

Chương 39. Campylobacter và Helicobacter

Nội dung

39.1.	Giới thiệu	3
39.2.	Campylobacter.....	3
39.3.	Đặc điểm sinh học	4
39.3.1.	Hình thái	4
39.3.2.	Phản ứng sinh hóa	5
39.3.3.	Nuôi cấy	5
39.3.4.	Các đặc tính hóa khác	6
39.3.	Đặc điểm gây bệnh	7
39.3.1.	Các yếu tố gây độc	7
39.3.2.	Phát sinh bệnh do <i>C. jejuni</i>	7
39.3.3.	Phát sinh bệnh do <i>C. fetus</i>	8
39.3.4.	Hội chứng lâm sàng.....	8
39.4.	Miễn dịch của cơ thể chủ.....	10
39.5.	Dịch tễ học.....	10
39.5.1.	Phân bố về địa lý	10
39.5.2.	Môi trường sống.....	10
39.5.3.	Nguồn gốc và lan truyền	10
39.6.	Phát hiện ở phòng thí nghiệm.....	11
39.6.1.	Mẫu vật.....	12
39.6.2.	Kiểm tra dưới kính hiển vi	13
39.6.3.	Nuôi cấy	13
39.6.4.	Định danh vi khuẩn	14
39.6.5.	Mô học.....	16
39.6.6.	Chẩn đoán bằng huyết thanh	16
39.6.7.	Phương pháp phân tử	16

39.7.	Điều trị	16
39.8.	Ngăn ngừa và kiểm soát	17
39.9.	Helicobacter	17
39.11.	Đặc điểm của vi khuẩn	17
39.11.1.	Hình thái	17
39.11.2.	Nuôi cấy	17
39.11.3.	Phản ứng sinh hoá.....	18
39.12.	Đặc điểm gây bệnh	18
39.12.1.	Các yếu tố gây độc.....	18
39.12.3.	Dịch tể học	21
39.12.4.	Phát hiện tại phòng thí nghiệm	22
39.12.5.	Điều trị	24
39.12.6.	Ngăn chặn và kiểm soát.....	24
39.13.	Các loài <i>Helicobacter</i> khác.....	24

39.1. Giới thiệu

Họ Campylobacteriaceae gồm hai chi quan trọng gây bệnh cho người là: *Campylobacter* và *Helicobacter*. Các chi thuộc họ Campylobacteriaceae là những trực khuẩn xoắn, Gram âm. DNA có tỷ lệ base guanosine và cytosine thấp. Chúng là những vi khuẩn vi hiếu khí và chỉ tăng trưởng trong môi trường có sự hiện diện nồng độ oxygen giảm. Chúng không có khả năng oxi hoá hay lên men đường.

39.2. Campylobacter

Bệnh do *Campylobacter* là một trong những bệnh xâm nhiễm phổ biến ở người do vi khuẩn. Khuẩn này có thể gây bệnh tiêu chảy và nhiễm trùng toàn thân. Tên *Campylobacter* xuất phát từ tiếng Hy Lạp là *Kampylos* có nghĩa là hình que cong. Giống như chi *Vibrio*, chi *Campylobacter* là trực khuẩn cong, Gram âm, có khả năng di động bằng tiên mao đỉnh và có phản ứng oxidase dương. Tuy nhiên chúng khác với *vibrio* ở các đặc điểm sau (a) là vi khuẩn vi hiếu khí, (b) không lên men carbohydrate và (c) hàm lượng guanosine và cytosine trong DNA thấp hơn.

Các loài *Campylobacter* có thể gây tiêu chảy từ nhẹ đến nghiêm trọng, đi phân ra nước và thường theo sau là tiêu chảy ra máu. *C. jejuni*, *C. coli*, và *C. lari* chiếm hơn 99% các chủng phân lập ở người, trong đó *C. jejuni* là 90%. Các loài khác có liên quan đến bệnh ở người cũng đã được báo cáo trong những năm gần đây.

Giống *Campylobacter* gồm 18 loài và loài phụ, trong số đó có 11 loài gây bệnh cho người. Những loài này gây bệnh đường ruột và ngoài đường ruột. *Campylobacter jejuni* và *Campylobacter fetus* là hai loài quan trọng nhất gây bệnh ở người. Chi tiết về các loài gây bệnh *Campylobacter* ở người được trình bày tại Bảng 39.1.

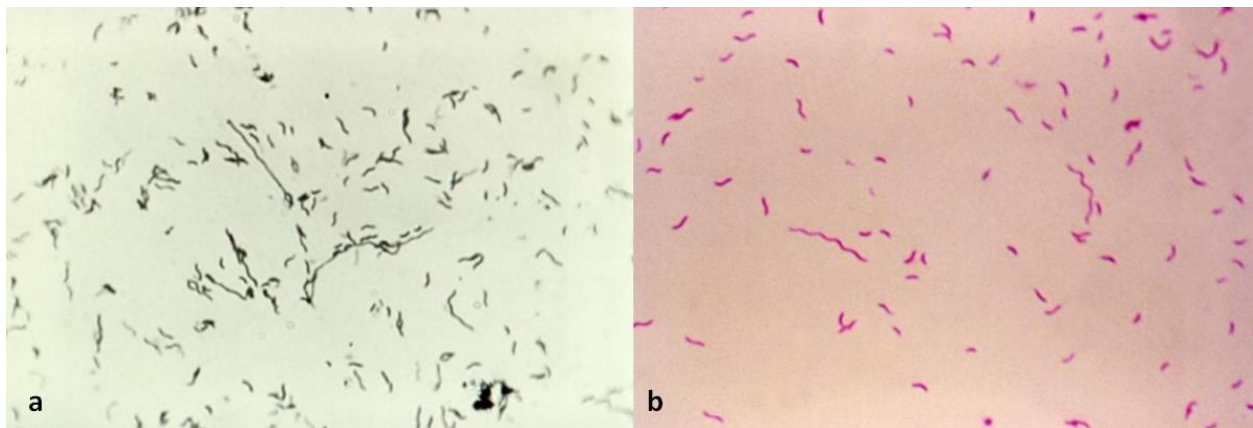
Bảng 39.1. Bệnh ở người do các loài *Campylobacter* gây ra.

Vi khuẩn	Bệnh
<i>Campylobacter jejuni</i>	Viêm dạ dày ruột, nhiễm trùng máu (septicemia), viêm màng não, viêm trực tràng và hội chứng Guillain–Barre
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>doyle</i>	Viêm dạ dày ruột, viêm dạ dày và nhiễm trùng máu (septicemia)

<i>Campylobacter fetus</i>	Viêm dạ dày ruột, nhiễm trùng máu (septicemia), viêm màng não, viêm trực tràng
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Nhiễm trùng máu (septicemia)
<i>Campylobacter coli</i>	Viêm dạ dày ruột, nhiễm trùng máu (septicemia), viêm màng não và sảy thai tự phát
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Viêm dạ dày ruột, nhiễm trùng máu (septicemia) và áp xe
<i>C. hyointestinalis</i>	Viêm dạ dày ruột
<i>Campylobacter showae</i>	Bệnh nha chu
<i>Campylobacter curvus</i>	Bệnh nha chu
<i>Campylobacter rectus</i>	Bệnh nha chu
<i>Campylobacter concisus</i>	Bệnh nha chu và viêm dạ dày ruột
<i>Campylobacter lari</i>	Viêm dạ dày ruột và nhiễm trùng máu (septicemia)

39.3. Đặc điểm sinh học

39.3.1. Hình thái

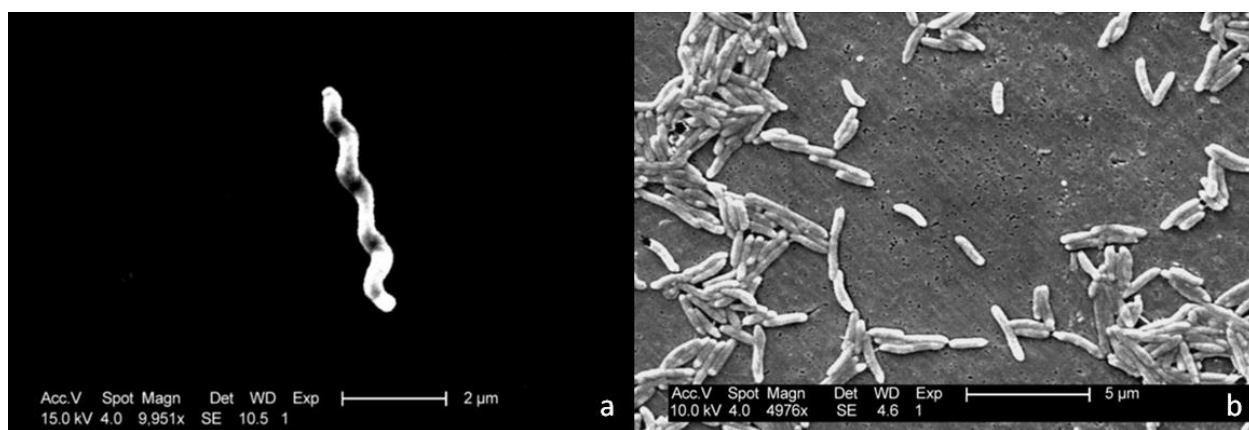


Hình 39.1. Campylobacter dưới kính hiển vi. (a). *C. jejuni* sau 48 giờ biểu hiện đặc điểm có dạng mỏng, hình dấu phẩy, hình chữ S. (b). Hình ảnh nhuộm Gram thể hiện hình que xoắn của vi khuẩn *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* sau 18 giờ trên môi trường thạch BHI có bổ sung 7% máu thỏ (CDC).

Campylobacter là vi khuẩn hình que nhỏ, mỏng, dạng phẩy, Gram âm (Hình 39.1). Kích thước của chúng có chiều rộng dao động từ 1.5-5 μm (Hình 39.2). Chúng biểu hiện đặc tính di chuyển nhanh và xoáy như mũi tên nhờ một tiên mao dính dính tại một hoặc

cả hai đầu cực (Hình 39.3). Chúng thường kết hợp với nhau để hình thành hình dạng zigzag. *Campylobacter* là vi khuẩn không sinh bào tử.

Môi trường chọn lọc cho các loài *Campylobacter* là môi trường thạch máu cơ bản có chứa kháng sinh như môi trường Skirrow's và Butzler, môi trường chọn lọc BAP cho *Campylobacter* (Campy- BAP). Trên các môi trường này, *Campylobacter* hình thành khuẩn lạc có hình dạng rõ ràng sau 48 giờ ủ. *C. jejuni* hình thành khuẩn lạc ẩm ướt, màu xám hoặc không màu, dạng dẹt và không tiêu huyết (Hình 39.3b). Các loài *Campylobacter* khác hình thành khuẩn lạc tròn và lồi.



Hình 39.2. Ảnh Capylobacter dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM). (a). *Campylobacter jejuni*, độ phóng đại 9.951x; (b). *Campylobacter fetus*, độ phóng đại 4.976x (CDC).

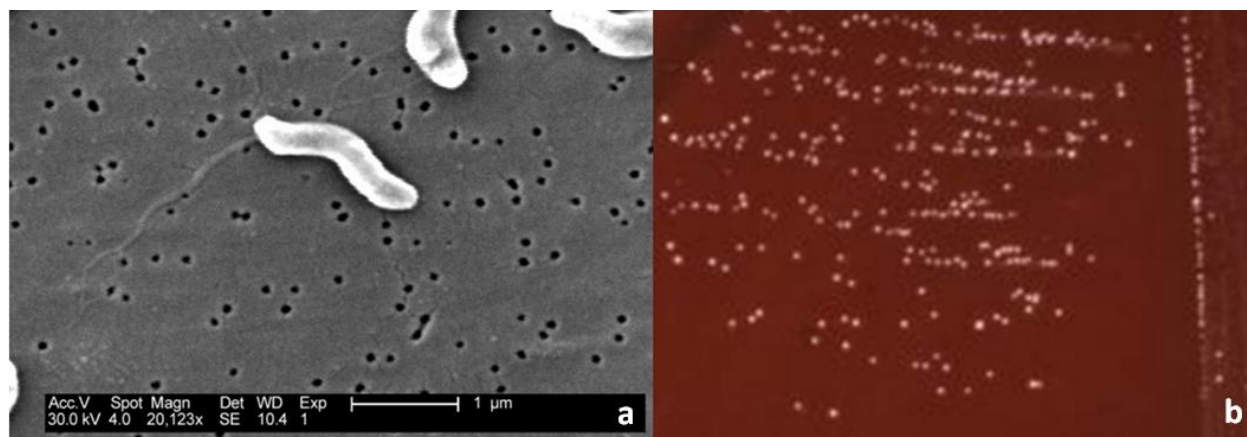
39.2.2. Phản ứng sinh hóa

Campylobacter thường có các phản ứng sinh hoá chậm. Khuẩn này không sinh indole, có oxidase và catalase dương ngoại trừ *C. jejuni* subsp. *doyle* và có khả năng khử nitrate thành nitrite. *C. jejuni* là loài thủy giải được sodium hippurate.

39.2.3. Nuôi cấy

Campylobacter spp. tăng trưởng chậm hơn các vi khuẩn đường ruột khác. Chúng là vi khuẩn vi hiếu khí, để tăng trưởng được khuẩn này đòi hỏi không khí phải có nồng độ oxygen giảm chỉ còn 5% và nồng độ carbon dioxide tăng chiếm khoảng 5 - 10%. Hầu hết các loài như *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* và *C. hyointestinalis* tăng trưởng tốt ở 42°C, vì vậy chúng được gọi là trực khuẩn ưa nhiệt.

C. jejuni có thể sống sót từ 2 - 4 tuần dưới điều kiện ẩm ướt, hàm lượng oxygen giảm, ở 4°C, ngoại trừ các sản phẩm sữa nguyên liệu, khuẩn này thường tồn tại lâu hơn vòng đời của sản phẩm. Chúng cũng có thể sống sót từ 2 - 5 tháng ở -20°C, nhưng chỉ tồn tại một vài ngày ở nhiệt độ phòng. Các stress của môi trường như phơi nhiễm trong không khí, làm khô, pH thấp, gia nhiệt, đông lạnh, và thời gian bảo quản kéo dài, sẽ làm các tế bào tổn thương và cản trở sự phục hồi ở mức độ lớn hơn so với hầu hết vi khuẩn khác. Các chủng già hơn bị stress trở nên dạng cầu khuẩn và dần khó nuôi cấy. Các yếu tố dập tắt oxygen trong môi trường như hemin và charcoal cũng như môi trường vi hiếu khí và tiền tăng sinh có thể cải thiện đáng kể sự phục hồi.



Hình 39.3. Hình ảnh *Campylobacter jejuni* (a) dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM), độ phóng đại 20,123x thấy rõ tiên mao đỉnh (CDC). (b). Khuẩn lạc *Campylobacter jejunii* trên môi trường Skirrow's và Butzler's.

39.2.4. Các đặc tính hóa khác

Campylobacter jejuni có thể tồn tại trong pha muối có thể nước (A_w) là 0,987, phần trăm (%) nước cực đại trong muối NaCl là 1,7. Chúng tăng trưởng trong khoảng pH từ 4,9 - 9,5, khoảng nhiệt độ từ 30°C - 45°C, cần oxygen tối thiểu (vi hiếu khí) để tăng trưởng

Campylobacter spp. tồn tại nhiều tuần ở 4°C trong môi trường vận chuyển Cary - Blair. *Campylobacter* spp. nhạy cảm với hydrochloric acid trong dạ dày và vì vậy các trường hợp làm giảm hay làm trung hoà acid dạ dày sẽ làm cho số lượng hay liều vi khuẩn gây bệnh cũng sẽ thấp đi.

39.3. Đặc điểm gây bệnh

Các loài *Campylobacter* có tính xâm nhiễm cao. Liều xâm nhiễm của *C. jejuni* trong khoảng 500 -10.000 tế bào, phụ thuộc vào chủng, sự tổn thương tế bào do các stress môi trường và tính nhạy cảm của cơ thể chủ. Chỉ có *C. fetus* ưa nhiệt trung bình (mesophilic) thì xâm nhiễm bình thường. Các loài ưa nhiệt (thermophilic) có nhiệt độ tối thích ở 42°C như *C. jejuni* thì thỉnh thoảng mới xâm nhiễm.

Các loài *Campylobacter* là vi khuẩn xâm nhiễm. Ở người chúng gây ra hai loại bệnh chính đó là bệnh đường ruột và bệnh ngoài đường ruột. Loài gây bệnh đường ruột là *C. jejuni* và loài gây bệnh ngoài đường ruột là *C. fetus*. Bệnh do khuẩn này gây ra thường có các biểu hiện như viêm màng não (meningitis), viêm phổi (pneumonia), sảy thai (miscarriage), và một dạng nghiêm trọng của hội chứng Guillain-Barré. Các chủng chịu nhiệt (thermotolerant) của *C. fetus* tăng trưởng ở 42°C đã được phân lập từ các bệnh nhân.

39.3.1. Các yếu tố gây độc

C. jejuni có nhiều yếu tố quyết định độc tính như độc tố đường ruột, lipopolysaccharide (LPS), yếu tố dính và các enzyme gây độc tế bào. Tuy nhiên vai trò chuyên biệt của những yếu tố gây độc này trong phát sinh bệnh thì chưa được hiểu rõ. Tóm tắt về các yếu tố quyết định độc tính và chức năng sinh học của chúng được trình bày ở Bảng 39.2.

39.3.2. Phát sinh bệnh do *C. jejuni*

Bệnh xảy ra sau khi con người chúng ta nuốt phải vi khuẩn với liều lượng dao động từ 10^3 - 10^5 /tế bào, nhưng bệnh thường không xuất hiện khi liều xâm nhập nhỏ hơn 10^5 /tế bào. Ba cơ chế sau đây được công nhận trong phát sinh bệnh đường ruột do *C. jejuni* gây ra: (a) bám dính và sản sinh ra độc tố đường ruột không bền nhiệt, (b) vi khuẩn xâm lấn và nhân lên trong biểu mô ruột và (c) xâm lấn niêm mạc ruột và nhân lên.

(a). Bám dính và sản sinh ra độc tố đường ruột không bền nhiệt: *C. jejuni* dính lên tế bào biểu mô hay niêm dịch của hỗng tràng (jejunum), hồi tràng và ruột kết. Sự bám dính được làm dễ nhờ tiên mao. LPS hay các thành phần màng ngoài được cho là góp phần vào sự bám dính của vi khuẩn. PEB1 là một siêu kháng nguyên được phát hiện là

thành phần chính của protein dính, chất này được tìm thấy trong số các chủng *C. jejuni*. Hơn nữa độc tố đường ruột của *C. jejuni* là một loại độc tố đường ruột giống như độc tố tả không bền nhiệt, nó gây ra triệu chứng tiêu chảy trong quá trình gây bệnh do xâm nhiễm.

(b). Vi khuẩn xâm lấn và nhân lên trong biểu mô ruột: *C. jejuni* gây tổn thương mô đặc trưng trong bề mặt niêm mạc của hỗng tràng, hồi tràng và ruột kết. Vi khuẩn sẽ tạo ra sự khuếch tán, chảy máu, phù và viêm ruột tiết dịch. Sự thâm nhiễm lớp mô liên kết của màng nhầy xảy ra cùng với bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn và bạch cầu ưa eosin. Vi khuẩn này cũng liên quan đến chứng áp xe nang trong các tuyến nội mô và lở loét biểu mô niêm mạc. Vai trò chính của độc tố đường ruột và độc tố gây tác động làm thay đổi tế bào gây ra bệnh lý đường ruột thì vẫn chưa được hiểu rõ.

(c). Xâm lấn niêm mạc ruột và nhân lên: *C. jejuni* xâm lấn vào niêm mạc ruột và nhân lên trong lớp mô liên kết của niêm mạc và hạch bạch huyết mạc treo ruột. Đây là kết quả của sự xâm nhiễm ngoài đường ruột làm viêm túi mật, viêm hạch mạc treo, viêm đường tiết niệu và viêm màng não. Một lượng nhỏ các trường hợp bệnh do *C. jejuni* có liên quan đến hội chứng Guillain -Barre, hội chứng tiêu huyết tăng ure máu và hội chứng ban xuất huyết giảm tiểu cầu khối.

39.3.3. Phát sinh bệnh do *C. fetus*

C. fetus liên quan nhiều hơn đến bệnh xâm nhiễm toàn thân như du khuẩn huyết (bacteremia). Protein S được phát hiện có trong *C. fetus*, protein này là yếu tố gây độc chủ yếu. Protein ức chế C3b liên kết và có chức năng kháng huyết thanh và kháng lại sự thực bào vi khuẩn. Vì vậy nó làm cho vi khuẩn kháng được tác động diệt khuẩn của huyết thanh.

39.3.4. Hội chứng lâm sàng

Sự xâm nhiễm của *Campylobacter* spp. ở người có thể được phân thành hai nhóm phổ rộng chủ yếu sau: (a) xâm nhiễm đường ruột và (b) xâm nhiễm ngoài đường ruột.

39.3.4.1. Bệnh do xâm nhiễm đường ruột

C. jejuni là loài quan trọng nhất liên quan đến bệnh xâm nhiễm đường ruột ở người. Các loài *Campylobacter* khác cũng liên quan đến bệnh xâm nhiễm đường ruột;

Chi tiết các bệnh này được liệt kê ở Bảng 39.1. Các biểu hiện lâm sàng của bệnh xâm nhiễm đường ruột do tất cả các loài *Campylobacter* kể cả *C. jejuni* thì tương tự nhau. Tiêu chảy ra nước là biểu hiện chính và xảy ra khoảng 10% ở trẻ. Trường hợp này cũng liên quan đến đau bụng, khó chịu, đau cơ, nhứt đầu và nôn mửa. Trường hợp chỉ giới hạn cho *C. fetus* cũng gây tiêu chảy từng cơn và đau bụng không đặc trưng. *C. lari* cũng được báo cáo là gây tiêu chảy tái phát nhẹ ở trẻ. *C. upsaliensis* cũng có thể gây tiêu chảy.

Bảng 39.2. Các yếu tố quyết định độc tính của các loài *Campylobacter*.

Yếu tố gây bệnh	Chức năng sinh học
Độc tố đường ruột	Tạo thuận lợi cho vi khuẩn bám dính lên hồng tràng, hồi tràng và ruột kết
Lipopolysaccharide	Bám dính
PEB1	Siêu kháng nguyên được phát hiện là protein bám dính
Protein dính	Bám dính
Enzyme gây độc tế bào	Tác động gây độc cho tế bào
Protein S	Chỉ phát hiện trong <i>C. fetus</i> và là yếu tố gây độc chính. Ức chế C3b liên kết chịu trách nhiệm cho cả kháng huyết thanh và kháng lại sự thức bào vi khuẩn.

39.3.4.2. Bệnh ngoài đường ruột

(a). Du khuẩn huyết (bacteremia): là một trong những biểu hiện quan trọng nhất. Du khuẩn huyết do *C. jejuni* gây ra thì không phổ biến và xuất hiện ở những bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch, bị bệnh mạn tính và những cá thể lớn tuổi. Nhiễm trùng máu và du khuẩn huyết (bacteremia) do *C. fetus* thì hiếm khi xảy ra.

(b). Nhiễm khuẩn trong thời kỳ mang thai: *C. fetus* là loài *Campylobacter* quan trọng nhất được biết gây bệnh trong thai kỳ do tính ái lực của nó đối với tuyến sinh dục và cũng do tính hướng kích thích của khuẩn này đối với mô thai. Các triệu chứng như sảy thai, phôi thai chết và sinh non là những biểu hiện phổ biến. Sinh non biểu hiện những dấu hiệu và triệu chứng của nhiễm khuẩn huyết. *C. jejuni* hiếm khi liên quan đến nhiễm khuẩn trong thai kỳ. *C. hyointestinalis* đôi khi gây du khuẩn huyết (bacteremia) ở những cơ thể chủ bị suy giảm miễn dịch. Hội chứng Guillain–Barre, viêm khớp phản ứng, hội

chúng tan huyết tăng urea máu (HUS) và hội chứng Reiter's là một số các biến chứng đáng chú ý liên quan đến bệnh do *Campylobacter* xâm nhiễm. Viêm khớp phản ứng là trường hợp khác được phát hiện ở những bệnh nhân dương tính với HLA-B27 thường phát hiện ở những bệnh nhân trẻ tuổi.

(c). Hội chứng Guillain–Barre: là một bệnh tự miễn (autoimmune disease) được cho là do có sự giống hệt nhau ở mức độ phân tử của tetrasaccharide tại đầu cuối thuộc LPS có trong *C. jejuni* và glycosphingolipid hiện diện trên bề mặt của thần kinh ngoại biên. Đây là bệnh thần kinh ngoại biên và có đặc điểm là làm liệt lên (ascending paralysis). Một kiểu huyết thanh hiếm gặp của *C. jejuni* được gọi là Penner (LPS type O: 19) có liên quan đến trường hợp này.

39.4. Miễn dịch của cơ thể chủ

Sự xâm nhiễm cấp tính do *C. jejuni* làm cho miễn dịch phát triển các kháng thể chuyên biệt như IgG, IgM và IgA trong huyết thanh và kháng thể IgA trong dịch tiết của ruột. Cả hai miễn dịch dịch thể và miễn dịch qua trung gian tế bào đều quan trọng để ngăn chặn và chấm dứt sự xâm nhiễm do *C. jejuni*.

39.5. Dịch tễ học

Bệnh xâm nhiễm do *Campylobacter* rất phổ biến trên thế giới.

39.5.1. Phân bố về địa lý

Tỷ lệ chính xác bệnh mắc phải do *Campylobacter* thì không biết do bệnh không được chú ý. Ở Hoa Kỳ mỗi năm ước khoảng có 2 triệu trường hợp viêm ruột do *Campylobacter*, trong đó 57% các trường hợp viêm dạ dày ruột.

Tỷ lệ trung bình của nhiễm khuẩn huyết do *Campylobacter* ở các nước phát triển ước khoảng 1,5/1.000 bệnh nhân bị viêm ruột. Ở các nước đang phát triển mặc dù dữ liệu chính xác thì không có nhưng *C. jejuni* thường được phân lập từ phân ở trẻ ở độ 5 tuổi.

39.5.2. Môi trường sống

Ở người bị nhiễm, *C. jejuni* sống trong tá tràng, hồng tràng và ruột kết. *C. fetus* sống trong tuyến sinh dục của người mẹ bị nhiễm.

39.5.3. Nguồn gốc và lan truyền

Campylobacter có trong tuyến tiêu hóa của nhiều động vật hoang dã và thuần

dưỡng nhất là các loài chim. Ở người, khuẩn này có thể thiết lập trạng thái mang khuẩn tạm thời không có triệu chứng, cũng như gây bệnh. Tình trạng này phổ biến ở các nước đang phát triển. Mỗi năm có đến 70% các trường hợp bị bệnh ở người do liên quan đến việc tiêu thụ thực phẩm và nước bị ô nhiễm từ chất thải của động vật và người chưa qua xử lý. Thực phẩm có liên quan gồm sữa chưa qua thanh trùng Pasteur, thịt, gia cầm, nhuyễn thể, trái cây và rau.

Bệnh do *Campylobacter* là bệnh lây nhiễm từ động vật. Các động vật bị nhiễm là nguồn xâm nhiễm chính. Nguồn động vật chính là chó, mèo, các động vật cảnh khác mang vi khuẩn trong tuyến dạ dày ruột. Thực phẩm có nguồn gốc từ động vật bị nhiễm là nguồn xâm nhiễm. Sự lan truyền *C. jejuni* vào người xảy ra theo các phương cách sau:

(1). Sự lan truyền xảy ra phổ biến nhất là từ động vật bị nhiễm và thực phẩm có nguồn gốc từ động vật bị nhiễm. Hầu hết bệnh ở xảy ra là do chúng ta sử dụng phải các sản phẩm thịt gia cầm bị nhiễm và nấu chưa chín. Gà bị nhiễm có thể chiếm 50 - 70% các trường hợp nhiễm. Bệnh xâm nhiễm cũng xảy ra do sữa tươi bị nhiễm hay sữa không qua thanh trùng Pasteur,

(2). Sự xâm nhiễm cũng có thể được lan truyền từ động vật, người bị nhiễm qua đường phân miệng, do sự tiêu thụ thực phẩm và nước bị nhiễm phân từ người và động vật bị nhiễm vi khuẩn này.

(3). Sự xâm nhiễm cũng có thể lan truyền từ người sang người qua tiếp xúc tình dục.

Xâm nhiễm *Campylobacter* xuất hiện ở tất cả các độ tuổi. Ở các nước đang phát triển, viêm ruột do *Campylobacter* rất phổ biến ở trẻ nhỏ hơn 5 tuổi. Ngược lại nhiễm khuẩn huyết do *Campylobacter* xuất hiện ở những bệnh nhân trên 65 tuổi. Viêm đường ruột do *Campylobacter* thường được phát hiện ở (a) những cá thể tiếp xúc với gia súc, cừu và động vật nuôi khác, (b) quan hệ tình dục đồng tính nam và (c) người ở phòng thí nghiệm. Nhiễm khuẩn huyết do *Campylobacter* thường phát hiện ở (a) người bị suy giảm miễn dịch, (b) người bị bệnh tiểu đường và người nghiện rượu và (c) phụ nữ mang thai.

39.6. Phát hiện ở phòng thí nghiệm

Phát hiện bệnh xâm nhiễm do *Campylobacter* được khẳng định bằng cách phân

tích vi khuẩn trong mẫu phân hay phân lập vi khuẩn bằng cách nuôi cấy.

Phát hiện *Campylobacter* trong mẫu thực phẩm thường trải qua các bước tăng sinh, phân lập và khẳng định sinh hóa.

39.6.1. Mẫu vật

Mẫu bệnh phẩm: mẫu phân tiêu chảy được chỉ định phân tích nhiễm khuẩn đường ruột. Mẫu phết trực tràng cũng được sử dụng. Các mẫu khác gồm máu, dịch cơ thể và mô được sử dụng để phân tích sự xâm nhiễm ngoài đường ruột. Khi chưa phân tích kịp mẫu phân và mẫu phết trực tràng cần lưu giữ trong môi trường vận chuyển trong Cary - Blair. Trong môi trường này, *Campylobacter* spp. sống sót từ 1 - 2 tuần ở 4°C.

Mẫu thực phẩm: thực phẩm ở nhiệt độ mát, *Campylobacter* spp. có thể sống sót, nhưng không nhân lên trong 1-3 tuần, nhất là thực phẩm trong các vật chứa ngăn không khí xâm nhập (ngoại trừ sữa nguyên liệu). Số lượng tế bào của khuẩn này giảm 2 log nếu đông ở -20°C, nhưng vi sinh vật sống sót có thể được phục hồi từ tháng thứ 5. Khi bao gói đã mở, mẫu phân tích *Campylobacter* cần tiến hành ngay; việc oxygen xâm nhập vào sẽ gây stress đáng kể cho các tế bào *Campylobacter* yếu.

Việc sản sinh enzyme trung hòa oxygen sẽ giảm trong điều kiện vi hiếu khí điều này rất cần thiết để giữ cho các tế bào bị stress tránh bị tác động xấu hơn nữa. Để khắc phục vấn đề này các hợp chất dập tắt oxygen như FBP, hemin, máu và/hoặc charcoal được thêm vào môi trường. Môi trường được chuẩn bị có thể sẽ hấp thu oxygen trong suốt quá trình bảo quản; vì vậy nên sử dụng môi trường mới nếu có thể. Đối với môi trường cơ bản dạng lỏng khi chuẩn bị cần được bảo quản trong vật chứa có nắp vặn chặt và tránh ánh sáng vì hemin nhạy với ánh sáng và môi trường dạng này có thể bảo quản được trên 2 tháng. Bảo quản môi trường thạch có chứa FPB tránh ánh sáng, ở nhiệt độ mát.

Cả mẫu ban đầu và mẫu pha loãng 1:10 cần được sử dụng để tăng sinh khi mẫu có một lượng lớn hệ vi khuẩn nền với đa dạng các loài. Với mẫu pha loãng cần sử dụng kháng sinh để hiệu quả hơn và tế bào *campylobacter* có thể sử dụng một cách hiệu quả không khí có hàm lượng oxygen thấp. Nếu mẫu nghi ngờ có nhiều vi khuẩn nền nên pha loãng 1:10 để tăng sinh.

39.6.2. Kiểm tra dưới kính hiển vi



Kính hiển vi trường kính tối hay kính hiển vi pha đảo được sử dụng để soi tươi mẫu phân. Vi khuẩn được xác định nhờ sự di động đặc trưng như mũi tên. Gram âm, hình que cong.

Hình 39.4. *Campylobacter jejuni* dưới kính hiển vi pha đảo. Nguồn (FSIS).

39.6.3. Nuôi cấy

Mẫu phân: để xác định bệnh đường ruột do *Campylobacter*, cách tốt nhất là phân lập vi khuẩn này từ phân. Nuôi cấy *C. jejuni* từ phân đòi hỏi phải có môi trường chọn lọc đặc biệt như: môi trường Butzler, môi trường Skirrow, môi trường chọn lọc Preston's *Campylobacter* và môi trường Blaser (Campy-BAP). Môi trường chọn lọc chứa kháng sinh ức chế sự tăng trưởng các vi khuẩn phân khác. Mẫu phân tươi thu thập trong vòng 24 giờ được cấy trực tiếp trên những môi trường này. Tuy nhiên đối với mẫu phân cũ cần phải làm giàu trước trên môi tăng sinh như môi trường tăng sinh lỏng Preston *campylobacter* ít nhất trong 24 giờ ở 4°C trước khi cấy lên môi trường chọn lọc, sau đó ủ ở 42°C trong 48 giờ trong điều kiện có 5% O₂ và 10% CO₂. Nếu có các loài nghi ngờ như *C. fetus* hay loài *Campylobacter* khác, mẫu phân cần cấy trên môi trường không có kháng sinh và ủ ở 37°C. Các mẫu ngoài đường ruột như máu, dịch cơ thể và mô có thể cấy vào môi trường thường dùng để phân lập các loài *Campylobacter*.

Đối với mẫu thực phẩm: do thực phẩm đã trải qua quá trình chế biến nên có những tác động về vật lý và môi trường làm cho *Campylobacter* bị stress và tế bào sẽ yếu hơn so với điều kiện bình thường. Vì vậy cần phải tiến hành các bước tiền tăng sinh và tăng sinh để phục hồi sinh lý vi khuẩn trước khi phân lập và xác định loài chính xác.

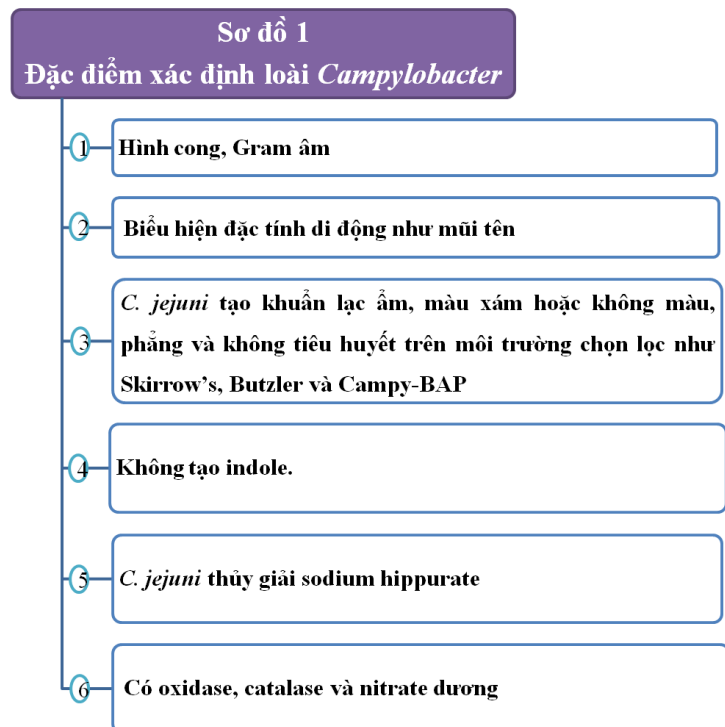
Phát hiện *Campylobacter* trong mẫu thực phẩm bằng cách tiền tăng sinh trong môi trường lỏng Bolton có máu ngựa đã ly giải và bổ sung kháng sinh và ủ trong điều kiện vi hiếu khí ở 37°C trong 4 giờ nếu là thực phẩm đã được sản xuất trong 10 ngày hoặc nếu mẫu là sản phẩm từ sữa; ủ ở 30°C trong 3 giờ và 37°C trong 2 giờ nếu là mẫu thực phẩm

đã bảo quản lạnh trên 10 ngày, mẫu nước và nhuộm thể nhằm giúp khuẩn *Campylobacter* có trong mẫu phục hồi tốt hơn. Sau đó mẫu tiếp tục ủ ở 37°C nếu phân tích *C. fetus* và ở 42°C cho các loài chịu nhiệt, thời gian ủ tùy thuộc vào mẫu và điều kiện ủ có lắc hay không lắc. Điều kiện ủ có lắc, tất cả các mẫu thời gian ủ từ 23 - 24 giờ, mẫu nhuộm thể 27 - 28 giờ, sản phẩm từ sữa là 48 giờ. Điều kiện ủ không lắc, 28 - 29 giờ cho tất cả các mẫu, mẫu nhuộm thể 48 giờ. Thời gian ủ để tăng sinh *C. fetus* là 48 giờ trong điều kiện có lắc hoặc 52 giờ trong điều kiện không có lắc.

Hiện có ba phương pháp ủ chính thường được sử dụng để tạo điều kiện vi hiếu khí nhằm tăng sinh khuẩn *Campylobacter* đó là (a) hệ thống tạo sủi bọt hỗn hợp khí qua dung dịch, hệ này cũng có thể kết hợp với thiết bị tạo lắc trong quá trình ủ, (b) hệ thống lắc để môi trường tăng sinh kết hợp với khí, sử dụng các túi hàn kín miệng và có truyền khí hoặc sử dụng bình Erlen có truyền hỗn hợp khí để tạo môi trường vi hiếu khí và (c) hệ bình kỵ khí (anaerobic jar) làm thay đổi môi trường không khí trong điều kiện ủ.

Sau khi tăng sinh, cấy chuyển sang môi trường thạch hoặc là Abeyta-Hunt-Bark hoặc là CCDA cải biên. Ủ trong điều kiện vi hiếu khí ở 42°C/ 24 - 48 h nếu là các loài

chịu nhiệt và 37°C/ 48 - 72 giờ nếu phân tích *C. fetus*.



39.6.4. Định danh vi khuẩn

Xác định sơ bộ khuẩn lạc được thực hiện nhờ đặc điểm nhuộm Gram, đặc điểm di động như mũi tên, thử nghiệm oxidase. Định danh mang tính chất quyết định được tiến hành bằng các thử nghiệm sinh hoá như sau: (1). Vi khuẩn có dạng hình que cong điển hình và Gram âm. (2). Biểu hiện tính di động đặc trưng như mũi tên.

(3). Trên môi trường chọn lọc Skirrow's, Butzler và Campy-BAP, *Campylobacter jejuni*

hình thành khuẩn lạc ẩm ướt, màu xám hay không màu, phẳng và không tiêu huyết. Trên môi trường thạch Abeyta-Hunt-Bark, khuẩn lạc *Campylobacter* có dạng tròn đến không đều có rìa nhẵn, màu trắng mờ, tăng trưởng trong suốt trong giống như màng mỏng. (4). Đặc tính sinh hoá biểu hiện chậm, khuẩn này không tạo indole (5). Chỉ có loài *C. jejuni* có khả năng thuỷ giải sodium hippurate (6). Có phản ứng nitrate dương, oxidase dương và catalase dương và nhiều đặt tính sinh hóa khác. Đặc tính sinh hoá của *Campylobacter* được tóm tắt ở Sơ đồ 1; Bảng 39.3. Liệt kê các đặc tính sinh hóa quan trọng để phân biệt các loài *Campylobacter*.

Bảng 39.3. Đặc điểm sinh hóa của các loài *Campylobacter*.

Đặc tính	Loài <i>Campylobacter</i>							
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. subsp. doylei</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. subsp. fetus</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. hyo-intestinalis</i>	" <i>C. upsaliensis</i> " ^(b)
Tăng trưởng ở 25°C	-	±	-	-	+		D	-0
Tăng trưởng ở 35-37°C	+	+	+	+	+		+	+
Tăng trưởng ở 42°C	+	±	+	+	D		+	+
Khử nitrate	+	-	+	+	+		+	+
3,5% NaCl	-	-	-	-	-		-	-
H ₂ S, lead acetate strip	+	+	+	+	+		+	+
H ₂ S, TSI	-	-	D	-	-		+(c)	-
Catalase	+	+	+	+	+		+	-
Oxidase	+	+	+	+	+		+	+
MacConkey's agar	+	+	+	+	+		+	-
Di động	+(81%)	+	+	+	+		+	+
Tăng trưởng trong 1%	+	+	+	+	+		+	+

glycine							
Sử dụng	-	-	-	-	-	-	-
glucose							
Thủy giải	+	+	-	-	-	-	-
hippurate							
Kháng	S ^(d)	S	S	R	R	R	S
naladixic acid							
Kháng	R	R	R	R	S ^(e)	S	S
cephalothin							

^c Một lượng nhỏ H₂S trên bề mặt nghiêng thạch TSI khi ủ <3 ngày.

^d *C. jejuni* kháng được nalidixic acid.

^e Chủng *C. fetus* subsp. *fetus* kháng được cephalothin.

Lưu ý: *C. hyointestinalis* đòi hỏi H₂ cho tăng trưởng mạnh và tăng trưởng rất chậm trong điều kiện có hỗn hợp khí O₂, CO₂, N₂. Nguồn BAM. FDA.

39.6.5. Mô học

Xét nghiệm soi nội tràng cho thấy chứng viêm trực tràng - đại tràng trên 80% bệnh nhân là do *Campylobacter* gây viêm ruột enteritis. Những thay đổi về mô gồm sưng phù (edema) niêm mạc và chứng sung huyết cùng với đó là sự hình thành áp xe hóc.

39.6.6. Chẩn đoán bằng huyết thanh

ELISA là kỹ thuật được áp dụng để chứng minh kháng thể đặc hiệu có trong huyết thanh và một lượng lớn kháng thể thường được phát hiện sau khi triệu chứng được giải quyết. Chẩn đoán bằng huyết thanh không được áp dụng như là phương pháp thường quy để chẩn đoán bệnh nhưng lại là kỹ thuật hữu ích trong nghiên cứu về dịch tễ học.

39.6.7. Phương pháp phân tử

Phương pháp phân tử bằng cách sử dụng mẫu dò DNA và kỹ thuật PCR được sử dụng để phát hiện bệnh đường ruột do *Campylobacter* cũng như phát hiện các loài *Campylobacter* có trong động vật cũng như trong thực phẩm. Tuy nhiên các thử nghiệm này không được sử dụng như là phương pháp thường quy.

39.7. Điều trị

Hầu hết bệnh do *C. jejuni* thường nhẹ và tự giới hạn. Vì vậy không đòi hỏi áp

dụng liệu pháp kháng sinh. Điều trị hỗ trợ là đủ. Điều trị bằng kháng sinh chỉ được khuyến cáo cho những trường hợp có các triệu chứng như: sốt, tiêu chảy ra máu hay có các triệu chứng kéo dài hơn 7 ngày và ở người bị suy giảm miễn dịch.

Erythromycin là kháng sinh được lựa chọn chỉ định điều trị. Ciprofloxacin và tetracycline là những kháng sinh được lựa chọn chỉ định thay thế, nhưng khuyến cáo không nên sử dụng các kháng sinh này cho trẻ nhỏ. Hiện nay nhiều báo cáo về các chủng kháng erythromycin và ciprofloxacin, naladixic acid và cephalothin ngày càng tăng trên phạm vi toàn thế giới.

39.8. Ngăn ngừa và kiểm soát

Nấu chín tất cả thịt gia cầm và rửa tay đúng cách là một số biện pháp ngăn chặn sự xâm nhiễm *Campylobacter*.

39.9. Helicobacter

Helicobacter là vi khuẩn tương tự như *Campylobacter* về hình dạng xoắn. Chúng di động nhờ tiên mao có bao. *Helicobacter* spp. sống trong dạ dày người và nhiều động vật có vú khác như khỉ, chó, mèo, chồn sương, chuột, ... Giống *Helicobacter* gồm nhiều loài có liên quan đến bệnh ở người. Trong đó *Helicobacter pylori*, *Helicobacter cinaedi* và *Helicobacter fennelliae* là ba loài quan trọng nhất gây bệnh ở người. Các loài gây bệnh ở người được trình bày tóm tắt ở Bảng 39.4.

***Helicobacter pylori*:** *H. pylori* liên quan đến chứng viêm dạ dày, loét dạ dày, ung thư biểu mô tuyến ở dạ dày (MALT) và lymphoma tế bào B là những triệu chứng do *H. pylori* gây ra đã được công nhận khắp nơi trên thế giới.

39.11. Đặc điểm của vi khuẩn

39.11.1. Hình thái

H. pylori biểu hiện các đặc điểm hình thái sau: chúng là những trực khuẩn Gram âm, hình cong, xoắn hoặc dạng hình chữ S, dài 3 μm và rộng từ 0,5 - 0,9 μm . Khuẩn này có tính di động cao và biểu hiện di động kiểu xoắn lại nhờ sự hiện diện của túm tiên mao trên một đầu cực của vi khuẩn. *H. pylori* không sinh bào tử.

39.11.2. Nuôi cấy

H. pylori là vi khuẩn vi hiếu khí và tăng trưởng khi có nồng độ oxygen giảm còn

5% và hàm lượng carbon dioxide (CO₂) tăng lên 10% trong khoảng nhiệt độ giữa 30 và 37°C. Khuẩn này không tăng trưởng trong điều kiện kỵ khí và tăng trưởng kém ở nhiệt độ 42°C và không tăng trưởng ở 25°C. *H. pylori* tăng trưởng tốt trên môi trường thạch có chocolate tươi và môi trường Skirrow's campylobacter. *H. pylori* hình thành khuẩn lạc tròn, lồi và trong mờ trên những môi trường này sau khi ủ 3 - ngày 5.

39.11.3. Phản ứng sinh hoá

H. pylori biểu hiện các phản ứng sinh hoá sau: *H. pylori* sản sinh enzyme urease có hoạt tính gấp 100 lần so với enzyme urease do *Proteus vulgaris* sinh ra. Việc sản sinh enzyme urease là đặc điểm quan trọng nhất của *H. pylori*. Ngoài ra *H. pylori* có catalase và oxidase dương. Khuẩn này không lên men hay oxi hoá các loại đường, mặc dù chúng có thể biến dưỡng các amino acid bằng con đường lên men.

39.12. Đặc điểm gây bệnh

H. pylori gây ra các triệu chứng đặc trưng (a) làm thay đổi sự sản sinh acid dạ dày, (b) sưng dạ dày và (c) phá huỷ mô.

Bảng 39.4. Bệnh ở người do các loài *Helicobacter* gây ra.

Tên vi khuẩn	Bệnh do vi khuẩn gây ra
<i>Helicobacter pylori</i>	Loét dạ dày, viêm dạ dày và ung thư biểu mô tuyến ở dạ dày
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Viêm dạ dày ruột, nhiễm trùng máu và viêm trực tràng - đại
<i>Helicobacter fennelliae</i>	tràng
<i>Helicobacter canis</i>	Viêm dạ dày ruột
<i>Helicobacter rappini</i>	Viêm dạ dày ruột
<i>Helicobacter canadensis</i>	Viêm dạ dày ruột
<i>Helicobacter pullorum</i>	Viêm dạ dày ruột
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Viêm dạ dày

39.12.1. Các yếu tố gây độc

H. pylori sản sinh ra một số yếu tố gây độc góp phần vào sự phát sinh bệnh như sau:

(1). Urease: enzyme urease là một yếu tố rất quan trọng để *H. pylori* kết cụm trong niêm mạc dạ dày. Urease phân cắt urea để tạo ammonia, chất này làm pH trong

niêm mạc dạ dày tăng lên ngay sau khi vi khuẩn tiếp cận. Vì vậy ammonia giúp trung hoà acid dạ dày và nhờ đó hỗ trợ cho vi khuẩn tập kết vào niêm mạc dạ dày. Enzyme này cũng kích thích hoá ứng động bạch cầu đơn (monocyte) và bạch cầu trung tính (neutrophil) và kích thích sản sinh ra cytokine.

(2). Tiên mao: tiên mao cũng là yếu tố rất quan trọng cho sự tập kết của *H. pylori*. Các tiên mao này giúp vi khuẩn xâm nhập vào lớp niêm mạc dạ dày. Nhờ đó nó giúp bảo vệ tế bào thoát khỏi môi trường acid trong dạ dày.

(3). Yếu tố dính: các yếu tố dính này gồm hemagglutinin, yếu tố dính liên kết sialic acid và yếu tố dính nhóm máu Lewis. Tất cả những yếu tố này khởi đầu cho vi khuẩn *H. pylori* bám vào niêm mạc dạ dày.

(4). Enzyme khác: *H. pylori* sản sinh ra nhiều enzyme như mucinase, phospholipase, superoxide dismutase và catalase. Cả mucinase và phospholipase phá vỡ niêm mạc dạ dày, trong khi đó superoxide dismutase và catalase ngăn chặn sự tiêu diệt của thực bào đối với vi khuẩn.

(5). Protein sốc nhiệt (Hsp-B): protein này tạo thuận lợi cho sự biểu hiện của enzyme urease.

(6). Protein ức chế acid: protein này làm giảm acid dịch vị (hypochlorhydria) bằng cách ngăn chặn dịch tiết acid chlohydric từ các tế bào thành dạ dày (parietal cell).

Bảng 39.5. Yếu tố gây độc của các loài *Helicobacter*.

Yếu tố độc	Chức năng sinh học
Urease	Hỗ trợ sự tập kết (kết cụm) của vi khuẩn trong niêm mạc dạ dày, enzyme này cũng kích thích hoá ứng động của bạch cầu đơn và bạch cầu trung tính đồng thời kích thích sản sinh ra cytokine
Tiên mao	Giúp tế bào xâm nhập vào lớp niêm mạc dạ dày, nhờ đó bảo vệ vi khuẩn thoát khỏi môi trường acid của dạ dày
Yếu tố dính	Tạo thuận lợi cho <i>H. pylori</i> bám dính lên niêm mạc dạ dày
Enzyme	Mucinase và phospholipase phá vỡ niêm mạc dạ dày, còn superoxide dismutase và catalase ngăn chặn sự thực bào

Protein sốc nhiệt (Hsp-B)	Protein này tạo thuận lợi cho sự biểu hiện của enzyme urease
Protein ức chế acid	Protein này làm giảm acid dịch vị bằng cách ngăn chặn tiết acid từ các tế bào thành dạ dày
Độc tố tế bào	Độc tố này gây ra sự hình thành không bào trong các tế bào biểu mô của cơ thể chủ
Độc tố hình thành không bào (VacA)	Hình thành không bào (vacuolation) cùng với gen liên quan đến độc tố tế bào (CagA)

(7). Độc tố tế bào: độc tố này giúp hình thành không bào (vacuolation) trong các tế bào biểu mô của cơ thể chủ.

Chi tiết các yếu tố gây độc do *Helicobacter* tạo ra được trình bày tại Bảng 39.5.

39.12.1.1. Phát sinh bệnh do *H. pylori*

Sự xâm nhiễm của *H. pylori* bắt đầu bằng sự tập kết vào niêm mạc dạ dày. Sự tập kết này được nhiều yếu tố gây độc tạo thuận lợi. *H. pylori* ngăn chặn sự sản sinh acid nhờ protein ức chế acid và cũng trung hoà acid dạ dày bằng cách sản sinh ra ammonia từ sự phân cắt urea dưới xúc tác của urease. Hoạt tính sinh học của urease được tăng cường hơn nữa nhờ protein sốc nhiệt. Kế đến bằng cách di chuyển xoắn lại, *Helicobacter* di chuyển qua niêm mạc dạ dày và bám dính vào tế bào biểu mô. Sự bám dính được thực hiện qua trung gian protein của yếu tố dính như hemagglutinin, yếu tố dính liên kết sialic acid và yếu tố dính nhóm máu Lewis. *H. pylori* được các enzyme như elastase và superoxide dismutase bảo vệ thoát khỏi sự thực bào và thoát khỏi sự tiêu diệt bên trong nội bào thực bào. Sau khi dính vào, chúng làm tổn thương các tế bào biểu mô bằng nhiều yếu tố như mucinase, phospholipase và aflatoxin hình thành không bào (vacuolating aflatoxin) cùng với đó là các sản phẩm của urease. Cuối cùng sự xâm nhiễm của *Helicobacter* gây ra những thay đổi làm teo và thậm chí những thay đổi về dị sản (metaplastic) trong dạ dày.

39.12.1.2. Triệu chứng lâm sàng

H. pylori ở người gây ra các triệu chứng: (a) viêm loét dạ dày - tá tràng và (b) viêm dạ dày teo mạn tính.

(a). Loét dạ dày - tá tràng: ngày nay *H. pylori* được công nhận là vi khuẩn gây bệnh xâm nhiễm gây loét dạ dày tá tràng. Điều trị bệnh *H. pylori* bằng kháng sinh đặc trị và nhờ đó loại bỏ được vi khuẩn này khỏi dạ dày cùng với đó là làm lành vết loét và giảm sự tái phát viêm loét.

(b). Viêm dạ dày teo mạn tính: sự xâm nhiễm của *H. pylori* gây ra chứng viêm dạ dày teo trong giai đoạn sau của bệnh. Viêm dạ dày mạn tính hiện nay được công nhận như là một nguy cơ của nhiều ác tính dạ dày.

39.12.2. Miễn dịch của cơ thể chủ

Sự xâm nhiễm của *H. pylori* cảm ứng sản sinh ra các kháng thể IgM, IgG và IgA và miễn dịch tế bào, nhưng các kháng thể này không xuất hiện để hiệp sức bảo vệ chống lại bệnh sự xâm nhiễm của *H. pylori*.

39.12.3. Dịch tễ học

H. pylori tìm thấy khắp nơi trên thế giới. Bệnh do *H. pylori* xảy ra ở các nước đang phát triển nhiều hơn so với các quốc gia đã phát triển.

39.12.3.1. Phân bố về địa lý

Hơn 50% dân số thế giới bị nhiễm vi khuẩn này, nhưng tỷ lệ mắc phải bệnh do *H. pylori* thì chưa biết bởi vì không thể thu thập được dữ liệu chính xác của các nước đang phát triển.

39.12.3.2. Môi trường sống

H. pylori kết cụm trong niêm mạc dạ dày của người khỏe mạnh cũng như người bị bệnh loét dạ dày - tá tràng.

39.12.3.3. Nguồn gốc và sự lan truyền bệnh

Con người là nguồn cung cấp chính của bệnh này. Tỷ lệ phổ biến của bệnh do *H. pylori* có thể khác nhau dựa trên khu vực địa lý và sắc tộc. Tỷ lệ phổ biến khoảng 60% ở những người gốc Cuba, Mexico, Puerto Rico, Nam hoặc Trung Mỹ, hay có nguồn gốc từ Tây Ban Nha, 54% người Mỹ gốc Phi và 20% người Da trắng. Điều kiện vệ sinh kém, môi trường sinh hoạt quá đông đúc và nghèo đói là những điều kiện thuận lợi cho sự lan truyền vi khuẩn này. Con đường lây lan phổ biến nhất của bệnh do *H. pylori* là hoặc từ phân - miệng hoặc lan truyền qua tiếp xúc miệng - miệng.

39.12.4. Phát hiện tại phòng thí nghiệm

39.12.4.1. Mẫu vật

Gồm mẫu phân và mẫu sinh thiết dạ dày.

39.12.4.2. Phát hiện dưới kính hiển vi

H. pylori được chứng minh bằng phát hiện dưới kính hiển vi các mẫu sinh thiết qua nhuộm Gram, Giemsa, Warthin Starry silver và nhuộm hematoxylin - eosin. Tất cả các thuốc nhuộm này đều cho thấy *H. pylori* bám dính vào niêm mạc dạ dày. Phương pháp này có tính đặc hiệu cao.

39.12.4.3. Nuôi cấy

Chẩn đoán bệnh *H. pylori* được thực hiện bằng nuôi cấy các mẫu bệnh phẩm trên môi trường thạch có pha chế chocolate tươi và môi trường chọn lọc Skirrow's campylobacter, sau đó ủ ở 35 - 37°C trong điều kiện vi hiếu khí (5% O₂, 10% CO₂ và 85% N₂) trong 3 - 5 ngày. *H. pylori* hình thành khuẩn lạc lồi, tròn và lớn trên những môi trường chọn lọc này.

Sơ đồ 2. Đặc điểm xác định *Helicobacter pylori*

1. Trục khuẩn Gram âm, dạng hình cong, xoắn hay dạng hình chữ S điển hình,
2. Biểu hiện đặc tính di động xoắn lại đặc trưng
3. *Helicobacter pylori* hình thành khuẩn lạc tròn, lồi và trong mờ trên môi trường thạch có chocolate tươi và môi trường Skirrow's campylobacter
4. Không lên men hay oxy hóa các loại đường
5. *H. pylori* sinh urease có hoạt tính gấp 100 lần so với enzyme urease từ *Proteus vulgaris*. Sản sinh urease là đặc điểm quan trọng của *H. pylori*
6. Có oxidase và catalase dương

(2). Biểu hiện sự di chuyển xoắn lại đặc trưng.

39.12.4.4. Định danh vi khuẩn

Định danh các chủng phân lập được tiến hành dựa trên đặc tính tăng trưởng điển hình của *H. pylori* trên môi trường chọn lọc; dựa vào hình thái và các phép thử sinh hoá như oxidase, catalase và urease (Sơ đồ 39.2). Đặc điểm chính để nhận biết *H. pylori* như sau:

(1). Là trục khuẩn Gram âm, dạng hình cong, xoắn điển hình hay dạng hình chữ S.

(3). Hình thành khuẩn lạc tròn, lồi và trong mờ trên môi trường thạch có pha chế chocolate tươi và môi trường Skirrow's campylobacter.

(4). Biểu hiện sinh hóa chậm, không lên men và oxi hóa các loại đường.

(5). Sản sinh enzyme urease, có hoạt tính gấp 100 lần hoạt tính của enzyme urease do *Proteus vulgaris* sản sinh ra. Sự sản sinh urease là đặc điểm quan trọng nhất của *H. pylori*.

(6). Có oxidase và catalase dương.

39.12.4.5. Huyết thanh

ELISA được sử dụng để chứng minh kháng thể do *H. pylori* tạo ra có trong huyết thanh người bệnh. Nhưng do lượng kháng thể vẫn tiếp tục tăng lên trong một thời gian dài sau khi đã loại bỏ *H. pylori*, nên thử nghiệm dựa trên kháng thể không thể phân biệt trường hợp nhiễm hiện tại hay đã nhiễm trước đó. ELISA có độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

39.12.4.6. Thử nghiệm kháng nguyên trong phân

Đây là thử nghiệm sắc ký miễn dịch, theo đó thử nghiệm sử dụng kháng thể đơn dòng để phát hiện trực tiếp kháng nguyên *H. pylori* có trong mẫu phân. Thử nghiệm này có độ nhạy cao 94% và độ đặc hiệu rất cao 98%.

39.12.4.7. Thử nghiệm urease

Thử nghiệm urease là phép thử cho kết quả nhanh nhất, thử nghiệm này được sử dụng trực tiếp cho mẫu sinh thiết. Theo đó mô sinh thiết được đặt trong môi trường có chất chỉ thị cho urease (0,5 mL dung dịch urea cùng với chất chỉ thị) và ủ ở 37°C. Nếu có *H. pylori* hiện diện, màu của môi trường thay đổi do làm thay đổi pH của môi trường trong vài phút đến 2 giờ do có sự sản sinh ra ammonia. Thử nghiệm này có độ đặc hiệu 100%, nhưng độ nhạy dao động từ 75% đến 95%.

39.12.4.8. Thử nghiệm nhanh urea qua hơi thở

Thử nghiệm này dựa trên việc phát hiện các sản phẩm của urea do *H. pylori* phân hủy. Trong kỹ thuật này, người cần kiểm tra uống một ít nước có ga có chứa urea được đánh dấu đồng vị carbon như carbon 13 (C¹³) hay carbon 14 (C¹⁴). Sau một thời gian ngắn, nồng độ của carbon đánh dấu được đo trong hơi thở. Nồng độ cao chỉ khi nào có urease hiện diện trong *H. pylori* ở dạ dày bề gây urea. Ở những người bình thường

nồng độ carbon đánh dấu sẽ không cao vì dạ dày của họ không có urease. Thử nghiệm cho kết quả urea dương tính qua hơi thở cho thấy cơ thể chủ nhiễm *H. pylori*. Kiểm tra qua hơi thở là phép thử rất chọn lọc. Điểm bất lợi của thử nghiệm này có thể cho kết quả dương tính giả vì: (a). Người bệnh nhiễm *H. pylori* nhưng ở dạng cầu khuẩn nên không sản sinh ra urease đủ cho phản ứng thể hiện và (b). Người bệnh đã sử dụng kháng sinh dạng bismuth và histamine là hai chất ngăn chặn phản ứng của urease.

39.12.5. Điều trị

H. pylori nhạy cảm với một số loại kháng sinh như muối bismuth. Sử dụng một loại kháng sinh đơn lẻ hay kháng sinh có chứa bismuth thì không hiệu quả. Để điều trị bệnh viêm dạ dày hay loét dạ dày tá tràng đạt được thành công hơn thì cần có sự kết hợp giữa bismuth, chất ức chế bơm proton ví dụ như omeprazole với một hoặc nhiều kháng sinh như ampicillin, metronidazole, clarithromycin, tetracycline. Sự kết hợp của ba loại thuốc được gọi là liệu pháp ba kết hợp và thường được đưa ra để điều trị trong liệu trình từ 10 ngày hoặc 14 ngày.

Hiện nay các chủng *H. pylori* kháng được kháng sinh nhóm macrolide và một số chủng phát hiện ở trẻ kháng được cả clarithromycin.

39.12.6. Ngăn chặn và kiểm soát

Cải thiện vệ sinh cá nhân là biện pháp ngăn chặn quan trọng nhất của bệnh này.

39.13. Các loài *Helicobacter* khác

H. fennelliae trước đây gọi là *Campylobacter fennelliae* và *H. cinaedi* trước đây gọi là *Campylobacter cinaedi* được phân lập từ đồng tính nam bị nhiễm đồng thời HIV và bệnh lao trải qua các bệnh viêm trực tràng, viêm trực tràng - đại tràng hay viêm ruột enteritis. Các vi khuẩn tương tự như *Helicobacter* đã được mô tả trong thập kỷ qua. Trước tiên là *Helicobacter mustelae* có trong động vật chồn sương và sau đó là *Helicobacter hepaticus* có trong chuột hamster của Syria. Các vi khuẩn này được phát hiện nhờ sử dụng kỹ thuật PCR đặc hiệu. Các vi khuẩn tương tự như *Helicobacter* không gây bệnh cho người nhưng được cho là hữu ích trong nghiên cứu bệnh do *H. pylori* gây ra. Sự khác nhau quan trọng giữa các loài *Campylobacter* và *Helicobacter* được tóm tắt ở Bảng 39.6.

Bảng 39.6. Khác nhau về tăng trưởng và đặc điểm sinh hoá quan trọng giữa *Campylobacter* và *Helicobacter*.

Đặc tính		Loài						
		<i>C.</i> <i>jejuni</i>	<i>C.</i> <i>coli</i>	<i>C.</i> <i>upsaliensis</i>	<i>C.</i> <i>fetus</i>	<i>H.</i> <i>pylori</i>	<i>H.</i> <i>cinaedi</i>	<i>H.</i> <i>fennelliae</i>
Tăng trưởng ở	25°C	-	-	-	+	-	-	-
	37°C	+	+	+	+	+	+	+
	42°C	+	+	+	-	-	-	-
Thủy giải	Hippurate	+	-	-	-	-	-	-
	Indoxyl acetate	+	+	+	-	-	-	+
Khử nitrate		+	+	+	+	-	+	-
Urease		-	-	-	-	+	-	-
Tăng trưởng ở 1% glycine		+	+	Dao động	+	-	+	+