Xoắn khuẩn, Gram âm	*Treponema*	Miệng, âm đạo,
Trực khuẩn		
– Gram dương	– Không sinh nha bào:	
	+ *Propionibacterium* (*P. acnes*)	+ Da,
	+ *Actinomyces*	+ Miệng, họng,
	+ *Bifidobacterium*	+ Đường ruột (dưới),
	– Sinh nha bào: *Clostridium*	Đường ruột, miệng,
– Gram âm	– *Bacteroides* (*B. fragilis*), *Prevotella*, *Porphyromonas*,...	– Đường ruột, miệng, âm đạo,
	– *Fusobacterium*	– Miệng,

Dưới đây là ba nhóm vi khuẩn kỵ khí với các đại diện gây bệnh thường gặp, bao gồm cầu khuẩn Gram dương, trực khuẩn Gram âm và *Clostridia*.

CẦU KHUẨN GRAM DƯƠNG, KỴ KHÍ

Theo Watt và Jack (1977) cầu khuẩn kỵ khí được định nghĩa là những cầu khuẩn phát triển tốt trong điều kiện kỵ khí và không mọc được trên môi trường đặc ủ trong khí trường có 10% CO_2 ở 37°C trong 7 ngày. Cầu khuẩn kỵ khí là thành viên thuộc vi hệ bình thường ở người nên thường phân lập được từ nhiều

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

nhiễm trùng khác nhau. Tuy vậy chúng ta còn ít hiểu biết về cơ chế bệnh sinh nên khó đánh giá được tầm quan trọng của chúng đối với bệnh học. Hơn nữa, việc xếp loại còn nhiều khó khăn và các labo vi sinh lâm sàng chưa có đủ phương tiện để định loại chính xác chúng. Khoảng 15 năm gần đây, khoa học kỹ thuật đã có nhiều tiến bộ và công việc định loại đã có phần dễ dàng hơn, như xác định bộ gen (genome) hoặc kit enzym dựa trên kỹ thuật sinh học phân tử, ứng dụng trong nghiên cứu phức hợp vi hệ ở lợi, đường tiết niệu–sinh dục và đường tiêu hoá.

Phân loại

Theo danh sách liệt kê năm 1980 của Skerman, McGowan và Sneath, họ *Peptococaceae* gồm có năm chi: *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Coprococcus* và *Sarcina*. Phân loại dựa vào kỹ thuật lai ADN (DNA hybridisation) và giải trình tự 16S rRNA, chín loài mới đã được mô tả và chúng đều nằm trong chi *Peptostreptococcus*.

Từ 1992, việc xếp loại dựa vào giải trình tự 16S rRNA đã dẫn đến nhiều thay đổi so với trước đây. Vì vậy, việc xếp các chủng hay gặp trong lâm sàng vào hai chi *Peptococcus* và *Peptostreptococcus*, hiện nay đã trở thành lỗi thời. Hầu hết các cầu khuẩn Gram–dương kỵ khí – GPAC (Gram–positive anaerobic cocci) có tỷ lệ G+C từ 28–37 mol%, nhưng chi *Peptococcus* có tỷ lệ G+C là 50–51 mol%. Chi *Peptococcus* chỉ còn có một loài là *P. niger* và ngày nay cũng ít gặp trong các bệnh phẩm lâm sàng. *Peptostreptococcus anaerobius* cũng bị đưa ra khỏi chi *Peptostreptococcus*. Năm 1999 Murdoch và Shah đã tạo dựng chi *Finegoldia* cho *Peptostreptococcus magnus* và chi *Micromonas* cho *Peptostreptococcus micros*. *F. magna* – loài hay phân lập được nhiều nhất từ các bệnh phẩm lâm sàng là một trong các loài thuộc chi này. *M. micros* cũng thường phân lập được trong lâm sàng là loài duy nhất trong chi này.

Năm 2001, dựa vào sản phẩm butyrat, Ezaki tách GPAC thêm hai chi mới, *Anaerococcus* và *Peptoniphilus*.

CLOSTRIDIUM

Prazmowski 1880

Loài mẫu: *Clostridium butyricum* Prazmowski 1880

1. GIỚI THIỆU

Clostridium là những trực khuẩn Gram dương, kỵ khí, sinh nha bào và tiết ra độc tố có độc tính mạnh; các trực khuẩn này thuộc chi *Clostridium*, họ *Clostridiaceae*, bộ *Clostridiales*, lớp *Clostridia*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Clostridia có mặt ở khắp mọi nơi trong tự nhiên như ở đất, nước, ở cây cỏ và động vật thối rữa, ở chất thải và ở trong ruột của động vật có xương sống cũng như không xương sống. Dạng hoại sinh có vai trò quan trọng trong chu trình chuyển hoá chất hữu cơ; ở ruột động vật (và người) chúng sống chung trong quần thể hội sinh (commensal). Một số ít loài được xác nhận là tác nhân cơ hội nguy hiểm gây bệnh đường ruột và nhiễm trùng vết thương.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Đặc điểm kiểu hình

Có gần 100 loài *Clostridium* đã được nhận biết. Đặc điểm kiểu hình của một số loài *Clostridium* thường gặp trong bệnh phẩm lâm sàng được tóm tắt trong Bảng 7.3.

Bảng 7.3. Đặc điểm sinh học của một số loài *Clostridium* thường gặp trong bệnh phẩm lâm sàng

Tên loài	Phát triển trong không khí	Vị trí & hình dạng nha bào	Vòng tan máu	Sinh lecithinase	Sinh lipase	Gây bệnh/VHBT/HS
C. bifermentans	K	T/gĐ O	đC	C	K	VHBT/HS
C. butyricum	K	T/gĐ O	K	K	K	HS/VHBT
C. botulinum						
Type A, B, F	K	gĐ O p	C	K	C	GB/HS
Type C, D	K	T/gĐ O	C	đC	C	GB/HS
C. chauvoei	K	gĐ/T O P	C	K	K	GB súc vật
C. difficile	K	gĐ/Đ O	K	K	K	GB/VHBT
C. novyi	K	gĐ/T O	C	C	C	GB
C. perfringens	K	gĐ/T O	C	C	K	GB/VHBT
C. septicum	K	gĐ/T O P	C	K	K	GB/VHBT
C. sordellii	K	T O	đC	C	K	VHBT
C. sporogens	K	gĐ O p	đC	đC	C	VHBT
C. tertium	C	Đ O	đC	K	K	HS/VHBT
C. tetani	K	Đ/gĐ Tr	C	K	K	GB/VHBT/HS

K = không; đK = đôi khi không; C = có; đC = đôi khi có; T = ở trung tâm tế bào; gĐ = ở gần đầu tận cùng tế bào; Đ = ở đầu tận cùng tế bào; O = nha bào hình trứng (oval); Tr = hình tròn; P = phần quanh nha bào luôn luôn/gần như luôn luôn phình ra; p = đôi khi phình ra; GB = gây bệnh; VHBT = vi hệ bình thường; HS = hoại sinh

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hầu hết các loài *Clostridium* là kỵ khí tuyệt đối, một vài loài có thể chịu được oxy, đặc biệt là *C. tertium*; tuy chúng phát triển được trong môi trường có oxy nhưng không mạnh và không hình thành nha bào khi có oxy.

Tất cả các loài đều sinh nha bào hình trứng (oval) hoặc tròn và thường làm phồng tế bào lên, nhưng khó có thể thấy được nha bào của một số loài khi nuôi cấy trong phòng thí nghiệm, ví dụ *C. perfringens*.

Clostridia hình ống thẳng, đôi khi có thể cong; có cấu tạo vách của vi khuẩn Gram dương và hầu hết bắt màu Gram dương; tuy vậy tính chất này chỉ đặc trưng trong môi trường nuôi cấy còn non, một số ít loài có xu hướng nhuộm màu của Gram âm; chiều dài và đường kính có thay đổi giữa các loài.

Một số loài *Clostridium* không có lông, một số có lông toàn thân.

Điều kiện phát triển tối ưu của *Clostridia* phản ánh thói quen rất khác nhau của chúng; nhiệt độ thích hợp nằm trong khoảng từ 15°C đến 69°C. Năng lượng được hình thành từ các quá trình lên men carbohydrat và peptide với sản phẩm chuyển hoá cuối cùng là những hỗn hợp của cồn và các acid béo dễ bay hơi và không bay hơi. Những chất này có thể xác định được bằng sắc ký khí (gas chromatography) và mùi sinh ra từ các nuôi cấy *Clostridia* hoặc vết thương.

Đặc điểm điển hình của *Clostridia* là: tất cả các loài gây bệnh cho người và động vật đều tiết ra một hoặc nhiều độc tố có độc tính cao.

2.2. Bộ gen của *Clostridia*

Vì vai trò quan trọng của *Clostridia* đối với cuộc sống, genom của nhiều loài đã và đang được giải trình tự. Genom của ba loài đã được giải trình tự gồm *C. acetobutylum, C. tetani* và *C. perfringens*. *C. acetobutylum* là vi khuẩn quan trọng đối với công nghiệp, do loài này tổng hợp ra chất hoà tan hữu cơ như aceton, butanol và ethanol trong quá trình lên men. Bộ gen của *C. tetani* có độ lớn $2,8.10^6$ bp (base pair – cặp base) với 2372 khung đọc mở – ORF (open reading frame) và một plasmid 74 kb (kilobase pair) với 61 ORF; độc tố uốn ván và enzym collagenase được mã hoá trên plasmid này. Một số yếu tố độc lực khác, ví dụ như protein bám dính bề mặt đã được xác định, một số trong đó chỉ duy nhất thấy ở *C. tetani*. Bộ gen của *C. perfringens* có độ lớn $3,0.10^6$ bp với 2660 ORF và tỷ lệ G+C là 28,6 mol%. Genom của *C. perfringens* là mô hình tuyệt vời để nghiên cứu di truyền, vì loài này có thể chịu được oxy và phát triển nhanh; nó có các enzym điển hình cho quá trình lên men kỵ khí dẫn đến tạo khí nhưng không có enzym cho chu trình (vòng) tricarbonxylic acid hoặc enzym của

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chuỗi hô hấp. Trên 20 gen đã xác định được cho là mã hoá ra các yếu tố độc lực và phát hiện regulon hai thành phần VirR/VirS cùng điều hoà khả năng sinh bệnh của *C. perfringens*. Regulon là một tập hợp các gen cấu trúc cùng chịu sự điều khiển của một gen điều hoà.

Tỷ lệ G+C trong ADN của các loài rất khác nhau, chiếm từ 22 đến 55%; vì thế có hai nhóm chính là nhóm có tỷ lệ G+C thấp hơn từ 22–34% và nhóm có tỷ lệ G+C cao hơn từ 40–55%, điều này đã đưa tới có ý kiến đề nghị phân *Clostridia* ra làm hai chi. Finegold và cộng sự (2002) cho rằng, việc phân loại *Clostridia* hiện tại cũng còn nhiều điều bất thường. Đặt tên và phân loại *Clostridia* phải dung hoà giữa sự phân loại dựa trên cơ sở xác thực và hiện đại với yêu cầu: một cái tên có thể truyền đạt cho nhà lâm sàng gợi ý nhớ tới điều gì đó.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Độc lực và cấu trúc tế bào

Vách của *Clostridia* có cấu trúc Gram dương, bao gồm bộ khung peptidoglycan chứa acid diamino làm cầu ngang peptide là acid *meso*–diaminopimelic. Nhiều loài có vỏ, tuy có tính kháng nguyên sử dụng được để xác định serotype các chủng *C. perfringens*, nhưng vỏ không phải là yếu tố độc lực và cũng không dùng để phân loại.

Nha bào có khả năng đề kháng các tác động vật lý học (như khô, nóng) và hoá học (như các chất diệt khuẩn, pH) nên nó tồn tại lâu dài và phân tán rộng trong môi trường. Trong đất và trong bụi khắp mọi nơi trên thế giới đều có thể tìm thấy nha bào của *Clostridia*.

Ngoại độc tố là yếu tố độc lực chính của *Clostridia*. Các độc tố được gọi theo từ Hy lạp, như α, β nhưng cần nhấn mạnh là α–toxin của loài này có thể khác với α–toxin của loài khác.

Trong tự nhiên có gần 100 loài *Clostridium*, nhưng chỉ một số ít trong đó là có khả năng gây bệnh cho người và động vật nuôi. Phần lớn các nhiễm trùng *Clostridia* là những vết thương bội nhiễm, do nhiễm đất hoặc phân; đôi khi thật khó phân biệt đâu là tác nhân đóng vai trò gây bệnh trong một nhiễm trùng hỗn hợp do nhiều loài vi sinh vật.

3.2. Cơ chế bệnh sinh

Cơ chế bệnh sinh của *Clostridia* gắn liền với độc tố mà chúng sinh ra. Trước kia, độc tố được xác định bằng thử nghiệm trên chuột với nước nổi nuôi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

cấy vi khuẩn, xem chuột có bị chết không. Việc xếp loại ngoại độc tố của *Clostridia* dựa trên nhiều tiêu chuẩn khác nhau: tác động trên toàn bộ súc vật thí nghiệm hay trên tế bào hoặc phản ứng hoá sinh. Nhiều độc tố có tác dụng enzym, loại khác lại có tác dụng là modul miễn dịch; một số đã biết tới là siêu kháng nguyên (superantigens) nhưng một số khác vẫn chưa biết cách tác động của nó như thế nào. Bảng 7.4 tóm tắt một số độc tố chính và tác dụng của chúng

Bảng 7.4. Một số ngoại độc tố của *Clostridia* đã biết về tác dụng của chúng

Ngoại độc tố	Cơ chế tác động	Ví dụ
Phospholipase	Phá huỷ màng tế bào và mô	*C. perfringens* α–toxin
Neurotoxin (độc thần kinh)	Cắt các peptide tham gia dẫn truyền thần kinh	Độc tố của *C. tetani* và *C. botulinum*
Enterotoxin (độc tố ruột)	Ỉa chảy. Cắt bỏ hoặc hoại tử tế bào nhung mao và cảm ứng sinh cytokin	Enterotoxin của *C. perfringens*
Perfringolysin	Gắn vào cholesterol trong màng tế bào và gây ly giải tế bào	*C. perfringens* θ–toxin (theta)
Tác động vào cytoskeleton – Glycosyl hoá protein từ họ Rho điều hoà trùng hợp actin – ADP–ribosyl hoá của các đơn phân (monomer) actin	Phân ly các sợi actin trong cytoskeleton, vo tròn tế bào, phá huỷ tế bào, thay đổi áp lực thẩm thấu trong tế bào và huỷ hoại liên kết giữa các tế bào	– Độc tố lớn của: *C. difficile* (A và B), *C. novyi*, *C. sordelli* – Độc tố nhị phân của: *C. perfringens* (iota) *C. botulinum* C2 *C. difficile* nhị phân

Các độc tố thường cùng tác động gây huỷ hoại mô nên khó phân biệt được ở các nhiễm trùng vết thương, đâu là do ngoại độc tố và đâu là do enzym ngoại bào. Thực tế, để phục vụ lâm sàng thì việc phân biệt này không quan trọng.

Bảng 7.5 giới thiệu tóm tắt một số *Clostridia* gây bệnh, độc tố của chúng và bệnh do chúng gây ra.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 7.5. Tóm tắt một số *Clostridia*, độc tố và bệnh do chúng gây ra

Loài	Độc tố chính	Bệnh do nó gây ra
C. perfringens	Độc tố hoại tử, gây chết: alpha (phospholipase), beta, epsilon, iota. Enterotoxin	Hoại thư sinh hơi, nhiễm độc thức ăn và nhiễm trùng đường tiêu hoá khác: hoại tử ruột, ỉa chảy liên quan đến dùng kháng sinh
C. tetani	Tetanospasmin (neurotoxin)	Uốn ván (tetanus)
C. botulinum	Botulinum neurotoxin A, B, C1, D, E, F và ngoại độc tố C2	Ngộ độc thịt (botulism kinh điển) Botulism sơ sinh Botulism vết thương
C. difficile	Toxin A, toxin B, độc tố ADP–ribosyl hoá	Viêm đại tràng giả mạc và ỉa chảy liên quan đến dùng kháng sinh
C. novyi	Type A: alpha (hoại tử, gây chết), gamma (phospholipase) và epsilon (lipase) Type B: alpha– và beta–toxin (lecithinase)	Hoại thư sinh hơi – phối hợp với *C. perfringens và C. septicum* Nhiễm trùng phù nề vết thương – trước kia là vết thương chiến tranh và hiện nay là nguyên nhân gây chết ở người tiêm chích
C. septicum	Độc tố alpha gây chết, tan máu và hoại tử	Hoại thư sinh hơi – phối hợp với *C. perfringens và C. novyi.* Bệnh phù ác tính ở gia súc và động vật hoang dã
C. sordellii	Độc tố gây chết – có phản ứng chéo với toxin B của *C. difficile*	Nhiễm trùng nhiều mô mềm khác nhau ở người và động vật
C. chauvoei	Desoxyribonuclease, huyalurondinase	Bệnh chân đen ở bò, cừu; không gây bệnh ở người
C. tertium, C. sporogens, C. histolyticum,...	Chưa rõ	Đôi lúc phân lập được từ mô mềm cùng các vi khuẩn khác; bội nhiễm hay có vai trò bệnh lý còn chưa rõ

Dưới đây là giới thiệu chi tiết về *C. perfringens.*

CLOSTRIDIUM TETANI

(Flugge 1886) Bergey, Harrison, Breed, Hammer và Huntoon 1923

Chủng mẫu: ATCC 14573

1. GIỚI THIỆU

Clostridium tetani là tác nhân gây ra bệnh uốn ván. Bệnh uốn ván được biết đến từ thời cổ xưa, cả bằng chữ viết và cả bằng hình ảnh trong các tranh vẽ. Carle và Rattone đã nhận thấy mối liên quan giữa vết thương và bệnh co cứng từ

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

năm 1884. Cũng năm đó Nicolaier xác nhận bằng thực nghiệm của mình: gây nhiễm 18 súc vật thí nghiệm bằng các mẫu đất, thì 12 con bị chết vì uốn ván. Năm 1886, Rosenbach là người đầu tiên nhìn thấy và mô tả trực khuẩn uốn ván trong bệnh phẩm vết thương ở người. Năm 1889, một học trò của R. Koch là Kitasato đã nuôi cấy thành công vi khuẩn uốn ván. Năm 1890, Faber đã chứng minh được độc tố uốn ván; cùng với Behring và Kitasato, họ đã chế tạo được huyết thanh chống uốn ván thành công, bằng cách gây miễn dịch cho thỏ và ngựa, mở ra khả năng gây miễn dịch thụ động – điều trị bệnh uốn ván.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể

C. tetani là trực khuẩn thon dài, đường kính thân 0,5–1,1 µm, dài 2,4–5 µm, có lông toàn thân và di động mạnh. Ở các nuôi cấy non vi khuẩn bắt màu Gram dương, sau khoảng 24 giờ nuôi cấy sẽ bắt màu Gram âm; hình thành nha bào trong vòng 48–72 giờ. Nha bào hình tròn, có thể lớn đến gấp đôi đường kính thân, nằm ở đầu tận cùng của tế bào, tạo nên hình ảnh "cái dùi trống" *(Xem hình P52 ở Phụ bản)*.

2.2. Sức đề kháng

Nha bào uốn ván chịu được hấp nóng ở nhiệt độ 100°C từ vài phút tới 1–2 giờ tuỳ từng chủng. Sấy khô ở 150°C nha bào uốn ván có thể chịu được 1 giờ.

2.3. Tính chất nuôi cấy

C. tetani là vi khuẩn kỵ khí bắt buộc; có thể phát triển ở nhiệt độ từ 14–43°C, nhưng tối ưu ở 37°C. *C. tetani* phát triển tốt trên môi trường thạch máu, tạo khuẩn lạc mịn, không màu, rìa có phân nhánh. Một số chủng, sau 48–72 giờ nuôi cấy khuẩn lạc có thể "bò"– lan rộng ra toàn bộ mặt thạch, trong khi nhiều chủng khác chỉ hình thành khuẩn lạc nhỏ, tròn mà không có phân nhánh. Trong canh thang thịt băm hoặc canh thang gan cục *C. tetani* phát triển chậm và có sinh hơi vừa phải.

Hoạt tính sinh hoá của *C. tetani* không lớn: hoá lỏng gelatin chậm, sinh H_2S và làm đông sữa cũng chậm; không lên men glucose, galactose, saccharose, maltose, không sinh lecithinase và lipase; một số chủng sinh DNase và fibrinolysin; sản phẩm chuyển hoá trong môi trường có pepton và chất chiết xuất nấm men là acid acetic, acid butylic và một lượng nhỏ acid propionic, cồn ethanol và butanol.

2.4. Độc tố

Trực khuẩn uốn ván sinh ra hai độc tố là tetanospasmin và tetanolysin.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Tetanospasmin là độc tố quan trọng nhất, có tác dụng độc thần kinh. Tetanolysin có tính chất làm tan máu.

Tetanospasmin là một protein nhạy cảm nhiệt độ, có trọng lượng phân tử 150000; gồm 2 tiểu đơn vị: chuỗi nặng – trọng lượng phân tử khoảng 100000 chịu trách nhiệm gắn vào gangliosid trên màng tế bào thần kinh và chuỗi nhẹ – trọng lượng phân tử khoảng 50.000 mang độc tính. Tetanospasmin là một trong hai độc tố độc nhất, đứng sau botulinumtoxin: chỉ 10^{-4} µg đã đủ gây chết chuột nhắt trắng trong 48 giờ (liều gây chết của botulinumtoxin là 10^{-6} µg). Độc tố uốn ván được hình thành trong tế bào, một phần được tiết ra ngoài, một phần được giải phóng khi tế bào bị ly giải. Sau xử lý bằng formol, tetanospasmin trở thành giải độc tố.

2.5. Kháng nguyên

Thông thường trong Vi sinh lâm sàng không cần phải xếp loại huyết thanh học *C. tetani*, tuy có 10 type kháng nguyên lông (H) khác nhau. Cả 10 type cùng có một kháng nguyên thân (O) chung nên có thể dùng miễn dịch huỳnh quang để xác định *C. tetani*. Tất cả các type đều có những chủng không sinh độc tố.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Cơ chế gây bệnh

Trực khuẩn uốn ván tồn tại trong đường ruột của nhiều động vật khác nhau nên chúng có ở trong đất, khắp nơi trên thế giới. Nha bào uốn ván trong bùn, đất bẩn vào cơ thể qua vết thương, đặc biệt là vết thương sâu; chúng nhân lên tại chỗ và sinh ra độc tố. Điều kiện thuận lợi là tổ chức bị hoại tử, muối calci và bội nhiễm các vi khuẩn hiếu khí; những vi khuẩn này sử dụng oxy, tạo môi trường kỵ khí cho trực khuẩn uốn ván phát triển. Độc tố từ vết thương theo dây thần kinh vận động và thần kinh thực vật đi tới sừng trước tuỷ sống. Độc tố di chuyển nhanh tới hệ thần kinh trung ương (khoảng 5 mm/giờ). Độc tố uốn ván ngăn cản sự giải phóng chất ức chế từ neuron ức chế của thần kinh vận động ở tuỷ sống, dẫn tới không kiểm soát được kích thích và co cứng (spastic paralysis). Một khi độc tố gắn được vào tế bào thần kinh thì kháng độc tố không còn tác dụng; hơn nữa kháng độc tố cũng khó tới được hệ thần kinh trung ương. Cả hai điều này giải thích cho trường hợp thất bại trong điều trị, nếu kháng độc tố uốn ván được tiêm quá muộn *(Xem hình P53 ở Phụ bản)*.

3.2. Thử nghiệm xác định độc tố

Thử nghiệm xác định độc tố uốn ván được thực hiện trên chuột nhắt trắng. Vật liệu thử nghiệm (mảnh mô tổn thương) được cấy vào túi da gần khấu đuôi

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

chuột. Huyết thanh hoặc nước nổi nuôi cấy thì được tiêm vào màng bụng chuột. Thử nghiệm tiến hành song song trên hai con chuột, trong đó một con được tiêm kháng độc tố uốn ván để đối chứng. Sau 1–3 ngày chuột sẽ chết với biểu hiện điển hình của bệnh uốn ván; tư thế đặc trưng là nằm sấp, thân bị co cứng, chân thẳng dơ ra sau. Chuột đối chứng không có triệu chứng của bệnh uốn ván.

3.3. Hình ảnh lâm sàng

Thời gian ủ bệnh thường là 7–10 ngày, nhưng có thể chỉ 3 ngày hoặc kéo dài 30 ngày. Thời gian ủ bệnh càng ngắn, tỷ lệ tử vong càng cao.

Triệu chứng quan trọng là co cứng cơ, đầu tiên là cứng hàm do cơ nhai bị tổn thương, người bệnh không mở được miệng, nói, nuốt khó. Tiếp theo là cơ mặt bị co rút tạo ra bộ mặt khóc nhăn nhó/biến dạng. Sau đó là cơ gáy, cơ lưng, cơ thành ngực, cơ các chi làm cho lưng vồng lên, cơ bụng cứng, toàn thân uốn cong như tấm ván *(Xem hình P54 ở Phụ bản)*.

Chỉ những âm thanh nhỏ hoặc ánh sáng cũng kích ứng gây cơn co. Phần ý thức không bị ảnh hưởng của độc tố, nên người bệnh phải chịu đựng những cơn đau trong trạng thái tỉnh táo. Liệt cơ nuốt, cơ hoành và thanh môn sẽ dẫn tới chết ngạt.

Uốn ván sơ sinh

Trẻ sơ sinh bị bệnh do dụng cụ cắt rốn nhiễm nha bào uốn ván (liềm, kéo dính đất bẩn) nên còn được gọi là uốn ván rốn.

3.4. Dịch tễ học

C. tetani tồn tại trong ruột động vật và người nên nha bào uốn ván có mặt rộng rãi trong đất, nước và cả trong bụi. Vì vậy, bệnh uốn ván có thể gặp ở mọi nơi trên thế giới. Ngoài con người, một số động vật cũng có thể bị mắc bệnh, ví dụ ngựa. Ở các nước phát triển, vệ sinh môi trường tốt nên tỷ lệ mắc bệnh thấp hơn các nước đang và chậm phát triển. Mỗi năm ước tính có khoảng 400000 ca mắc, phần lớn là uốn ván sơ sinh. Trước khi có vắc xin uốn ván, tỷ lệ tử vong tới 90%; ngày nay tỷ lệ này đã xuống thấp khoảng 50%.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Trong thực tế ở nước ta, chẩn đoán bệnh uốn ván trong phòng thí nghiệm gần như không được thực hiện.

Về nguyên tắc, có thể chẩn đoán nhanh bằng nhuộm soi trực tiếp tìm vi khuẩn dựa vào hình thể và tính chất bắt màu Gram, nuôi cấy và xác định độc tố.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bệnh phẩm có thể là mủ hoặc dịch vết thương hoặc mảnh mô tổn thương.

Chẩn đoán nhanh bằng nhuộm soi dưới kính hiển vi ít chính xác, không có giá trị chẩn đoán; vì nhiều *Clostridia* cũng sinh nha bào ở một đầu – hình dùi trống và có những chủng *C. tetani* không hình thành nha bào.

Nuôi cấy ít khi thành công, đặc biệt là từ những vết thương nhiễm nhiều loại vi khuẩn; có thể dùng môi trường canh thang gan cục, canh thang thịt băm và cấy thạch máu trong điều kiện kỵ khí. Phải dùng kính lúp để nhận biết khuẩn lạc và nuôi cấy tiếp xác định các tính chất sinh vật hoá học; sau đó xác định độc tố bằng súc vật thí nghiệm (xem mục 3.2 ở trên). Và nếu có điều kiện – có kháng huyết thanh uốn ván gắn huỳnh quang, có thể xác định vi khuẩn bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang, nhận định kết quả dưới kính hiển vi huỳnh quang.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

Việc quan trọng là xử lý, làm sạch vết thương, loại bỏ các tổ chức hoại tử ngay khỏi vết thương nhằm hạn chế sự phát triển của vi khuẩn uốn ván sinh độc tố.

Tiêm (càng sớm càng tốt) kháng độc tố uốn ván – SAT (serum anti–tetanus) nhằm trung hoà độc tố.

Dùng kháng sinh (benzylpenicillin hoặc metronidazol) nhằm tiêu diệt vi khuẩn uốn ván.

Điều trị hỗ trợ: chống co giật – an thần, tránh mọi kích thích thần kinh (ví dụ tiếng động) và chế độ hộ lý tốt.

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh

Phòng bệnh không đặc hiệu

– Vệ sinh môi trường.

– Vết thương nhiễm đất phải được rửa sạch, loại bỏ phần dập nát/hoại tử, không băng bó kín và điều trị dự phòng bằng SAT.

Phòng bệnh đặc hiệu

Dùng vắc xin giải độc tố (toxoid) uốn ván cho trẻ nhỏ, phụ nữ có thai (để phòng uốn ván sơ sinh) và các đối tượng có nguy cơ chưa có miễn dịch. Ở nước ta, vắc xin phòng uốn ván cho trẻ nhỏ là vắc xin tam liên DPT (diphtheria, pertussis, tetanus – bạch hầu, ho gà, uốn ván) trong chương trình tiêm chủng mở rộng quốc gia.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H. Brandis und G. Pulverer. Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York. 1988.
2. W. Koehler und H. Mochmann. Grundriss der Medizinischen Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag Jena. 1968.
3. S.M. Finegold and E..J. Baron. Bailey and Scotts Diagostic Microbiology. Mosby Company. St. Louis. Toronto. Princeton. 1986.
4. R.M. Atlas. Microorganisms in our World. Mosby. St. Louis. Baltomore. Berlin. Boston. Carlsbad. Chicago. London. Madrid. Naples. New York. Philadenphia. Sydney. Tokyo. Toronto. 1995.
5. J. Vandepitte, J. Verhaegen, K. Engbaek, P. Rohner, P. Piot and C. C. Heuck. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. WHO. Geneva. 2003.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Phần 8

VI KHUẨN KÝ SINH NỘI BÀO BẮT BUỘC

RICKETTSIALES

GIỚI THIỆU CHUNG

Những thành viên của tộc *Rickettsiales* là nhóm vi khuẩn Gram âm, chủ yếu ký sinh nội bào, chúng thường có khả năng gây bệnh cho động vật có xương sống bao gồm cả loài người. Theo Prior thì có 8 loại bệnh rickettsiosis đã được ghi nhận. Nhưng theo Roult và Roux (1997) số loại bệnh rickettsiosis tăng lên đến 14 bệnh. Việc phát hiện rickettsiosis nhờ có kỹ thuật nuôi cấy tế bào và kỹ thuật sinh học phân tử, đây cũng là những kỹ thuật để xác định bệnh. Có 13 loài thuộc năm chi gây bệnh cho người. Những bệnh do *Rickettsia* gây ra có một ý nghĩa trong lịch sử nhân loại. Sự phát hiện ra nhóm mới và những bệnh do chúng gây ra đã là những bệnh truyền nhiễm mới nổi lên, ảnh hưởng đến sức khỏe con người khắp nơi trên toàn cầu.

Trước đây người ta xếp họ vi khuẩn này thuộc trung gian giữa vi khuẩn và virus bởi vì *Rickettsia* có những đặc điểm sinh học giống virus và một số đặc điểm sinh học giống vi khuẩn. Hệ thống men phân hủy đường glucose và men tham gia chu trình Krebs của *Rickettsia* luôn luôn không hoàn chỉnh. Nhưng về mặt cấu trúc tế bào, *Rickettsia* lại có đầy đủ các bộ phận như vi khuẩn, nghĩa là có vách, nhân, nguyên sinh chất... Có thể dựa vào bảng sau đây để sơ bộ nhận biết *Rickettsia* và virus *(Bảng 8.1)*.

Bảng 8.1. Tính chất sinh vật học của *Rickettsia*, vi khuẩn và virus

	Hình thái	Phát triển trên môi trường nhân tạo	Men chuyển hoá	Qua lọc vi khuẩn	Phát triển trên nuôi cấy tế bào	Hình thức sinh sản	Acid nucleic	Nhạy cảm kháng sinh
Rickettsia	Đa hình thái	(–)	(+)*	(–)	(+)	Phân đôi	ADN và ARN	(+)
Virus	Vô cùng bé 10–200 nm	(–)	(–)**	(+)	(+)	Nhân lên	ARN hoặc ADN	(–)
Vi khuẩn	Khoảng 0,2–50 µm	(+)	(+)	(–)	(–)	Phân đôi	ADN và ARN	(+)

* Enzym sinh tổng hợp protein và tạo năng lượng.

** Không có enzym tạo năng lượng, có enzym sinh tổng hợp protein.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

RICKETTSIA

da Rocka–Lima 1916

Loài mẫu: *Rickettsia prowazekii* da Rocka–Lima 1916

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Rickettsia là những vi khuẩn hình cầu trực khuẩn, ngắn, không có lông, không di động, chiều dài khoảng 0,8–2 μm, chiều rộng khoảng 0,3–0,5 μm, đa hình thái, đứng riêng rẽ hoặc thành từng đôi có khi xếp thành chuỗi ngắn hoặc từng đám trong hoặc ngoài tế bào. *Rickettsia* không bắt màu Gram, khi nhuộm bằng phương pháp Giemsa thì bắt màu tím hồng *(Xem hình P55 ở Phụ bản)* hoặc bằng phương pháp Macchiavello thì bắt màu đỏ của fuschin trên nền xanh (trừ *R. tsutsugamushi* bắt màu xanh, Ris và fox, 1949).

1.2. Nuôi cấy

Rickettsia ký sinh bắt buộc trong tế bào, vì vậy việc nuôi cấy chúng phải dựa vào tế bào sống, cảm thụ trong nuôi cấy tế bào. Có thể nhân chúng bằng các phương pháp sau đây:

– Tiêm vào gậm nhấm như chuột lang, chuột nhắt trắng, đặc biệt là nhân lên trong tế bào phổi sau khi chuột hít *Rickettsia* qua đường khí quản. Tổn thương chủ yếu xuất hiện ở màng trong tế bào các mao mạch.

– Gây bệnh thực nghiệm ở côn trùng, tiết túc trung gian như ve, bọ, rận (đặc biệt là tiêm qua hậu môn vào ruột rận).

– Tiêm vào túi noãn hoàng của bào thai gà 7 ngày, để ở nhiệt độ 34 – 37°C. *Rickettsia* phát triển nhiều ở màng niệu điệm và nhất là ở túi noãn hoàng.

Rickettsia sinh sản bằng cách phân đôi trong tế bào, cắt ngang; chúng đứng riêng rẽ hoặc tập trung thành từng đám bên trong tế bào. Khi các tế bào vỡ ra, *Rickettsia* được giải phóng vào môi trường gian bào và tiếp tục gây nhiễm các tế bào khác.

1.3. Khả năng đề kháng

Rickettsia là những vi khuẩn rất yếu, bị tiêu diệt nhanh chóng bởi sức nóng, độ ẩm, độ khô và các chất hóa học, bị bất hoạt ở nhiệt độ thường nhưng tồn tại tốt ở nhiệt độ thấp (–25 đến –70 °C) bằng phương pháp đông lạnh. Chỉ có loài *Coxiella burnetii* có khả năng đề kháng với khô và có thể sống trong phân của bọ chét nhiều tháng. Điều này giải thích cho việc lây lan của bệnh sốt "Q".

1.4. Độc tố

Một số *Rickettsia* sinh ra một loại độc tố hòa tan trong nuôi cấy, đồng thời có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

tính chất gây tan máu và hoại tử. Khi tiêm độc tố này cho động vật vào đường tĩnh mạch, động vật chết sau vài giờ và người ta thấy tổn thương bệnh lý do chúng gây nên giống như tổn thương bệnh lý do vi khuẩn gây ra. Độc tố này rất yếu, sự gây tổn thương ở các cơ quan nhiễm trùng giống như dạng tổn thương của ngoại độc tố. Cấu tạo của vỏ ngoài có tính kháng nguyên, vỏ cũng có vai trò đặc biệt trong gây tan huyết. Như vậy hoạt tính gây bệnh của *Rickettsia* ngoài độc tố ra còn phụ thuộc vào chất gây tan huyết của vỏ và cả enzym gây tan huyết của vi khuẩn. Độc tố gắn liền với thân *Rickettsia*. Nếu đun 60°C trong 30 phút hoặc xử lý bằng formalin 0,37% thì độc sẽ bị hủy nhưng vẫn giữ được đặc tính kháng nguyên.

Rickettsia có một kháng nguyên hòa tan đặc hiệu của nhóm và một số kháng nguyên chéo. Kháng nguyên hòa tan có cấu trúc gần gũi với kháng nguyên của *Proteus vulgaris* (chủng OX_{19}, OX_2 và OX_k), bản chất của kháng nguyên hòa tan là polysaccharide.

1.5. Phân loại

Việc xếp loại *Rickettsia* có thay đổi theo từng giai đoạn khác nhau, theo Pinkerton (1936, 1942), *Rickettsia* được chia thành sáu loài, đó là:

– *R. prowazekii*: gây bệnh sốt phát ban dịch tễ, vi khuẩn ký sinh nội bào, sinh sản trong nguyên sinh chất của tế bào túc chủ. Loại này có hai biến chủng là *R. prowazekii* và *R. mooseri*.

– *Dermacentroxenus rickettsi*: gây bệnh sốt phát ban có nốt, môi giới truyền bệnh là loài ve, ký sinh nội bào. Chúng sinh sản ở nguyên sinh chất và cả trong nhân tế bào túc chủ.

– *R. orientalis*: gây bệnh sốt phát ban do một số mò làm môi giới trung gian truyền bệnh, vi khuẩn ký sinh nội bào và nhân lên ở nguyên sinh chất tế bào túc chủ.

– *Coxiella burnetii*: gây bệnh sốt "Q" (Query: chưa rõ ràng), vi khuẩn này có kích thước rất bé vì vậy chúng có thể chui qua lọc vi khuẩn được.

– *R. wolhyniea*: gây bệnh sốt hầm hào. Môi giới truyền bệnh là rận. Vi khuẩn sinh sản và phát triển tốt trong ruột của rận.

– *R. ruminantium*: gây bệnh cho các loài động vật có sừng ngư dê, trâu, bò...

Về sau một số tác giả như Philip (1943), chia *Rickettsia* gây bệnh cho người thành ba chi riêng biệt với mục đích làm sáng tỏ hơn kiểu sắp xếp của các tác giả trước, đó là *Rickettsia, Dermacentroxenus* và *Coxiella*.

Zhdanov và Korenblit thì chia *Rickettsia* làm bốn loài gây bệnh cho người và động vật: *Rickettsia, Trombidixenus, Coxiella* và *Wolhynica*.

Zdrodovski (1948–1956) sau đó cải tiến một số về danh pháp và nói rõ hơn về

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

khả năng gây bệnh, môi giới truyền bệnh của từng loại *Rickettsia* và sau đó phân chia *Rickettsia* thành sáu nhóm, trong đó có năm nhóm gây bệnh cho người và một nhóm gây bệnh cho động vật, các nhóm đó là:

– *Nhóm sốt phát ban do rận hoặc bọ truyền*

Nhóm này thường gây nên hai bệnh chủ yếu là sốt phát ban dịch tễ và sốt phát ban chuột (còn được gọi là sốt phát ban địa phương, bệnh Tobadillo của Mehico).

• Sốt phát ban dịch tễ

Mầm bệnh là *R. prowaseki* và *R. typhi*. Môi giới truyền bệnh là rận. Ổ chứa mầm bệnh là người bệnh. Vi khuẩn khu trú và sinh sản trong nguyên sinh chất tế bào. Có khả năng lan truyền rộng và có thể lưu hành khắp trên toàn cầu.

• Sốt phát ban chuột (sốt phát ban địa phương)

Mầm bệnh là *R. mooseri*. Môi giới truyền bệnh là bọ, rận chuột, ve chuột. Ổ chứa mầm bệnh là chuột cống, chuột nhắt. Vi khuẩn khu trú và sinh sản trong nguyên sinh chất tế bào. Nhóm này có khả năng lan truyền rộng rãi trên khắp các châu lục.

– *Nhóm sốt do ve truyền*

Nhóm này gồm có hai nhóm bệnh: sốt vùng núi (Rocky Mountain spoted fever), sốt phát ban ở Braxin, sốt ác tính ở Nam Mỹ; sốt Địa Trung Hải và các vùng địa lý lân cận.

• Sốt vùng núi

Mầm bệnh là *R. rickettsii*. Môi giới truyền bệnh là ve rừng, ve chó. Ổ chứa là ve rừng, thú rừng, gia súc. Bệnh mang tính chất tản phát, lưu hành nhiều ở các vùng địa lý khác nhau như Mỹ, Canada, Braxin, Columbia...

• Sốt Địa Trung hải và các vùng lận cận

Mầm bệnh là *D. cororii* và *R. rickettsii*. Môi giới truyền bệnh là ve chó loại *Ripicephalus sanguinenus*. Ổ chứa là *R. sanguinenus* và chó mắc bệnh.

• Sốt Đông Phi và Nam Phi

Mầm bệnh là *D. rickettsia*. Môi giới truyền bệnh là ve *Haemophysalis leachi* và *Amblyomma hebraeum*. Hiện nay chưa biết rõ ổ chứa mầm bệnh của bệnh này. Bệnh mang tính chất tản phát, lành tính ít gây nguy hiểm.

• Sốt ve truyền ở vùng Bắc Á

Mầm bệnh là *D. rickettsia*. Môi giới truyền bệnh là các ve rừng loại *Dermacenter*. Ổ chứa mầm bệnh là ve và các loại gậm nhấm như chuột đồng, cống, chuột nhắt.

• Sốt do ve truyền ở Bắc Australia

Mầm bệnh là *D. rickettsia* biến chủng. Môi giới truyền bệnh là ve *Ixodes holocyclus*. Ổ chứa là loại gậm nhấm và ve *Ixodes holocyclus*.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

–Nhóm do mò đỏ truyền

Mầm bệnh gây nên là do *R. orientalis* hay còn gọi là *R. tsutsugamushi*. Nơi khu trú và sinh sản của mầm bệnh là trong nguyên sinh chất của tế bào. Môi giới truyền bệnh là nhiều loại mò đỏ khác nhau (Trombicula) như: *T. akamushi, T. flecheri, T. deliensis* và *T. schneffneri*. Ổ chứa là mò đỏ và một số loại gậm nhấm như chuột đồng, chuột cống... Bệnh do mò đỏ gây nên còn có các tên gọi khác nhau như sốt mò, sốt Tsutsugamushi, sốt triền sông Nhật Bản, sốt bụi rậm...

–Nhóm gây bệnh sốt "Q"

Nhóm này thường gây tổn thương ở phổi, bệnh này có thể gặp ở châu Úc, châu Mỹ và châu Âu. Mầm bệnh gây nên sốt "Q" là *R. burnetii* (còn gọi là *R. diapoprica, Coxiella burnetii*). Nơi cư trú và sinh sản của mầm bệnh là nguyên sinh chất tế bào. Môi giới truyền bệnh là ve và rất phong phú: *Ixodidae, Argasodae* và *Gamasoidae* (môi giới giữa động vật và chim). Ổ chứa chủ yếu là ve *Ixodidae, Argasodae* và *Gamasoidae*. Ngoài ra có một số loại gia súc, gia cầm như bò, cừu, dê, chó, ngựa, lừa, lợn và một số loài gậm nhấm như chuột nhắt, chuột cống, chuột sa mạc, thỏ rừng... cũng có khả năng là ổ chứa mầm bệnh.

–Nhóm gây bệnh sốt hầm hào (Trench Fever)

Có hai loại bệnh về triệu chứng lâm sàng rất rầm rộ và có ban:

• Sốt hầm hào

Sốt từng đợt cách nhau 4 ngày. Mầm bệnh là *R. quintana*. Môi giới truyền bệnh là rận. Ổ chứa là người, người có thể mang mầm bệnh lâu dài.

• Bệnh sốt cực độ do ve truyền (*Ixodo – Rickettsiosis paroxismalis*)

Mầm bệnh là *Rickettsia* hay *Dermacentroxenus*. Môi giới truyền bệnh là ve *Ixodes ricinus* và chuột đồng.

–Nhóm gây bệnh cho động vật

Nhóm này thường gây bệnh cho động vật có sừng như dê, cừu và gây bệnh cho chó. Mầm bệnh là *R. ruminantium*, thường gây nên tràn dịch màng tim của các động vật có sừng.

Gần đây, theo Weisburg và cộng sự (1989), Brenner và cộng sự (1993), dựa vào cấu trúc gen của bộ *Ricketsiales* để phân loại gồm hai họ, đó là họ *Rickettsiaceae* gồm chi *Rickettsia* và *Orientia*. Họ *Anaplasmataceae* gồm chi *Ehrlichia, Wolbachia, Anaplasma* và *Neorickettsia*. Sự phân loại này đã hình thành các thành viên, đáng chú ý nhất là *Coxiella, Bartonella, Grahamella* và *Rochalimae* từ các tộc khác nhau. *Coxiella burnetii* là tác nhân gây sốt "Q" bây giờ là thành viên của họ *Coxiellaceae* thuộc tộc *Legionellales* và *Bartonella, Grahamella* và *Rochalimae* thuộc họ *Bartonellaceae*, tộc *Rhizobiales*.

Dựa vào khả năng gây bệnh của *Rickettsia* gần đây James G. Olson, Franca R (2003), sắp xếp các loài *Rickettsia* đặc trưng gây bệnh cho người và môi giới truyền bệnh như Bảng 8.2 sau đây.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bảng 8.2. Các loài đặc trưng gây bệnh cho người và môi giới truyền bệnh

Nhóm bệnh	Loài vi khuẩn	Loại bệnh ở người	Vùng địa lý	Môi giới Truyền bệnh
Sốt phát ban địa phương	*R. rickettsii* *R. conorii*	Sốt vùng núi Rocky	Tây bán cầu	Vết cắn của ve chó, bọ chó, bọ chét
	R. siberica *R. australis* *R. akari* *R. japonica*	Sốt Địa Trung Hải còn gọi bệnh sốt cơn	Các nước Địa Trung hải, Ấn Độ, Bắc Á	Vết cắn của ve chó, bọ chó, bọ chét
		Sốt do ve ở Siberi	Siberi, Mông Cổ, Bắc Trung quốc	Vết cắn của ve chó, bọ chó bọ chét
		Sốt do ve ở Úc	Úc	Vết cắn của mạt
		Sốt có ban		Vết cắn ve chó, bọ chó, bọ chét
		Sốt phát ban phương Đông	Nga, Mỹ Nhật Bản	Phân chấy, rận
Sốt phát ban dịch tễ	*R. prowazekii*	Sốt do chấy rận	Bắc Mỹ và châu Phi	Phân chấy, rận
	R. typhi	Sốt do bọ chét, sốt tái phát (Brill–Zinsser)	Khắp toàn cầu nhưng đầu tiên là ở Mỹ	Phân bọ chét
Sốt phát ban bụi rậm	*O. tstsugamushi*	Sốt bụi rậm	Châu Á, Bắc Úc, Thái Bình Dương	Vết cắn mò đỏ

1.6. Kháng nguyên và miễn dịch

Đã từ lâu, người ta thấy *Rickettsia* có hai loại kháng nguyên: Kháng nguyên chịu nhiệt và kháng nguyên không chịu nhiệt. Kháng nguyên không chịu nhiệt dễ khuếch tán và không đặc hiệu vì dễ phản ứng chéo. Một số kháng nguyên không chịu nhiệt có cấu trúc tương tự như kháng nguyên của *Proteus vulgaris* (chủng OX_{19}, OX_2 và OX_k), bản chất của các loại kháng nguyên này là polysaccharide.

Các loại kháng nguyên khác nhau phát triển trong các tổ chức của cơ thể nhiễm trùng hoặc sau khi tiêm vắc xin thì cơ thể sẽ đáp ứng miễn dịch sinh kháng thể. Các loại kháng thể có thể xuất hiện là kháng thể ngưng kết, kháng thể hòa tan đặc hiệu và có khả năng chống lại bệnh nhiễm trùng. Độc tố của *Rickettsia* cũng có khả năng hình thành kháng thể hòa tan để chống lại độc tố của nó. Trong thực tế, người ta thấy các nhiễm khuẩn *Rickettsia* gây nên sốt phát ban có khả năng tạo ra miễn dịch mạnh mẽ, lâu dài và có thể hình thành

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

miễn dịch chéo với các loài của *Rickettsia*. Những người đã một lần mắc Rickettsiosis, lần sau có tiếp xúc với mầm bệnh *Rickettsia* cũng có khả năng không bị mắc bệnh.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Khả năng gây bệnh

Gây bệnh cho người

Các bệnh sốt núi Rocky (Rocky Mountain Spotted Fever: RMSF) do *R. rickettsii* gây ra. Ngày nay người ta có thể gặp loại bệnh này ở Costa Rica và miền tây nước Mỹ. Bệnh mang tính chất cấp tính. Sau thời kỳ ủ bệnh khoảng 4–14 ngày, bệnh khởi phát với các triệu chứng như sốt cao, đau đầu, buồn nôn hoặc nôn, kèm theo phát ban điển hình ở da. Đặc biệt đa số các trường hợp bệnh đều có tổn thương ở mạch máu nhỏ kiểu viêm hoặc viêm tắc mao mạch. Có thể gặp loại bệnh này ở nhiều vùng địa lý khác nhau như sốt ve châu Phi, sốt ve Úc, sốt ve Ấn Độ, và sốt ve phương Đông. Theo Raout (1986) tỷ lệ tử vong do bệnh này vào khoảng 2%.

Sốt phát ban do rận thuộc loại sốt phát ban dịch tễ. Tác nhân gây bệnh là *R. prowazekii*. Triệu chứng lúc bệnh toàn phát là sốt, đau đầu, đau cơ và phát ban. Môi giới truyền bệnh là rận người *Pediculus humanus*. Bệnh có thể đưa đến các biến chứng nguy hiểm như viêm cơ tim, viêm phổi, viêm thận... và có thể sốt phát ban tái phát (gọi là bệnh Brill–Zinsser).

Bệnh sốt phát ban do bọ chét gây nên bởi *R. typhi*. Bệnh mang tính chất cấp tính, sốt, đau đầu, đau cơ, chán ăn và phát ban. Môi giới truyền bệnh là loài bọ chét *Xenopsylla cheopis* (loại bọ chét này cũng có khả năng làm môi giới trung gian trong bệnh dịch hạch). Tỷ lệ tử vong do loại bệnh này là hiếm thấy. Bệnh có khả năng lưu hành rộng trên toàn cầu.

Sốt phát ban bụi rậm (còn gọi là sốt tsutsugamushi, sốt mò, sốt triền sông Nhật Bản). Môi giới truyền bệnh mò đỏ thuộc tộc *Rodenia*, *họ Muridae*. Bệnh gây nên bởi *R. tsutsugamushi*, gặp chủ yếu ở vùng Bắc Á có khoảng một nghìn trường hợp trong một năm. Bệnh khởi phát là đau đầu, đau cơ, tổn thương mạch máu, phát ban thành chấm và mảng, chiếm khoảng 20% số bệnh nhân.

Sốt phát ban rải rác gây nên bởi *R. akari*. Môi giới truyền bệnh là mò. Ban xuất hiện có tính chất rải rác, riêng rẽ, từng nốt loét trên da vùng mặt, ngực, tay chân rồi trở thành sẩn cứng màu đen, chiếm khoảng 90% bệnh nhân. Ở Mỹ, Ukraina, Nga người ta thấy loại bệnh này thường xuất hiện ở vùng có tình trạng môi trường và xã hội chưa tốt.

Gây bệnh cho động vật

Khoảng 6, 7 loài phụ của *Rickettsia* có khả năng gây bệnh cho động vật có

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

sừng (dê, cừu...) và chó. Trong số đó hay gặp nhất là loại phụ *R. ruminantium* thường gây nên bệnh tràn dịch màng tim ở động vật.

2.2. Cơ chế gây bệnh

Sau thời gian nung bệnh, *Rickettsia* đi vào máu, chui vào màng trong tế bào của các mạch máu nhỏ, ở đó chúng nhân lên và bài tiết yếu tố tiền đông huyết tương và các cục máu đông (thrombose) làm tổn thương mạch máu, đôi khi làm tắc mạch.

Sự lây bệnh giữa người bệnh sang người lành, hoặc tương tự, từ động vật ốm sang người lành bởi côn trùng, tiết túc thông qua phân hoặc nước bọt có chứa *Rickettsia*. Mầm bệnh chui qua vết thương ở da hoặc ở niêm mạc bằng cách chui qua vết đốt của côn trùng, tiết túc. Đứng về mặt dịch tễ học, có thể chia bệnh của *Rickettsia* ở người thành hai loại:

- Bệnh sốt phát ban dịch tễ: Đặc trưng của loại bệnh này là không có ổ chứa mầm bệnh ở môi trường bên ngoài. Mầm bệnh chỉ lưu hành trong phạm vi giữa người và côn trùng tiết túc là rận, không truyền mầm bệnh qua trứng của rận sang các thế hệ sau.

- Bệnh *Rickettsia* lưu hành địa phương: bao gồm tất cả các nhiễm khuẩn khác do *Rickettsia* gây nên cho người và thường gặp ở vùng có dịch rickettsiosis đối với động vật.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Ngày nay, nhờ có sự phát triển về khoa học kỹ thuật nên việc chẩn đoán Rickettsiosis có nhiều thuận lợi hơn. Hiện nay đã có một số kỹ thuật mới, chẩn đoán nhanh, chính xác, giúp cho các thầy thuốc lâm sàng có cơ sở để tham khảo áp dụng trong chữa bệnh cũng như phòng bệnh hữu hiệu hơn.

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm

Nếu là người bệnh thì lấy máu khi sốt hoặc chọc hạch khi có hạch viêm. Lấy nước não tủy hay mảnh tổ chức khi mổ tử thi. Trong trường hợp điều tra dịch tễ học, có thể lấy các phủ tạng của gậm nhấm hoặc chính bản thân ve, bọ, mò, rận...

Nhuộm bệnh phẩm và soi kính hiển vi

Ở những phòng thí nghiệm đặc biệt, nhuộm đồ phiến được làm từ các mô nhiễm trùng bằng phương pháp Macchiavello hoặc bằng phương pháp mới, Gimenez.

Hai kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang (immunofluorescence) và kỹ thuật sinh học phân tử PCR (Polymerase Chain Reaction) cũng đang được áp dụng. Theo

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Regnery, Spruil và Plikaytis (1991), người ta đã áp dụng kỹ thuật RFLP phân tích gen để định loại và định type các loài *Rickettsia* khác nhau.

Nuôi cấy

Bệnh phẩm được nghiền nát rồi cho vào nước muối sinh lý vô khuẩn, ly tâm lấy nước trong, tiêm vào bào thai gà hoặc nuôi cấy tế bào và tiêm cho động vật thí nghiệm. Để xác định *Rickettsia* người ta dựa vào các tiêu chuẩn chính sau đây:

- Hình thái học điển hình qua nhuộm soi bằng kính hiển vi; xác định ADN bằng kỹ thuật PCR.
- Phản ứng dương tính với ELISA, miễn dịch huỳnh quang gián tiếp.
- Gây được nhiễm khuẩn thực nghiệm cho chuột lang hay chuột nhắt trắng.
- Làm chết bào thai gà.
- Tạo ra một miễn dịch chéo trên súc vật thí nghiệm để bảo vệ cho các súc vật chống lại sự gây nhiễm các *Rickettsia* mẫu.
- *Rickettsia* có cấu trúc kháng nguyên tương ứng với các kháng huyết thanh *Rickettsia* mẫu.

Trong các tiêu chuẩn nêu trên, việc xác định hình thái là rất khó khăn, nếu có điều kiện thì nên làm phản ứng khuếch đại gen PCR, khi cần thiết có thể kết hợp với các phương pháp chẩn đoán huyết thanh như kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp hoặc nuôi cấy trong bào thai gà và gây bệnh thực nghiệm cho động vật thí nghiệm. Hầu hết các loài *Rickettsia* đều nhạy cảm với chuột lang, nhất là *R. rickettsi* và *R. typhi* cho nên chuột lang thường được lựa chọn để làm thực nghiệm. Tuy vậy, nếu có điều kiện thì chọn chuột nhắt trắng để gây bệnh thực nghiệm đối với *R. akari* và *R. tsutsugamushi* thì có kết quả mỹ mãn hơn.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh học

Để xác định động lực kháng thể kháng *Rickettsia* trong máu bệnh nhân, cần được lấy máu hai lần. Có nhiều phương pháp huyết thanh học đặc hiệu như: phản ứng ngưng kết, phản ứng kết hợp bổ thể, phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu, phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp.

Ngày nay, hầu hết các chẩn đoán huyết thanh học các bệnh do *Rickettsia* gây ra đều được sử dụng phản ứng huỳnh quang gián tiếp (indirect immunofluorescence assay: IFA), bởi lẽ nguyên liệu sẵn có, dễ thực hiện và có tính kinh tế.

Phản ứng kết hợp bổ thể (Complement Fixation: CF): trong nhiều năm qua kỹ thuật CF cũng là một trong các kỹ thuật được sử dụng để chẩn đoán các bệnh do *Rickettsia* gây ra. Tuy vậy, phản ứng CF so với phản ứng IFA và phản ứng ELISA thì không được áp dụng rộng rãi bởi lý do kém đặc hiệu hơn.

Kỹ thuật miễn dịch gắn enzym (Enzyme Linked Immunosorbent Assay: ELISA):

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ELISA cũng đã được áp dụng ngày càng nhiều hơn để chẩn đoán Rickettsiosis, đặc biệt trong các bệnh sốt vùng núi Rocky và sốt phát ban dịch tễ.

Phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp (Indirect Haemagglutination: IHA): Phản ứng này cũng có độ nhạy tương tự như phản ứng IFA.

Ngoài ra, người ta có thể áp dụng phản ứng không đặc hiệu như phản ứng Weil–Felix (phản ứng này không áp dụng cho những *Rickettsia* nào không có kháng nguyên chung với *Proteus*).

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh chung

Có thể xua đuổi hoặc tiêu diệt côn trùng tiết túc (ve, mò, bọ chuột...) như phát quang bụi rậm, dùng hóa chất... Những người đi rừng, nhất là vào mùa mưa, người làm nghề trồng trọt (nông nghiệp, lâm nghiệp) cần biết cách chống côn trùng tiết túc đốt (mò, ve, bọ chuột) bằng cách mặc quần áo dài, bôi một trong các loại thuốc chống côn trùng, tiết túc như DEP, dầu cao sao vàng, dầu gió...vào các vùng da hở không được che chở quần, áo.

Cách ly bệnh nhân khi có dịch sốt phát ban. Nếu có điều kiện thì cho những người tiếp xúc thường xuyên với bệnh nhân hoặc những người ở vùng dịch có nguy cơ cao có khả năng mắc bệnh được uống hóa dược dự phòng. Biện pháp này đưa lại kết quả khả quan.

4.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Vắc xin chết gồm ba loại khác nhau, bào chế từ ruột rận, từ phổi chuột, từ lòng đỏ trứng gà đã gây nhiễm *Rickettsia*. Dùng vắc xin này thì không tạo ra được một miễn dịch hoàn toàn đảm bảo nhưng có tác dụng chuyển bệnh sang thể nhẹ, lành tính.

Vắc xin sống giảm độc lực: loại vắc xin này có tiến bộ hơn so với vắc xin chết song vẫn còn nhiều nhược điểm như còn chứa thành phần protein cảm nhiễm của tổ chức lòng đỏ trứng gà, kỹ thuật sử dụng còn phức tạp như vấn đề sản xuất hàng loạt cũng như vấn đề bảo quản vắc xin.

Ngoài hai loại vắc xin nêu trên, người ta còn có thể sử dụng loại vắc xin sống phối hợp với kháng sinh. Cơ sở của loại vắc xin này là có một số chủng *Rickettsia* độc lực khi xử lý một loại kháng sinh thích hợp với liều lượng ức chế thì chủng *Rickettsia* đó trở nên vô độc cho súc vật cảm nhiễm và có tác dụng gây miễn dịch rất tốt đối với súc vật.

4.3. Điều trị

Nói chung việc điều trị Rickettsiosis bằng kháng sinh còn nhiều thuận lợi.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Theo Harrel (1949) thì khi mắc bệnh Rickettsiosis với thể bệnh sốt núi đá (RMSF) thì nên dùng doxycycline, tetracycline hoặc chloramphenicol. Các thể bệnh khác của Rickettsiosis có thể dùng erythromycin và ciprofloxacin. Tuy vậy, các loại kháng sinh như tetracycline, doxycycline và chloramphenicol vẫn là những kháng sinh được lựa chọn để điều trị các thể Rickettsiosis.

MỘT SỐ RICKETTSIA THƯỜNG GẶP

1. *RICKETTSIA PROWAZEKII*

R. prowazekii là tác nhân gây sốt phát ban do rận người. Rận người (*Pediculus humanus*) là môi giới trung gian truyền bệnh. Bệnh có khả năng lây lan rộng và có khả năng lưu hành khắp toàn cầu. Ổ chứa mầm bệnh là người bệnh.

1.1. Đặc điểm sinh học

Vi khuẩn có hình cầu, đường kính từ 0,3 – 0,6 µm. Sức đề kháng yếu, dễ chết bởi tác nhân lý hóa học. Vi khuẩn có nội độc tố, không phát triển trên các môi trường nuôi cấy nhân tạo, chỉ phát triển trong tế bào sống.

Có thể dùng vi khuẩn *R. prowazekii* để gây thực nghiệm cho khỉ, chuột lang, chuột nhắt trắng.

1.2. Khả năng gây bệnh

Là vi khuẩn gây nên bệnh sốt phát ban, thường có ba hội chứng chủ yếu nổi bật:

– Sốt cao từ 40 – 41°C, hình cao nguyên, đau đầu, đau cơ.

– Mụn chấm bắt đầu vào ngày thứ 5 của bệnh, có thể xuất hiện rất kín đáo và thường để lại vết.

– Hội chứng sốt phát ban rất rầm rộ, có hiện tượng mê sảng, đôi khi hôn mê và rối loạn cảm giác và tinh thần.

Bệnh xảy ra ở trẻ em thì nhẹ hơn xảy ra ở người lớn tuổi.

Bệnh có thể gây nên một số biến chứng nguy hiểm nếu không phát hiện sớm và điều trị đúng. Biến chứng thường gặp của bệnh sốt phát ban dịch tễ là viêm phổi, viêm cơ tim, viêm thận...

1.3. Chẩn đoán vi sinh

Chẩn đoán trực tiếp

Khi cần thiết có thể lấy máu bệnh nhân lúc đang sốt cao, có chất chống đông và tiêm vào túi noãn hoàng của phôi gà ấp hoặc tiêm cho súc vật thí nghiệm,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

thông thường là chuột lang. Nếu máu không chống đông thì phải nghiền cục máu cùng với một lượng nước muối sinh lý vô khuẩn rồi tiêm cho chuột lang.

Chẩn đoán gián tiếp

Có thể dùng phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp, phản ứng ELISA, phản ứng kết hợp bổ thể, phản ứng trung hòa (là phản ứng làm trung hòa tác dụng gây bệnh của *R. prowazekii* hoặc trung hòa tác dụng làm chết chuột nhắt trắng hoặc trung hòa tác dụng gây hoại tử da thỏ).

1.4. Phòng bệnh và điều trị (xem mục 4)

2. *RICKETTSIA MOOSERI*

R. mooseri là tác nhân gây nên sốt phát ban chuột còn gọi là sốt phát ban địa phương. Môi giới truyền bệnh là bọ, rận chuột, ve chuột. Ổ chứa mầm bệnh là chuột cống, chuột nhắt. Khi vào cơ thể, chúng khu trú và sinh sản trong nguyên sinh chất của tế bào. Bệnh do vi khuẩn này gây ra có khả năng lan truyền rộng rãi khắp các châu lục.

2.1. Đặc điểm sinh học

Về kích thước, so với *R. prowazekii* thì *R. mooseri* nhỏ hơn rất nhiều. Thường dùng chuột lang để gây bệnh thực nghiệm. Chuột lang mắc bệnh điển hình và bao giờ cũng có phản ứng viêm tinh hoàn (nếu dùng chuột đực), kèm theo sốt.

2.2. Khả năng gây bệnh

Bệnh sốt phát ban địa phương là bệnh nhiễm khuẩn cấp tính gồm các triệu chứng sốt, đau đầu, và nổi ban. Đây là bệnh ở chuột truyền sang cho người qua môi giới trung gian là bọ chét chuột *Xenopsylla cheopis*. Bệnh thường gặp ở Hy Lạp và Mỹ.

2.3. Chẩn đoán vi sinh (xem mục 3 bài Rickettsiosia)

2.4. Phòng bệnh và điều trị (xem mục 4 bài Rickettsiosia)

3. RICKETTSIA BURNETII (*Coxiella burnetii*): Xem bài *Coxiella*

4. RICKETTSIA TSUTSUGAMUSHI

R. tsutsugamushi là tác nhân gây nên bệnh sốt mò hay còn gọi là sốt phát ban rừng rú, bệnh tsutsugamushi, bệnh Kedani.

Năm 1919, Wolbach cùng với Hayashi phát hiện ra mầm bệnh *R. orientalis* tại Nhật Bản; một năm sau đó, Hayashi nghiên cứu tác nhân này kỹ hơn và đặt tên là *R. tsutsugamushi*, bệnh tsutsugamushi gặp nhiều ở triền sông Nhật Bản (nên gọi là bệnh Kedani), Triều Tiên, Đài Loan, Việt Nam, Lào, Campuchia,

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Malaysia, Philippines và châu Úc. Nói chung, bệnh tsutsugamushi gặp chủ yếu ở vùng Bắc Á, có khoảng 1000 trường hợp trong một năm.

4.1. Đặc điểm sinh học

Vi khuẩn có dạng song cầu khuẩn hoặc song trực khuẩn nhưng thường đa hình thái, chiều dài của vi khuẩn vào khoảng từ 0,8–2 μm; chiều rộng khoảng từ 0,3–0,5 μm. Theo Wissig và cộng sự (1956), quan sát dưới kính hiển vi điện tử thấy kích thước của *R. tsutsugamushi* gần giống với kích thước của *R. mooseri*. Vi khuẩn không bắt màu Gram, có sức đề kháng yếu nhất so với tất cả các loài *Rickettsia*. Theo Smadel (1952) thì *R. tsutsugamushi* bị bất hoạt tương đối nhanh trong các hỗn dịch tổ chức được xử lý bằng focmalin: ví dụ hỗn dịch 10% các phủ tạng súc vật nhiễm vi khuẩn *R. tsutsugamushi* nếu cho thêm 0,1% formaldehyt thì chỉ sau vài giờ sẽ không còn khả năng nhiễm khuẩn.

Tính kháng nguyên và miễn dịch: *R. tsutsugamushi* có cấu trúc kháng nguyên rất độc đáo, khác hẳn với các *Rickettsia* khác ở tính không thuần nhất của nó. Theo Bergtson và Topping thì sự khác nhau về huyết thanh học của các chủng *R. tsutsugamushi* có liên quan đến nguồn gốc địa lý khác nhau của chúng. Người ta thấy rằng những người bị sốt mò ở vùng này, khi đến một vùng khác, chẳng bao lâu là có thể bị bệnh lại. Điều đó được giải thích bởi sự khác loại của các chủng trong những khu vực địa lý khác nhau.

Về mặt dịch tễ học, nguồn bệnh là loài gậm nhấm như chuột đồng, thỏ và một số loài chim biển. Ngoài ra người ta cũng phát hiện ra nguồn bệnh ở chó, gà, lợn. Côn trùng truyền bệnh là ấu trùng mò đỏ *Trombiculae*. Ấu trùng nằm trên mặt đất, ngọn cỏ; khi gặp người hoặc động vật đi qua, chúng sẽ bám vào cắn và hút máu, qua vết cắn chúng truyền bệnh và rời khỏi vật chủ (người). Ấu trùng mò đỏ trưởng thành mò đỏ. Mò đỏ phát triển mạnh vào mùa mưa (từ tháng 5 đến tháng 11). Đối tượng dễ mắc bệnh sốt mò là nông dân miền núi, công nhân lâm nghiệp, bộ đội biên phòng.

4.2. Khả năng gây bệnh

Là bệnh nhiễm khuẩn cấp tính có đặc điểm là khởi phát đột ngột, tiến triển kèm theo có vết ban, có dấu hiệu đau khởi đầu và sưng các hạch lympho. Thời kỳ ủ bệnh từ 7–18 ngày. Trong thời kỳ ủ bệnh thường không có biểu hiện gì đáng kể. Bệnh thường xuất hiện từ từ hay đột ngột. Các dấu hiệu tiền triệu như khó chịu, đau đầu, chóng mặt, kém ăn hoặc ăn không ngon miệng. Thời kỳ toàn phát xuất hiện triệu chứng nhiễm khuẩn, nhiễm độc toàn thân với các dấu hiệu đặc trưng như:

– Sốt cao từ 39–40°C, xuất hiện sau một cơn rét run và sốt kéo dài 2 – 3 tuần. Kèm theo sốt là nhức đầu, hoa mắt, chóng mặt, ù tai, có cơn vã mồ hôi, đau nhức các cơ (nhất là cơ lưng), ý thức lơ mơ, mạch chậm và huyết áp hạ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Vết loét (chiếm khoảng 80%): sau 24 giờ vị trí mò đỏ đốt sẽ bị phồng lên thành mụn, đường kính khoảng 2 mm, sau 4 ngày mụn có dịch đục, sau 5 ngày mụn vỡ. Đặc điểm của vết loét là không ngứa. Khi vết loét lành thì da xung quanh cứng, đóng vảy màu nâu đen. Vị trí vết loét tuỳ thuộc vào vị trí đốt của mò đỏ, thường thấy ở vùng da mềm, ẩm, kín như bộ phận sinh dục, hậu môn, bẹn, bìu, mông, đùi, hõm nách, thân mình, cổ...

– Ban đỏ dát sần: ban xuất hiện vào cuối tuần thứ nhất của bệnh (chiếm khoảng 82%). Ban có đường kính nhỏ, màu mận chín, sờ thấy hơi cứng. Ban mọc ở toàn thân không theo thứ tự nhưng gặp nhiều nhất là bụng, ngực, lưng, rất hiếm thấy ở mặt, gan bàn tay, bàn chân. Ban tồn tại khoảng 4–5 ngày.

– Sưng hạch bạch huyết (chiếm khoảng 91%): hạch nổi gần khu vực có vết loét. Hạch không to, chỉ bằng hạt táo, hạt mận, di động, hơi đau. Có thể thấy hạch ở một số nơi khác xa vết loét như nách, bẹn, cổ và thường nhỏ hơn hạch ở khu vực vết loét.

Nếu được điều trị bằng kháng sinh hợp lý bệnh sẽ thuyên giảm nhanh và khỏi hẳn nhưng cũng có một số trường hợp vì nhiều lý do khác nhau, bệnh có thể tái phát và gây biến chứng. Biến chứng của bệnh sốt mò hay gặp nhất là viêm phế quản, viêm phổi kẽ dẫn đến suy hô hấp, viêm cơ tim, sốc nhiễm khuẩn, nhiễm độc, rối loạn ý thức, viêm màng não và có thể hôn mê.

4.3. Chẩn đoán vi sinh (xem mục 3 bài Rickettsia)

4.4. Phòng bệnh và điều trị (xem mục 4 bài Rickettsia)

CHLAMYDIA

John, Rake và Stearns 1945

Loài mẫu: *Chlamydia trachomatis* (Busacca 1935) Rake 1957

1. GIỚI THIỆU

Nhóm *Chlamydia* gây bệnh trước kia còn được gọi là Bedsonia hoặc Miyagawanella hoặc thậm chí bị gọi sai là virus, ví dụ virus gây sốt vẹt. Có ý kiến còn nhận xét, *Chlamydia* (và *Rickettsia*) là "vi sinh vật trung gian giữa vi khuẩn và virus". Với những bằng chứng xác thực: *Chlamydia* (và *Rickettsia*) có cả hai loại acid nucleic (DNA & RNA); có ribosom trong bào tương, tuy không nhiều như các vi khuẩn điển hình khác, có chịu tác dụng của một số kháng sinh kháng khuẩn (antibacterial antibiotics) và sinh sản bằng chia đôi tế bào – song phân, *Chlamydia* và *Rickettsia* được khẳng định là vi khuẩn; nhưng chúng có đặc điểm giống virus là ký sinh bắt buộc trong tế bào chủ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

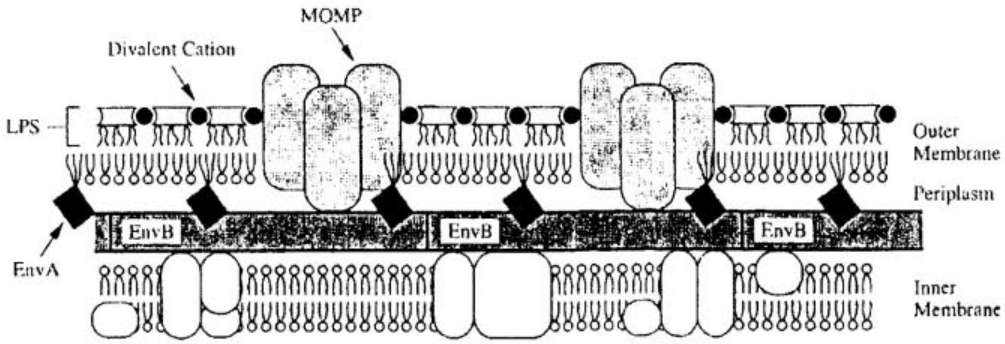
Các thành viên của bộ *Chlamydiales* gây nhiễm trùng cho một phổ rộng các túc chủ, từ chim, động vật có vú đến động vật không xương sống. Theo cách phân loại hiện tại, bộ *Chlamydiales* gồm có bốn họ: *Chlamydiaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Waddliaceae* và *Simkaniaceae*. Các *Chlamydia* gây bệnh cho người nằm trong họ *Chlamydiaceae*. Các bệnh mà *Chlamydia* gây ra cho người cũng đa dạng, gồm bệnh ở mắt, ở đường hô hấp và đường sinh dục; bệnh lây từ người sang người hoặc từ động vật bị bệnh sang người, không qua vector truyền bệnh.

Theo cách phân loại hiện nay, thêm cơ sở của giải trình tự ARN ribosom, *Chlamydia* gây bệnh cho người và động vật gồm có hai chi (genera): *Chlamydia* và *Chlamydophila*, thuộc họ *Chlamydiaceae*, bộ *Chlamydiales*. Các *Chlamydiaceae* gây bệnh cho người gồm *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Chlamydophila psittasi*, *Chlamydophila felis* và *Chlamydophila abortus*.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể, cấu tạo và vòng đời

Vách của *Chlamydia* có cấu tạo giống vách của vi khuẩn Gram–âm, có lipopolysaccharide (LPS) ở màng ngoài.



Hình 8.1. Mô hình cấu trúc vách của *Chlamydia* với các protein chính ở màng ngoài – MOMP (MOMP = major outer–membrane protein)

Vòng đời của *Chlamydia* và *Chlamydophila* được mô phỏng như sau: Tiểu thể cơ bản EB (elementary body), kích thước 0,2–0,3 µm, cấu trúc đặc có khả năng gây nhiễm trùng; EB bám vào receptor nhạy cảm protease của tế bào biểu mô, nhờ thực bào nó được đưa vào trong tế bào chủ và nằm lại trong một không bào. Bằng cơ chế chưa rõ, EB tự bảo vệ để không bị hợp nhất vào lysosom của tế bào chủ. Khối nucleoid đặc của EB mở nếp gấp thành ADN toả rộng. Sau khoảng 8 giờ, EB phát triển thành tiểu thể dạng lưới RB (reticulate body), đường kính 1 µm, cấu trúc rỗng hơn EB, không có khả năng gây nhiễm trùng và bắt đầu sinh sản bằng song phân. Quá trình sinh sản liên tục trong khoảng 24 giờ; cuối giai đoạn này, các RB đặc dần chuyển thành EB, sinh tổng hợp protein ngừng lại, khối nucleoid đặc lại và vách tế bào dày lên. Thể vùi (bao gồm các RB) chín muồi trong khoảng 35–40 giờ. Toàn bộ quá trình này do *Chlamydia* giám sát chặt chẽ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Khi màng tế bào chủ bị phá vỡ, các tiểu thể EB được giải phóng ra môi trường xung quanh, ở bên ngoài tế bào chủ và có thể lại gây nhiễm tế bào mới – vòng đời mới tiếp tục *(Xem hình P56 ở Phụ bản)*.

Đã có bằng chứng là: trong điều kiện nhất định, chu kỳ EB–RB–EB bị chặn lại ở giai đoạn RB, dẫn đến nhiễm trùng dai dẳng – persistent (thường được gọi là nhiễm trùng tiềm tàng – latent). Hiện tượng này quan trọng đối với các nhiễm trùng ở mắt (di chứng mắt hột) và có thể cả nhiễm trùng đường sinh dục ở người (vô sinh ở phụ nữ); cũng có thể nhiễm trùng tiềm tàng *C. pneumoniae* có một vai trò tham gia gây xơ vữa động mạch vành. Cơ chế chính xác chưa rõ, nhưng có nhiều yếu tố, ví dụ như hoạt động của interferon–γ (IFN–γ) hoặc giảm sút tryptophan và cystein hay do kháng sinh dẫn đến ức chế chu trình phát triển của *Chlamydia*.

2.2. Tính chất nuôi cấy

Chlamydia là vi khuẩn ký sinh bắt buộc trong tế bào nên không thể nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Trước kia, *Chlamydia* được nuôi trong bào thai gà hoặc chuột nhắt trắng. Ngày nay, *C. trachomatis* thường được nuôi trong các nuôi cấy tế bào như dòng tế bào McCoy (từ nguyên bào sợi L của chuột), HeLa 229, tế bào thận bào thai khỉ xanh hoặc thận bào thai chuột BHK21 (baby hamster kidney). Dòng tế bào HL (nguyên bào sợi của người) và tế bào Hep2 thường được dùng để nuôi *C. pneumoniae*.

2.3. Bộ máy di truyền

Genom (bộ gen) của một số *Chlamydia* đã được giải trình tự, bao gồm trình tự của *C. trachomatis* type huyết thanh (serovar) B, D và L2 của *C. pneumoniae* chủng J139 và chủng CUL 039. Bộ gen của *C. trachomatis* serovar D là $1,043.10^6$ bp (base pairs); của *C. pneumoniae* là $1,13.10^6$ bp (nhỏ hơn các vi khuẩn điển hình, ví dụ *E. coli* $4,6.10^6$ bp). Bộ gen của *Chlamydia* tương đối bền vững, ít sắp xếp lại. Gen *omp1* mã hoá protein chính của màng ngoài – MOMP (major outer–membrane protein) và một số gen khác như gen mã hoá chất bám dính, gen mã hoá protein màng đã được xác định. *Chlamydia* không có đủ hệ thống enzym chuyển hoá nên không có các quá trình sinh tổng hợp acid amin (đặc biệt quan trọng với *Chlamydia* là tryptophan và cystein) và sinh tổng hợp purin và pyrimidin; không có quá trình lên men (kỵ khí) tạo năng lượng và không có các protein có khả năng biến nạp (transformation). Điều này chứng tỏ *Chlamydia* phải phụ thuộc vào hệ thống chuyển hoá của tế bào chủ – ký sinh bắt buộc, để sinh tổng hợp các thành phần cấu tạo cần thiết của nó.

Hầu hết các chủng của *C. trachomatis* và một số chủng *C. psittasi* có mang plasmid, khoảng 7,5 kb (kilo base pairs). Chức năng của plasmid còn chưa rõ. *C. pneumoniae* không chứa yếu tố di truyền ngoài nhiễm sắc thể nào.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Dựa vào dữ liệu giải trình tự ARN ribosom, tác nhân gây bệnh viêm phổi không điển hình và tác nhân gây bệnh sốt vẹt, sốt chim trước đây thuộc chi *Chlamydia*, nay được xếp vào chi *Chlamydophila*.

2.4. Kháng nguyên

Chlamydia có nhiều kháng nguyên protein đặc hiệu cho chi, cho loài và cho thứ huyết thanh (serovar).

– Lipopolysaccharide: *Chlamydia* có kháng nguyên LPS đặc hiệu chung cho cả hai chi. LPS này gần giống LPS của một số *Salmonella*, nhưng có mang epitop ba đường: 3–desoxy–D–manno–octulosonic acid, đặc hiệu cho họ *Chlamydiaceae*. Epitop này có tính miễn dịch và nằm trên bề mặt các tiểu thể RB và EB. LPS có thể đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của nhiễm trùng *Chlamydia*, vì nó kích thích tạo ra yếu tố hoại tử u TNF–α (tumor necrosis factor–α) và các cytokin chống viêm khác dẫn đến xơ hoá. LPS của *Chlamydia* được xem xét là không mạnh bằng LPS của lậu cầu và *Salmonella*, nên có thể chính vì vậy mà nó thường hay gây nhiễm trùng không triệu chứng.

– Protein chính ở màng ngoài – MOMP (major outer–membrane protein)

Định loại dựa vào kháng nguyên MOMP, *C. trachomatis* được chia tiếp thành các thứ huyết thanh (serovar) A – C, D – K, và L1 – L3. Các serovars A, B, Ba và C chủ yếu gây bệnh ở mắt; serovars từ D đến K gây bệnh ở đường sinh dục và ở mắt và có thể lây truyền cho trẻ sơ sinh; serovars L1–L3 gây bệnh hoa liễu viêm hạch hạt (LGV– lymphogranuloma venereum).

MOMP – protein 40 kilo Dalton (kD) là kháng nguyên (KN) nổi trội ở màng ngoài do gen *omp1* quy định. Tính KN của MOMP ở *C. pneumoniae* dường như không mạnh và cũng ít thay đổi ở cả *C. pneumoniae* và *C. psittasi*.

– Phức hợp protein màng ngoài – omc (outer–membrane protein complex)

Phức hợp omc được hình thành bởi ba protein: MOMP và 2 protein giàu cystein omcA và omcB. Cystein được tạo thành từ chuyển hoá tryptophan.

Gen *omp2* và *omp3* mã hoá hai protein omcA – 12 kD và omcB – 15 kD giàu cystein; phức hợp protein màng ngoài – omc lớn khoảng 60 kD. Chúng được sinh tổng hợp khi RB chuyển thành EB và cầu nối disulfur S–S có thể đã làm cho vách của RB cứng cáp.

– Protein màng ngoài đa hình thái – PMP

Polymorphic outer membrane protein – PMP là một nhóm protein (9 protein ở *C. trachomatis* và hơn 20 ở *C. pneumoniae*) nằm ở bề mặt. Vai trò của PMP chưa được biết rõ.

– Hệ thống dịch tiết type III

Hệ thống dịch tiết type III đặc trưng cho các vi khuẩn Gram âm, nó hoạt hoá bề mặt khi tiếp xúc với tế bào chủ. Trên bề mặt tiểu thể RB và EB có rất nhiều vị

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

trí giống như những cái chân nhô ra chứa protein và có thể liên kết với hệ thống tiết dịch này. Khi hệ thống type III hoạt hoá, protein của *Chlamydia* được bơm vào trong bào tương của tế bào chủ, tạo ra tín hiệu cho tế bào chủ chuyển chất dinh dưỡng vào cho thể vùi và có thể các protein này còn tham gia vào quá trình ly giải tế bào chủ để giải phóng EB, khi thể vùi chín muồi.

– Protein shock nhiệt

Các protein shock nhiệt Hsp (Heat shock protein): Hsp10, Hsp60 và Hsp70 giống hệt như các protein GroES, GroEL và DnaK cần thiết cho sự sinh trưởng của *E. coli* ở nhiệt độ cao (42°C và cả ở nhiệt độ 17–30°C) và cũng có quan hệ gần gũi với protein của ty thể ở tế bào người. Hsp60 được cho là có tính sinh miễn dịch cao nên có vai trò chủ yếu trong cơ chế bệnh sinh; và cũng được xem là tham gia gây bệnh tự miễn dịch, dẫn đến xơ hoá. Nhiều nghiên cứu cho thấy: có sự liên quan giữa kháng thể chống các protein Hsp của *Chlamydia* và di chứng mạn tính của bệnh nhiễm *Chlamydia*, mặc dù chưa chứng minh được nguyên nhân.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Nhiều bệnh nhiễm trùng do *Chlamydia* có thể gây thành dịch, do đó cần xem xét khả năng và điều kiện có thể phát sinh ra bệnh dịch này. Đây là cơ sở cho các biện pháp phòng bệnh do *Chlamydia* gây ra.

3.1. Dịch tễ học

Bệnh mắt hột

Tác nhân gây bệnh là *C. trachomatis* serovars A–C; bệnh có thể gây thành dịch địa phương hoặc tản phát (endemic) ở châu Phi (Bắc và Saharan), Trung Cận Đông, châu Á, Úc và Mỹ la tinh. Một số làng có thể đến 90% người dân bị bệnh này. Bệnh mắt hột lây truyền trực tiếp từ mắt người nọ sang mắt người kia hoặc có thể gián tiếp do ruồi mang dịch tiết có vi khuẩn từ mắt của người bị bệnh sang mắt người khác.

Bệnh nhiễm khuẩn đường sinh dục

Tác nhân hay gặp nhất là do *C. trachomatis* serovars từ D đến K; bệnh thường gặp cả ở nam và nữ, đặc biệt ở các nước phát triển và là nguyên nhân chủ yếu dẫn đến vô sinh thứ phát. WHO phỏng đoán có 90 triệu ca mắc mới mỗi năm. Tỷ lệ mắc này vẫn thấp xa so với thực tế, vì rất nhiều nhiễm trùng không có triệu chứng lâm sàng. Tỷ lệ nữ giới mắc nhiều hơn nam giới (7: 1), cũng có thể nó còn phản ánh cơ hội rà soát được ở phụ nữ lớn hơn ở nam giới. Tỷ lệ mắc của phụ nữ có đỉnh ở lứa tuổi 16 –25, của nam giới đỉnh ở lứa tuổi cao hơn; điều này phản ánh đỉnh của lứa tuổi hoạt động tình dục. Những yếu tố nguy cơ nhiễm trùng bao gồm: nhiều bạn tình, thay đổi bạn tình và tình trạng kinh tế xã hội. Viêm kết mạc bể bơi có thể xảy ra, do nước bể bơi bị nhiễm *C. trachomatis* serovars D – K.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Bệnh viêm hạch hạt hoa liễu (LGV– lymphogranuloma venereum)

Bệnh này còn gọi là bệnh hột xoài hoặc bệnh Nicolas–Favre, là bệnh lây truyền qua đường tình dục, do *C. trachomatis* serovars L1, L2 và L3 gây ra. LGV là bệnh dịch địa phương ở các nước nhiệt đới, đáng chú ý là ở châu Phi, Ấn Độ, Đông Nam Á, Nam Mỹ, Caribê và có thể xảy ra lẻ tẻ ở bất cứ đâu. Giống như các nhiễm trùng sinh dục khác do *Chlamydia*, người nhiễm khuẩn không có triệu chứng lâm sàng; những vị trí như cổ tử cung phụ nữ và màng nhày trực tràng của nam giới đồng tính luyến ái là những ổ chứa vi khuẩn quan trọng.

Bệnh viêm phổi không điển hình do Chlamydophila pneumoniae

Bệnh chiếm tỷ lệ từ 6 đến 20% trường hợp viêm phổi mắc phải ở cộng đồng. Người là nguồn bệnh hoặc ổ chứa duy nhất và bệnh lây qua đường hô hấp. Điều tra huyết thanh học cho thấy: tỷ lệ huyết thanh (+) thấp ở trẻ dưới 5 tuổi; tỷ lệ này tăng nhanh ở tuổi học đường, tuổi trưởng thành có 50% dương tính và ở người lớn tuổi tỷ lệ (+) đạt tới 75%. Ngoài ra, điều tra này còn cho thấy, *C. pneumoniae* có thể tiếp tục gây nhiễm trùng mạn tính ở đường hô hấp và có thể ở một vài vị trí khác nữa như hệ thống mạch và hệ thống thần kinh.

Chlamydophila psittaci gây bệnh cho chim, ổ chứa là chim nuôi trang trí và hoang dại

Đây là bệnh của động vật có thể lây sang người nên xảy ra lẻ tẻ, có thể gây dịch địa phương nhưng cũng có thể bùng phát thành dịch. Người bị nhiễm vi khuẩn qua đường hô hấp, đặc biệt là hít phải bụi bẩn có vi khuẩn từ chim bị bệnh. Khả năng lây truyền từ người sang người không thường gặp, trừ trường hợp chủng có độc lực mạnh.

3.2. Cơ chế gây bệnh

Những biểu hiện bệnh lý của bệnh nhiễm *Chlamydia* được cho là do miễn dịch của cơ thể quyết định. Đáp ứng miễn dịch chống *Chlamydia* là một tổng thể mà còn nhiều vấn đề chưa được giải đáp đầy đủ. Sự đáp ứng chống nhiễm khuẩn cấp tính không đạt hiệu quả như mong muốn. Miễn dịch tế bào được cho là quan trọng trong phản ứng quá mẫn dẫn đến tổn thương mô, đặc biệt ở nhiễm trùng tiềm tàng và tái nhiễm.

3.2.1. Về đáp ứng kháng thể

Cơ thể hình thành hai loại kháng thể: đặc hiệu nhóm chống LPS và đặc hiệu loài chống MOMP. Kháng thể đặc hiệu nhóm chống LPS tạo cơ sở cho việc phát triển các test kết hợp bổ thể tìm kháng thể chống *Chlamydia*. Kháng thể đặc hiệu loài IgG, IgM và IgA có trong huyết thanh và trong dịch tiết tại chỗ chống kháng nguyên MOMP. Cách thức và mức độ đáp ứng phản ánh vị trí bị nhiễm khuẩn và bản chất của nhiễm khuẩn. Nhìn chung, ở các nhiễm khuẩn hệ thống

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

như LGV hay bệnh viêm khung chậu PID (pelvic inflammatory disease) lượng IgG và IgM lớn hơn các nhiễm khuẩn tại chỗ. IgM xuất hiện sớm, nhưng có thể duy trì, đặc biệt ở các nhiễm trùng phức tạp. Kháng thể đặc hiệu serovar có tác dụng trung hoà trong các nuôi cấy tế bào và cũng có thể góp phần rút ngắn thời gian nhiễm khuẩn. Vai trò của IgA – là dấu hiệu của nhiễm trùng tiềm tàng, nhất là với *C. pneumoniae,* hiện vẫn còn tranh luận. Trong trường hợp tái nhiễm *C. pneumonice*, kháng thể lớp IgM có thể không xuất hiện; trong khi đó ở các tái nhiễm *C. trachomatis*, loại kháng thể xuất hiện sớm này lại có thể phản ánh serovar đã gây nhiễm trùng trước đó.

3.2.2. Về đáp ứng tế bào

Ở nhiễm trùng cấp tính. tế bào bạch cầu đa nhân đáp ứng nhanh để bất hoạt *Chlamydia* được thấy rõ in vitro, nhưng chúng chỉ có một vai trò hạn chế trong việc loại bỏ vi khuẩn ở nhiễm trùng tiềm tàng. Chống nhiễm trùng và tiêu diệt vi khuẩn phần lớn là nhờ chức năng của tế bào lympho T; cả hai loại tế bào CD4 và CD8 đều có vai trò bảo vệ. Tế bào CD4 lympho "hỗ trợ" Th1 đặc hiệu MOMP có thể đóng vai trò quan trọng trong miễn dịch; trong khi đó, tế bào CD4 Th2 đặc hiệu Hsp60 lại đi liền với các di chứng bệnh lý của nhiễm trùng tiềm tàng. Vai trò của tế bào CD8 độc hại tế bào trong miễn dịch chống *Chlamydia* còn chưa được rõ.

3.2.3. Về các cytokin

Tế bào biểu mô nhày nhiễm *Chlamydia* tạo ra nhiều cytokin, bao gồm interleukin–1α (IL–1α), IL6, IL–8, GRO–α và GM–CSF (granulocyte–macrophage colonystimulating factor) – yếu tố kích thích tập hợp đại thực bào–tế bào hạt; theo Ramussen và CS (1997) yếu tố này tạo ra và giữ vững đáp ứng viêm. Các interferon, đặc biệt là IFN–γ, góp một phần quan trọng trong đáp ứng miễn dịch chống nhiễm trùng do *Chlamydia*, do chúng ức chế sự sao chép của các tiểu thể dạng lưới – RB trong tế bào bằng cách rút hết tryptophan (không tạo ra được cystein để xây dựng cấu trúc màng ngoài cho *Chlamydia*). Tuy vậy, khi các kháng nguyên *Chlamydia* liên tục được tiết ra, nó có thể dẫn đến tăng nhạy cảm hơn nữa và đồng thời cảm ứng gây nhiễm trùng tiềm tàng mà không cần có sự sao chép tiểu thể RB. Yếu tố hoại tử u TNF–α được sinh ra, có thể góp phần gây huỷ hoại mô bị nhiễm trùng.

3.3. Hình ảnh lâm sàng

3.3.1. Bệnh do Chlamydia trachomatis

C. trachomatis có khả năng gây nhiễm trùng nhiều hệ thống khác nhau, gây bệnh ở mắt, bệnh ở đường sinh dục, gây nhiễm trùng cho trẻ sơ sinh, gây bệnh dạng thấp khớp và bệnh LGV.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

a) Nhiễm trùng ở mắt

Bệnh mắt hột (trachoma) do *C. trachomatis* serovars A–C *(Xem hình P57 ở Phụ bản).*

Thời gian ủ bệnh trong vòng 7–14 ngày. Triệu chứng khởi đầu nhẹ: ngứa, nóng dát hoặc chảy nước mắt. Nhiễm trùng cấp tính được biểu hiện là viêm kết mạc thể nang, với xung huyết và phù kết mạc; nang tạo thành do sự thâm nhiễm của các tế bào lympho, nguyên bào và đại thực bào. Nang hoại tử, vỡ ra, được thay thế bằng mô liên kết tạo nên sẹo. Nhiễm trùng lặp lại dẫn đến hình thành màng máu (pannus); tiếp tới là giác mạc bị viêm. Sẹo kết mạc mi mắt làm cho lông mi mọc lộn vào – quặm (entropion) hoặc xiên (trichiasis); thường là mi trên bị tác động. Chu trình tái nhiễm với những tổn thương lặp lại, đặc biệt ở giác mạc dẫn đến hậu quả cuối cùng là loà hoặc mù. Nhiều nghiên cứu thực nghiệm và lâm sàng cho thấy: những biến chứng hay gặp ở các nhiễm trùng mạn tính, đặc biệt là khi nhiễm trùng lần thứ hai, vì cơ thể đã được mẫn cảm do nhiễm trùng lần thứ nhất.

Triệu chứng viêm kết mạc thể vùi (inclusion conjunctivitis) ở người lớn (paratrachoma) do *C. trachomatis* serovars D–K gây ra. Thời gian ủ bệnh khoảng 2–3 tuần, do mắt tiếp xúc với dịch đường sinh dục có vi khuẩn. Nhiễm trùng cấp tính là viêm kết mạc thể nang cấp, thường là mi dưới hay bị ảnh hưởng hơn mi trên. Bệnh nặng là viêm kết mạc – giác mạc. Bệnh không để lại sẹo. Khi chẩn đoán, cần thẩm tra về nhiễm khuẩn sinh dục ở bệnh nhân hoặc ở bạn tình của họ.

b) Nhiễm trùng ở đường sinh dục

Nhiễm trùng sinh dục ở nam giới hay gặp nhất là viêm tiết niệu không do lậu cầu – NGU (non–gonococcal urethritis), ở nhiều nước NGU thường gặp hơn viêm tiết niệu do lậu cầu – GU (gonococcal urethritis). *C. trachomatis* là tác nhân gây ra 30–50% trường hợp NGU (số còn lại là do *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis* hoặc virus *Herpes simplex*).

Thời gian ủ bệnh khoảng 7–14 ngày (GU là 2–5 ngày). Triệu chứng theo sau đái khó và đái buốt là tiết dịch nhày; nhưng có tới 40% nam giới bị NGU không có triệu chứng. Có thể đồng thời bị NGU và GU. Điều trị GU bằng kháng sinh (một liều duy nhất) không có tác dụng với *C. trachomatis*, sẽ gây ra viêm tiết niệu sau lậu cầu – PGU (post–gonococcal urethritis). PGU xuất hiện khoảng 1 tuần sau khi điều trị GU; điều này phản ánh đúng thời gian ủ bệnh của *C. trachomatis*. Khoảng 80 – 90% trường hợp PGU là do *C. trachomatis*.

Viêm mào tinh (epididymitis) là biến chứng sau nhiễm *C. trachomatis* ở nam giới, có tới 50% trường hợp viêm mào tinh dưới 35 tuổi là do *C. trachomatis*. Vai trò của *C. trachomatis* đối với viêm tuyến tiền liệt (prostatitis) còn nhiều ý kiến tranh cãi, nhưng với nhiễm trùng trực tràng thì đã được bàn luận kĩ, đặc biệt là ở nam đồng tính luyến ái và có thể nên được xem xét trong chẩn đoán phân biệt bệnh viêm trực tràng.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Ở phụ nữ, nhiễm *C. trachomatis* thường gặp là viêm niệu đạo (urethritis) và viêm cổ tử cung (cervicitis), có thể tiến triển thành viêm nội mạc tử cung (endometritis), viêm vòi tử cung (salpingitis) và có thể tới phúc mạc gây viêm quanh gan (perihepatitis). Khoảng 70% phụ nữ bị nhiễm trùng sinh dục do *Chlamydia* không có triệu chứng. Nhiều phụ nữ, nếu không điều trị, sẽ chịu di chứng nặng nề sau thời gian dài bị nhiễm trùng khung chậu (Pelvic Infection Disease–PID) là vô sinh và chửa ngoài dạ con.

Viêm tiết niệu chỉ xảy ra ở khoảng 25% phụ nữ bị nhiễm *Chlamydia*. Triệu chứng không có hoặc nhẹ: khó chịu và khó đái.

Viêm nội mạc tử cung là nhiễm trùng do *Chlamydia* hay gặp nhất ở phụ nữ. Phần lớn là không có triệu chứng, dù khám soi có thể thấy viêm mủ nhày cổ tử cung. Nếu có triệu chứng thì bao gồm dịch âm đạo mủ nhày và chảy máu âm đạo. Ở em gái tuổi dậy thì có thể thấy nhiễm *Chlamydia* xảy ra ở biểu mô âm đạo. Mặc dù bệnh PID là nhiễm trùng do nhiều loại vi sinh vật phối hợp gây ra, nhưng không còn nghi ngờ rằng: vi khuẩn ban đầu quan trọng nhất là *C. trachomatis* và tiếp ngay sau là lậu cầu. Theo Bevan và cộng sự (2003), tỷ lệ phân lập được *C. trachomatis* ở phụ nữ bị PID cấp tính thay đổi trong những quần thể khác nhau, nhưng thường là 20–40%. PID do *Chlamydia* là nguyên nhân hay gặp nhất gây ra vô sinh. Mặc dù hầu hết phụ nữ bị vô sinh do bệnh của ống dẫn trứng không thấy có tiền sử bị nhiễm *Chlamydia* hoặc bị PID, nhưng xấp xỉ 80% có huyết thanh (+) với *Chlamydia* sinh dục; so với 20% phụ nữ vô sinh không do bệnh của ống dẫn. Nguy cơ chửa ngoài dạ con tăng gấp 7 đến 10 lần sau khi bị PID do *Chlamydia*. Vai trò của bệnh nhiễm *Chlamydia* sinh dục đối với sảy thai hoặc chết thai còn chưa rõ, vì trong khi nhiều báo cáo là có liên quan, thì cũng nhiều ý kiến cho rằng chưa thể khẳng định được điều này.

Viêm khớp phản ứng do bệnh truyền qua đường tình dục – SARA (sexually acquired reactive arthritis). Triệu chứng xuất hiện 1 – 4 tuần sau khi bị nhiễm trùng sinh dục; các khớp lớn bị ảnh hưởng, đặc biệt là khớp chân; nam giới bị ảnh hưởng nhiều hơn nữ giới (10:1). Gần 1% nam giới bị viêm tiết niệu tiến triển thành SARA.

Nhiễm trùng ở trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ: Chưa bao giờ có mô tả về một nhiễm trùng bẩm sinh thực sự. Nhiễm trùng thường gắn liền với niêm mạc bị tổn thương. Tỷ lệ lây truyền từ mẹ sang trẻ sơ sinh có thể cao hơn trước đây đã nghĩ, vì các kỹ thuật phân tử mới được áp dụng để chẩn đoán. Trong một nghiên cứu dựa vào PCR (Polymerase Chain Reaction) của Shen và cộng sự (1995) cho biết: tỷ lệ truyền từ mẹ bị nhiễm sang con sơ sinh của họ là 55%, trong đó 45% là viêm kết mạc tiến triển và 30% viêm phổi. Họng, tai giữa, trực tràng và âm đạo có thể cũng có *Chlamydia* cư trú. Nếu không điều trị, nhiễm trùng có thể duy trì trên 2 năm. CDC (Center for Diseases Control and Prevention – Trung tâm kiểm soát

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

và phòng bệnh Hoa kỳ) đã có hướng dẫn và khuyến cáo: rà soát *C. trachomatis* trước sinh có hiệu quả làm giảm tỷ lệ mắc cho trẻ sơ sinh.

Viêm kết mạc thể vùi ở trẻ sơ sinh do *C. trachomatis* hay gặp hơn nhiều so với viêm mắt do lậu cầu. Thời gian ủ bệnh do *Chlamydia* dài hơn nhiều (6–21 ngày) so với do lậu cầu (48 giờ). Trên lâm sàng, biểu hiện bệnh là tương tự và có thể cả hai loại vi khuẩn cùng có mặt, nên điều quan trọng là không để viêm nhiễm do lậu cầu che lấp nhiễm trùng do *Chlamydia*; vì nguyên tắc điều trị cho lậu cầu không phù hợp cho *Chlamydia*. Do kết mạc lúc mới sinh chưa có lớp lymphoid nên phải sau 3–6 tuần mới thấy có nang; mi dưới bị nhiễm nặng hơn mi trên (không giống như bệnh mắt hột).

Bệnh phổi (pneumonitis) xảy ra trong vòng 3 tuần đến 3 tháng sau sinh; do vi khuẩn từ kết mạc qua tuyến mũi lệ xuống họng. Nhiễm trùng ở ống tai gây viêm tai giữa. Nếu không điều trị, nhiễm trùng có thể duy trì nhiều tuần hoặc nhiều tháng. Trong máu ngoại vi có tăng bạch cầu ưa eosin, tăng gamma–globulin và tăng IgM chống *Chlamydia*.

Lymphogranuloma Venereum (LGV) là bệnh lây truyền qua đường tình dục (hoa liễu) do *C. trachomatis* serovars L1 – L3 gây ra. Tổn thương ban đầu ở nam là nốt sần, hoặc loét hoặc mụn nước không đau ở dương vật; các tổn thương cũng tương tự ở âm hộ của nữ; còn có thể gặp ở vùng hậu môn *(Xem hình P58 ở Phụ bản)*. Tổn thương ban đầu này hầu hết không đau và khỏi không để lại sẹo. Giai đoạn 2 xảy ra sau 1–6 tuần là viêm hạch lympho tại chỗ, đau và có triệu chứng toàn thân như sốt, đau đầu, đau cơ. Hạch bẹn ngày càng to ra, có ban đỏ ở da phía trên hạch. Quá trình viêm lan từ hạch sang các mô xung quanh, tạo thành một khối viêm, áp xe bên trong khối này tụ lại tạo thành khối hạch lớn (giống như hột xoài). Khối áp xe vỡ, chảy dịch ra ngoài gây rò mạn tính. Nếu không điều trị, bệnh có thể đến giai đoạn 3, bệnh nặng hơn ở cả nam đồng tính luyến ái và nữ; chẹt trực tràng hoặc âm đạo–trực tràng và rò trực tràng có thể xảy ra; cũng có thể gặp phù voi ở âm hộ hoặc bìu. Chẩn đoán LGV cần phân biệt với các nguyên nhân khác cũng gây viêm loét sinh dục như giang mai (do xoắn khuẩn *Treponema pallidum*), hạ cam (chancroid do *Haemophilus ducreyi*) và u hạt bẹn (do trực khuẩn Gram âm, có vỏ *Calymmatobactorium granulomatis*); có khả năng gặp trường hợp nhiễm đồng thời hai loại vi khuẩn; nhưng có đặc điểm điển hình là: bệnh nhân LGV có hiệu giá kháng thể chống *Chlamydia* rất cao, cả kháng thể đặc hiệu chi và kháng thể đặc hiệu loài.

3.3.2. Bệnh do Chlamydophila pneumoniae

C. pneumoniae được phân lập lần đầu tiên (1965) từ kết mạc một đứa trẻ Đài loan; sau đó (1986) được phân lập từ bệnh nhân bị bệnh hô hấp (nên còn có tên là chủng TWAR – Taiwan acute respiratory); năm 1989 chủng này được lập thành một loài mới với tên *Chlamydia pneumoniae*. Gần đây, nó được xếp lại vào chi *Chlamydophila*, dựa trên dữ liệu giải trình tự ARN ribosom.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Thời gian ủ bệnh khoảng 21 ngày (tương đối dài cho một vi khuẩn gây bệnh hô hấp). Hầu hết các nhiễm trùng là không có triệu chứng. Khi có triệu chứng là nhiễm trùng cấp tính, hay gặp nhất là viêm phế quản hoặc viêm phổi. Điển hình, bệnh có hai giai đoạn đặc trưng: lúc đầu là viêm họng, tiếp theo là ho không nhiều nhưng kéo dài và khản giọng. Sốt, nếu có thì không cao. Nhiễm khuẩn đường hô hấp trên, gồm viêm mũi và họng có thể riêng biệt hoặc đi kèm với nhiễm khuẩn đường hô hấp dưới. Triệu chứng nhiễm trùng hô hấp có thể duy trì nhiều tuần tới nhiều tháng, dù điều trị kháng sinh thích hợp. Có tới 56% viêm phổi do *Chlamydia* phối hợp với các tác nhân khác, như phế cầu và *Mycoplasma pneumoniae*.

C. pneumoniae cũng gây viêm đường hô hấp mạn tính, với hội chứng ho dai dẳng và thường gặp là viêm phế quản mạn, được biểu hiện bằng IgG và IgA đặc hiệu ở mức cao.

Liệu *C. pneumoniae* có liên quan với các bệnh mạn tính về tim mạch và thần kinh hay không: đây là vấn đề còn tranh cãi và vai trò của nó, nếu có, trong cơ chế bệnh sinh các bệnh này như thế nào cũng chưa được sáng tỏ.

3.3.3. Bệnh do Chlamydophila psittaci

Có ít nhất 11 type *C. psittaci*, phân loại dựa vào miễn dịch huỳnh quang vi lượng, vào kỹ thuật PCR gen mã hóa MOMP và giải trình tự gen mã hóa 16S rRNA. Các chủng này được cho là khác nhau về độc lực nhưng đều có thể lây sang người.

C. psittaci gây bệnh cho vẹt – psittacosis và chim (ornithosis) nhưng có thể lây sang người, gây bệnh sốt vẹt – sốt chim, một viêm phổi không điển hình. Vi khuẩn vào cơ thể bằng đường hô hấp do hít bụi có vi khuẩn. Thời gian ủ bệnh kinh điển là 1--2 tuần, nhưng có thể tới 4 tuần. Các triệu chứng không đặc hiệu, ban đầu là mệt mỏi, đau các chi và thường có sốt, rét run, nhức đầu. Biểu hiện chủ yếu ở phổi nhưng ho ít. Có thể các cơ quan khác cũng bị ảnh hưởng, ví dụ gan và thần kinh trung ương. Mức độ bị bệnh có thể từ nhẹ, không triệu chứng đến tử vong. Bệnh có thể kéo dài 1 tuần hoặc lâu hơn. Các xét nghiệm sinh hoá và huyết học, nhìn chung không giúp được nhiều cho chẩn đoán. Nhiều nghiên cứu dịch tễ học bệnh psittacosis trước đây đã công nhận *C. psittaci* là tác nhân gây bệnh. Trong chẩn đoán cần phân biệt với viêm phổi do virus, sốt Q (do *Coxiella burnetii*), viêm phổi không điển hình do *Mycoplasma* hoặc do *C. pneumoniae*.

3.3.4. Bệnh do các loài Chlamydia khác

Các chủng *Chlamydophila abortus* gây bệnh dịch tản phát cho động vật nhai lại và định cư ở nhau thai; chúng là tác nhân gây bệnh cho động vật nhưng có thể lây sang người. Đã có nhiều báo cáo về phụ nữ bị sẩy thai khi làm việc với cừu và dê bị bệnh; chẩn đoán đã được khẳng định bằng huyết thanh học và PCR.

Chlamydophila felis gây bệnh dịch lẻ tẻ cho mèo nhà (viêm kết mạc, viêm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

mũi, hô hấp) trên toàn thế giới; đã có báo cáo về bệnh động vật lây sang người do *C. felis* như viêm kết mạc, viêm màng trong tim và viêm bể thận–thận.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Có nhiều kỹ thuật có thể áp dụng trong phòng thí nghiệm để chẩn đoán nhiễm trùng do *Chlamydia*. Chẩn đoán kinh điển là nuôi cấy trên nuôi cấy tế bào nhưng đắt tiền và đòi hỏi nhiều trang bị phức tạp. Phương pháp tìm kháng nguyên và các kỹ thuật phân tử như kỹ thuật khuếch đại acid nucleic – NAAT (nucleic acid amplification technology) hiện đang được sử dụng rộng rãi, vì không thể nuôi cấy được *Chlamydia* trên môi trường nhân tạo.

Bảng 8.3. Tổng hợp các test chẩn đoán nhiễm trùng do *Chlamydia*

Biểu hiện lâm sàng	Bệnh phẩm	Test chẩn đoán
Viêm cổ tử cung (*C. trachomatis* D–K)	– Dịch trong ống cổ tử cung – Giọt nước tiểu đầu	– NAAT, EIA, DIF, NC – NAAT, EIA, DIF
PID (*C. trachomatis* D–K)	– Dịch trong ống cổ tử cung – Dịch ống dẫn trứng/màng bụng	– NAAT, EIA, DIF, NC – NAAT, EIA, DIF, NC
Viêm tiết niệu (*C. trachomatis* D–K)	– Dịch niệu đạo – Giọt nước tiểu đầu	– NAAT, EIA, DIF, NC – NAAT, EIA, DIF
LGV (*C. trachomatis* L1–L3)	– Huyết thanh – Dịch cổ tử cung/ niệu đạo/ trực tràng/ vết loét – Hút dịch trong hạch	– EIA, MIF, CFT – NC, DIF, EIA – NC
Mắt hột – Trachoma (*C. trachomatis* A–C)	Dịch kết mạc (mi trên)	NAAT, EIA, DIF, NC
Viêm kết mạc thể vùi – paratrachoma (*C. trachomatis* D–K)	Dịch kết mạc (mi dưới)	NAAT, EIA, DIF, NC
Viêm kết mạc trẻ sơ sinh (*C. trachomatis* D–K)	Dịch kết mạc (mi dưới)	NAAT, EIA, DIF, NC
Viêm phổi trẻ sơ sinh (*C. trachomatis* D–K)	– Huyết thanh – Hút dịch mũi họng	– IgM (EIA, MIF) – NAAT, EIA, DIF, NC
Sốt vẹt (*C. psittaci*)	Huyết thanh	MIF. CFT, WHIF
Viêm phổi mắc phải ở cộng đồng (*C. pneumoniae*)	– Huyết thanh – Dịch đường hô hấp	– MIF – EIA, DIF

NAAT = nucleic acid amplification Technology – kỹ thuật khuếch đại acid nucleic, gồm PCR và một số thử nghiệm khác; EIA = Enzyme inmmunoassay – thử nghiệm miễn dịch enzym; DIF = direct Immunofluorescence – miễn dịch huỳnh quang trực tiếp (tìm kháng nguyên); NC = nuôi cấy trên các dòng tế bào nuôi; CFT = complemnent fixation test – test cố định bổ thể; MIF = microimmunofluorescence – miễn dịch huỳnh quang vi lượng (định lượng kháng thể); WHIF = whole–cell Immunofluorescence – miễn dịch huỳnh quang dùng toàn bộ tế bào.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Thu thập bệnh phẩm

Chlamydia ký sinh trong tế bào nên bệnh phẩm cần có tế bào, do vậy phải cạo hay chà mạnh vị trí cần lấy bệnh phẩm. Cho mỗi test dự định tiến hành, bệnh phẩm phải được bảo quản và vận chuyển trong điều kiện nhất định, do đó phải kiểm tra để bảo đảm phương tiện đầy đủ, phù hợp và thực hiện đúng quy định.

Bệnh phẩm ở kết mạc: với bệnh mắt hột, lật mi (trên) bị bệnh và chà mạnh. Trường hợp ở trẻ sơ sinh bị viêm kết mạc: chà mạnh lấy bệnh phẩm ở mi mắt dưới.

Ở niệu đạo nam giới, phải đưa tăm bông vào sâu 2–4 cm. Ở cổ tử cung, cần chùi sạch dịch tiết trước, sau đó chà lấy bệnh phẩm.

Mẫu nước tiểu ở nhiễm trùng đường sinh dục–tiết niệu: lấy những giọt đầu tiên, chứa nhiều dịch nhất (không dùng bệnh phẩm này cho nuôi cấy).

Với LGV, có thể hút lấy dịch trong hạch (di động) qua da.

Môi trường vận chuyển cần được giữ ở 4°C, bảo quản ở – 70°C, nếu không nuôi cấy ngay. Xử lý bệnh phẩm cho test miễn dịch huỳnh quang trực tiếp: lăn tăm bông trên phiến kính đã phủ Teflon, cố định trong methanol và để khô tự nhiên.

4.1.2. Soi kính hiển vi

Các bệnh phẩm dùng cho soi kính hiển vi có thể dùng cho test tìm kháng nguyên hoặc test NAAT.

Vì vi khuẩn rất nhỏ và ký sinh trong tế bào nên soi kính hiển vi không trực tiếp tìm thấy vi khuẩn, nhưng có thể gián tiếp cung cấp bằng chứng của nhiễm trùng. Với NGU: trong tiêu bản dịch niệu đạo nhuộm Gram có > 4 tế bào bạch cầu đa nhân/ 1 vi trường (vật kính 100x) và không có song cầu trong tế bào; trong giọt nước tiểu đầu phải nhiều hơn: > 15 tế bào bạch cầu đa nhân/1 vi trường (vật kính 40x).

4.1.3. Nuôi cấy

Nuôi cấy trong các dòng nuôi cấy tế bào là phương pháp kinh điển, có độ đặc hiệu cao nhưng độ nhạy thấp (so với NAAT), cần nhiều thời gian và đòi hỏi nhiều trang thiết bị đi kèm (phục vụ nuôi cấy tế bào) nên không thực hiện được ở hầu hết các labo Vi sinh lâm sàng. Thêm vào đó, xét nghiệm bằng nuôi cấy tìm *C. psittaci* trong máu hay dịch hô hấp của người bệnh cũng không là thường quy, vì nguy hiểm cho xét nghiệm viên.

Bệnh phẩm được đưa vào nuôi cấy tế bào một lớp đang ở giai đoạn dừng tối đa (stationary). Tế bào nuôi cấy được ủ trong khí trường có 10% CO_2, trong 48–72 giờ (tuỳ loài). Sau đó nhuộm tế bào để phát hiện thể vùi; chỉ loài *C. trachomatis* nhuộm bằng thuốc nhuộm đặc hiệu cho glucogen, còn các loài khác nhuộm

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Giemsa. Nếu dùng kháng thể đơn dòng và chất nhuộm màu huỳnh quang sẽ nhuộm tế bào đặc hiệu hơn. Các kháng thể thường được dùng là kháng thể chống kháng nguyên đặc hiệu nhóm LPS hoặc chống kháng nguyên đặc hiệu loài MOMP. Xem hình ảnh chúp tế bào Hela nhiễm *Chlamydia (Xem hình P59 và P60 ở Phụ bản).*

4.1.4. Test miễn dịch huỳnh quang trực tiếp – DIF

DIF được sử dụng để khẳng định test nuôi cấy hoặc để phát hiện trực tiếp tiểu thể EB trong bệnh phẩm lấy từ đường sinh dục hoặc từ mắt. Test này sử dụng hoặc kháng thể đơn dòng đặc hiệu nhóm (chống LPS), có thể phát hiện tất cả các loài *Chlamydia* hoặc kháng thể đơn dòng đặc hiệu loài (chống MOMP của từng loài đơn lẻ). Trang bị cần thiết là phải có kính hiển vi huỳnh quang. Test DIF có độ nhạy tốt, nhưng phụ thuộc nhiều vào người thực hiện, đó là có thể quan sát không chính xác hoặc một lỗi gây phát quang không đặc hiệu tạo nên dương tính giả, làm giảm độ đặc hiệu của test. Chi phí và đòi hỏi về thiết bị kỹ thuật làm cho DIF trở nên không tiện lợi cho các labo.

4.1.5. Thử nghiệm miễn dịch enzym – EIA

Sự phát triển của EIA đã tạo điều kiện áp dụng rộng rãi test này cho chẩn đoán. Test có nhiều kiểu dáng, dùng kháng thể đã biết để phát hiện kháng nguyên trong bệnh phẩm, thường là LPS đặc hiệu nhóm. Độ nhạy đạt 60–80% so với NAAT. Vấn đề lớn của EIA là độ đặc hiệu; tất cả các test EIA (+) phải được khẳng định bằng test blocking (dùng kháng thể đơn dòng chống LPS để block một EIA lặp lại) hoặc bằng một test độc lập, ví dụ DIF; độ đặc hiệu sẽ tăng lên trên 99%. Test EIA có thể chạy tự động và có chi phí rẻ.

4.1.6. Kỹ thuật khuếch đại acid nucleic – NAAT

NAAT đã tạo ra một cuộc cách mạng cho chẩn đoán bệnh nhiễm *Chlamydia*. Các test chất lượng cao và được cung cấp trên thị trường hiện nay để chẩn đoán *C. trachomatis* là phản ứng chuỗi polymerase – PCR, phản ứng chuỗi ligase – LCR (ligase chain reaction), khuếch đại dựa vào sao mã – TMA (transcription–mediated amplification) và thử nghiệm thay thế sợi – SDA (strand displacement assay). Các thử nghiệm này khuếch đại hoặc một acid nucleic đích hoặc một mẫu sau khi nó được cặp đôi vào một acid nucleic đích. Đích chính của NAAT là những sản phẩm gen với nhiều bản sao, như ARN ribosom hoặc plasmid–DNA; nhiều bản sao làm tăng độ nhạy của thử nghiệm. Ưu điểm chính của NAAT là độ nhạy và đặc hiệu cao. Thử nghiệm có thể chạy tự động và tránh được dương tính giả ở labo thực hành đảm bảo chất lượng. Các hoá chất cần cho NAAT đắt tiền nhưng nếu cùng thực hiện nhiều bệnh phẩm trong một đợt, giá thành một xét nghiệm sẽ giảm. Test truyền thống nuôi cấy được xem xét là sẽ hạ thấp dự đoán

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

tỷ lệ mắc *C. trachomatis*, vì độ nhạy tốt nhất cũng chỉ được 90% so với thử nghiệm NAAT. Độ nhạy của các test EIA, DIF và lai DNA chỉ đạt 75%. Có thể cần định nghĩa lại tiêu chuẩn vàng cho chẩn đoán *Chlamydia*, khi đã có NAAT.

4.2. Chẩn đoán huyết thanh học

Chẩn đoán nhiễm *Chlamydia* dựa vào đáp ứng kháng thể không đạt được hiệu quả như mong muốn. Test cố định bổ thể truyền thống, với kháng nguyên LPS đặc hiệu nhóm nên không phân biệt được loài. Kháng nguyên tái tổ hợp LPS của test ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) cũng là đặc hiệu nhóm. MIF là test cuối cùng, kháng nguyên đích là MOMP nên đòi hỏi phải có kháng nguyên đặc hiệu loài và đặc hiệu serovar; chấm/ nhỏ kháng nguyên lên phiến, sau đó ủ với huyết thanh đã pha loãng thành nhiều nồng độ. Mặc dù có thể phân biệt được loài và serovar nhưng test không thể áp dụng được rộng rãi và khó chuẩn hoá.

Kháng thể chống *Chlamydia* phân bố rộng rãi trong quần thể, phần lớn trong số đó có liên quan với nhiễm trùng hô hấp do *C. pneumoniae*. Trong nhiễm trùng cấp tính, kháng thể xuất hiện muộn, do đó mẫu huyết thanh kép, cách nhau ít nhất là 3 tuần, phải biểu hiện có gia tăng hiệu giá IgG (gấp ≥ 4 lần). Xác định IgM là có ích nhằm chẩn đoán nhiễm trùng ở trẻ sơ sinh và nhiễm trùng hô hấp ở người lớn nhưng không thể áp dụng cho tái nhiễm hô hấp ở người lớn. Một số tác giả cho rằng, sự duy trì IgA là bằng chứng cho nhiễm trùng tiềm tàng. Hiệu giá kháng thể tăng (gấp ≥ 4 lần) có thể giúp khẳng định PID do *Chlamydia* nhưng không áp dụng được cho chẩn đoán nhiễm trùng đường sinh dục dưới do *Chlamydia*.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc điều trị

Nguyên tắc chọn kháng sinh

Chlamydia ký sinh bắt buộc trong tế bào nên phải chọn những kháng sinh có khả năng thấm vào tế bào tốt; thuốc không xâm nhập được vào tế bào thì không có tác dụng với *Chlamydia*, ví dụ aminoglycoside. Các nhóm kháng sinh có tác dụng tốt là tetracycline, macrolid, rifampicin và fluoroquinolone mới gần đây. Sự phát triển của các thuốc mới thuộc các nhóm macrolid, ví dụ azithromycin có tác dụng kéo dài, đã mang lại khả năng thay thế cho kháng sinh truyền thống trong điều trị. Nguyên tắc chọn kháng sinh cho điều trị theo kinh nghiệm nhiễm trùng đường sinh dục hoặc đường hô hấp cần tính đến các vi khuẩn khác có thể là tác nhân gây bệnh và độ nhạy cảm của chúng với kháng sinh, đến phản ứng phụ/không mong muốn của thuốc, đến sự cần thiết phải điều trị toàn thân hay tại chỗ và đến giá thành.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Kháng sinh lớp bêta–lactam không được khuyến cáo cho điều trị *Chlamydia*; cephalosporin không có tác dụng chống *Chlamydia*, nên không dùng.

Sulfonamide được sử dụng rộng rãi để điều trị *C. trachomatis* trước thời tetracycline, nhưng hiện nay không hay được sử dụng nữa. Trimethoprim không có tác dụng trên *Chlamydia*.

Tetracycline có hoạt tính cao chống *Chlamydia* nên được dùng phổ biến để điều trị tất cả các nhiễm trùng do *Chlamydia*, nhưng nó không phải là thuốc lý tưởng; vì phải dùng nhiều (4) lần trong ngày, vì tương kị sữa, vì phản ứng phụ ở đường tiêu hoá và chống chỉ định cho trẻ em và người mang thai. Do vậy, doxycyclin là thuốc ưu việt hơn, chỉ dùng 2 lần một ngày.

Macrolid là kháng sinh thay thế tetracycline. Azithromycin xâm nhập rất tốt vào tế bào và có nửa đời (half of life) trong tế bào dài nên liều duy nhất 1 g uống có hiệu quả chống nhiễm trùng sinh dục không biến chứng và đợt điều trị 5 ngày, 500 mg mỗi ngày cho điều trị PID. Clarithromycin, roxithromycin và josamycin trong nhóm này cũng có hiệu quả tốt chống *Chlamydia*.

Rifampicin có thể được dùng cùng với erythromycin để điều trị nhiễm *Chlamydia* dai dẳng như LGV và sốt vẹt.

Các fluoroquinolone cũ như lomefloxacin và ciprofloxacin, có tác dụng thay đổi chống *Chlamydia* in vitro, nhưng không được tin tưởng in vivo, vì vậy không nên dùng. Ofloxacin có hiệu quả trên lâm sàng. Azithromycin không được tin cậy cho điều trị lậu, vì thế ofloxacin được ưa chuộng dùng cho điều trị PID. Fluoroquinolone mới gần đây như gatifloxacin và moxifloxacin có hoạt tính cao chống *Chlamydia* in vitro; các quinolone mới thường được khuyến cáo cho điều trị nhiễm trùng hô hấp do *C. pneumoniae*. Đã có báo cáo về sự đề kháng ofloxacin in vitro ở *C. trachomatis* nhưng không thấy ở *C. pneumoniae*.

Nguyên tắc điều trị

Khi điều trị dựa vào triệu chứng, nên chọn những thuốc hàng đầu là thuốc có thể phủ tất cả các tác nhân thường hay gây ra hội chứng đó; ví dụ viêm tiết niệu thì dùng thuốc chống được cả lậu cầu và *C. trachomatis*.

Khi có chẩn đoán xác định của phòng thí nghiệm, nguyên tắc điều trị *Chlamydia* như sau:

– Bệnh mắt hột: điều trị truyền thống với sulfamid hoặc tetracycline tại chỗ; toàn thân bằng doxycyclin. Quần thể trong vùng dịch cần phải tái điều trị, 2 lần một năm kết hợp với giáo dục vệ sinh. Kháng sinh thay thế cho đối tượng bị chống chỉ định tetracycline là azithromycin (1 liều duy nhất).

– Nhiễm trùng sinh dục phải điều trị toàn thân. Với bệnh không có biến chứng thì có nhiều khả năng: doxycyclin 7 ngày hoặc 1 liều azithromycin. Phác đồ thay thế là 7 ngày erythromycin hoặc ofloxacin hoặc tetracycline. Ciprofloxacin

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

không đủ tin cậy và không nên dùng để điều trị nhiễm *Chlamydia* đường sinh dục–tiết niệu.

– Không có giải pháp điều trị đặc hiệu cho viêm khớp phản ứng do bệnh lây qua đường tình dục – SARA, nhưng bệnh hay bị lại. Hiện chưa rõ về vai trò, nếu có, của kháng sinh trong SARA do *Chlamydia*.

– Các nhiễm trùng do *Chlamydia* ở trẻ sơ sinh phải điều trị kháng sinh toàn thân. Điều trị tại chỗ cho viêm nhiễm ở mắt thì không thể diệt được *Chlamydia* ở vị trí khác, ví dụ đường hô hấp. Phác đồ chuẩn là điều trị toàn thân bằng erythromycin trong 2–3 tuần và nhỏ dung dịch nước muối tại chỗ; nhỏ nitrat bạc không hiệu quả và có thể dẫn tới viêm kết mạc vì hoá chất.

– LGV cần thiết phải điều trị sớm, trước khi có sẹo; đã thành sẹo không còn đáp ứng tốt với điều trị. Khi hạch đang viêm cấp, chống chỉ định chích hay tháo mủ. Khuyến cáo của WHO là điều trị 2 tuần với doxycyclin hoặc thay thế bằng erythromycin.

– Bệnh viêm đường hô hấp do *C. pneumoniae*: phải điều trị trước khi có chẩn đoán xác định; dùng 2–3 tuần một macrolid/azithromycin hoặc tetracycline.

– Bệnh hô hấp do *C. psittaci*: điều trị chuẩn là tetracycline hoặc doxycyclin trong 3 tuần; thay thế là erythromycin 3 tuần; điều trị ngắn ngày có thể dẫn tới bị bệnh lại. Không điều trị có thể khỏi sau 2–3 tuần, nhưng tỷ lệ tử vong lên tới 20%.

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh

Phòng đặc hiệu

Phòng bệnh đặc hiệu bằng vắc xin: tuy đã hơn 40 năm tích cực nghiên cứu, nhưng hiện vẫn chưa có được vắc xin hiệu quả chống nhiễm trùng do *Chlamydia*.

Phòng không đặc hiệu

Mỗi bệnh có đường lan truyền khác nhau (xem mục 3.1) nên biện pháp không đặc hiệu để phòng ngừa bệnh do *Chlamydia* khác nhau.

Bệnh mắt hột: giáo dục và động viên mọi người dân thực hiện đầy đủ vệ sinh cá nhân (khăn mặt, chậu rửa mặt, nước rửa mặt, ...), vệ sinh cộng đồng (ruồi, ...); kết hợp điều trị bằng kháng sinh người ở vùng dịch với phẫu thuật sẹo ngăn ngừa quặm,...

Phát hiện và xác định sớm người bị bệnh sinh dục do *Chlamydia*, điều trị triệt để cho bệnh nhân và bạn tình của họ; giáo dục tình dục an toàn (bao cao su, không nên có nhiều bạn tình,...); điều trị triệt để cho phụ nữ trước khi mang thai sẽ tránh cho trẻ sơ sinh bị nhiễm *Chlamydia*.

Không có biện pháp chuyên biệt để phòng bệnh do *C. pneumoniae* nhưng bệnh do *C. psittaci* thì có thể tránh bằng cách giảm tiếp xúc với chim, nhất là khi thấy chim không khỏe.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

COXIELLA BURNETII

(Derrick 1939) Phillip 1948

Chủng mẫu: ATCC VR 615

1. GIỚI THIỆU

Coxiella burnetii là tác nhân gây ra sốt Q.

Tên gọi bệnh "sốt Q" vẫn được dùng đến ngày nay vì tính lịch sử của nó. Bệnh được mô tả lần đầu tiên bởi Edward Holbrook Derrick trên những công nhân chế biến gia súc ở Brisbane, Queensland, Australia; vì lúc đầu, người ta chưa tìm ra tác nhân gây bệnh nên gọi là "sốt Q" (Query fever, sốt gì?).

Tác nhân gây bệnh sốt Q được phát hiện năm 1937 khi Frank Macfarlane Burnet và Mavis Freeman phân lập được vi khuẩn từ các bệnh nhân của Derrick. Năm 1938, Cox và Davis đã phân lập được chúng từ ve ở Montana, Mỹ và đặt tên là *Rickettsia diasporica*. Năm 1939, Derrick mô tả chính thức vi khuẩn này với tên là *Rickettsia burnetii*. Năm 1948, Philip chuyển chúng sang chi *Coxiella* và tên gọi "*Coxiella burnetii*" là tên khoa học được dùng cho đến ngày nay.

Mặc dù, trong quá khứ, *C. burnetii* được xếp vào chi *Rickettsia*; nhưng ngày nay, chúng được xếp vào bộ *Legionellales*, họ *Coxiellaceae*, chi *Coxiella*.

C. burnetii không phải là tác nhân gây bệnh thường gặp, nhưng hiện nay, nó được coi là tác nhân tiềm tàng cho khủng bố sinh học vì khả năng tồn tại lâu dài ngoài môi trường, liều gây nhiễm thấp và có khả năng truyền bệnh theo đường hô hấp.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

C. burnetii là một vi khuẩn Gram âm, ký sinh nội bào bắt buộc. Kích thước tế bào khoảng 0,2–0,4 µm. *C. burnetii* xâm nhập vào tế bào là một quá trình thụ động, bằng cách hoà hợp hạt mang nó– có cấu trúc màng tế bào– với tế bào vật chủ nhờ lysosome (Baca và Paretsky, 1983). *C. burnetii* phát triển tốt trong môi trường acid của phagolysosom (Hackstadt và Williams, 1981). Giống như *Chlamydia*, *Coxiella* có một chu kỳ ký sinh nội bào đặc biệt gồm hai thể khác hẳn nhau về hình thể. Thể thứ nhất là các biến thể hình que, có kích thước nhỏ, 205 – 459 nm và có các vật thể đậm ở tế bào chất. Thể này không chuyển hoá. Có bằng chứng cho thấy, môi trường acid của phagolysosom đã kích hoạt chuyển thể này sang thể thứ hai: biến thể to, dài khoảng 2 µm; theo đó, sự chuyển hoá là rất mạnh để hình thành các bào tử phát triển thành thể nhỏ để rồi sau đó giải phóng ra khỏi tế bào để khởi đầu một chu kỳ nhiễm trùng mới. *C. burnetii* không có lông.

Đặc điểm phân tử: mặc dù trong quá khứ, *C. burnetii* là thành viên của bộ *Rickettsiales* nhưng dựa trên khả năng mọc được trong môi trường có asen, trình

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

tự gen 16S rARN (Stein và cộng sự, 1993) đã cho phép xếp lại chúng vào ngành phụ, *Proteobacteria*, Bộ *Legionellales*, Họ *Coxiellaceae*. Trên cơ sở kết hợp các kỹ thuật sinh học phân tử khác nhau như lai ADN–ADN (Vodkin, Williams, 1986), RFLP (Hendrix, 1981), PFGE (Heinzen, 1990), người ta đã chứng minh được có sự thay đổi trong genome của các chủng *C. burnetii* phân lập được. Tuy vậy, những thay đổi này thường phụ thuộc vào nguồn gốc địa lý của chúng.

Khả năng sống sót: 10 tháng ở 15–20°C, trên 1 tháng trong thịt giữ lạnh, 40 ngày trong sữa để ở nhiệt độ thường. Chúng có khả năng sống trong amíp tự do.

C. burnetii là vi khuẩn có nhiều vật chủ (> 40 loài), gồm chân đốt, cá, chim, gặm nhấm, gia cầm.

Kháng nguyên pha I và pha II: giống như kiểu biến đổi nhẵn–xù xì của polysaccharide của trực khuẩn Gram âm. Pha II là đột biến của pha I.

Trong tự nhiên và trên động vật thí nghiệm, chúng tồn tại ở pha I; khi cấy chuyển nhiều lần trên nuôi cấy tế bào hoặc trên trứng thì xảy ra biến đổi polysaccharide, tạo ra pha II khác với pha I về tính chất kháng nguyên.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Sốt Q cấp tính được đặc trưng bởi hai biểu hiện chính: viêm phổi không điển hình và viêm gan. Đường truyền chủ yếu là hô hấp với việc hít phải các hạt nhỏ có chứa mầm bệnh. Người ta đã ước lượng rằng, chỉ cần từ 1–10 vi khuẩn là đủ để gây nhiễm trùng. Đường truyền đặc hiệu biểu hiện mối tương quan với biểu hiện lâm sàng. Ví dụ như, ở Canada, Thuỵ Sỹ và miền Bắc Thổ Nhĩ Kỳ, biểu hiện đầu tiên của sốt Q là viêm phổi nên đường lây đầu tiên là hô hấp. Ngược lại, ở Pháp và miền Nam Thổ Nhĩ Kỳ, sốt Q cấp tính lại là viêm gan hạt, có thể do uống sữa bị nhiễm khuẩn.

Sốt Q cấp tính là một bệnh sốt nhẹ, thường có nhức đầu đột ngột, ớn lạnh, đau cơ, đau khớp, nhìn mờ, sưng hạch, viêm kết mạc, buồn nôn và nôn, ỉa chảy, viêm họng. Đôi khi có phát ban, X.quang bình thường trong một nửa số trường hợp. Mặc dù rất hiếm khi nguy kịch (khoảng 1%), bệnh thường dẫn đến tình trạng mạn tính, kéo dài hơn 6 tháng và có tỷ lệ tử vong cao hơn. Ở thể mạn tính, nhiều cơ quan bị tác động, điển hình là tình trạng viêm nội tâm mạc và thường được thấy ở những bệnh nhân đã có các bệnh van tim từ trước.

Về vi thể, bệnh học của sốt Q giống như một viêm phổi vi khuẩn, được đặc trưng bằng những tổn thương nặng nề ở gian phế.nang, viêm phổi đốm, hoại tử xuất huyết làm tổn thương các tế bào lớp lót phế nang. Có thể có viêm phế quản và tiểu phế quản hoại tử. *C. burnetii* có thể tìm thấy ở các tế bào mô (histocytes) trong dịch tiết phế nang. Trong các hạch lympho, lách và thượng thận cũng thấy tăng sinh loại tế bào này. Trong sốt Q cấp tính, tổn thương tế bào gan hình thành hạt gồm hỗn hợp các tế bào thâm nhiễm với các tế bào khổng lồ, đa nhân.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Sốt Q phân bố rộng rãi trên toàn thế giới và thường được truyền từ vật sang người từ các mô hoặc sản phẩm của chúng và đôi khi từ sữa chưa tiệt trùng thông qua đường hô hấp. Ve, tíc bị nhiễm trùng tự nhiên có thể đóng vai trò là ổ chứa và truyền *C. burnetii* giữa các vật chủ nhưng có thể có vai trò nhỏ hoặc không có vai trò gì trong truyền cho người. Sự tiếp xúc mang tính nghề nghiệp với động vật bị bệnh như gia cầm, gia súc, cừu, dê, là các yếu tố nguy cơ chính. Những công nhân làm thịt lợn, cắt lông cừu, thuộc len có tỷ lệ nhiễm trùng và mắc bệnh cao nhất. Những người tiếp xúc với cừu, đặc biệt là phôi thai, và đỡ đẻ, có nguy cơ cao nhất. Cũng có một số báo cáo về sự lây nhiễm trực tiếp từ vật nuôi trong nhà (chó, mèo) sang người do đỡ đẻ cho chúng.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Sốt Q phải được phân biệt với một số bệnh nhiễm vi khuẩn và virus khác như nhiễm trùng huyết do não mô cầu, sởi, xuất huyết do virus đường ruột, Leptospirose, thương hàn, Rubella, sốt Dengue, bệnh do *Legionella*...

Chẩn đoán vi khuẩn học thường là tìm kháng thể kháng *C. burnetii*, ngoài ra, có thể phân lập *C. burnetii* từ máu hoặc mảnh sinh thiết. Chẩn đoán huyết thanh học vẫn là phương pháp phổ biến nhất ở các Labo vi sinh lâm sàng. Tuy vậy, biện pháp này không cho phép chẩn đoán sớm hơn 3 tuần kể từ khi mắc bệnh, cũng như nó không cho phép tiên lượng bệnh. Gần đây, người ta đã dùng PCR lồng (nested) thành công trong xác định *C. burnetii* từ các bệnh phẩm lâm sàng và kỹ thuật này đã nhanh chóng được sử dụng rộng rãi.

4.1. Huyết thanh học

Kỹ thuật kháng thể huỳnh quang gián tiếp (IFA)

IFA vẫn là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán sốt Q. Các IgG, IgM và IgA đặc hiệu có thể xác định được cả *C. burnetii* pha I (lách của chuột nhiễm khuẩn) và pha II (trên nuôi tế bào). Mặc dù có thể tìm thấy kháng thể sau 7–15 ngày mắc bệnh, nhưng 90% bệnh nhân có chuyển đổi huyết thanh sau 3 tuần. Chẩn đoán xác định dựa vào tăng hiệu giá kháng thể từ 4 lần trở lên. Tuy vậy, ngưỡng kháng thể có thể dùng để chẩn đoán trong rất nhiều trường hợp như sau:

Pha II		Pha I	Nhận định
IgG	IgM	IgG	
≤ 1:100			Không sốt Q
≥ 1:200	≥ 1:50		Sốt Q cấp
		≥ 1:800	Sốt Q mạn (98%)
		≥ 1:1600	Sốt Q mạn (100%)

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

IFA có độ nhạy vừa phải, tuy vậy tính khách quan trong nhận định kết quả là một nhược điểm lớn.

Phản ứng kết hợp bổ thể (Complement Fixation, CF): CF dùng kháng nguyên chiết xuất từ *C. burnetii* pha I hoặc II. Từ tuần thứ 4 kể từ khi phát bệnh, 80% bệnh nhân có kháng thể cố định bổ thể với pha II.

Biến đổi kháng nguyên của *C. burnetii* phải được tính đến khi sử dụng kết quả huyết thanh học. Trong trường hợp sốt Q cấp, tự giới hạn, kháng thể với pha II xuất hiện trước và chủ yếu là đáp ứng miễn dịch dịch thể. Trường hợp sốt Q mạn, hiệu giá kháng thể với pha I tương đương hoặc thậm chí cao hơn pha II; như thế, hiệu giá ≥ 1:200 biểu thị một sốt Q mạn. Kháng thể cố định bổ thể giá trị hơn IFA trong xác định viêm nội tâm mạc sốt Q bán cấp và chuyển đổi huyết thanh thường phát hiện được chậm hơn IFA 1 tuần.

Các kỹ thuật huyết thanh học khác

ELISA, vi ngưng kết, miễn dịch thấm điểm (dot bloting), Western Blot và miễn dịch phóng xạ. ELISA nhạy hơn IFA và CF nhưng không được sử dụng rộng rãi trong lâm sàng do độ đặc hiệu của nó thấp hơn các kỹ thuật khác và phức tạp hơn nếu chỉ dùng cho một lượng nhỏ số mẫu huyết thanh. Hơn nữa, chưa có chuẩn hoá cho kỹ thuật này cho nên có thể cho các kết quả khác nhau giữa các Labo. Hiện nay, ELISA mới dựa trên IgG và IgM đã được chuẩn hoá và nhạy hơn IFA và CF. Tuy vậy, những mẫu ELISA dương tính phải xác nhận lại bằng IFA để tăng độ đặc hiệu. ELISA có thể phù hợp với các nghiên cứu điều tra với số mẫu lớn. Vi ngưng kết có thể đủ độ nhạy để xác định kháng thể ngay sau khi có triệu chứng nhưng cần một lượng lớn kháng nguyên. Độ nhạy của các kỹ thuật huyết thanh học thường dùng theo thứ tự giảm dần: ELISA, IFA, CF. ELISA có thể phát hiện được kháng thể kháng *C. burnetii* sau khi nhiễm bệnh 9 ngày, trong khi đó, IFA là 16 ngày và CF là 20 ngày.

Phân lập vi khuẩn

Nhiều trường hợp mắc bệnh trong Labo đã được báo cáo. Những trường hợp như thế thì có thể nuôi cấy, phân lập vi khuẩn trong các phòng an toàn sinh học cấp 3. Chuột lang là động vật thích hợp nhất để phân lập *C. burnetii*. Tuy vậy, có thể dùng chuột nhắt hoặc trứng có phôi. Lấy bệnh phẩm tiêm vào phúc mạc chuột lang. Theo dõi thân nhiệt chuột, nếu chuột mắc bệnh, nó sẽ bị chết trong vòng từ 5–8 ngày. Mổ chuột lấy lách nghiền và lọc lấy nước tiêm vào trứng có phôi để tăng sinh *C. burnetii*.

C. burnetii có thể gây nhiễm bạch cầu đơn nhân, đại thực bào và nhiều dòng tế bào nuôi. Một số bệnh phẩm có thể đưa trực tiếp vào nuôi cấy tế bào như máu, dịch não tuỷ, van tim, mảnh sinh thiết và các sản phẩm trong quá trình sinh đẻ.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ủ 5–7 ngày ở 37C/5% CO_2. Xác định *C. burnetii bằng* nhuộm Gimenez (không nhuộm Gram) hoặc IFA với kháng thể đơn hoặc đa dòng kháng *C. burnetii.*

4.2. Xác định trực tiếp vi khuẩn

Miễn dịch huỳnh quang

C. burnetii có thể xác định bằng nhuộn huỳnh quang mảnh sinh thiết từ những bệnh nhân viêm nội tâm mạc sốt Q. Mảnh sinh thiết có thể làm tươi hoặc cố định bằng formalin và làm thành tiêu bản. Xác định vi khuẩn bằng nhuộm hoá miễn dịch mô, ELISA/ELIFA tóm bắt (capture) hoặc miễn dịch huỳnh quang/ hiển vi điện tử với kháng thể đơn hoặc đa dòng.

PCR

Người ta đã xác định được *C. burnetii* từ bệnh phẩm bằng PCR. Mồi hiện nay được thiết kế dựa trên trình tự đặc hiệu của gen 16S rARN, Superoxide dismutase hoặc/và *IS* 1111.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh

Tránh tiếp xúc với các sản phẩm hoặc mô của động vật nghi nhiễm bệnh. Đeo khẩu trang khi làm việc với nguồn bệnh.

Vắc xin chết, toàn tế bào được điều chế từ pha I của *C. burnetii.* Dùng vắc xin cho những đối tượng có nguy cơ mắc bệnh (công nhân chế biến thịt, cắt lông cừu, thuộc da...), không dùng rộng rãi cho cộng đồng.

5.2. Điều trị

Kỹ thuật kháng sinh đồ với *C. burnetii* rất khó khăn, chỉ có thể làm được ở một số trung tâm chuyên nghiệp vì nuôi cấy, phân lập rất khó khăn. Người ta thường dùng mô hình làm kháng sinh đồ trên động vật thí nghiệm, trên trứng có phôi hoặc nuôi cấy tế bào. Ví dụ với trứng, người ta tiêm vi khuẩn vào túi noãn hoàng rồi ngay sau đó tiêm kháng sinh vào. Theo dõi sự phát triển của phôi, tính tỷ lệ phôi sống/chết của nhóm thử nghiệm so với nhóm chứng để suy ra hoạt tính của kháng sinh.

Kháng sinh có tác dụng tốt nếu điều trị sớm (trong vòng 3 ngày đầu của bệnh). Trường hợp sốt Q cấp tính: Docycycline hoặc quinolones có tác dụng tốt, cũng có thể dùng các kháng sinh khác như erythromycin hoặc chloramphenicol. Trường hợp mạn tính, cần kết hợp docycycline với ciprofloxacin trong thời gian dài hàng năm.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

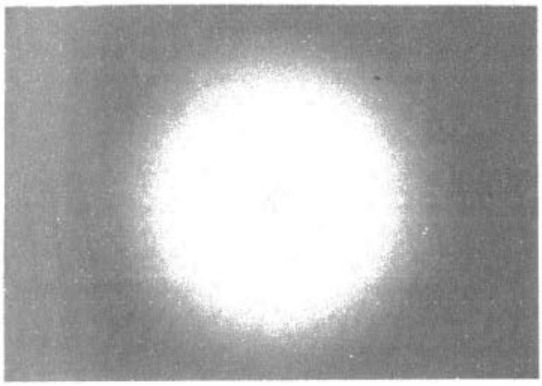
TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gillespie S.H. and Hawkey P.M., Principles and Practice of Clinical Bacteriology, John Wiley & Sons, Ltd.; 2nd ed, 2006.
2. Holt, J.G., Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Lippincott Williams & Wilkins; 9th ed, 1994.
3. Krieg, N.R. et al., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins, Volume 1. 1984.
4. Nancy Jo Trun et al,. Fundamental Bacterial Genetics. 1st ed., Wiley–Blackwell;, 2003
5. Myron M. Levine et al. New Generation Vaccines, Marcel Dekker, Inc., 4th ed, 2009.
6. Stanley A. Plotkin et al., Vaccines, Sauders, 4th ed, 2004.

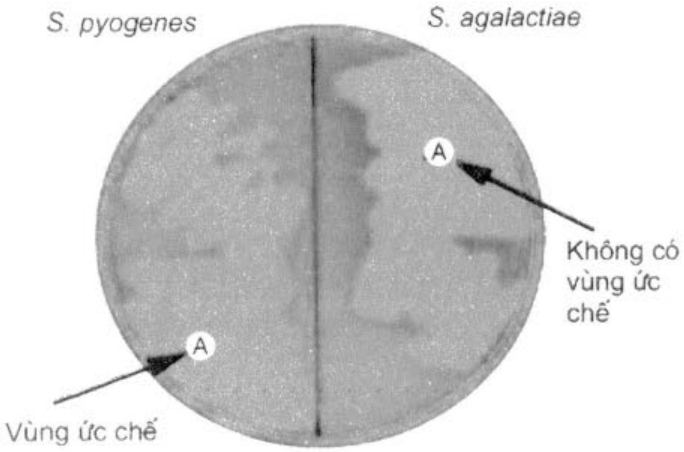
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

PHỤ BẢN

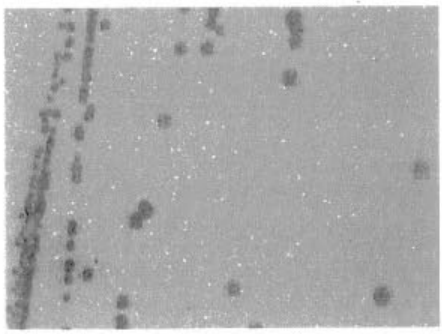
Hình P1. Hình ảnh liên cầu trên tiêu bản nhuộm Gram là các cầu khuẩn Gram dương xếp chuỗi



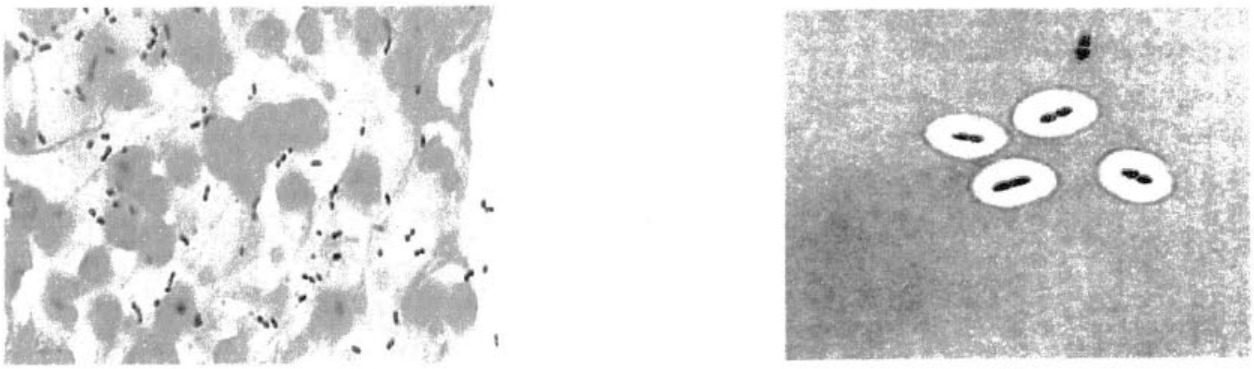
Hình P2. Hình ảnh khuẩn lạc liên cầu tan máu β trên thạch máu



Hình P3. Test Bacitracin: phân biệt liên cầu nhóm a với các liên cầu tan máu β khác



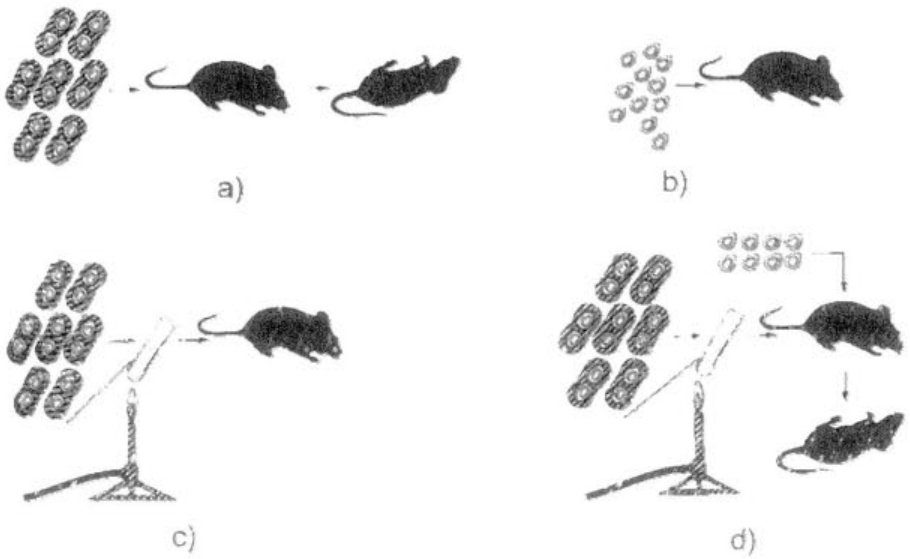
Hình P4. Hình ảnh khuẩn lạc liên cầu tan máu γ trên thạch máu



a) b)

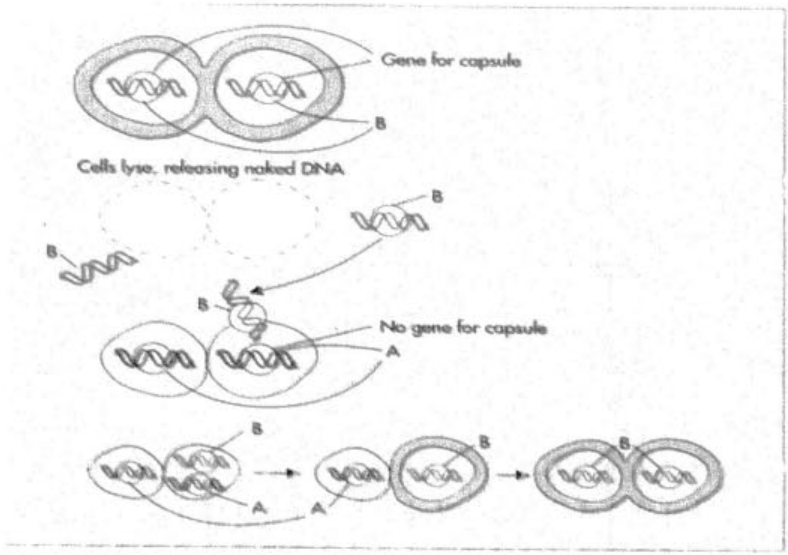
Hình P5. Hình ảnh *S. pneumoniae* nhuộm Gram (a) và nhuộm bằng phương pháp nhuộm vỏ (b).
Phế cầu là cầu khuẩn Gram dương hình ngọn nến, xếp thành đôi hoặc chuỗi trên tiêu bản nhuộm Gram. Trên tiêu bản nhuộm vỏ có thể nhìn rõ vỏ của phế cầu (vòng sáng) xung quanh vi khuẩn hình ngọn nến, xếp thành đôi, nằm bên trong.

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

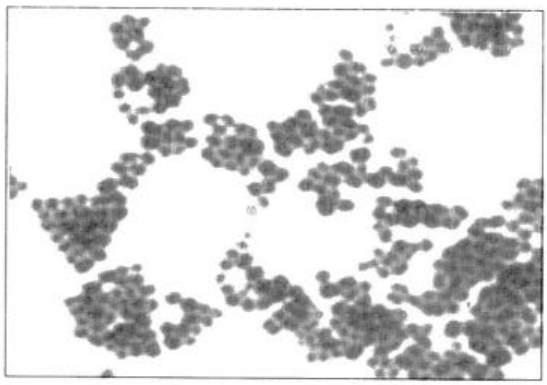


Hình P6. Thí nghiệm về hiện tượng biến nạp ở phế cầu

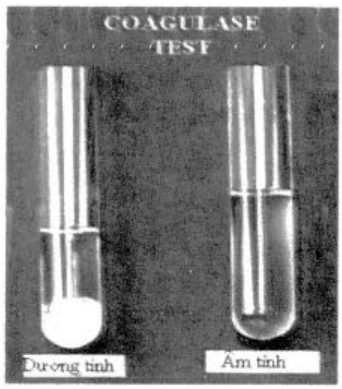
(a) Tiêm phế cầu có vỏ cho chuột nhắt trắng, chuột chết; (b) Tiêm phế cầu không vỏ cho chuột nhắt trắng, chuột sống. (c) Tiêm phế cầu có vỏ đã giết chết bằng nhiệt cho chuột nhắt trắng, chuột sống. (d)Tiêm đồng thời phế cầu có vỏ đã giết chết bằng nhiệt với phế cầu không vỏ còn sống cho chuột nhắt trắng, chuột chết. Sau đó, phân lập được phế cầu có vỏ còn sống từ máu tim chuột



Hình P7. Sơ đồ giải thích cơ chế biến nạp ADN ở phế cầu

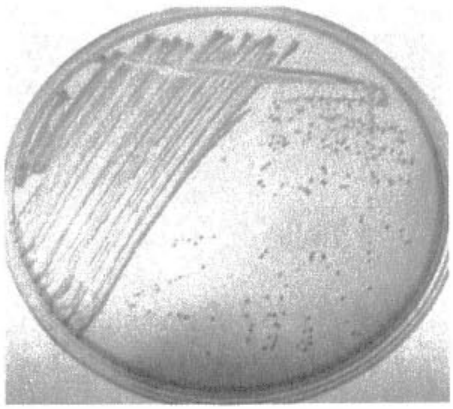


Hình P8. Hình ảnh tụ cầu trên tiêu bản nhuộm Gram là những cầu khuẩn Gram dương, có đường kính 0,8–1,0 µm, đứng thành từng đám hình chùm nho.

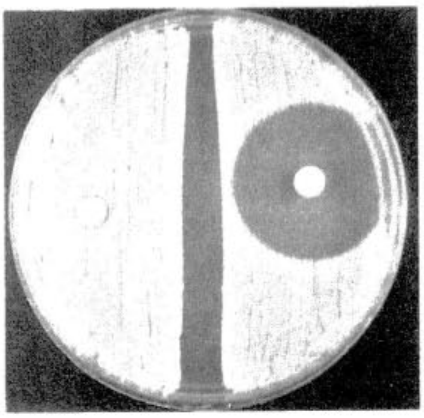


Hình P9. Test coagulase phân biệt tụ cầu vàng với các tụ cầu khác. Tụ cầu vàng do có coagulase nên sẽ gây đông huyết tương thỏ (trái). Những vi khuẩn khác không có coagulase, không gây đông huyết tương (phải).

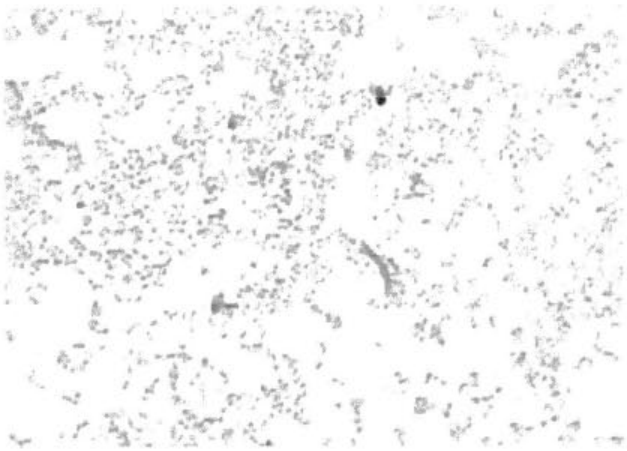
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



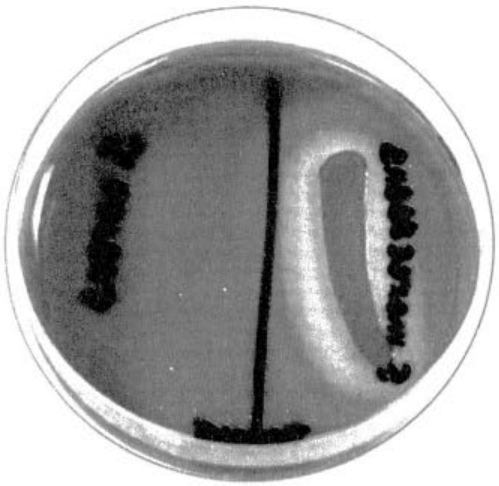
Hình P10. Tụ cầu vàng mọc trên môi trường Chapman. Tụ cầu vàng có khả năng lên men mannitol, sinh ra acid làm thay đổi chất chỉ thị màu đỏ phenol trong môi trường từ đỏ chuyển thành vàng.



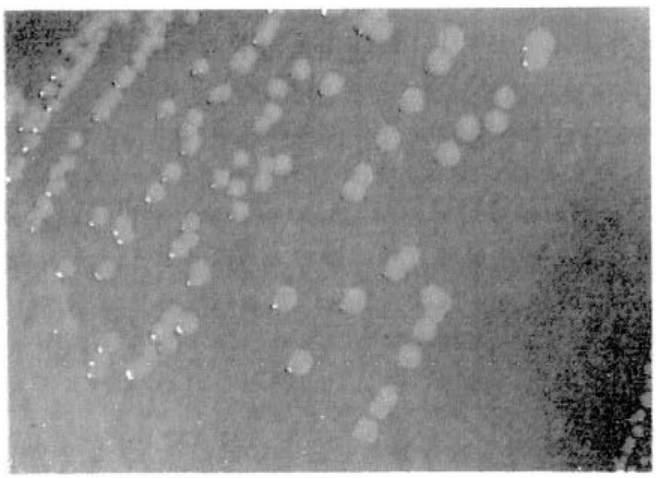
Hình P11. **Test novobiocin** phân biệt *S. saprophyticus* với các CONS khác *S. saprophyticus* (trái, kháng Novobiocin), *S. epidermidis* (phải, nhạy cảm với Novobiocin).



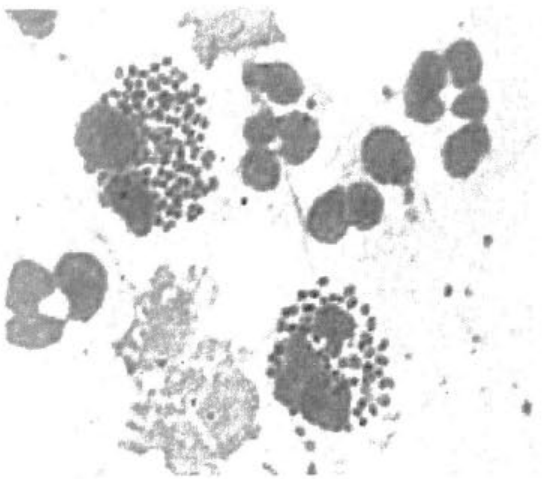
Hình P12. *Moraxella catarrhalis* khi nhuộm Gram là các song cầu Gram âm, hình hạt cà phê, úp hai mặt dẹt vào nhau, kích thước từ 0,5–1,5 µm, đứng thành đôi, bốn hoặc từng đám nhỏ.



Hình P13. Test DNase: xác định vi khuẩn có hay không enzym DNase. Vi khuẩn có enzyme này sẽ thuỷ phân ADN và kết hợp với xanh methyl trong môi trường tạo quầng sáng xung quanh nơi vi khuẩn mọc.

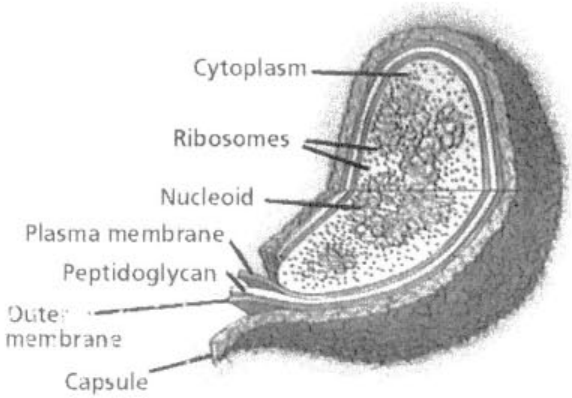


Hình P14. Khuẩn lạc não mô cầu trên môi trường thạch máu cừu 5%. Khuẩn lạc tròn, bóng, lấp lánh, đục, có màu xám, có thể ở dạng nhầy do có vỏ, kích thước 1-1,5 mm, không tan máu.

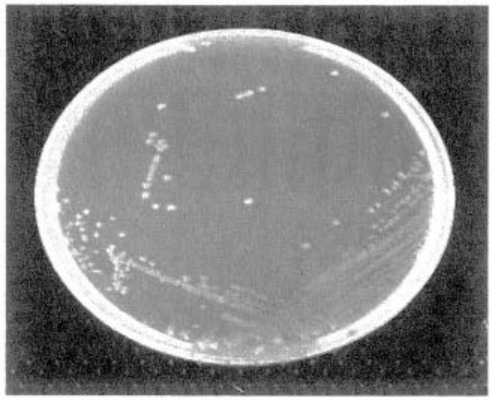


Hình P15. **Vi khuẩn lậu trên tiêu bản nhuộm Gram.** Hình ảnh điển hình là song cầu Gram âm, hình hạt cà phê đứng lèn chặt vào nhau, bạch cầu đa nhân trung tính thoái hoá

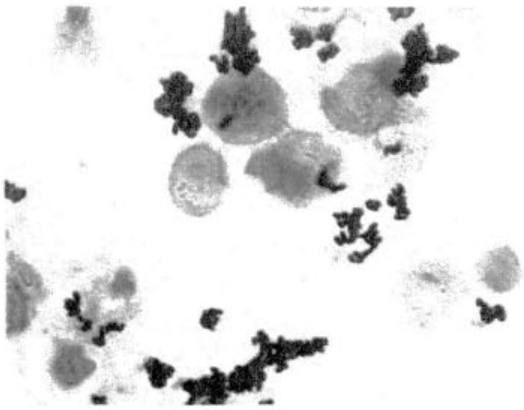
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



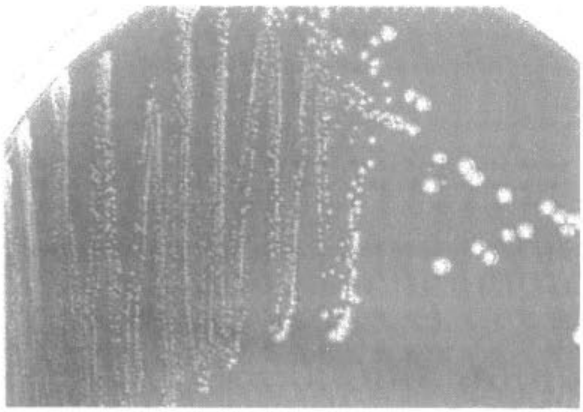
Hình P16. Cấu trúc vi khuẩn lậu



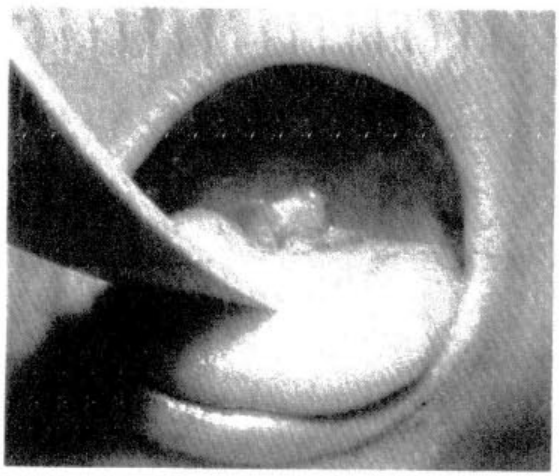
Hình P17. Khuẩn lạc lậu cầu trên môi trường chocolat. Khuẩn lạc dạng S màu xám, hơi vàng, không tan máu.



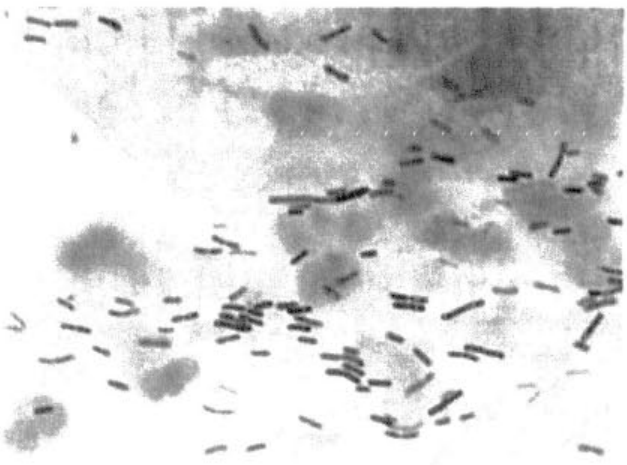
Hình P18. Hình ảnh *C. diphtheriae* trên tiêu bản nhuộm Gram



Hình P19. Hình ảnh khuẩn lạc *C. diphtheriae* trên môi trường thạch máu

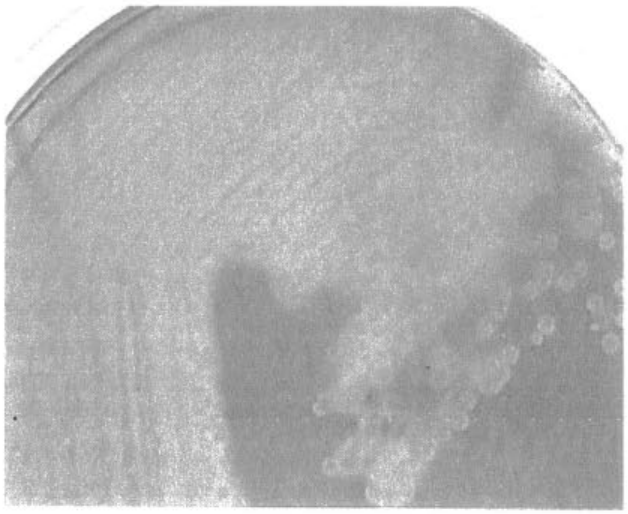


Hình P20. Màng giả trong bệnh bạch hầu

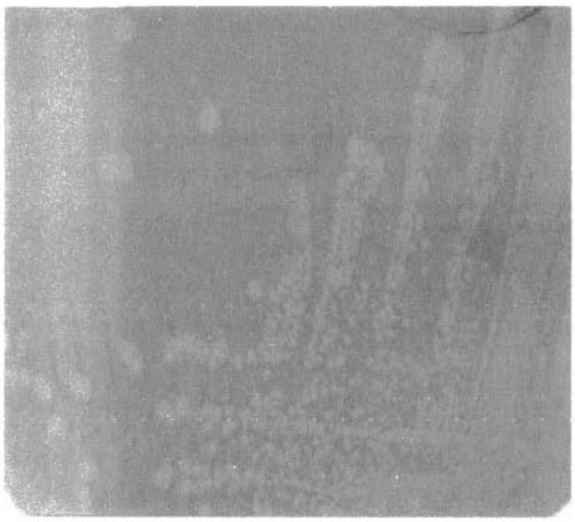


Hình P21. *B. subtilis* trên tiêu bản nhuộm Gram

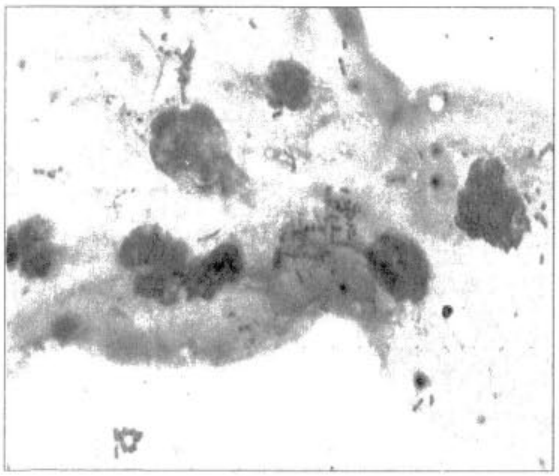
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



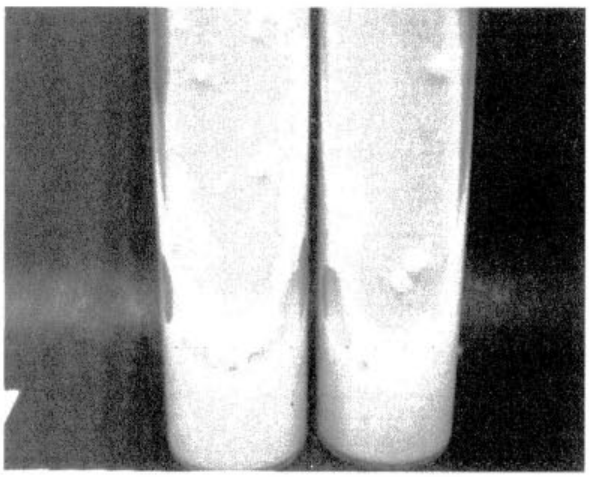
Hình P22. Khuẩn lạc của *B. subtilis* trên môi trường thạch máu



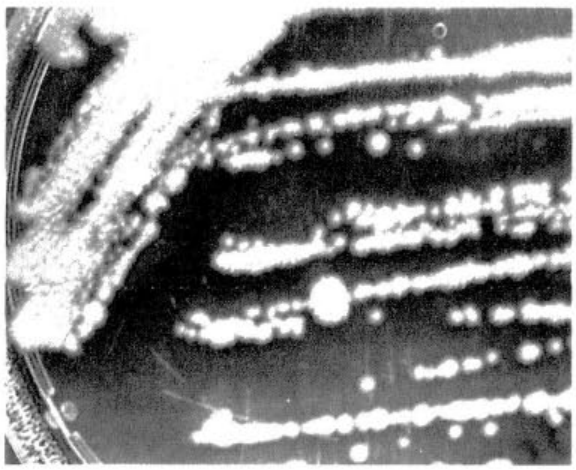
Hình P23. Khuẩn lạc của *Listeria* trên môi trường thạch máu



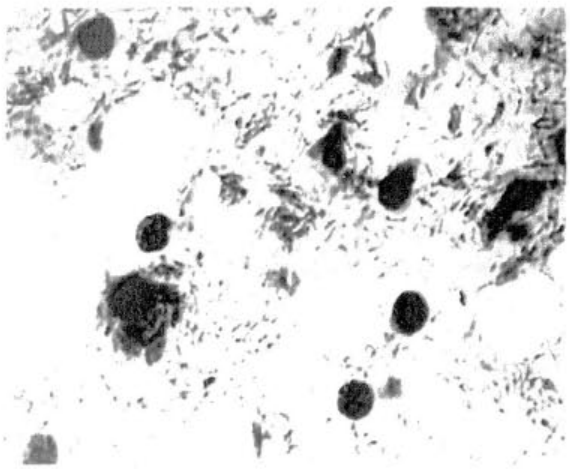
Hình P24. Tiêu bản nhuộm Ziehl–Neelsen trực khuẩn lao



Hình P25. Khuẩn lạc của trực khuẩn lao trên môi trường Lowenstein – Jensen

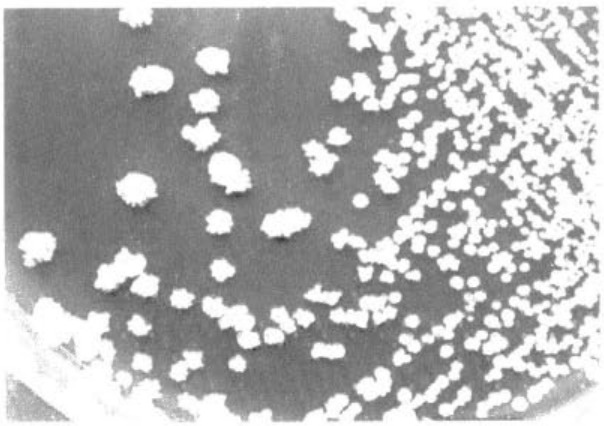


Hình P26. Khuẩn lạc của trực khuẩn lao trên môi trường Middlebrook

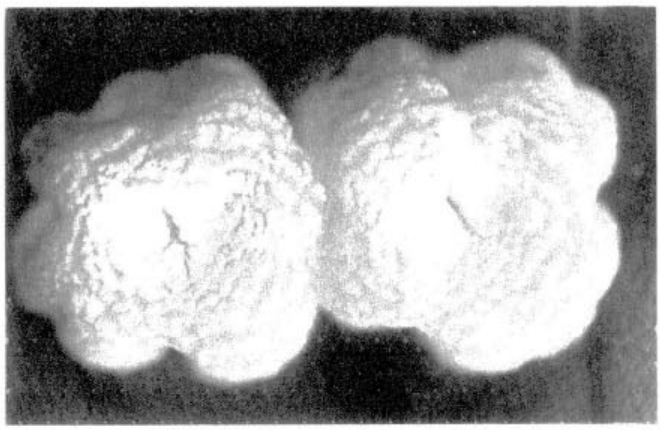


Hình P27. Tiêu bản nhuộm Ziehl–Neelsen trực khuẩn phong

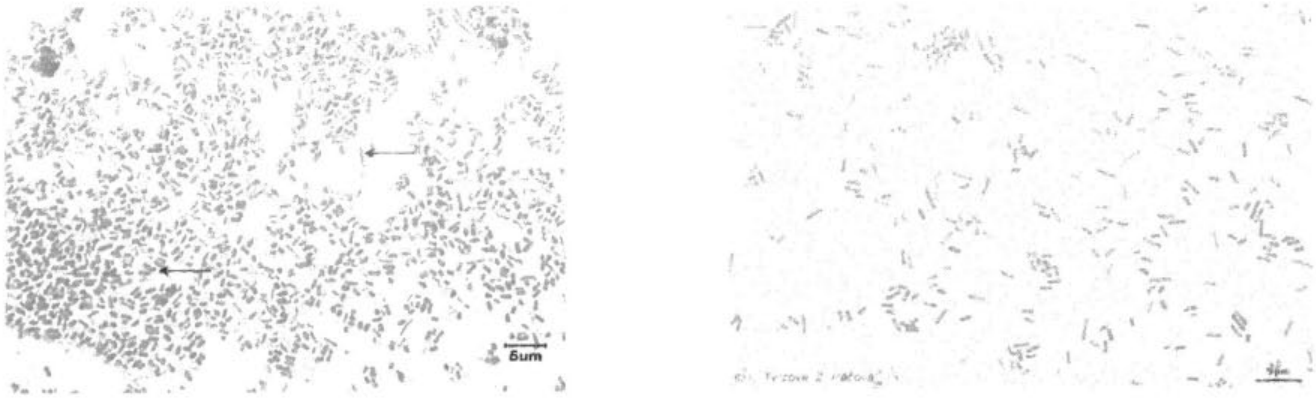
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình P28. Khuẩn lạc của *Nocardia asteroides* trên môi trường thạch máu



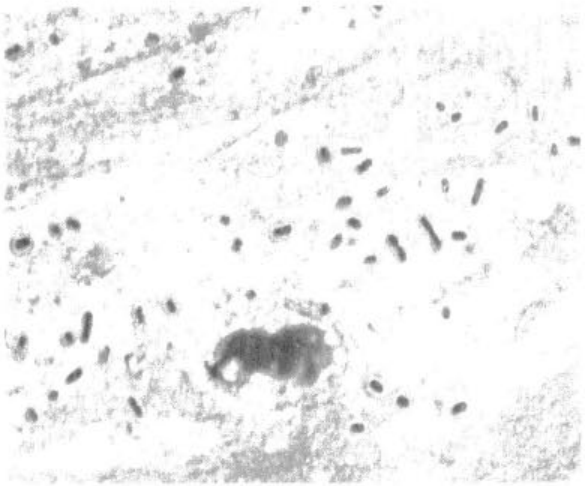
Hình P29. Khuẩn lạc của *Nocardia asteroides* trên môi trường BCYE



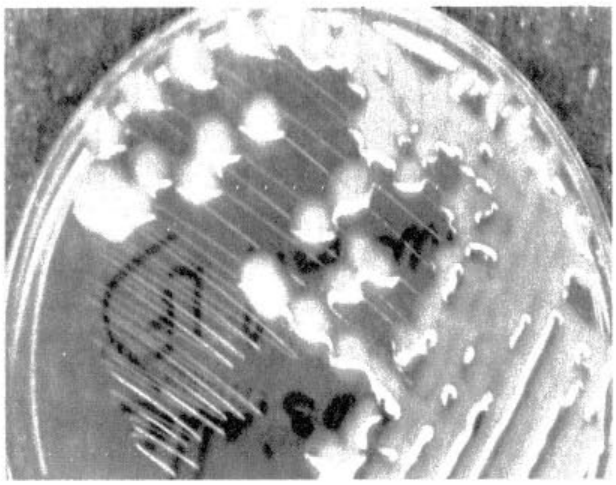
A B

Hình P30. Hình ảnh nhuộm Gram của vi khuẩn đường ruột

A. *E. coli*; B. *Proteus vulgaris*

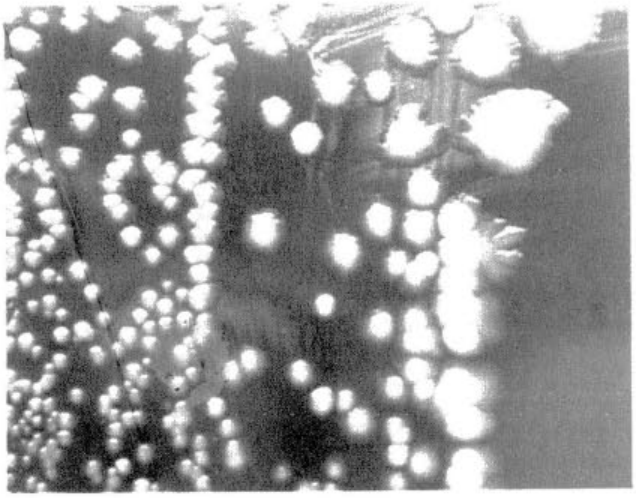


Hình P31. Hình ảnh nhuộm Gram *K. pneumoniae* trong bệnh phẩm đờm. Có thể nhìn rõ vỏ của vi khuẩn là vùng sáng quanh vi khuẩn tương phản với màu nền tiêu bản.

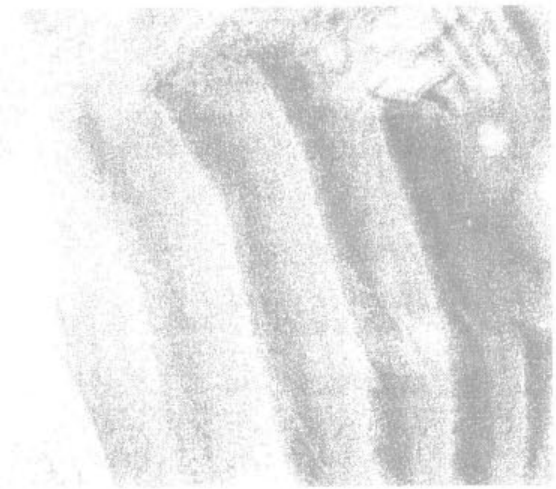


Hình P32. Khuẩn lạc *K. pneumoniae* trên môi trường MacConkey thì nhầy, bóng, lấp lánh do có vỏ.

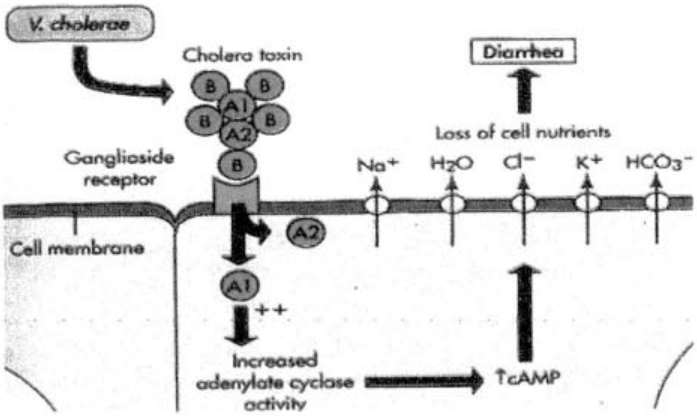
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình P33. Khuẩn lạc *Y. pestis* trên môi trường thạch máu sau 48–72h.

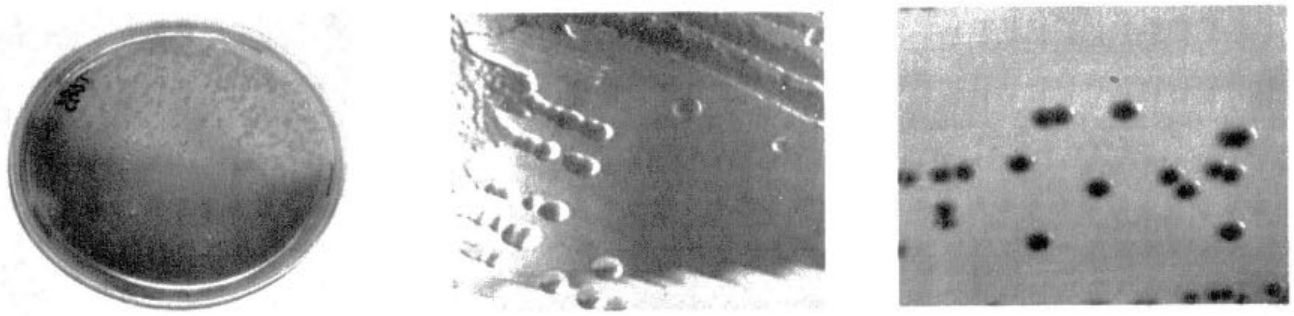


Hình P34. *Proteus* mọc lan trên môi trường đặc thành những lớp sóng đồng tâm



Hình P35. Cơ chế gây tiêu chảy trong bệnh tả

Hình P36. **Hình thể và tính chất bắt màu của vi khuẩn tả:** Vi khuẩn hình que, hơi cong, Gram âm, không có vỏ, không sinh nha bào.



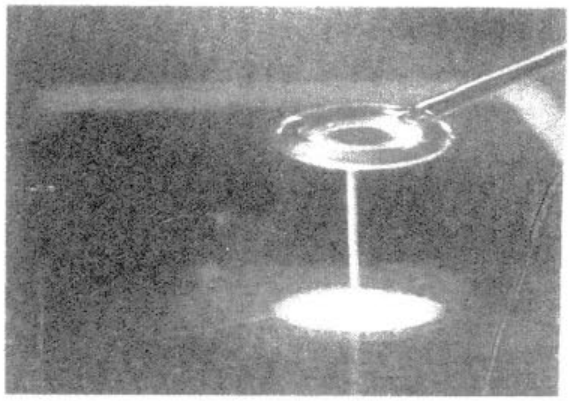
a) b) c)

Hình P37. Hình thái khuẩn lạc của *V. cholerae* và *V. parahaemolyticus*

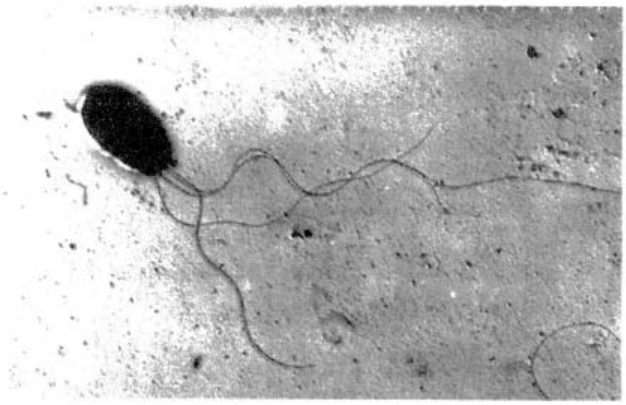
(a) Khuẩn lạc *V. cholerae* trên môi trường TCBS; (b) Khuẩn lạc *V. cholerae* trên môi trường thạch kiềm; (c) Khuẩn lạc *V. parahaemolyticus* trên môi trường TCBS

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Hình P38. Khuẩn lạc tan máu β của *Aeromonas*



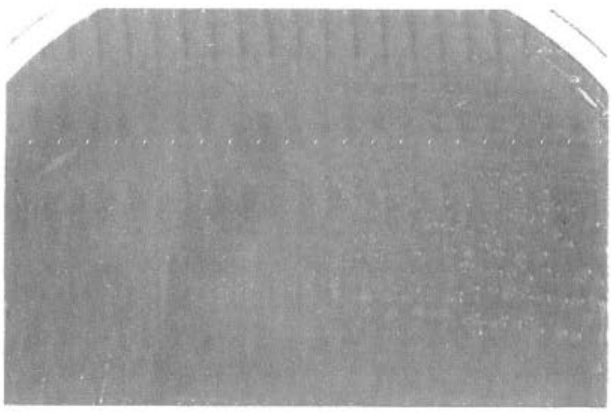
Hình P39. Thử nghiệm String Trộn khuẩn lạc vi khuẩn tả với một giọt dung dịch sodium deoxycholate 0,5% tạo huyền dịch nhầy, dùng ăng kéo nhẹ lên sẽ hình thành dây (string) như trong hình.



Hình P40. *B. pseudomallei* có một chùm lông ở một cực (ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử, x10.000)

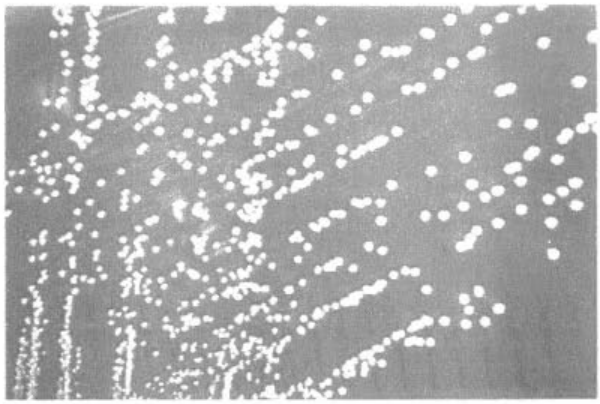
Hình P41. Khuẩn lạc *B. pseudomallei* trên môi trường thạch máu

Hình P42. Hình ảnh *Acinetobacter* – cầu trực khuẩn Gram (–) đứng thành đôi, từ đờm bệnh nhân viêm phổi do thở máy



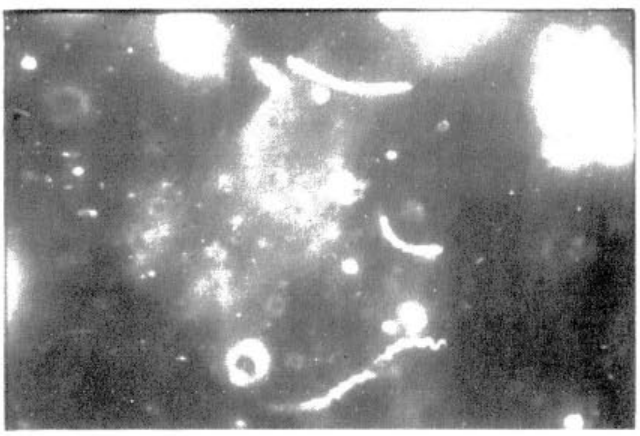
Hình P43. Khuẩn lạc của *B. pertussis* trên thạch máu

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình P44. *Brucella spp.* trên môi trường thạch máu cừu 5% sau 48 h nuôi cấy: khuẩn lạc nhỏ như đầu ghim, tròn, bóng, trong mờ, không tan máu.

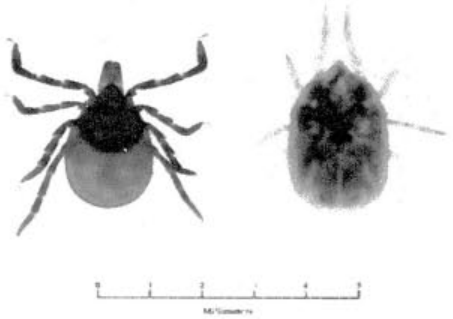
Hình P45. Hình ảnh nhuộm Gram của *Legionella pneumophila:* trực khuẩn mảnh, bắt màu Gram âm rất nhạt, kích thước trung bình khoảng 1–2 μm, rất thay đổi, có thể dài tới 20 μm.



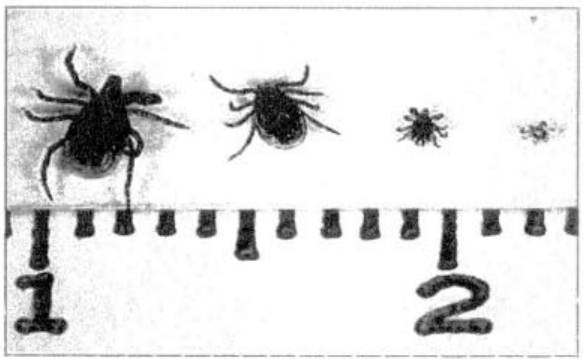
Hình P46. Xoắn khuẩn *Treponema pallidum* dưới kính hiển vi nền đen

Hình P47. Rận *Pediculus humanus humanus* truyền xoắn khuẩn *B. recurrentis* gây bệnh sốt hồi quy

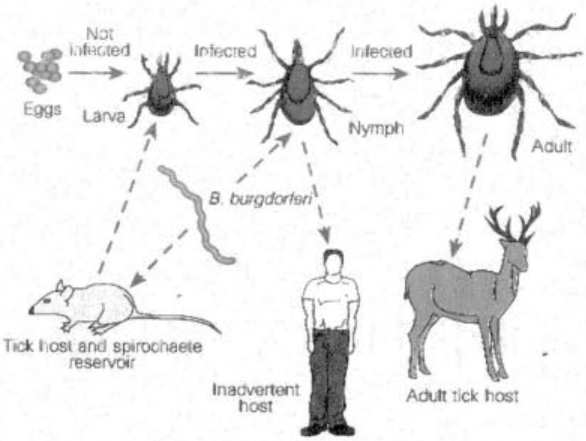
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình P48. So sánh: ve cứng (trái) Ixodes và ve mềm (phải) Ornithodorus
(thước mỗi vạch 1mm)

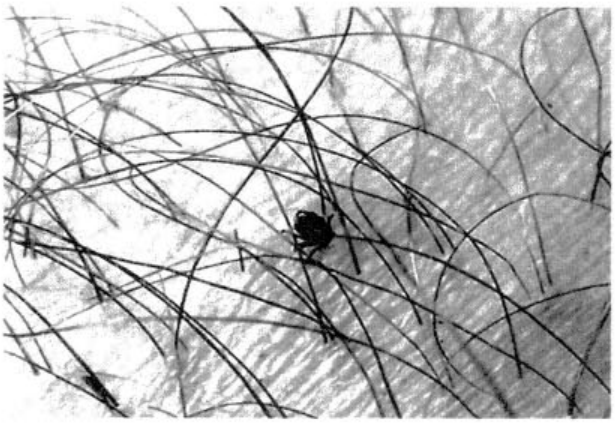


Hình P49. Kích thước của ve *Ixodes scapularis*
(từ trái sang phải: ve cái trưởng thành, ve đực trưởng thành, nhộng - nymph, ấu trùng - larva) và thước đo mm

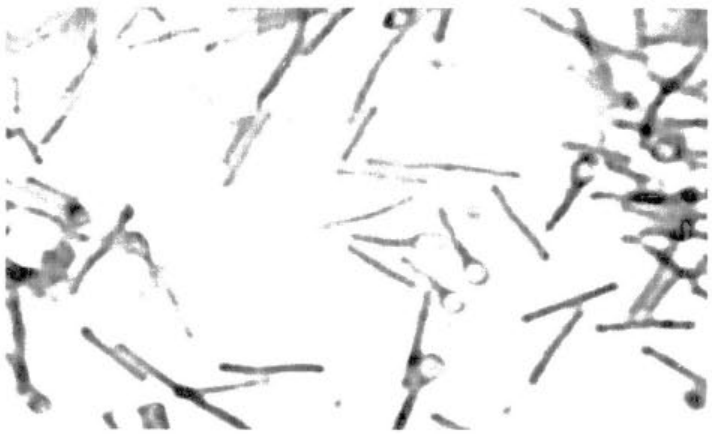


Hình P50. Sơ đồ dây chuyền dịch tễ bệnh Lyme

Vi khuẩn gây bệnh là *B. burgdorferi*; môi giới truyền bệnh là ve Ixodes với 3 giai đoạn hút máu: ấu trùng – larva, nhộng - nymph, trưởng thành - adult; ổ chứa (reservoir) xoắn khuẩn và túc chủ của ve là chuột và các loài gặm nhấm; túc chủ của ve trưởng thành là các loài thú nhỏ; người là túc chủ ngẫu nhiên, không may mắn

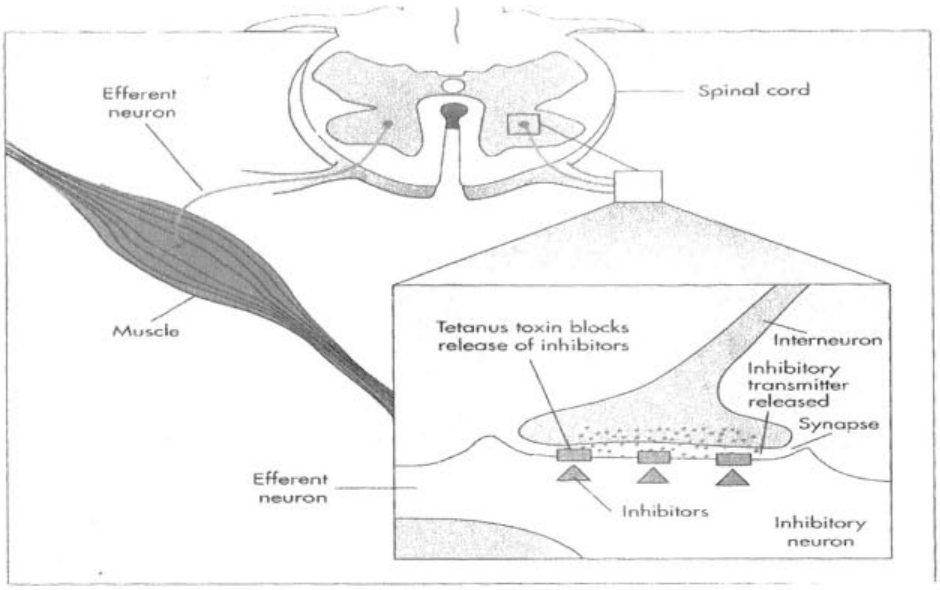


Hình P51. Ve *Ixodes scapularis* trên cẳng chân

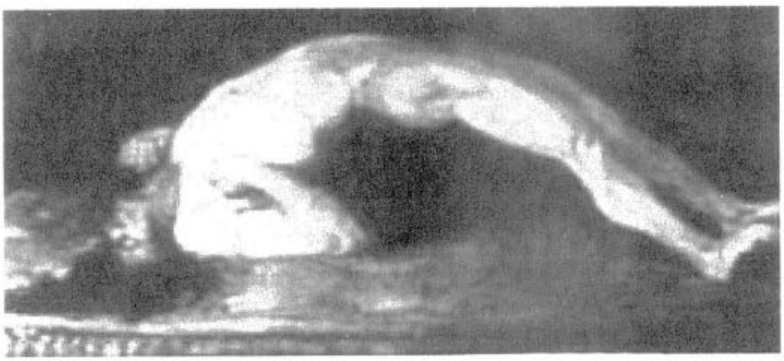


Hình P52. *C. tetani* là trực khuẩn thon dài, với nha bào hình tròn ở một đầu trông giống như "cái dùi trống"

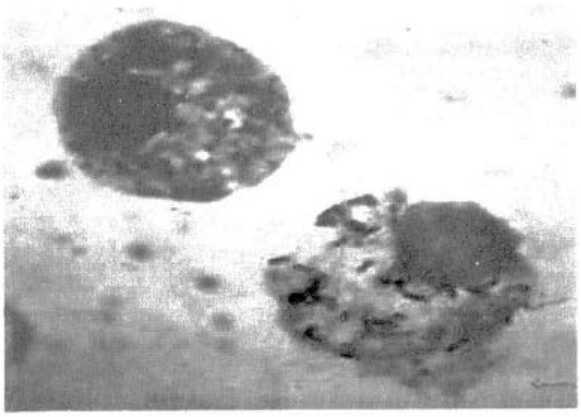
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



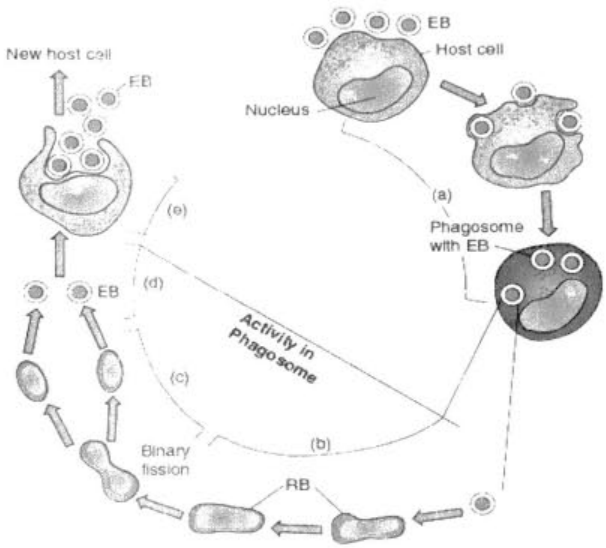
Hình P53. Mô hình giải thích cơ chế tác dụng của độc tố uốn ván: tại synaps, tetanospasmin ngăn cản sự giải phóng chất ức chế từ nơron ức chế của thần kinh vận động ở tủy sống, dẫn tới co cứng



Hình P54. Bệnh nhân uốn ván, co cứng do độc tố thần kinh tetanospasmin: lưng vồng lên, cơ bụng cứng, toàn thân uốn cong như tấm ván

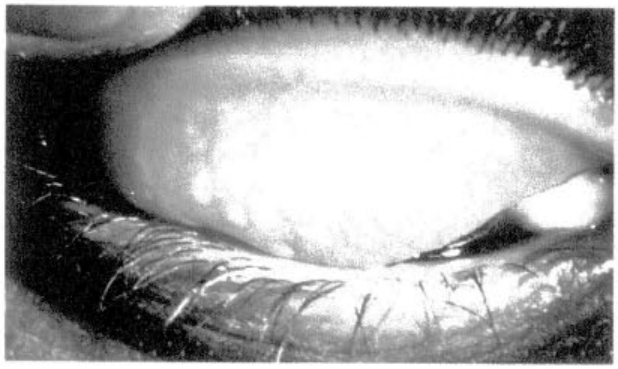


Hình P55. Hình ảnh nhuộm Giemsa tế bào lympho của ve bị nhiễm *R. rickettsii*

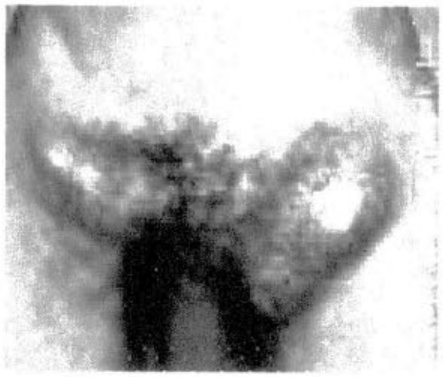


Hình P56. Sơ đồ mô phỏng vòng đời – chu trình nhân lên của *Chlamydia* và *Chlamydophila:* tiểu thể cơ bản = EB (elementary body), truyền nhiễm; tiểu thể đang lớn = RB (reticulate body), không truyền nhiễm

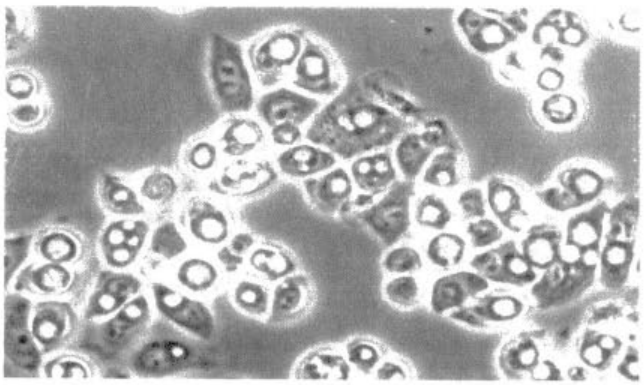
THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



Hình P57. Bệnh mắt hột,
giai đoạn viêm kết mạc thể nang



Hình P58. Bệnh hột xoài – LGV
do *C. trachomatis*



Hình P59. Ảnh chụp tế bào Hela nhiễm *Chlamydia* sau 24 giờ
(các thể vùi sáng, không nhuộm màu)

Hình P60. Hình 33.6. Ảnh chụp tế bào Hela nhiễm *Chlamydia* bằng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp (DIF – direct Immunfluorescens).
Màu xanh = tế bào Hela; màu đỏ = *Chlamydia*

AMV GROUP
sanofi pasteur
Crucell Berna Biotech
gsk GlaxoSmithKline
Maycosmedic JSC

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

BẢNG TRA CỨU TỪ (INDEX)

A

A. baumannii, 320, 321, 322, 324, 326, 327, 331, 333
A. calcoaceticus, 320, 322, 324
A. caviae, 278, 282, 283
A. hydrophila, 278, 280
A. johnsonii, 327, 331, 333
A. junii, 331, 333
A. lwoffii, 327, 331, 333
A. veronii, 278, 280, 283, 284
Acinetobacter, 319, 320, 321, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336
Actinobacillus *actinomycetemcomitans*, 371, 372, 375, 382
Adonitol, 213, 257, 258
Aeromonas, 260, 268, 272, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285
Arabinose, 11, 42, 270, 274
Arabitol, 213, 257, 258
Arginine dihydrolase, 213, 248

B

B. abortus, 365, 366, 367, 368, 370
B. anthracis, 137, 139, 141, 147
B. avium, 345, 348, 349
B. bronchiseptica, 345, 346, 347, 348, 349, 351, 352, 353, 359
B. burgdorferi, 456, 457, 458, 459, 461, 463, 465, 466
B. canis, 366, 367
B. cepacia, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 313, 314, 315, 319
B. cereus, 137, 139, 140, 141
B. duttoni, 456, 459
B. elizabethae, 383, 388
B. gladioli, 319
B. grahamii, 383
B. henselae, 383, 384, 385, 387, 388, 389, 390, 391
B. hinzii, 345, 348, 349
B. holmesii, 345, 348, 349, 357, 359
B. intermedia, 367
B. mallei, 311, 315, 318
B. melitensis, 365, 366, 367, 368
B. neotomae, 366, 367
B. ovis, 366, 367
B. parapertussis, 345, 346, 347, 348, 349, 351, 352, 353, 354, 356, 357, 359, 360
B. pertussis, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 364
B. pseudomallei, 312, 313, 314, 315, 316
B. quintana, 383, 384, 385, 387, 388, 390, 391, 393
B. recurrentis, 459, 460, 464
B. subtilis, 136, 137, 138
B. suis, 365, 366, 367, 368
B. trematum, 345, 348, 349
B. visonii, 383
B. wachoensis, 383
Bacillus, 17, 18, 45, 136, 137, 139, 141, 148, 149, 150, 171, 240
Bartonella, 382, 383, 384, 385, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 485
Bordetella, 325, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 352, 353, 356, 357, 375
Borrelia, 434, 456, 457, 458, 461, 462, 464, 465
Brucella, 365, 366, 367, 368, 369, 382, 425
Burkholderia, 18, 21, 288, 290, 306, 309, 311, 312, 317, 318, 319, 324

C

C. bifermentans, 471
C. botulinum, 471, 474, 475
C. butyricum, 471
C. chauvoei, 471, 475
C. clari, 429
C. coli, 429, 430, 431
C. consisus, 429
C. curvus, 429
C. difficile, 471, 474, 475
C. diversus, 256
C. felis, 505
C. fetus, 428, 429
C. freundii, 255, 256
C. gracili, 428, 429
C. helveticus, 429
C. histolyticum, 475
C. hominis, 429
C. hyointestinalis, 429
C. jejuni, 428, 429, 430
C. lanienae, 429
C. mucosalis, 429
C. novyi, 471, 474, 475
C. perfringens, 471, 472, 473, 474, 475
C. pneumoniae, 407, 496, 497, 499, 500, 503, 504, 505, 508, 509, 510, 511
C. psittasi, 496, 497
C. rectus, 428, 429
C. septicum, 471, 475
C. showae, 428, 429
C. sordellii, 471, 475
C. spitorum, 429
C. sporogens, 471, 475
C. tertium, 471, 472, 475
C. tetani, 471, 472, 474, 475, 476, 477, 478, 479
C. trachomatis, 401, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 505, 507, 509
C. upsaliensis, 429, 431
Campylobacter, 376, 391, 418, 419, 428, 429, 430, 431
Cellobiose, 213, 270
Chlamydia, 104, 105, 401, 413, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511
Chryseomonas, 325
Citrate, 11, 191, 213, 249, 257, 258, 268, 271
Citrobacter, 202, 213, 248, 255, 256
Clostridium, 140, 149, 469, 470, 471, 472, 473, 475
Comamonas, 325
Corynebacterium diphtheriae, 106
Coxiella *burnetii*, 482, 483, 485, 492, 511

D

DAEC, 214, 217, 218
Di động, 42, 151, 199, 213, 234, 242, 248, 262, 270, 279, 283, 346

Đ

Đỏ methyl, 213, 248, 249

E

E. aerogenes, 253
E. agglomerans, 253
E. albertii, 213
E. amnigeus, 253
E. asburiae, 253
E. asini, 43
E. avium, 42
E. blattae, 213
E. casseliflavus/, 42
E. cecorum, 43
E. cloacae, 252, 253
E. coli, 10, 93, 98, 112, 169, 175, 203, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 222, 245, 247, 256, 266, 277, 281, 282, 293, 296, 326, 338, 446, 496, 498
E. cowanii, 253
E. dispar, 43
E. dissolvens, 253
E. durans, 43
E. faecalis, 41, 42, 43, 44
E. faecium, 41, 42, 43, 44
E. fergusonii, 213
E. flavescens, 42
E. gallinarum, 42
E. gergoviae, 253
E. gilvus, 42
E. hermannii, 213
E. hirae, 43
E. hormaechei, 253
E. intermedius, 253
E. kobei, 253

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

E. malodoratus, 42
E. mundtii, 42
E. nimipressuralis, 253
E. pallens, 42
E. pseudoavium, 42
E. pyrinus, 253
E. raffinosus, 42
E. ratti, 43
E. saccharolyticus, 42
E. sakazakii, 253
E. sulfureus, 43
E. taylorae, 253
E. vulneris, 213
EAEC, 212, 214, 216, 217
EHEC, 214, 217, 218
EIEC, 205, 208, 213, 214, 215, 217, 281
Enterobacter, 20, 202, 204, 213, 248, 252, 253, 254, 255
Enterobacteriaceae, 10, 83, 198, 201, 202, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 243, 263, 294
Enterococcus, 41, 42, 44, 55
EPEC, 214, 216, 218
Escherichia, 18, 202, 204, 211, 213, 376
ETEC, 203, 205, 208, 214, 215, 217

F

Flavimonas *oryzihabitans*, 325

G

Gelatinase, 242, 248, 257, 258
Glucose, 11, 100, 114, 213, 269, 270, 271, 272, 283, 337, 398
Glucose / Hur, 270, 271
Glucose acid, 213

H

H. actinomychis, 421
H. aphrophilus, 337, 378
H. bilis, 421
H. bizzozeronii, 421
H. bovis, 421
H. canadensis, 421
H. canis, 421
H. cetorum, 421
H. cholecystus, 421
H. cinaedi, 418, 422
H. ducreyi, 337, 375, 376
H. felis, 421
H. fennelliae, 422
H. garmani, 422
H. haemolyticus, 337
H. heilmannii, 421
H. hepaticus, 422
H. influenzae, 73, 74, 86, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344
H. mainz, 422
H. marmotae, 422
H. mesocricetorum, 422
H. muridarum, 422
H. mustelae, 421
H. nemestrinae, 421
H. pametensis, 422
H. parahaemolyticus, 337
H. parainfluenzae, 337
H. paraphrophilus, 337
H. pullorum, 422
H. pylori, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427
H. rappinii, 422
H. rodentium, 422
H. salomonis, 421
H. segnis, 337
H. suis, 421
H. suncus, 421
H. trogontum, 422
H. typehlonius, 422
H. westmeadii, 422
H. winghamensis, 422
H_2S, 113, 151, 199, 213, 221, 222, 233, 242, 248, 252, 255, 257, 258, 270, 271, 292, 366, 368, 468, 476
Haemophilus, 64, 96, 330, 336, 337, 338, 345, 346, 372, 375, 380, 381, 391, 451, 503
Helicobacter, 391, 417, 421, 427

I

Indole, 11, 213, 234, 242, 248, 257, 258, 270, 271, 272
Inositol, 11, 257, 258, 283

K

K. aerogenes, 249
K. granulomatis, 249
K. ornitholytica, 249
K. oxytoca, 249
K. ozanae, 249
K. planticola, 249
K. pneumoniae, 248, 249, 250, 252
K. rhinoscleromatis, 249
K. terrigena, 249
Klebsiella, 20, 35, 201, 202, 204, 213, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 311, 327

L

L. alexanderi, 433
L. biflexa, 432, 434
L. borgpetersenii, 433
L. fainai, 433
L. grayi subsp. grayi, 151
L. grayi subsp. murrayi, 151
L. inadai, 433, 434
L. innocua, 150, 151
L. interrogans, 432, 433, 434
L. ivanovii, 150, 151, 160
L. kirschneri, 433
L. meyeri, 434
L. monocytogenes, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161
L. noguchii, 433
L. santarosai, 434
L. seeligeri, 150, 151, 152, 160
L. weilii, 434
L. welshimeri, 150, 151, 152
L. wolbachii, 434
Lactose, 31, 32, 100, 213, 270, 271, 273, 283, 337
Legionella *pneumophila*, 407, 414
Lên men, 46, 62, 116, 199, 234, 242, 243, 249, 255, 260, 262, 270, 279, 283, 337, 396, 468
Leptospira, 13, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 456, 457
Lipase, 257, 258, 283
Listeria, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161
Lysine decarboxylase, 213, 221, 242, 248, 249

M

M. avium, 162, 165, 179
M. bovis, 162, 163, 165, 168, 169, 170
M. chenolei, 162
M. kansasii, 178, 179
M. microti, 162, 163, 168
M. pneumoniae, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413
M. tuberculosis, 162, 163, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 175, 178, 187, 192
MAEC, 214
Maltose, 100, 114, 257, 258
Mannitol, 11, 42, 53, 151, 270, 283
Mannose, 257, 258, 270, 274, 337
Moraxella catarrhalis, 63, 64, 65, 72, 74, 78
Morganella *morganii*, 257
Mycobacterium, 17, 21, 106, 107, 108, 109, 111, 115, 162, 163, 164, 165, 167, 168, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 188, 375
Mycoplasma, 394, 395, 396, 397, 398, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 412, 413, 414, 501, 504

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

N

N. abscessus, 190, 191
N. africana, 191
N. aobensis, 191
N. asiatica, 191
N. asteriodes, 183
N. beijingensis, 191
N. brasiliensis, 181, 182, 184, 190
N. brevicatena, 190, 191
N. carnea, 191
N. cyriacigeorgica, 190, 191
N. farcinica, 185, 191, 192
N. gonorrhoeae, 101
N. kruczakiae, 191
N. madurae, 184
N. meningitidis, 80, 81, 83, 85, 92
N. mexicana, 191
N. niigatensis, 191
N. nova, 190, 191
N. otidiscaviarum, 181, 190
N. paucivoran, 191
N. pseudobrasiliensis, 190, 191
N. transvalensis, 185, 190, 191
N. veterana, 191
Neisseria, 63, 64, 66, 71, 75, 79, 80, 82, 83, 90, 92, 93, 98, 105, 218

O

OF, 292, 309
ONPG, 11, 64, 213, 221, 222, 234, 275, 373
Ornithine decarboxylase, 213, 242, 248, 257
Oxidase, 11, 151, 269, 270, 271, 272, 279, 283, 384, 415

P

P. aeruginosa, 123, 232, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 311, 330
P. fluorescens, 291
P. heimbachae, 258
P. mirabilis, 257
P. penneri, 257
P. putida, 291
P. rettgeri, 257, 258
P. rustiganii, 258
P. shigelloides, 278, 279, 281, 282, 283, 284, 285
P. stutzeri, 315
P. vulgaris, 257
Plesiomonas, 235, 260, 272, 277, 278, 279, 281, 282, 283, 284, 285
Proteus, 202, 204, 256, 257, 258, 259, 273, 278, 426, 483, 486, 490
Providencia, 202, 256, 257, 258, 259
Pseudomonas, 18, 232, 278, 288, 290, 291, 304, 305, 306, 311, 319, 324, 325

R

R. akari, 486, 487, 489
R. australis, 486
R. conorii, 486
R. japonica, 486
R. prowasekii, 486, 491, 492
R. rickettsii, 484, 486, 487
R. siberica, 486
R. typhi, 484, 486, 487, 489
Rhamnose, 11, 151, 191, 257, 258
Rickettsia, 258, 384, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 511

S

S. agalactiae, 24, 27, 28
S. aureus, 43, 45, 46, 47, 53, 54, 55, 57, 61, 62, 151, 160, 184, 215, 296, 299, 339
S. boydii, 234, 235
S. canis, 24, 28
S. choleraesuis, 222, 224, 225, 227
S. crista, 30, 31
S. dublin, 227
S. enteritidis, 223, 224, 225, 227
S. epidermidis, 45, 54, 58, 60, 61, 62
S. equi, 24, 27, 28
S. flexneri, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239
S. gallinarum, 221, 222
S. infantis, 30
S. macacae, 30, 32
S. mitis, 30, 31
S. mutans, 30
S. oralis, 30, 31
S. orisratti, 30
S. paratyphi A, 221, 222, 223, 224, 225, 229, 232
S. paratyphi B, 222, 224, 225, 229, 232
S. paratyphi C, 222, 224, 225, 229, 232
S. perosis, 30
S. pullorum, 221, 222
S. ratus, 30
S. sanguis, 30, 31
S. sobrinus, 30, 32
S. sonnei, 233, 234, 235, 237, 238, 239
S. typhi, 201, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 227, 228, 229, 231, 232
S. typhimurium, 223, 224, 225, 227, 229
S. vestibularis, 30, 31
S. virchow, 227
Saccharose, 269, 270, 271, 272, 274, 283
Salicin, 257, 258, 270
Salmonella, 10, 18, 35, 202, 204, 206, 208, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 238, 247, 256, 370, 386, 429, 497
Shigella, 10, 112, 202, 204, 205, 208, 216, 221, 222, 229, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 247, 265, 266, 278, 281, 376, 429
Sorbitol, 11, 28, 31, 32, 42, 191, 213
Sphingobacterium, 325
Staphylococcus, 45, 51, 58, 140, 160, 170
Streptococcus, 23, 33, 34, 41, 45, 73, 160, 345
Sucrose, 11, 42, 100, 213, 268, 270, 337

T

Trehalose, 28, 113, 114, 257, 258
Treponema pallidum, 443, 444, 452, 453, 465, 503

U

UPEC, 214, 218
Urease, 11, 114, 151, 191, 242, 248, 249, 257, 258, 270, 271, 340

V

V. alginolyticus, 261, 269, 271, 272
V. carchariae, 269
V. cholerae, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 282, 283
V. cincinnatiensis, 268, 269
V. damsela, 261
V. fluvialis, 261, 269
V. furnissii, 269
V. hollisae, 268, 269
V. metschnikovii, 261, 268, 269
V. mimicus, 261, 263, 267, 269, 276, 277
V. parahaemolyticus, 261, 263, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 275, 277
V. vulnificus, 261, 263, 266, 268, 269, 270, 275, 277
Vibrio, 137, 260, 261, 262, 263, 266, 267, 268, 269, 276, 277, 283
Vibrionaceae, 260, 283
Voges-Proskauer, 11, 28, 213, 242, 248, 249, 270, 271

X

Xylose, 151, 257, 258

Y

Y. enterocolitica, 242, 243, 244, 245, 246, 247
Y. pestis, 241, 242, 243, 244, 246
Y. pseudotuberculosis, 242, 243, 244, 245, 246, 247
Yersinia, 149, 202, 204, 206, 241, 242, 243, 247

THƯ VIỆN HUBT
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ