

Chương 43. Họ vi khuẩn đường ruột

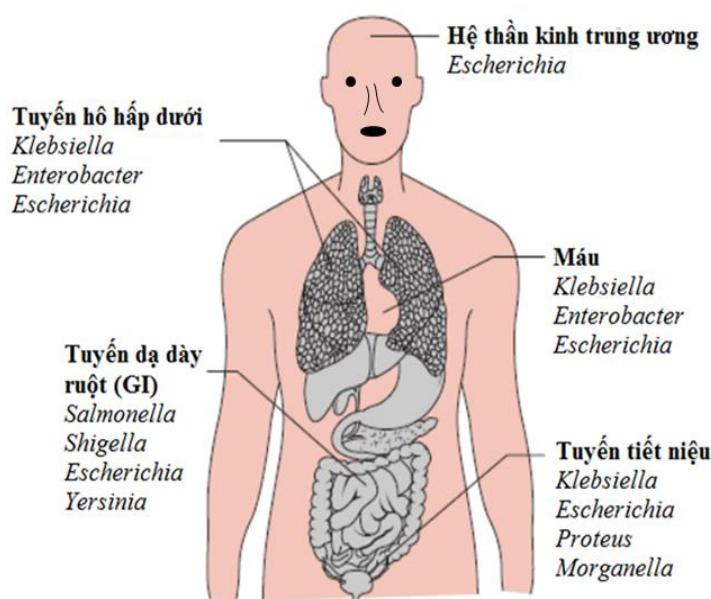
Mục lục

Chương 43. Họ vi khuẩn đường ruột.....	1
43.1. Giới thiệu	3
43.2. Phân loại	4
43.3. <i>Escherichia</i>	6
43.4. <i>Escherichia coli</i>	6
43.5. <i>Edwardsiella</i>	33
43.5.1. Giới thiệu.....	33
43.5.2. Đặc điểm sinh học	33
43.5.3. Đặc điểm gây bệnh.....	34
43.5.4. Dịch tễ học	34
43.5.5. Điều trị.....	34
43.6. <i>Citrobacter</i>	35
43.7. <i>Klebsiella</i>	36
43.7.1. Giới thiệu.....	36
43.7.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
43.7.3. <i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	41
43.7.4. <i>Klebsiella ozaenae</i>	41
43.7.5. <i>Klebsiella oxytoca</i>	42
43.8. <i>Enterobacter</i>	42
43.8.1. Giới thiệu.....	42
43.8.2. Đặc điểm sinh học	42
43.8.3. Đặc điểm gây bệnh.....	43
43.8.4. Lan truyền	43
43.8.5. Phát hiện.....	43

43.8.6. Điều trị.....	44
43.9. <i>Hafnia</i>	44
43.10. <i>Serratia</i>	45
43.11. <i>Proteus</i>	46
43.11.1. Giới thiệu	46
43.11.2. Đặc điểm sinh học.....	46
43.11.3. Đặc điểm gây bệnh	49
43.11.4. Dịch tễ học	50
43.11.5. Phát hiện tại phòng kiểm nghiệm	51
43.11.6. Điều trị	51
43.11.7. Ngăn chặn và kiểm soát.....	52
43.12. <i>Morganella</i>	52
43.13. <i>Providencia</i>	53
43.14. <i>Erwinia</i>	54

43.1. Giới thiệu

Enterobacteriaceae là họ vi khuẩn đường ruột chiếm số lượng đông đảo trong giới vi khuẩn. Vi khuẩn trong họ này phân bố khắp nơi trên thế giới và được phát hiện có trong đất, nước, động vật và thực vật. Họ này cũng là hệ vi khuẩn bình thường trong tuyến tiêu hoá người và động vật. Các thành viên của *Enterobacteriaceae* là những vi khuẩn gram âm, có kích thước trung bình và không hình thành bào tử. Chúng di động nhờ tiên mao xung quanh tế bào hoặc không di động do không có tiên mao. Chúng biến dưỡng trong điều kiện hiếu khí và kỵ khí tùy nghi, tăng trưởng dễ dàng trên môi trường bình thường, lên men đường tạo acid và sinh hơi hoặc chỉ tạo acid, có khả năng khử nitrate thành nitrite, có phản ứng catalase dương nhưng oxidase thì âm. Oxidase là phép thử quan trọng để phân biệt các thành viên vi khuẩn Gram âm thuộc họ



Enterobacteriaceae lên men và không lên men. Các thành viên của họ này biểu hiện đặc tính sinh hoá và kháng nguyên khác biệt. *Enterobacteriaceae* gây bệnh ở nhiều vị trí trên cơ thể người. Hình 43.1 minh họa các vị trí mà *Enterobacteriaceae* thường gây bệnh ở người.

Hình 43.1. Sơ đồ minh họa bệnh do các vi khuẩn thuộc họ

***Enterobacteriaceae* gây ra ở người.**

Một số đặc điểm của *Enterobacteriaceae* như sau:

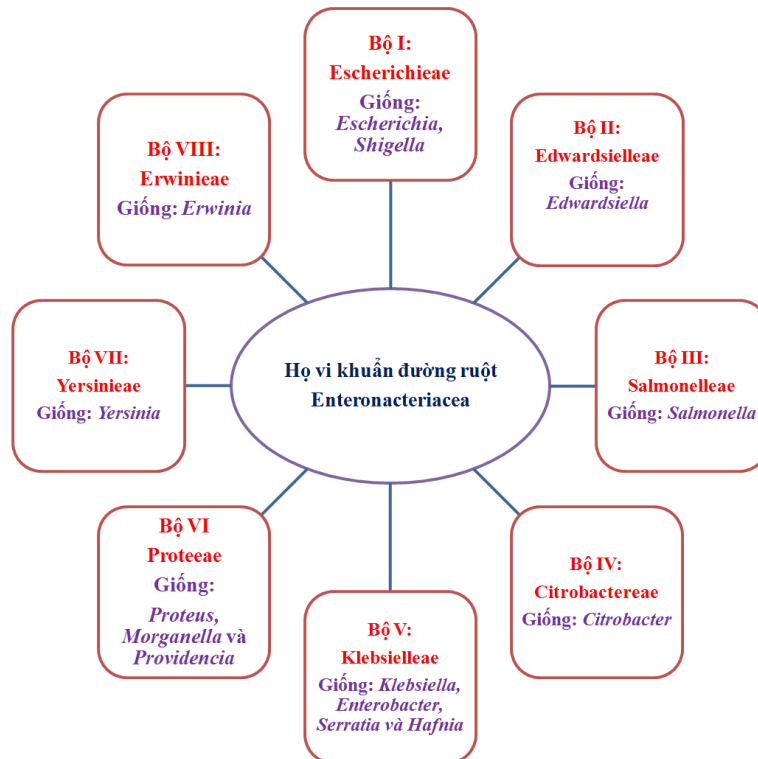
- (1). Một số vi khuẩn như *Salmonella*, *Shigella*, ... luôn gây bệnh cho người.
- (2). Các loài khác như *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter*, *Yersinia* đóng vai trò như là hệ vi khuẩn bình thường trong hệ tiêu hoá người. Chúng cũng có thể gây bệnh ở những vị trí khác của cơ thể.
- (3). Ngoài những vi khuẩn này, nhóm vi khuẩn khác của *Enterobacteriaceae* được

phát hiện như là những vi khuẩn hội sinh ở người nhưng chúng trở nên gây bệnh khi mắc phải các gen có yếu tố gây bệnh từ quá trình chuyển gen theo chiều dọc qua plasmid, do thực khuẩn thể (bacteriophage) hay vùng gen gây bệnh (pathogenicity island). Ví dụ *E. coli* có liên quan với chứng viêm dạ dày ruột (GI) ở người.

Các vi khuẩn *Enterobacteriaceae* do mắc phải từ người ví dụ như *Salmonella* Typhi, các loài *Shigella*, từ động vật ví dụ như *Salmonella* và *Yersinia*, hoặc là do nhiễm khuẩn nội sinh. Trong nhiễm khuẩn nội sinh vi khuẩn gây bệnh như *E. coli* từ vị trí xâm nhiễm khuẩn ban đầu có thể lan rộng ra tất cả vị trí của cơ thể.

43.2. Phân loại

Từ rất sớm đặc điểm khuẩn lạc vi khuẩn trên môi trường MacConkey đã được sử dụng



Hình 43.2. Sơ đồ minh họa phân loại họ *Enterobacteriaceae* theo Ewing.

để xác định và phân loại các thành viên vi khuẩn thuộc họ *Enterobacteriaceae*. Khuẩn lạc được phân loại là dựa vào đặc điểm lên men lactose của vi khuẩn như *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., ... hoặc vi khuẩn không lên men được lactose như *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Proteus* spp., Các đặc điểm này

được sử dụng theo phương pháp thực hành thường quy trong phòng thí nghiệm. Bệnh nhiễm trùng ở người do nhiều thành viên phổ biến của họ *Enterobacteriaceae* được tóm tắt ở Bảng 43.1.

Bảng 43.1. Đặc điểm quan trọng phân biệt giữa các thành viên họ vi khuẩn đường ruột *Enterobacteriaceae*.

Đặc điểm	<i>Esch.</i>	<i>Kleb.</i>	<i>Enter.</i>	<i>Sal.</i>	<i>Shi.</i>	<i>Ser.</i>	<i>Haf.</i>	<i>Edward.</i>	<i>Citro.</i>	<i>Pro.</i>
Di động	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
Acid từ glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Khí từ glucose	+	+	+	+	-	V	+	+	+	V
Indole	+	-	-	-	-	-	-	+	V	V
H ₂ S	-	-	-	+	-	-	-	+	V	+
Urease	-	+	V	-	-	V	-	-	V	V
Citrate	-	+	V	+	-	V	+	-	+	+
PPA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Lysine decarboxylase	+	+	V	+	-	V	+	+	-	-
Arginine dihydrolase	V	-	V	V	-					
Ornithine decarboxylase	V	-	+	+	-	V	+	+	V	V

Ghi chú: *Esch.*: *Escherichia*, *Kleb.*: *Klebsiella*, *Enter.*: *Enterobacter*, *Sal.*: *Salmonella*, *Shi.*: *Shigella*, *Ser.*: *Serratia*, *Haf.*: *Hafnia*, *Edward.*: *Edwardsiella*, *Citro.*: *Citrobacter*, *Pro.*: *Proteus*, *V*: dao động

Tuy nhiên hiện nay cách thức để phân loại vi khuẩn dựa vào nhiều đặc điểm về kiểu hình, sinh hoá, huyết thanh và đặc điểm của DNA. Việc phân loại dựa trên hướng dẫn của Bergey, Kauffmann và Edwards - Ewing là ba phương pháp được sử dụng rộng rãi để phân biệt các thành viên thuộc họ *Enterobacteriaceae*. Tất cả các phương pháp này gần như có cùng một cách tiếp cận về phân loại vi khuẩn. Theo đó họ *Enterobacteriaceae*

được chia thành nhiều nhóm chính hoặc bộ. Mỗi bộ gồm một hoặc nhiều giống hoặc giống phụ (subgenera). Mỗi giống gồm nhiều loài, mỗi loài được chia thành nhiều kiểu (type) khác nhau như kiểu sinh học (biotype), kiểu huyết thanh (serotype), kiểu colicin, kiểu thực khuẩn thể (bacteriophage type), Theo cách phân loại mới (Ewing, 1986), thì họ *Enterobacteriaceae* được phân thành tám bộ như minh họa ở Hình 43.2. Giống *Yersinia* gồm có *Yersinia pestis*, là vi khuẩn gây bệnh dịch hạch nằm trong bộ *Yersiniaceae* thuộc họ *Enterobacteriaceae*. Các đặc điểm quan trọng để phân biệt các giống khác nhau thuộc họ *Enterobacteriaceae* được tóm tắt ở Bảng 43.1.

43.3. *Escherichia*

Escherichia là vi khuẩn gây bệnh ở tuyến tiêu hoá người và động vật. Giống *Escherichia* gồm 5 loài đó là: *E. coli*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia vulneris* và *Escherichia blattae*. Trong số các loài này, *E. coli* là loài phổ biến và quan trọng nhất vì chúng gây bệnh ở người. *E. coli* được phân chia sâu hơn thành kiểu sinh học và kiểu huyết thanh dựa trên các kháng nguyên O, H và K.

43.4. *Escherichia coli*

Năm 1885, lần đầu tiên Theodor Escherich (1857 - 1911) đã mô tả vi khuẩn *Escherichia coli* khi phân lập được từ phân của trẻ mới sinh. Thời điểm đó *E. coli* được gọi là *Bacterium coli commune*. Sau đó khuẩn này được đổi tên thành *Escherichia coli*. Trong nhiều năm tiếp theo *E. coli* đơn giản chỉ được xem như là vi sinh vật hội sinh trong ruột già. Mãi sau này cho đến những năm đầu của thập niên 1930, *E. coli* được phát hiện là khuẩn gây bùng nổ bệnh tiêu chảy ở trẻ sơ sinh.

E. coli được công nhận như là vi khuẩn hội sinh vô hại và cũng là đối tượng gây bệnh. Ở người *E. coli* gây hàng loạt các bệnh quan trọng gồm bệnh đường ruột, nhiễm trùng đường tiết niệu (UTI), nhiễm trùng máu và viêm màng não ở trẻ sơ sinh. Hội chứng tiêu huyết tăng urea máu (HUS) là biến chứng nghiêm trọng của bệnh nhiễm trùng do một số chủng *E. coli* gây ra. Vi khuẩn *E. coli* tập kết ở tuyến dạ dày ruột (GI) của các động vật máu nóng trong vài giờ hoặc vài ngày sau khi sinh. Khuẩn này xâm nhập vào cơ thể qua đường thực phẩm hoặc nước uống hoặc từ các hoạt động chăm sóc trẻ sơ sinh. *E. coli* có thể kết cụm ở ruột người trong vòng 40 giờ sau khi sinh. Chúng có thể dính vào

lớp niêm mạc phủ lên ruột già. Một khi đã thiết lập được, chủng *E. coli* có thể tồn tại trong nhiều tháng hoặc nhiều năm. Các chủng *E.coli* có thể đổi chỗ trong thời gian từ nhiều tuần đến nhiều tháng và nhanh chóng di chuyển sau khi nhiễm vào ruột hoặc khi có sử dụng liệu pháp kháng sinh làm rối loạn hệ vi khuẩn bình thường. Về cơ bản sự dịch chuyển và sinh thái của *E.coli* trong ruột người cho đến nay vẫn chưa được hiểu nhiều mặc dù có rất nhiều thông tin về vi khuẩn này. Năm 1997, toàn bộ trình tự DNA bộ gen *E. coli* đã được giải mã.

Bảng 43.2. Vi khuẩn thuộc họ *Enterobacteriaceae* gây bệnh ở người.

Vi khuẩn	Bệnh
<i>Escherichia spp.</i>	Viêm nhiễm tuyến dạ dày ruột; nhiễm trùng đường tiết niệu; nhiễm trùng máu; nhiễm trùng tuyến hô hấp dưới; nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương
<i>Shigella spp.</i>	Viêm nhiễm tuyến dạ dày ruột
<i>Salmonella spp.</i>	Viêm nhiễm tuyến dạ dày ruột Nhiễm trùng máu
<i>Klebsiella spp.</i>	Nhiễm trùng đường tiết niệu; nhiễm trùng tuyến hô hấp dưới; Nhiễm trùng máu
<i>Proteus spp.</i>	Nhiễm trùng đường tiết niệu
<i>Enterobacter spp.</i>	Nhiễm trùng tuyến hô hấp dưới; nhiễm trùng máu
<i>Morganella spp.</i>	Nhiễm trùng đường tiết niệu
<i>Yersinia spp.</i>	Viêm nhiễm tuyến dạ dày ruột; nhiễm trùng máu

43.4.1. Đặc điểm của vi khuẩn

43.4.1.1. Hình thái

E. coli là trực khuẩn Gram âm, có kích thước trong khoảng 1-3 x 0,4 - 0,7 µm. Trực khuẩn này sắp xếp ở dạng tế bào đơn và đôi. Chúng di động nhờ tiên mao xung quanh tế bào. Một số chủng không di động. Một số chủng *E. coli* có thể có thể tua. Thể tua type I là dạng ngưng kết và nhạy cảm với mannose, thể tua này hiện diện trong cả chủng di động và không di động. Một số chủng *E. coli* phân lập được từ các mẫu bệnh phẩm nằm ngoài đường ruột có capsule dạng polysaccharide. Các chủng này không hình

thành bào tử.

43.4.1.2. Đặc tính sinh lý

Về đặc tính sinh lý, *E. coli* là vi khuẩn dễ thay đổi và thích nghi tốt với các điều kiện môi trường. Chúng có thể phát triển trên môi trường chỉ có glucose. Kiểu *E. coli* hoang dã không đòi hỏi các yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng và trong quá trình biến dưỡng của mình, chúng có thể chuyển hoá glucose thành tất cả các đại phân tử để xây dựng tế bào. Vi khuẩn này có thể tăng trưởng khi có hoặc không có O₂. Dưới những điều kiện kỵ khí, chúng sẽ tăng trưởng bằng cách lên men. Acid và hơi là những sản phẩm cuối của quá trình lên men. Tuy nhiên khuẩn này cũng có thể tăng trưởng bằng hô hấp kỵ khí. Khi đó NO₃, NO₂ hoặc fumarate có thể được sử dụng như là chất nhận điện tử cuối trong quá trình chuyển điện tử.

E. coli có thể phản ứng với các tín hiệu của môi trường như: hóa chất, pH, nhiệt độ, áp suất thẩm thấu, Ví dụ chúng có thể nhạy cảm với sự có mặt hoặc không của chất hóa học và khí trong môi trường mà chúng sống. Khi đó *E. coli* sẽ bơi về hướng hoặc tránh xa chất này. Trong điều kiện nào đó, chúng có thể dừng bơi và hình thành thể tua để dính một cách chuyên biệt tế bào vi khuẩn lên tế bào khác có trong môi trường hoặc dính lên bề mặt thụ thể. Trong phản ứng với sự thay đổi về nhiệt độ và áp suất thẩm thấu, *E.coli* có thể thay đổi kích thước các lỗ thấm trên màng tế bào của mình sao cho thích nghi với các phân tử dinh dưỡng có kích thước lớn hơn hoặc ngăn chặn không cho các chất gây ức chế đi vào bên trong tế bào. Các cơ chế phức tạp này được sử dụng để điều hòa sự biến dưỡng và vi khuẩn có thể khảo sát thành phần hóa chất có trong môi trường để thuận lợi trong việc tổng hợp các enzyme nhằm biến dưỡng các chất có trong môi trường. *E. coli* cũng không lãng phí trong việc sản sinh các enzyme để phân giải các nguồn carbon trừ khi chúng có sẵn trong môi trường. Vi khuẩn này cũng không tạo enzyme để tổng hợp các chất biến đổi (metabolite) nếu chúng có sẵn trong môi trường.

E. coli bị ức chế trong môi trường muối có 7% sodium chloride được sử dụng để phân lập staphylococcus. Sự tăng trưởng của vi khuẩn cũng bị ức chế bởi sodium selenite trong môi trường lỏng selenite, sodium tetrathionate trong môi trường lỏng tetrathionate và brilliant green trong môi trường lỏng brilliant green tetrathionate.

43.4.1.3. *Escherichia coli* trong tuyến dạ dày ruột

E. coli là vi khuẩn sống lâu dài trong đường ruột người và chúng là vi sinh vật kỵ khí tùy nghi chiếm ưu thế trong tuyến dạ dày ruột ở người. Tuy nhiên vi khuẩn này cũng chỉ chiếm một tỷ lệ rất nhỏ trong tổng số các loài vi khuẩn. *Bacteroides* là vi khuẩn kỵ khí sống trong đường ruột người có số lượng đông hơn *E. coli* và chiếm tỷ lệ ít nhất là 20:1. Tuy nhiên do sự hiện diện thường xuyên của *E. coli* trong đường ruột và phân



người nên chúng được xem như là vi sinh vật chỉ thị cho sự ô nhiễm phân và nguồn nước. Điều này có nghĩa là bất cứ khi nào *E. coli* được phát hiện có thể cho thấy sự ô nhiễm phân do chúng ký sinh trong đường ruột của người.

Hình 43.2. Tế bào *E. coli* dưới kính hiển vi pha đảo. Độ phóng đại 1000X (CDC).

Các chủng *E. coli* hội sinh trong môi trường ruột già ở người và động vật máu nóng chiếm không quá 1% so với tổng sinh khối vi khuẩn.

Một nghiên cứu về sự phân bố của các chủng *E. coli* đang tập kết trong ruột già ở phụ nữ cho thấy có đến 52,1 % kiểu huyết thanh (serotype) 1; 34,9 % kiểu huyết thanh 2; 4,4 % kiểu huyết thanh 3 và 0,6 % kiểu huyết thanh 4. Hầu hết các nguồn cung của các kiểu huyết thanh mới của *E. coli* là qua đường miệng.

Nghiên cứu về tỷ lệ *E. coli* có mang plasmid kháng kháng sinh (các yếu tố kháng R) được kiểm tra ở những người ăn chay, trẻ em và người không ăn chay. Kết quả cho thấy ở những người không ăn chay có nhiều *E. coli* có chứa yếu tố kháng R. Điều này có thể là do họ tiêu thụ nhiều động vật đã qua điều trị bằng kháng sinh. Tuy nhiên tỷ lệ *E. coli* có yếu tố kháng R ở các động vật ăn tạp lại không cao hơn ở những người ăn chay. Trong phân của trẻ có nhiều *E. coli* kháng hơn so với những người không ăn chay. Không có lý giải phù hợp nào cho những phát hiện này. Bên cạnh đó, kết quả khảo sát hệ vi sinh vật ở quần đảo Krakatoa không có người ở cho thấy có sự hiện diện của *E. coli* kháng kháng sinh có liên quan đến thực vật.

Kết quả khảo sát trên đã hé lộ cho thấy con người chúng ta dường như có nhiều hơn một chủng *E. coli* ở đường ruột và các chủng ở đường ruột có khuynh hướng thay thế bằng chủng khác từ 3 đến 4 lần trong năm.

43.4.1.4. Nuôi cấy

E. coli là vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí tùy nghi. Chúng tăng trưởng trong khoảng nhiệt độ 10 - 40°C, tối thích ở 37°C và pH 7,2. Khuẩn này tăng trưởng trên nhiều môi trường gồm thạch Mueller–Hinton, thạch dinh dưỡng, thạch máu và thạch MacConkey. Phân lập chủ yếu tiến hành trên môi trường thạch dinh dưỡng và thạch máu.

(1). Môi trường thạch dinh dưỡng: *E. coli* trên môi trường dinh dưỡng sau 18 giờ ủ ở 37°C sẽ hình thành khuẩn lạc lớn, tròn, lồi thấp, trắng xám, ẩm ướt, nhẵn, đục hoặc trong suốt từng phần (chủng S). Các khuẩn lạc nhẵn dễ dàng tạo nhũ trong nước muối. Các chủng thô ráp (xù xì) hay còn gọi là dạng R tạo khuẩn lạc xù xì với bề mặt không đều. Các khuẩn lạc dạng này thường tự ngưng kết trong nước muối. Biến thể từ dạng nhẵn thành dạng thô ráp (S - R) là do vi khuẩn mất các kháng nguyên bề mặt và vì vậy chúng cũng mất khả năng gây độc.

(2). Trên môi trường MacConkey: *E. coli* hình thành khuẩn lạc đục có màu hồng sáng do chúng không lên men lactose. Nhiều chủng nhất là các chủng được phân lập trong các trường hợp bị bệnh sẽ hình thành các khuẩn lạc gây tan huyết trên môi trường thạch máu. Chúng không phát triển trên môi trường rắn chọn lọc như DCA (thạch deoxycholate citrate agar) hay SS (Salmonella - Shigella), các môi trường này được sử dụng để phân lập salmonella và shigella.

(3). Trên môi trường lỏng: *E. coli* khi tăng trưởng sẽ gây đục môi trường và có lắng đọng, khi lắc nó sẽ phân tán hoàn toàn.

43.4.1.5. Phản ứng sinh hoá

E. coli biểu hiện các phản ứng sinh hoá sau:

(1). Lên men lactose, glucose, mannitol, maltose và nhiều đường khác để tạo acid và khí. Chúng không lên men sucrose. Một số chủng *E. coli* lên men chậm lactose hay không lên men lactose.

(2). *E. coli* không hoá lỏng gelatin, không tạo hydrogen sulfide (H₂S) hoặc không

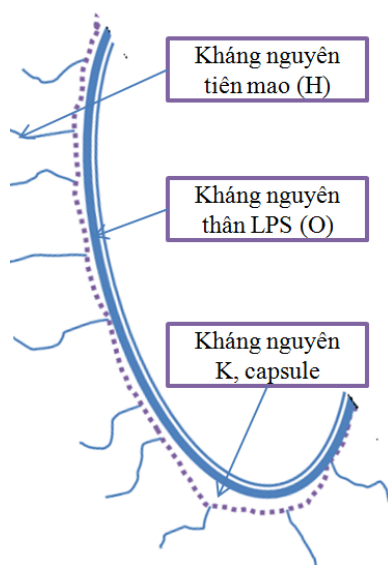
sử dụng urea. Một số chủng biến thể của *E. coli* sinh H_2S .

(3). Các phản ứng indole, methyl red (MR), Voges–Proskauer (VP) và citrate còn gọi là IMViC là bốn phản ứng sinh hoá quan trọng được sử dụng rộng rãi để phân xác định các loài trong vi khuẩn đường ruột. *E. coli* cho phản ứng indole và MR dương, có phản ứng VP và citrate âm (IMViC ++ --).

(4). Một số chủng *E. coli* lên men chậm lactose hoặc không lên men lactose. Khả năng tạo H_2S và sử dụng citrate ở *E. coli* được kiểm soát bởi plasmid có thể chuyển giao.

43.4.1.6. Thành phần thành tế bào và cấu trúc kháng nguyên

(1). **Lipopolysaccharide:** Lipopolysaccharide (LPS) bền nhiệt là kháng nguyên chính của thành tế bào *E. coli*. LPS gồm ba phần:



- (a) polysaccharide O đặc trưng cho giống vi khuẩn,
- (b) lõi polysaccharide chung cho tất cả các thành

viên *Enterobacteriaceae* (gọi là kháng nguyên chung) và

(c) lipid A. *E. coli* có bốn kháng nguyên chính: Kháng nguyên H hay kháng nguyên tiên mao, kháng nguyên O hay kháng nguyên thân, kháng nguyên K hay kháng nguyên capsule và kháng nguyên F hay còn gọi là kháng nguyên thể tua.

Hình 43.3. Sơ đồ minh họa các kháng nguyên ở *E. coli*.

(2). **Kháng nguyên H hay kháng nguyên tiên mao:** kháng nguyên H là những protein không bền nhiệt và dễ dàng bị còn phá hủy. Các protein này có trong tiên mao. Kháng nguyên H thì đặc trưng cho giống vi khuẩn và không có ở các vi khuẩn đường ruột khác. Tất cả kháng nguyên H chỉ biểu hiện một pha, rất hiếm khi là hai pha. Cho đến nay có tổng số 75 kháng nguyên H đã được công nhận.

(3). **Kháng nguyên O hay kháng nguyên thân:** kháng nguyên xuất hiện trên bề mặt màng ngoài của vi khuẩn và được xác định bằng những trình tự đường đặc trưng trên bề mặt tế bào. Kháng nguyên O là phức hợp LPS và phần xen vào của thành tế bào. LPS thì bền nhiệt, có khả năng kháng nhiệt độ gần nhiệt độ sôi trên 2 giờ và ở nhiệt độ sôi trong 30 phút. Cho đến nay có 173 kháng nguyên O đã được mô tả và được xếp loại từ 1 đến

173.

Kháng nguyên thân polysaccharide O biểu hiện các phản ứng chéo với các giống có quan hệ với nhau ví dụ *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* và *Citrobacter* trong họ *Enterobacteriaceae*. Kháng nguyên O cũng biểu hiện phản ứng chéo với các kháng nguyên O trong cá thể *E. coli*. Các kháng nguyên O này được phát hiện qua sự ngưng tụ đặc trưng với kháng thể.

(4). Kháng nguyên K hay kháng nguyên capsule: kháng nguyên K không bền nhiệt là kháng nguyên polysaccharide có tính acid, hiện diện trong vùng bao xung quanh tế bào gọi là capsule của vi khuẩn. Từ K được viết tắt từ *Kapsel*, nghĩa tiếng Đức là capsule.

Bảng 43.3. Khác biệt giữa kháng nguyên nhóm I và II của *Escherichia coli*.

Đặc tính	Kháng nguyên	
	Nhóm I	Nhóm II
Nhạy cảm với nhiệt ở 100°C	Chịu nhiệt	Không chịu nhiệt
Di động khi điện di	Thấp	Cao
Trọng lượng phân tử	>100.000 Da	<50.000 Da

Kháng nguyên K kèm theo kháng nguyên O và có thể làm nhiều khi phát hiện kháng nguyên O. Vấn đề này được khắc phục bằng cách đun sôi dịch huyền phù vi khuẩn để loại bỏ kháng nguyên K. Kháng nguyên K cũng có thể góp phần cho độc tính của vi khuẩn bằng cách ức chế sự thực bào. Kháng nguyên K là chất hoạt hóa bổ thể kém. Đến nay có khoảng 103 kháng nguyên K đã được công nhận. Kháng nguyên K có hai loại: I và II. Kháng nguyên K I của *E. coli* biểu hiện phản ứng chéo với kháng nguyên capsule của *Neisseria meningitidis* và *Haemophilus influenzae*. Sự khác nhau giữa hai nhóm này được tóm tắt ở Bảng 43.3.

(4). Kháng nguyên F hay kháng nguyên thể tua: kháng nguyên này là các protein không bền nhiệt hiện diện trên thể tua vi khuẩn. Nhiều cấu trúc protein dạng sợi lắp đặt thành thể tua đã được mô tả ở *E. coli*. Chúng là những kháng nguyên K88, K99 ở các chủng *E. coli* gây tiêu chảy cho động vật hoặc là các kháng nguyên của yếu tố kết

cụm (CFA) có trong *E. coli* sinh độc tố đường ruột (ETEC) gây tiêu chảy ở người. Những kháng nguyên thể tua này góp phần vào độc tính của vi khuẩn.

43.4.1.7. Phân loại kháng nguyên

Việc phân loại kiểu huyết thanh của *E. coli* được dựa trên ba nhóm kháng nguyên chính: nhóm kháng nguyên O, nhóm kháng nguyên K, nhóm kháng nguyên H. Đầu tiên các chủng *E. coli* dựa trên kháng nguyên O được chia thành nhiều nhóm kháng nguyên O. Sau đó mỗi nhóm O được chia sâu hơn thành các nhóm phụ dựa trên các kháng nguyên K. Cuối cùng, mỗi nhóm phụ này gồm các chủng có kháng nguyên H khác nhau. Kiểu kháng nguyên của một chủng thì phụ thuộc vào số kháng nguyên cụ thể mà nó mang, ví dụ *E. coli* O111: K58: H2. Trên 700 kiểu kháng huyết thanh của *E. coli* đã được nhận dạng dựa trên các đặc tính của kháng nguyên O, H và K. Thử nghiệm kiểu huyết thanh là phép thử quan trọng để phân biệt các chủng gây bệnh thật sự.

Các kiểu huyết thanh kháng khác nhau của *E. coli* được tìm thấy trong đường ruột bình thường ở người và chúng không có kháng nguyên K.

Các chủng trong ruột kết bình thường thuộc nhóm kháng nguyên O được xếp phía trước (1, 2, 3, 4, ...). Các chủng trong gây bệnh đường ruột thuộc nhóm kháng nguyên O được xếp ở sau (55, 86, 111, 112, ...).

43.4.1.8. Đặc điểm gây bệnh

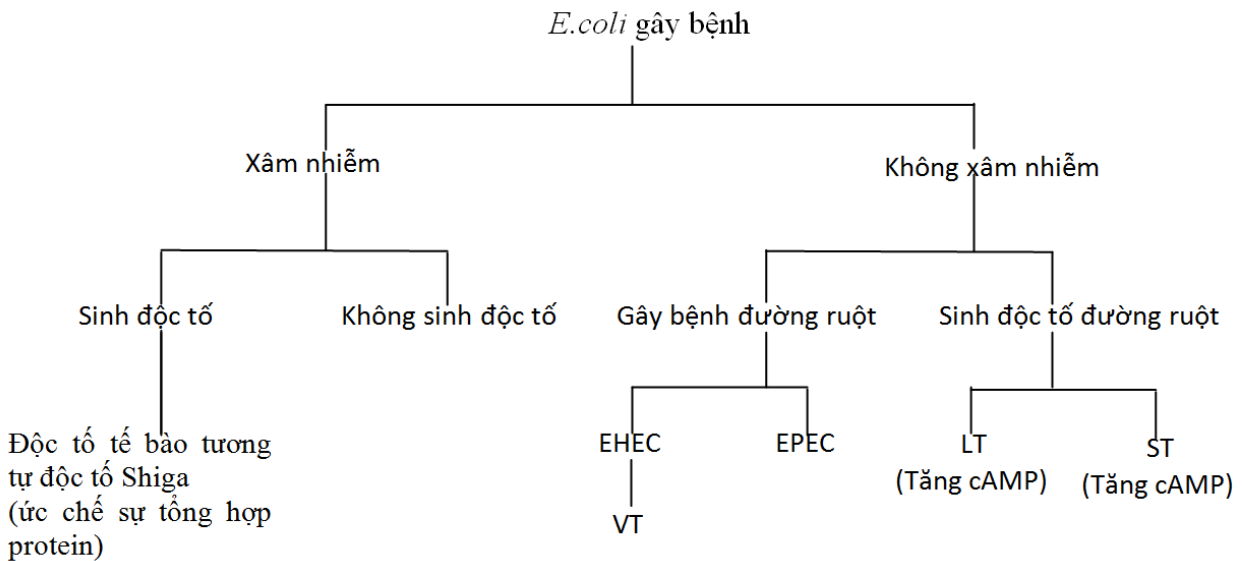
E. coli là vi khuẩn xâm lấn. Khuẩn này tập kết vào ruột người, dưới những điều kiện đặc biệt, chúng xâm lấn trực tiếp niêm mạc ruột hoặc tạo ra độc tố gây bệnh đường ruột. Vi khuẩn này có thể đi vào máu và gây ra nhiễm trùng máu, viêm màng não và biểu hiện bệnh toàn thân khác. Dưới một số điều kiện nhất định khuẩn này xâm lấn trực tiếp vào tuyến tiết niệu gây bệnh đường tiết niệu (UTI) hoặc gây nhiễm trùng ổ bụng.

Bệnh do các chủng *E. coli* gây ra ở người gồm ba dạng chủ yếu như sau:

- (1). Nhiễm trùng đường tiết niệu,
- (2) Viêm màng não ở trẻ sơ sinh và
- (3) Viêm dạ dày ruột.

Các bệnh này do một chủng vi khuẩn *E. coli* cụ thể gây ra, bệnh phụ thuộc vào sự phân bố và biểu hiện của nhiều yếu tố quyết định độc tính gồm yếu tố dính, yếu tố xâm

lân, độc tố và khả năng vi khuẩn trụ vững trước sự phòng vệ của sinh vật chủ. Các yếu tố này được tóm tắt tại Bảng 43.4.



Hình 43.4. Sơ đồ minh họa *E.coli* gây bệnh.

Bảng 43.4. Tóm tắt các yếu tố quyết định độc tính của *E. coli* gây bệnh

Các yếu tố dính:	Các độc tố
CFAI/CFAII (kháng nguyên của yếu tố tập kết I/II - Colonization factor antigen)	Độc tố không bền nhiệt LT
Sợi tơ thể tua Kiểu 1	Độc tố bền nhiệt ST
Sợi tơ thể tua P	Độc tố Shiga
Sợi tơ thể tua S	Độc tố tế bào (cytotoxin)
Intimin (yếu tố dính không phải thể tua)	Nội độc tố (LPS)
Yếu tố dính của EPEC	
Các chất xâm lấn	Phòng vệ chống lại các phản ứng tiêu diệt vi khuẩn của huyết thanh
Chất làm tan huyết (hemolysin)	LPS
Chất xâm lấn tương tự để xâm nhiễm nội bào và lây lan	Các kháng nguyên K
Tính di động /hóa hướng động	Kháng lại các phản ứng miễn dịch
Tiên mao	Capsule

	Kháng nguyên K
	Lipopolysaccharide (LPS)
	Sự đa dạng của kháng nguyên
Các đặc tính bề mặt kháng lại sự thực bào	Thuộc tính di truyền
Capsule	Trao đổi di truyền bằng cách tải nạp và tiếp hợp các plasmid
Các kháng nguyên K	Các yếu tố R và các plasmid kháng kháng sinh
Lypopolysaccharides (LPS)	Độc tố và các plasmid gây độc khác
	Các thể mang sắt và hệ thống thu nhận thể mang sắt
	Các vùng gen gây bệnh

(1). Yếu tố gây độc

E. coli tạo ra các yếu tố gây độc (Bảng 43.5), gồm:

- (a). Yếu tố gây bệnh chung có liên quan với họ *Enterobacteriaceae*.
- (b). Yếu tố gây bệnh chuyên biệt có liên quan một cách biệt với *E. coli*.

(a). Yếu tố gây bệnh chung có liên quan với họ *Enterobacteriaceae*: gồm những yếu tố sau: (i) thể tua, (ii) nội độc tố, (iii) capsule và (iv) yếu tố tăng trưởng.

(i). Thể tua: thể tua thúc đẩy độc tính của *E. coli* và các thành viên *Enterobacteriaceae*. Thể tua gồm nhóm: (α). Nhóm đầu tiên là phổ biến nhất và được mã hóa trong nhiễm sắc thể như không có liên quan đến độc tính của vi khuẩn; (β). Nhóm thứ hai được plasmid mã hóa, chỉ có một số lượng nhỏ nhưng có liên quan mật thiết đến độc tính của vi khuẩn.

Một số trong chúng không xuất hiện kiểu hình khác biệt chỉ là những kháng thể bề mặt. Kháng nguyên K88 và K99 ở các chủng *E. coli* gây tiêu chảy ở động vật hay CFA ở ETEC là những ví dụ về thể tua kiểu này. Thể tua này đóng vai trò quan trọng trong việc phát sinh bệnh UTI do *E. coli* gây ra.

(ii). Nội độc tố: nội độc tố là yếu tố gây bệnh chính có trong tất cả các vi khuẩn hiếu khí và một số vi khuẩn kỵ khí bao gồm cả *E. coli*. Nội độc tố gây ra các triệu chứng

nhiễm độc, có vai trò cho nhiều triệu chứng nhiễm độc toàn thân do *E. coli*. Nội độc tố cũng bảo vệ trực khuẩn thoát khỏi sự thực bào từ các hoạt động diệt khuẩn của bề mặt.

(iii). Capsule: kháng nguyên K thuộc capsule ưa nước bảo vệ *E. coli* khỏi sự thực bào bằng cách đẩy lùi bề mặt tế bào kỵ nước của thực bào. Kháng nguyên capsule gây cản trở liên kết giữa kháng thể với vi khuẩn. Tuy nhiên, sự can dự của capsule không hiệu quả trong trường hợp có sự hiện diện của kháng thể với kháng nguyên O hoặc K. Hầu hết các chủng *E. coli* gây bệnh viêm màng não ở trẻ sơ sinh và gây nhiễm trùng huyết có kháng nguyên KI, là yếu tố gây độc tương tự như kháng nguyên nhóm B của màng não cầu khuẩn. *E. coli* và các vi khuẩn đường ruột khác có khả năng gây nhiễm trùng toàn thân là do chúng có khả năng kháng lại sự tiêu diệt của huyết thanh. Capsule của vi khuẩn bảo vệ vi sinh vật khỏi sự tiêu diệt của huyết thanh.

(iv). Yếu tố tăng trưởng: đó là khả năng của vi khuẩn cạnh tranh về dinh dưỡng trong tế bào chủ, đây là một thuộc tính quan trọng của vi khuẩn gây bệnh. *E. coli* và các vi khuẩn đường ruột khác, cạnh tranh về sắt, là yếu tố quan trọng cần thiết cho sự tăng trưởng của chúng. Các phức hợp chelate sắt như thể mang sắt siderophore, enterobactin và aerobactin là những phức hợp tạo thuận lợi cho vi khuẩn hấp thu sắt. Các vi khuẩn này cũng tạo ra các yếu tố tiêu huyết hemolysin làm ly giải các tế bào hồng cầu nhờ đó làm phóng thích các hợp chất mang sắt cho vi khuẩn sử dụng.

(b). Yếu tố gây độc chuyên biệt liên quan đến *E. coli*: các yếu tố này gồm (i) yếu tố dính và (ii) ngoại độc tố.

(i). Yếu tố dính: *E. coli* sở hữu nhiều yếu tố dính có tính chuyên biệt cao. Những yếu tố dính này gồm (α) CFAs (CFA/I, CFA/II, CFA/III), (β) thể tua tăng cường sự bám dính (AAF/I, AAF/II, AAF/III), (γ) sợi tơ dạng bó (Bfp), (δ) intimin, (ϵ) sợi tơ thể P (liên kết với các kháng nguyên nhóm máu P), (τ) protein Ipa (invasion plasmid antigen) và (η) thể tua Dr (liên kết với các kháng nguyên nhóm máu Dr). Tất cả các yếu tố dính này tạo thuận lợi cho sự bám dính của *E. coli* lên niêm dịch dạ dày ruột và tuyến tiêu hoá nhờ đó ngăn chặn vi khuẩn không bị loại bỏ do bài tiết của nước tiểu và sự di động của ruột.

(ii). Ngoại độc tố: *E. coli* cũng tạo ra hai dạng ngoại độc tố: (α) hemolysin (HlyA)

và (β) độc tố đường ruột. Yếu tố tiêu huyết có vai trò quan trọng trong việc phát sinh bệnh do các chủng *E. coli* gây bệnh đường tiết niệu. Nội độc tố là các yếu tố gây độc quan trọng của *E. coli* và đến nay có ba loại nội độc tố của *E. coli* được công nhận. Các nội độc tố này gồm ($\alpha 1$). Độc tố Shiga Stx-1 và Stx-2, ($\alpha 2$). Độc tố bền nhiệt STa và STb và ($\alpha 3$). Độc tố không bền nhiệt LT-I và LT-II.

Bảng 43.5. Yếu tố gây độc và chức năng sinh học của *Escherichia coli*.

Yếu tố gây độc	Chức năng sinh học
Thể tua	Bám dính của vi khuẩn vào tuyến dạ dày ruột; yếu tố quan trọng của bệnh nhiễm trùng tuyến tiết niệu; gây ra sự ngưng kết kháng mannose
Nội độc tố	Biểu hiện toàn thân sốc nhiễm độc và bảo vệ trực khuẩn này thoát khỏi sự thực bào và các tác động diệt khuẩn của bổ thể
Capsule	Kháng lại thực bào bảo vệ <i>Escherichia coli</i> khỏi sự thực bào. Bảo vệ vi khuẩn khỏi sự tiêu diệt của huyết thanh
Yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng	Khả năng cạnh tranh dinh dưỡng với tế bào chủ của <i>Escherichia coli</i>
Yếu tố dính	Là phương tiện dính của <i>Escherichia coli</i> vào niêm mạc dạ dày ruột hay tuyến tiết niệu, nhờ đó ngăn chặn vi khuẩn không bị loại bỏ do hoạt động tổng ra của nước tiểu và sự di động của ruột.
Yếu tố tiêu huyết (HlyA)	Quan trọng trong phát sinh bệnh do các chủng <i>Escherichia coli</i> gây bệnh tiết niệu
Độc tố đường ruột	
Độc tố tế bào	Độc tố shiga
Độc tố bền nhiệt	Làm gia tăng dịch tiết
Độc tố không bền nhiệt	Tiêu chảy ra nước do tiết quá mức dịch vào lumen (khoảng) ruột
Thể mang sắt (Siderophore)	Loại bỏ sắt từ các protein vận chuyển ở động vật có vú như transferrin và lactoferrin.

($\alpha 1$). Độc tố shiga: độc tố này được đặt tên là Shiga (Stx) vì nó giống với kiểu độc tố 1 của *Shigella dysenteriae* về các đặc tính lý học, sinh học và tính kháng nguyên. Độc tố này còn được gọi là verocytotoxin hay verotoxin (VT) bởi vì chúng được phát hiện có tác động gây độc tế bào trên tế bào Vero. Độc tố shiga có hai kiểu: Stx-1 và Stx-2. Cả hai độc tố này được thực khuẩn thể tiềm tan (lysogenic bacteriophage) mã hoá. Cả hai đều có tiểu đơn vị A và 5 tiểu đơn vị B. Tiểu đơn vị B liên kết chuyên biệt với glycolipid hay còn gọi là globotriaosylceramide (GbJ) hiện diện trên tế bào chủ. Mặc dù có biểu hiện hoạt tính sinh học tương tự nhau nhưng cả hai độc tố này có tính kháng nguyên khác nhau. Không giống với Stx-1, Stx-2 không được các kháng thể được tạo ra chống lại Stx trung hoà. Các độc tố shiga thể hiện hoạt tính gây độc tế bào đã được chứng minh trên các dòng tế bào vero hay HeLa. Độc tố này cũng biểu hiện đặc tính của nội độc tố khi thử nghiệm vòng hồi tràng (ileal loop) ở thỏ và gây chết, liệt cơ ở chuột.

($\alpha 2$). Độc tố bền nhiệt: độc tố bền nhiệt (ST) là các protein có trọng lượng phân tử thấp và được chia thành hai loại: STa và STb. STa có liên quan đến bệnh ở người. STa là độc tố nhỏ, đơn phân tan trong methanol hoạt động bằng cách hoạt hoá guanosine monophosphate vòng (cGMP) trong đường ruột. STa liên kết với guanylate cyclase làm tăng mức cGMP và dẫn đến tăng dịch tiết. Độc tố này tấn công rất nhanh và gây tích lũy dịch trong ruột ở chuột mới sinh trong vòng 4 giờ sau khi vào dạ dày; chuột mới sinh thường được sử dụng làm động vật thí nghiệm để chứng minh tác động của STa. Độc tố này cũng gây tích lũy dịch trong heo con chưa thôi bú. STb không gây bệnh cho người. Không giống như STa, STb không tan trong methanol. Kiểu hoạt động chính xác của độc tố này thì chưa được hiểu rõ. Độc tố này gây tích lũy dịch trong thử nghiệm vòng hồi tràng thất ở heo con trên 9 tuần tuổi.

($\alpha 3$). Độc tố không bền nhiệt: độc tố không bền nhiệt (LT) là một protein không bền nhiệt. Độc tố này được De và cộng sự chứng minh đầu tiên vào năm 1956 có trong *E. coli* được phân lập từ các trường hợp người lớn bị tiêu chảy tại Kolkata. Họ đã chứng minh độc tố này có trong vi khuẩn bằng phương pháp thử nghiệm vòng hồi tràng ở thỏ, phương pháp này được sử dụng để phát hiện nội độc tố tả. LT có hai loại: LT-I và LT-II. Nhưng chỉ có LT-I gây bệnh cho người. LT-I có cấu trúc và kháng nguyên tương tự như

độc tố tả. LT-I gồm một tiểu đơn vị A có trọng lượng phân tử 25.000 Da và 5 tiểu đơn vị B giống hệt nhau, mỗi đơn vị có kích thước 11.500 Da. Tiểu đơn vị B liên kết với ganglioside GM1, có cùng thụ thể như độc tố tả, cũng như các glycoprotein bề mặt trên các tế bào biểu mô ở ruột non. Sự liên kết này tạo thuận lợi cho tiểu đơn vị A xâm nhập vào tế bào nhờ quá trình nhập bào. Tiểu đơn vị A có hoạt tính ADP (adenosine diphosphate)- ribosyl transferase, tương tác với protein màng (Gs) để điều hoà adenylate cyclase. Điều này làm gia tăng mức cAMP dẫn đến gia tăng tiết chloride ra và làm giảm sự hấp thu sodium và chloride. Cuối cùng là tiêu chảy ra nước là do tiết quá mức dịch vào lumen ruột. Độc tố này cũng kích thích tiết prostaglandin và sản sinh ra các cytokin gây ra chứng viêm, hậu quả hơn nữa là làm mất dịch. Các gen mã hoá cho LT-I và STa hiện diện trên plasmid I có thể di chuyển sang tế bào khác, plasmid này cũng có thể mang các gen mã hoá cho các yếu tố dính như CFA/I, CFA/II, CFA/III.

(2). Phát sinh bệnh do *E. coli*

Một số bệnh như nhiễm trùng đường tiết niệu và nhiễm trùng máu là do *E. coli* gây ra và cũng là do sự hiện diện một số lượng lớn khuẩn này trong tuyến dạ dày ruột của cơ thể chủ. Các bệnh nhiễm trùng khác do *E. coli* như viêm dạ dày ruột và viêm màng não ở trẻ sơ sinh là do xâm nhiễm từ bên ngoài.

(a). Nhiễm trùng đường tiết niệu: các kiểu huyết thanh của *E. coli* thông thường được tìm thấy trong phân thường gây ra nhiễm trùng đường tiết niệu. UTI là nhiễm trùng từ dưới lên, vi khuẩn có nguồn gốc từ tuyến tiêu hoá nhiễm vào niệu đạo, đi lên vào bàng quang và có thể lan đến thận hoặc tuyến tiền liệt.

(b). Các chủng gây viêm thận: mặc dù các chủng phổ biến nhất của *E. coli* có thể gây viêm nhiễm đường tiết niệu (UTI), nhưng phổ biến hơn là các nhóm huyết thanh chuyên biệt của *E. coli*. Các nhóm huyết thanh gây UTI được biết là những chủng gây viêm thận, các chủng này gồm *E. coli* kiểu huyết thanh O1, O2, O4, O6, O7, O18, Các kiểu huyết thanh này gây UTI, bởi vì chúng có khả năng tạo ra các yếu tố dính cụ thể mà chủ yếu là sợi tơ kiểu P, AAF/I, AAF/III và Dr, các yếu tố dính này liên kết với lớp tế bào bàng quang và tuyến tiết niệu trên. Điều này giúp ngăn chặn quá trình loại bỏ vi khuẩn trong nước tiểu bài tiết ra. Chỉ có một kiểu huyết thanh được phân lập từ nước

tiểu tại một thời điểm dù cho tái nhiễm có thể là do các kiểu huyết thanh khác nhau. Chủng này cũng sản sinh ra hemolysin HlyA, làm ly giải hồng cầu và các tế bào khác, dẫn đến làm phóng thích cytokine và kích thích phản ứng viêm sung.

(c). Viêm dạ dày ruột: viêm dạ dày ruột là do sự viêm nhiễm bên ngoài mắc phải từ nước, thực phẩm bị nhiễm *E. coli* phân. Các chủng *E. coli* gây viêm dạ dày ruột được phân thành sáu nhóm sau:

- (i). *E. coli* gây bệnh đường ruột (enteropathogenic *E. coli*-EPEC),
- (ii). *E. coli* sinh nội độc tố (enterotoxigenic *E. coli* -ETEC),
- (iii). *E. coli* xâm lấn đường ruột (enteroinvasive *E. coli* - EIEC),
- (iv). *E. coli* gây xuất huyết đường ruột (enterohemorrhagic *E. coli* - EHEC),
- (v). *E. coli* gây ngưng kết ruột (enteroaggregative *E. coli* - EAEC) và
- (vi). *E. coli* gây ngưng tập ruột (*E. coli* diffusely adherent *E. coli* - DAEC).

(i). *E. coli* gây bệnh đường ruột: EPEC là nguyên nhân chính gây tiêu chảy ở trẻ sơ sinh tại các xứ sở nhiệt đới. Bệnh này hiếm khi xảy ra ở trẻ lớn và người trưởng thành. Các chủng EPEC gồm O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O12, O128 và O142. EPEC gây bệnh nhiễm trùng bằng cách bám dính lên tế bào biểu mô ruột non, tiếp theo sau là phá huỷ các vi nhung lông (microvillus) của ruột. Khởi đầu vi khuẩn này hình thành các vi khuẩn lạc (microcolony) trên bề mặt biểu mô, theo đó vi khuẩn dính vào tế bào chủ với sự trợ giúp của các đế chụp giống như ống giác (cup-like pedestal). Sự bám dính này được Bfp tạo thuận lợi. Tiếp theo sau là hệ thống tiết protein kiểu III của vi khuẩn tiết protein vào tế bào biểu mô. Thụ thể Tir (Translocated intimin receptor) được chèn vào màng tế bào biểu mô hoạt động như là thụ thể cho intimin, yếu tố dính của màng ngoài tế bào vi khuẩn *E. coli*. Kết quả là vi khuẩn bám vào, nhân tế bào lên và gây phá huỷ vi nhung lông dẫn đến tiêu chảy do hấp thu kém (malabsorption).

(ii). *E. coli* sinh nội độc tố: tiêu chảy do ETEC là bệnh đặc hữu ở các quốc gia đang phát triển, ở tất cả các nhóm tuổi trong quần thể. Vi khuẩn này cũng gây tiêu chảy cho những người hay di chuyển từ các quốc gia đang phát triển vào những vùng đang có dịch tiêu chảy do ETEC. Bệnh này xảy ra là do tiêu thụ thực phẩm và nước bị ô nhiễm. Bệnh không lây nhiễm từ người sang người. Mặc dù plasmid cùng với gen mã hoá

nội độc tố có thể hiện hữu trong bất kỳ chủng *E. coli*, nhưng tiêu chảy chỉ do một số chủng huyết thanh đặc trưng của ETEC như O6, O8, O15, O25, O27, O167 gây ra. Các kiểu huyết thanh này gây tiêu chảy là do chúng có khả năng tạo nội độc tố LT-I và LT-II. LT-I không bền nhiệt có cấu trúc tương tự như độc tố tả, gây tiêu chảy giống như độc tố tả. Quá trình phát sinh bệnh được tạo thuận lợi hơn nhờ các yếu tố dính mà chủ yếu là sợi tơ thể P, AAF/I, AAF/III và Dr, các yếu tố dính này tạo liên kết với niêm mạc ruột.

Bảng 43.6. Tóm tắt chứng viêm dạ dày ruột do *E.coli* gây ra.

Vi khuẩn	Vị trí và cơ chế hoạt động	Bệnh
<i>E. coli</i> sinh nội độc tố (ETEC)	Độc tố bền nhiệt /không bền nhiệt; tấn công lên ruột non	Tiêu chảy do di chuyển
<i>E. coli</i> gây bệnh đường ruột (EPEC)	Tấn công lên ruột non	Tiêu chảy ở trẻ sơ sinh
<i>E. coli</i> xâm lấn đường ruột (EIEC)	Xâm lấn và phá huỷ tế bào biểu mô; tấn công trên ruột già	Bệnh lỵ
<i>E. coli</i> gây xuất huyết đường ruột (EHEC)	Độc tố shiga	Viêm kết tràng xuất huyết (HC)
	Tấn công lên ruột già	Hội chứng tiêu huyết tăng urea máu (HUS)
<i>E.coli</i> gây ngưng kết ruột (EAEC)	Bám dính; Tấn công lên ruột non	Tiêu chảy ở trẻ sơ sinh
<i>E. coli</i> gây ngưng tập ruột (DAEC)	Tấn công lên ruột non; bám dính	Tiêu chảy ở trẻ sơ sinh
<i>E.coli</i> gây ngưng kết ruột (EAEC)	Tấn công lên ruột non	Bệnh tiêu chảy mạn tính

(iii). *E. coli* xâm lấn đường ruột: các chủng EIEC rất giống với shigella trong nhiều trường hợp đó là: (α) không di động, (β) không lên men lactose hay lên men chậm và chỉ tạo ra acid và (γ) không có khả năng khử nhóm carboxyl của lysine do không có enzyme decarboxylase. Các chủng này biểu hiện phản ứng chéo với kháng nguyên O của shigella. Các chủng *E. coli* không điển hình này lúc đầu được đặt tên là *Shigella*

alkalescens thuộc nhóm “Alkalescens-Dispar Group” (giống với *Shigella flexneri* ngoại trừ khả năng lên men dulcitol và hình thành alkali trong sữa quỳ (litmus milk) và *Shigella dispar*, lên men chậm giống như *Shigella sonnei* nhưng có phản ứng indole dương. Hiện nay nhóm này được đặt lại tên là EIEC bởi vì chúng có khả năng xâm lấn vào các tế bào biểu mô ruột và cũng có khả năng xâm nhập vào các dòng tế bào HeLa ở mô nuôi cấy. Các chủng EIEC có khả năng xâm lấn và phá huỷ biểu mô ruột kết, gây ra bệnh tiêu chảy có đặc điểm ban đầu là tiêu chảy ra nước. Khả năng xâm lấn của *E. coli* được chứng minh là do plasmid có kích thước lớn, plasmid này mã hoá cho các kháng nguyên màng ngoài gọi là các kháng nguyên chỉ dấu độc tính (VMA). Vi khuẩn này ly giải các thực bào và nhân tế bào lên trong nguyên sinh chất. Quá trình phá huỷ liên tục tế bào biểu mô cùng với đó là quá trình thâm nhiễm, viêm dẫn đến tiến triển sự viêm loét trong đường ruột. Các kiểu huyết thanh chuyên biệt O28 ac, O112 ac, O124, O136, O143, O114, O152 và O154 thường liên quan đến sự bùng nổ EIEC.

(iv). *E. coli* gây xuất huyết đường ruột: các chủng EHEC là những đối tượng hàng đầu gây bệnh tuyến dạ dày ruột ở các nước phát triển. Các chủng này gây ra bệnh tiêu chảy, từ tiêu chảy nhẹ không có biến chứng đến viêm kết tràng xuất huyết gây chết (fatal hemorrhagic colitis). Hội chứng tiêu huyết tan urea máu (HUS) là biến chứng đe dọa tính mạng nghiêm trọng chiếm tỷ lệ khoảng 10% trẻ dưới 10 tuổi bị nhiễm. Khi chẳng may nuốt vào khoảng 100 triệu khuẩn có thể gây tiêu chảy. Bệnh EHEC phổ biến nhất ở trẻ em dưới 5 tuổi và trong những tháng mùa hè. Bệnh xuất hiện là do tiêu thụ nước, sữa chưa qua thanh trùng hoặc nước trái cây, rau chưa nấu chín và trái cây bị nhiễm phân người và động vật. Bệnh cũng xuất hiện do tiêu thụ thịt bò băm hoặc sản phẩm thịt chưa nấu chín. Các kiểu huyết thanh O157:H7 và O26:H1 là những chủng EHEC thường gây bệnh. Các chủng này sinh độc tố shiga Stx-1 hoặc Stx-2 hoặc cả hai, chủ yếu gây bệnh tiêu chảy. Stx-2 thường liên quan đến hội chứng HUS, có đặc tính làm suy thận cấp, giảm lượng tiểu cầu và thiếu máu tan huyết bệnh mao mạch (microangiopathic hemolytic anemia). Stx-2 làm phá huỷ tế bào nội mô của tiểu cầu thận, làm giảm khả năng lọc của tiểu cầu thận và làm suy thận cấp. Các độc tố này cũng kích thích sản sinh yếu tố gây hoại tử khối u α và interleukin-6, đóng góp nhiều hơn cho tiến

trình gây bệnh này.

(v). *E. coli* gây ngưng kết ruột: các chủng EAEC có tên gọi này là vì chúng có biểu hiện kiểu sắp xếp điển hình như đồng gạch trên các tế bào Hep-2 hoặc dạng thủy tinh do chúng tự ngưng kết. Thể tua dạng bó của vi khuẩn như AAF/I và AAF/II, được mã hoá trên plasmid, làm trung gian cho quá trình này. Các chủng EAEC này tiết nội độc tố bền nhiệt, có trọng lượng phân tử thấp gọi là nội độc tố 1 bền nhiệt gây ngưng kết ruột (EAST-1). EAEC làm gia tăng tiết dịch, hình thành một lớp chông lên lớp biểu bì của ruột non. Lớp sinh học (biofilm) này bẫy vi khuẩn ở biểu mô ruột non. Trong thực nghiệm ở động vật, chúng làm ngăn các vi lông nhung, gây thâm nhiễm bạch cầu đơn nhân (mononuclear infiltration) và gây xuất huyết. Các chủng này liên quan đến triệu chứng tiêu chảy ra nước dai dẳng và mất nước ở trẻ sơ sinh, nhất là ở các quốc gia đang phát triển.

(vi). *E. coli* gây ngưng tập ruột: các chủng DAEC gây tiêu chảy ra nước được phát hiện chủ yếu ở trẻ từ 1 đến 5 tuổi. Các chủng này được xác định là nhờ vào khả năng dính của chúng lên tế bào nuôi cấy. Chúng làm cho các vi lông nhung kéo dài ra cùng với đó là vi khuẩn được bẫy vào trong màng tế bào.

(d). Nhiễm trùng máu: sự xâm lấn của *E. coli* vào máu dẫn đến nhiễm trùng máu. Nhiễm trùng máu do các chủng *E. coli* liên quan đến bệnh viêm đường tiết niệu (UTIs) hay nhiễm trùng ổ bụng (intra-abdominal infection) như chứng viêm màng bụng (peritonitis) và áp se (abscess) theo sau là sự thủng ruột (intestinal perforation). Tỷ lệ tử vong do nhiễm trùng máu *E. coli* cao ở những bệnh nhân bị suy giảm hệ miễn dịch, hoặc đối với bệnh nhân nhiễm trùng chủ yếu ở bụng hoặc hệ thần kinh trung ương (CNS).

(e). Viêm màng não ở trẻ sơ sinh: *E. coli* cùng với streptococcus Nhóm B là những nguyên nhân chính gây nhiễm hệ thần kinh trung ương ở trẻ sơ sinh 1 tháng tuổi. Bệnh này do các chủng *E. coli* có kháng nguyên capsule KI gây ra. Các chủng này thường hiện diện trong tuyến dạ dày ruột của người mẹ đang mang thai.

(3). Miễn dịch ở động vật chủ: bệnh do EPEC gây ra hiếm khi xuất hiện ở trẻ nhỏ và người lớn, bởi vì nhóm người này đã phát triển hệ miễn dịch. Miễn dịch phát triển các kháng nguyên bề mặt của ETEC trong những quần thể cục bộ ở người lớn. Vì thế

bệnh chỉ hạn chế ở những người di chuyển và trẻ thôi bú.

(4). Hội chứng lâm sàng: *E. coli* gây (a) nhiễm trùng đường tiết niệu, (b) viêm dạ dày ruột, (c) nhiễm trùng máu, (d). Viêm kết tràng xuất huyết, (e) viêm màng não ở trẻ sơ sinh và (f) các bệnh nhiễm trùng khác.

(a). Nhiễm trùng đường tiết niệu: *E. coli* là vi khuẩn phổ biến nhất gây hơn 80% nhiễm trùng đường tiết niệu mắc phải trong tất cả cộng đồng. *E. coli* gây ra nhiều triệu chứng bệnh nhiễm trùng đường tiết niệu, gồm viêm niệu đạo không biến chứng hay viêm bàng quang (cystitis), triệu chứng viêm bàng quang, nhiễm trùng thận (pyelonephritis), viêm tuyến tiền liệt cấp tính (acute prostatitis), áp se tuyến tiền liệt (prostatic abscess) hay nhiễm khuẩn niệu (urosepsis). Viêm bàng quang không biến chứng xảy ra chủ yếu do hoạt động tình dục với nữ giới. Nữ giới thường có sự tập kết của các chủng *E. coli* gây bệnh tiết niệu. Tiếp đến và vùng xung quanh được *E. coli* tập kết do nhiễm từ phân và vi khuẩn tiếp cận được bàng quang trong quá trình hoạt động tình dục.

(b). Viêm dạ dày ruột: sự khác nhau của các kiểu phụ (subtype) của *E. coli* gây bệnh tiêu chảy với nhiều kiểu như sau:

(i). EPEC, EAEC và DAEC gây tiêu chảy ra nước và lỵ. Các triệu chứng này xuất hiện ở phổ biến nhất ở các nước đang phát triển. EPEC chủ yếu tác động đến trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ. Các chủng này gây bệnh tiêu chảy ra nước cấp tính, có thể làm mất nước và bệnh trở nên mạn tính và làm cho trẻ không phát triển. EAEC và DAEC cũng gây tiêu chảy tương tự như EPEC gây ra.

(ii). ETEC phân bố rộng khắp ở những khu vực vệ sinh kém và nguồn nước và thực phẩm bị nhiễm bẩn. Vì vậy ETEC là nguyên nhân chủ yếu gây tiêu chảy cho người di chuyển và chủ yếu gây tiêu chảy ở trẻ sơ sinh ở những quốc gia chưa phát triển. Điều này là do sự miễn dịch phát triển các kháng nguyên bề mặt ETEC trong quần thể cục bộ người trưởng thành; Vì vậy bệnh chỉ giới hạn ở những người di chuyển có hệ miễn dịch chưa phù hợp và trẻ sơ sinh thôi bú. Thời gian ủ bệnh ngắn dao động từ 1 đến 3 ngày. Trường hợp bệnh biểu hiện các đợt bất chợt tiêu chảy ra nước, dịch nhầy hay bạch cầu trong phân. Nôn mửa có thể xuất hiện nhưng hầu hết bệnh nhân thường không có sốt. Bệnh tồn tại trong vòng 5 ngày.

(iii). EIEC gây tiêu chảy và lỵ, bệnh tương tự như bệnh do *Shigella* gây ra. Các chủng này gây tiêu chảy ra nước, lỵ, sốt, nôn mửa, đau bụng từng cơn và đau mót (tenesmus). Phân thường đi kèm có máu và bạch cầu.

(iv). EHEC là nguyên nhân quan trọng gây bệnh qua đường thực phẩm, nhất là ở các nước đã phát triển như Hoa Kỳ và Canada. EHEC là hệ vi sinh vật phổ biến trong đường ruột của gia súc. Vì vậy gia súc là nguồn cung cấp chủ yếu của các chủng EHEC gây bệnh tiêu chảy ở người. Nhiễm trùng mắc phải là do tiêu thụ các sản phẩm thịt gia súc hoặc thực phẩm bị nhiễm phân gia súc có các chủng EHEC. EHEC gây hai hội chứng khác biệt: (α) viêm kết tràng xuất huyết (hemorrhagic colitis) và (β) hội chứng tan huyết tăng urea máu (HUS) do hai độc tố shiga gây ra. Độc tố Stx gây biến chứng toàn thân và những biểu hiện của bệnh này.

(c). Nhiễm trùng máu: *E. coli* gây nhiễm trùng máu thường liên quan đến UTI, nhất là các trường hợp gây bí tiểu (urinary obstruction). Nội độc tố hay LPS của vi khuẩn gây phản ứng toàn thân có thể dẫn đến hội chứng gây hội chứng đông máu nội mạch rải rác (disseminated intravascular coagulation) và thậm chí gây chết. Tỷ suất chết (mortality) và tỷ suất bệnh (morbidity) liên quan đến nhiễm trùng máu do *E. coli* tương tự như nhiễm trùng do các trực khuẩn hiếu khí Gram âm khác.

(d). Viêm kết tràng xuất huyết: thời gian ủ bệnh dao động từ 1 đến 5 ngày. Bệnh này biểu hiện các triệu chứng tiêu chảy ra nước do viêm kết tràng xuất huyết (hemorrhagic colitis). Tiêu chảy ra nước thường đi kèm với đau bụng quặn quai và nôn mửa. Ở hầu hết bệnh nhân, tiêu chảy ra máu trong 1–2 ngày nhưng thường không có bạch cầu ở phân. Sốt xuất hiện chiếm 1/3 trường hợp. Bệnh thường kéo dài trong thời gian 4 - 10 ngày. *E. coli* O157:H7 và hầu hết các chủng phổ biến gây tiêu chảy EHEC có liều xâm nhiễm nhỏ khoảng 100 tế bào và dễ dàng lây lan từ trẻ này sang trẻ khác qua đường phân miệng. Viêm ruột kết do *E. coli* được tóm tắt ở Bảng 43.6.

(e). Viêm màng não ở trẻ sơ sinh: *E. coli* là nguyên nhân quan trọng gây viêm màng não ở trẻ sơ sinh. Ở người trưởng thành, bệnh xuất hiện sau quy trình phẫu thuật thần kinh, chấn thương hệ thần kinh trung ương (CNS) hoặc phức tạp hơn do nhiễm *Strongyloides stercoralis* cao ở CNS. Viêm màng não ở trẻ sơ sinh có tỷ lệ chết là 8%.

(f). Các bệnh nhiễm trùng khác: gồm nhiễm trùng ổ bụng do *E. coli* thường dẫn đến viêm thủng ruột thừa (perforated appendix), túi thừa (diverticulum) hoặc do áp se ổ bụng (intra-abdominal abscess), viêm túi mật (cholecystitis) và làm tăng chứng viêm đường mật (cholangitis). Viêm khớp do nhiễm trùng (Septic arthritis), viêm nội nhãn (endophthalmitis), viêm xoang (sinusitis), viêm tuỷ xương (osteomyelitis), viêm màng trong tim (endocarditis) hay nhiễm trùng da và mô mềm là những bệnh nhiễm trùng sinh mủ khác do *E. coli* gây ra.

43.4.1.9. Dịch tễ học

(1). Phân bố địa lý: nhiều chủng *E. coli* gây tiêu chảy chủ yếu tác động đến các quần thể người ở những quốc gia đang phát triển. Có sự dao động lớn về các chủng phân bố trên thế giới. EPEC, EAEC và DAEC xuất hiện thường xuyên nhất ở các quốc gia đang phát triển. ETEC chủ yếu gây tiêu chảy cho những người hay di chuyển và yếu tố chính gây tiêu chảy ở trẻ sơ sinh ở các xứ sở nghèo và các quốc gia đang phát triển. Theo thống kê trên phạm vi toàn cầu, mỗi năm ETEC gây hơn 600 triệu trường hợp tiêu chảy, 700.000 trường hợp trẻ em dưới năm tuổi chết. EHEC cũng là đối tượng gây bệnh qua đường thực phẩm và cũng là yếu tố gây bùng nổ hội chứng tan huyết tăng urea máu (HUS) ở trẻ em.

(2). Môi trường sống: hầu hết các chủng *E. coli* gây bệnh ở người sống trong đường ruột người. Một số ít các chủng như EHEC cũng sống trong đường ruột gia súc.

(3). Nguồn cung cấp và lan truyền bệnh: *E. coli* là một thành phần của hệ vi khuẩn bình thường ở người. Hầu hết các bệnh do *E. coli* xâm nhiễm gây ra là do xâm nhiễm nội tại, ngoại trừ viêm màng não ở trẻ sơ sinh và viêm dạ dày ruột. Các vi khuẩn này gây bệnh nhiễm trùng như UTI do vệ sinh cá nhân kém hoặc khả năng phòng vệ của bệnh nhân bị suy giảm. Tiêu chảy do *E. coli* lan rộng ở nhiều khu vực có ý thức vệ sinh kém và bệnh nhiễm trùng là do vi khuẩn bên ngoài xâm nhập. Thực phẩm và nước bị ô nhiễm phân người và động vật chính là nguồn quan trọng cung cấp *E. coli* gây bệnh tiêu chảy. Thịt bò băm, nước ép táo và giá đậu nhiễm phân gia súc là nguồn quan trọng của bệnh nhiễm trùng do *E. coli* gây xuất huyết đường ruột ví dụ như O157:H7. Bệnh mắc phải do tiêu thụ thực phẩm và nước bị nhiễm chủng vi khuẩn này. Nguồn thường xuyên

của *E. coli* ở bệnh nhiễm trùng ở trẻ sơ sinh là từ đường ruột người mẹ. Vi khuẩn này cũng có thể mắc phải do nhiễm khuẩn bệnh viện, cụ thể là ở những trẻ sơ sinh bị suy yếu hoặc trẻ có yêu cầu thở máy. Người và gia súc cũng là nguồn cung cấp *E. coli* O157:H7.

43.4.1.10. Phát hiện phòng thí nghiệm

Phát hiện *E. coli* tại phòng thí nghiệm cần dựa trên các bước sau phân lập *E. coli* và chứng minh độc tố của *E. coli* gây tiêu chảy.

(1). Mẫu phân tích

(a). Mẫu bệnh phẩm: nước tiểu là mẫu bệnh phẩm được lựa chọn để chẩn đoán bệnh UTI do *E. coli* gây nhiễm đường tiết niệu. Lấy mẫu nước tiểu thường được sử dụng để nuôi cấy vi sinh vật.

Nước tiểu là môi trường tốt cho coliforms và các vi sinh vật gây bệnh tiết niệu tăng trưởng, vì vậy mẫu sau khi thu thập cần phải chuyển nhanh về phòng thí nghiệm. Cần tránh để lâu hơn 1–2 giờ, mẫu nên được bảo quản lạnh. Các mẫu bệnh phẩm khác gồm phân hoặc mẫu swab trực tràng để xác định viêm dạ dày ruột, máu để xác định nhiễm trùng máu, dịch não tủy CSF) để xác định viêm màng não, đờm để xác định viêm phổi hay các dịch cơ thể khác như mủ từ vết thương, áp se mật và màng bụng do *E. coli*.

(b). Mẫu thực phẩm: mẫu thực phẩm, nhuyễn thể, mẫu nước, mẫu vệ sinh công nghiệp trong chế biến thực phẩm là những đối tượng mẫu thường được yêu cầu phân tích coliforms, coliform phân và *E.coli*. Mặc dù coliform dễ dàng phát hiện, nhưng sự liên quan của chúng trong ô nhiễm phân là vấn đề cần đặt ra. Bởi vì một số coliform được phát hiện trong các mẫu môi trường tự nhiên. Do coliforms là thành phần của hệ vi khuẩn đường ruột của động vật máu nóng bao gồm cả người nên coliform phân (fecal coliform) được sử dụng làm chỉ thị về ô nhiễm. Theo nghiên cứu của Eijkman, coliform phân là tập hợp con của coliforms tổng, chúng có khả năng lên men lactose khi ủ ở nhiệt độ cao vì vậy nhóm này cũng được xem như là coliform chịu nhiệt (thermotolerant coliforms). Nhóm coliform phân chủ yếu là *E. coli* nhưng một số vi khuẩn đường ruột khác như *Klebsiella* cũng có thể lên men lactose ở nhiệt độ này vì vậy cũng được xem là coliform phân.

(2). Nuôi cấy: phát hiện *E. coli* trên cơ sở dựa trên sự phân lập từ nhiều loại mẫu

bệnh phẩm. Nuôi cấy nước tiểu là một quy trình hữu ích để xác định bệnh UTI. Nuôi cấy phân cũng được sử dụng rộng rãi để phân lập *E. coli* gây bệnh tiêu chảy. Tùy thuộc vào bệnh lâm sàng, nuôi cấy máu, dịch não tủy (CSF) và mẫu bệnh phẩm khác cũng được tiến hành để xác định yếu tố gây bệnh là *E. coli*.

(a). Nuôi cấy nước tiểu: xác định bán định lượng *E. coli* và vi khuẩn Gram âm khác trong nước tiểu là phương pháp được sử dụng phổ biến nhất trong phòng thí nghiệm để xác định vi khuẩn có trong nước tiểu. Ở phương pháp này, số lượng sơ bộ nước tiểu được cấy trên môi trường MacConkey và thạch máu bằng que cấy vòng (loop) đã được chuẩn hóa. que cấy vòng này đã được hiệu chuẩn để phân phối 0,05 mL nước tiểu; theo đó 200 que cấy sẽ phân phối 1 mL nước tiểu. Số khuẩn lạc thu được từ các đĩa sau khi ủ qua đêm được nhân với 200 sẽ có được số vi khuẩn chính xác có trong mỗi mL nước tiểu. Ví dụ nếu số khuẩn lạc thu được trên môi trường MacConkey sau khi ủ qua đêm là 300, thì số vi khuẩn /mL nước tiểu sẽ là $300 \times 200 = 60.000$ hay 6×10^4 (theo Kass). Sau khi ủ qua đêm ở 37°C, trên môi trường MacConkey khuẩn lạc điển hình có dạng hình dẹt, màu hồng và trên môi trường thạch máu khuẩn lạc có tiêu huyết beta. Lựa chọn các khuẩn lạc để thử nghiệm sinh hóa (Bảng 43.1).

Vi khuẩn niệu đáng kể theo khái niệm của Kass, dựa trên số khuẩn lạc đếm được trong nước tiểu. Nếu vượt 10^5 vi khuẩn /mL nước tiểu, chứng tỏ số vi khuẩn niệu đủ để gây bệnh tiết niệu UTI. Tổng số vi khuẩn 10^4 /mL nước tiểu hoặc ít hơn thì không đủ để gây bệnh vì sự ô nhiễm sẽ bị nước tiểu loại bỏ. Tổng số vi khuẩn từ 10^4 đến 10^5 cần phải kiểm tra lại.

Tổng hợp kết quả vi khuẩn niệu tuy nhiên đòi hỏi phải cẩn thận và luôn tham khảo triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân. Bởi vì UTI là vấn đề chung và phương tiện nuôi cấy vi khuẩn không phải lúc nào cũng có sẵn.

Sau khi ủ qua đêm ở 37°C, trên môi trường môi trường MacConkey, khuẩn lạc *E. coli* có hình dạng phẳng, hồng. Còn trên thạch máu, khuẩn lạc *E. coli* có tiêu huyết beta. Lựa chọn các khuẩn lạc điển hình để thử sinh hóa theo Bảng 43.1.

(b). Nuôi cấy các mẫu bệnh phẩm khác: dịch não tủy (CSF) được sử dụng để phân lập chủng *E. coli* gây viêm màng não. Việc phân lập vi sinh vật từ máu, mủ và các

mẫu bệnh phẩm khác được sử dụng để xác định bệnh xâm nhiễm do *E. coli*.

(c). Nuôi cấy mẫu thực phẩm: hầu hết các phương pháp được sử dụng để phát hiện *E. coli*, coliforms tổng hay coliform phân là những phương pháp đếm dựa trên đặc điểm lên men lactose của vi khuẩn. Sử dụng MPN làm phương pháp thống kê. MPN là phương pháp đa bước gồm các bước giả định, khẳng định và hoàn thành. Trong kiểm tra thực phẩm, phân tích coliform phân được tiến hành ở 45,5°C. Nước, nhuyễn thể và nước trong vùng thu hoạch nhuyễn thể phân tích ở 44,5°C.

Hiện nay tất cả 3 nhóm được sử dụng làm chỉ thị nhưng việc áp dụng là hoàn toàn khác nhau, đó là. (i). Coliform được sử dụng dùng làm chỉ thị cho chất lượng vệ sinh nước hoặc chỉ thị cho điều kiện vệ sinh chung trong môi trường chế biến thực phẩm. (ii). Coliform phân dùng làm chỉ thị tiêu chuẩn trong đánh giá nhuyễn thể và nước trong vùng thu hoạch nhuyễn thể và (iii). *E. coli* được sử dụng làm chỉ thị ô nhiễm phân hiện tại hay quá trình chế biến không đạt về điều kiện vệ sinh.

(3). Chứng minh độc tố của *E. coli* gây bệnh tiêu chảy

Chẩn đoán ở phòng thí nghiệm về bệnh tiêu chảy do *E. coli* có thể được thực hiện bằng cách chứng minh sự hiện diện của vi khuẩn này trong phân qua nuôi cấy. Phân được thu thập từ bệnh nhân, chứa trong các vật dụng chứa vô trùng và gửi ngay về phòng thí nghiệm. Cấy trực tiếp mẫu phân trên môi trường rắn MacConkey và môi trường thạch máu. Ủ các đĩa có cấy mẫu ở 37°C qua đêm, sau đó quan sát các khuẩn lạc có đặc tính lên men lactose trên MacConkey và khuẩn lạc tiêu huyết beta trên môi trường thạch máu.

Do *E. coli* hiện hữu trong đường ruột như là vi khuẩn hội sinh. Vì vậy việc phát hiện *E. coli* trong các mẫu phân bình thường cũng cần phải tiến hành các bước thử nghiệm chuyên sâu nên để xác định các chủng *E.coli* gây bệnh tiêu chảy. Các bước thử nghiệm xác định cần được tiến hành như sau (a) xác định kiểu huyết thanh, (b) tiêm vào động vật, (c) đánh giá hiệu ứng tác động lên tế bào (cytopathic effect) trong nuôi cấy tế bào hay (d) phương pháp phân tử.

Xác định EPEC: các kiểu huyết thanh chuyên biệt của *E. coli* gồm O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O12, O128 và O142 thường liên quan với bùng nổ EPEC. Vì vậy các khuẩn lạc *E. coli* được phân lập từ phân trên môi trường rắn

MacConkey được xác định bằng thử nghiệm ngưng kết với kháng nguyên đơn hoặc đa giá. Trong phương pháp này, dịch huyền phù *E. coli* được chuẩn bị trên lam sau đó nhỏ từng giọt và trộn đều với kháng nguyên chuyên biệt đơn hoặc đa giá để xác định kiểu huyết thanh của EPEC. Trên mỗi đĩa phân lập, cần thử nghiệm ít nhất 10 khuẩn lạc. Trong trường hợp thử nghiệm huyết thanh cho kết quả âm tính thì vi khuẩn sẽ tạo huyền phù và không có sự ngưng kết. Trường hợp cho kết quả dương tính thì *E. coli* sẽ ngưng kết với một nhóm khác nguyên đặc hiệu.

Xác định ETEC: chẩn đoán bệnh tiêu chảy do ETEC phụ thuộc vào việc chứng minh nội độc tố có trong các chủng *E. coli* phân lập từ phân, bởi vì sự sản sinh độc tố thì không liên quan với các kiểu huyết thanh chuyên biệt của *E. coli*. Một chủng ETEC có thể sản sinh hoặc là LT hoặc là ST hoặc là cả hai. Nhiều thử nghiệm sẵn có để chứng minh ETEC sản sinh LT hay ST. Vì vậy những thử nghiệm này được sử dụng để phát hiện và xác định các chủng *E. coli* phân lập từ phân là ETEC (Bảng 43.7).

(1). Sự hiện diện của LT trong các chủng phân *E. coli* có thể được chứng minh bằng:

- (a). Biểu hiện sự tích lũy dịch trong phương pháp thử nghiệm ileal loop trên thỏ.
- (b). Biểu hiện yếu tố thấm mạch máu (vascular permeability factor) của độc tố khi thí nghiệm trên thỏ trưởng thành.
- (c). Thử nghiệm nuôi cấy mô.
- (d). Thử nghiệm huyết thanh: khuếch tán qua gel, ngưng kết hồng cầu thụ động ngược (reverse passive hemagglutination) và miễn dịch qua enzyme liên kết (ELISA).
- (e). Mẫu dò gen có sẵn trên thị trường dùng để phát hiện gen sinh độc tố LT trong *E. coli* phân lập từ phân qua nuôi cấy hoặc trực tiếp từ phân.

(2). Sự hiện diện của ST trong các chủng *E. coli* có thể được chứng minh bằng một số phương pháp thử như sau:

- (a). Thử nghiệm trên chuột sơ sinh, vẫn còn được sử dụng rộng rãi để phát hiện độc tố ST trong các chủng phân lập của *E. coli*.
- (b). Mẫu dò gen dùng để phát hiện ST ở *E. coli* phân lập từ phân nuôi cấy phân hoặc trực tiếp từ phân.

Xác định EIEC: nhiều chủng EIEC là các chủng *E. coli* không điển hình. Chúng là những vi khuẩn không di động và không lên men lactose hoặc lên men chậm có sản sinh ra acid nhưng lại không sinh hơi. Chúng cũng không khử nhóm carboxyl của lysine. EIEC được xác định bằng:

Thử nghiệm *sereny*: thử nghiệm này được tiến hành trên chuột lang (guinea pig) bằng cách truyền EIEC vào trong túi kết mạc (conjunctival sac) của chuột lang. Sau 72 giờ, tiến hành kiểm tra sự xuất hiện chứng viêm kết mạc có mủ (mucopurulent conjunctivitis) và xuất hiện chứng viêm giác mạc (keratitis) nghiêm trọng ở động vật thí nghiệm.

Thử nghiệm nuôi cấy tế bào: độc tố có thể được chứng minh trong tế bào HeLa hay HEP-2. Dịch huyền phù vi khuẩn được cho vào lớp tế bào đơn. Sau đó kiểm tra các tế bào này có *E. coli* ở nội bào hay không bởi vì nếu EIEC hiện diện, chúng sẽ xâm nhập vào những tế bào này và sao chép bên trong các tế bào mà chúng xâm nhiễm.

Thử nghiệm miễn dịch dựa trên enzyme liên kết (ELISA) để phát hiện VMA: đây là thử nghiệm huyết thanh dùng để phát hiện plasmid, plasmid này mã hoá cho các kháng nguyên thuộc màng ngoài vi khuẩn gọi là VMA, trong các chủng EIEC phân lập từ phân.

Xác định EHEC: *E. coli* O157:H7 là kiểu huyết thanh phổ biến nhất liên quan đến bệnh do các chủng EHEC gây ra. Chủng này không lên men sorbitol; vì vậy môi trường rắn MacConkey thường dùng để phân lập các chủng này từ phân. Xác định chủng EHEC được thực hiện bằng cách:

- (a). Chứng minh hiệu ứng gây độc tế bào của EHEC trên các tế bào Vero hay HeLa.
- (b). Sử dụng các mẫu dò DNA cho các gen VT1 và VT2 để phát hiện trực tiếp EHEC trong phân hoặc từ các chủng phân lập.

Xác định các chủng khác: các chủng EAEC được xác định bằng thử nghiệm ngưng kết với kháng nguyên đặc hiệu. Hầu hết các chủng này không có kháng nguyên O nhưng chúng lại có kháng nguyên H đặc trưng.

(4). Phương pháp phân tử: sử dụng môi và mẫu dò PCR, Real-time PCR và mẫu

dò gen là những kỹ thuật được phát triển để phát hiện STEC/O157. Theo đó trình tự mỗi sử dụng cho PCR như sau:

Bảng 43.7. Trình tự mỗi/mẫu dò dùng để phát hiện STEC/O157.

Mỗi ¹	GenBank	Số base	Trình tự 5' → 3'
Stx1F934	M19473	26	gtg gca tta ata ctg aat tgt cat ca
Stx1R1042	M19473	21	gcg taa tcc cac gga ctc ttc
Stx2F1218	X07865	24	gat gtt tat ggc ggt ttt att tgc
Stx2R1300	X07865	26	tgg aaa act caa ttt tac ctt tag ca
UidAF241	AF305917	21	cag tct gga tcg cga aaa ctg
UidAR383	AF305917	22	acc aga cgt tgc cca cat aat t
IAC55F2		17	atg ggt gcc gtt cga gc
IAC186R		19	cga gac gat gca gcc att c
Mẫu dò ¹	5' → 3' Sequence		
stx1P990	M19473	31	TxRd-tga tga gtt tcc ttc tat gtg tcc ggc aga t-BHQ2
stx2P1249	X07865	25	6FAM-tct gtt aat gca atg gcg gcg gat t-BHQ1
UidAP266	AF305917	15	TET-att gag cag cgt tgg-MGB/NFQ
ICP-Cy52		26	Cy5- tct cat gcg tct ccc tgg tga atg tg-BHQ2

Nguồn BAM, FDA

Ghi chú: ¹ Mỗi /Mẫu dò được đặt tên từ gen mục tiêu là *stx1*, *stx2* hoặc *uidA*, mỗi xuôi (F), mỗi ngược (R) hay mẫu dò (P).

Bảng 43.8. Trình tự mỗi và mẫu dò sử dụng máy AB 7500 Fast.

Mỗi	GenBank	Số base	Trình tự 5' → 3'
stx1F934	M19473	26	gTg gCA TTA ATA CTg AAT TgT CAT CA
stx1R1042	M19473	21	gCg TAA TCC CAC ggA CTC TTC
Stx2F1218	X07865	24	gAT gTT TAT ggC ggT TTT ATT TgC
Stx2R1300	X07865	26	Tgg AAA ACT CAA TTT TAC CTT Tag CA
wzyF1831	AF061251	24	CTC gAT AAA TTg CgC ATT CTA TTC
wzyR1936	AF061251	23	CAA TAC ggA gAg AAA Agg ACC AA
Mẫu dò			
stx1P990	M19473	31	Cy5-TgA TgA gTT TCC TTC TAT gTg TCC ggC AgA T-BHQ2
stx2P1249	X07865	25	TAMRA-TCT gTT AAT gCA ATg gCg gCg gAT T-BHQ2

43.4.1.11. Điều trị

E. coli được phân lập từ các bệnh nhiễm trùng mắc phải trong cộng đồng thường nhạy cảm với các kháng sinh sử dụng phổ biến trừ penicillin. Tuy nhiên các chủng *E. coli* phân lập mắc phải trong bệnh viện biểu hiện sự đa kháng. Phần lớn bệnh nhiễm trùng *E. coli* được điều trị tốt nhất bằng kháng sinh nhạy cảm. UTI và nhiễm trùng ở trẻ sơ sinh được điều trị với liệu pháp kháng sinh phù hợp. Điều trị viêm dạ dày ruột do vi khuẩn chủ yếu là biện pháp hỗ trợ. Không nên sử dụng liệu pháp kháng sinh cho đến khi xác định rõ đối tượng gây bệnh. Không nên sử dụng liệu pháp giả định do tiềm ẩn nguy cơ liên quan đến việc điều trị bằng kháng sinh đối với bệnh tiêu chảy do *E. coli* O157:H7. Cephalosporin thế hệ thứ ba như ceftriaxone được khuyến cáo sử dụng để điều trị bệnh viêm màng não và viêm phổi do *E. coli*.

43.4.1.12. Ngăn chặn và kiểm soát

Sử dụng nước sạch, thực phẩm hợp vệ sinh và an toàn, kiểm soát vật thải ra ngoài môi trường là những chiến lược hiệu quả nhất về chi phí làm giảm tỷ lệ mắc phải bệnh đường ruột do vi khuẩn *E. coli*. Ăn thịt bò chín là biện pháp hiệu quả nhất ngăn ngừa chứng viêm kết tràng xuất huyết do *E. coli* O157:H7.

43.5. *Edwardsiella*

43.5.1. Giới thiệu

Giống *Edwardsiella* khác với giống *Escherichia* về khả năng sinh hydrogen sulfide. Giống *Edwardsiella* bao gồm *Edwardsiella tarda*, là những vi khuẩn chỉ gây bệnh cho người. *E. tarda* sống trong đường ruột của rắn và những động vật máu lạnh khác. Tên *tarda* là vi khuẩn lên men đường chậm hoặc yếu. *E. tarda* là trực khuẩn Gram âm, không có capsule, di động và khả năng lên men yếu.

43.5.2. Đặc điểm sinh học

Vi khuẩn này chỉ lên men glucose và maltose để sinh acid và tạo một ít khí. Có khả năng phân giải indole, H₂S và citrate và khử nhóm carboxyl của lysine và ornithine. Đôi khi *E. tarda* là vi khuẩn gây bệnh cho người, được phân lập từ vết thương, máu và từ dịch não tủy (CSF) trong các trường hợp viêm màng não gây chết. Vi khuẩn này cũng

được phân lập từ phân của những người khỏe mạnh và từ các bệnh nhân bị tiêu chảy. Mặt khác vai trò gây bệnh của chúng trong việc gây tiêu chảy vẫn chưa được thiết lập.

43.5.3. Đặc điểm gây bệnh

E. tarda là vi khuẩn gây bệnh cơ hội ở người. Khuẩn này gây bệnh đường ruột và ngoài ruột, chủ yếu ở những cá thể bị suy giảm miễn dịch. Viêm dạ dày ruột là bệnh phổ biến nhất do *E. tarda*, các triệu chứng từ viêm ruột tiêu chảy nhẹ đến viêm ruột non kết (enterocolitis) mạn tính. Viêm dạ dày ruột cấp tính có các triệu chứng điển hình như tiêu chảy 5 - 6 lần/ ngày, buồn nôn, nôn mửa và sốt nhẹ. Viêm ruột non kết hay trực khuẩn lỵ thì có biểu hiện nghiêm trọng hơn, có đặc điểm như đi tiêu ra máu, lở loét ruột kết, Có màng giả (pseudomembrane) và có u (nodularity) ở đoạn cuối hồi tràng. Các biểu hiện ngoài dạ dày ruột liên quan đến nhiễm trùng *E. tarda* thì hiếm và gồm viêm nội mạc tâm, viêm màng phổi mủ (empyema), viêm gan - ống gan (hepatobiliary infection), viêm phúc mạc, áp se ổ bụng, viêm tủy xương, nhiễm trùng vết thương, nhiễm trùng máu, du khuẩn huyết, nhiễm khuẩn niệu và viêm màng não.

Mặc dù các nhiễm trùng này hiếm khi xảy ra nhưng chúng có thể nghiêm trọng và gây chết. Tỷ suất chết chiếm 40-50% ở những bệnh nhân bị du khuẩn huyết do nhiễm trùng *E. tarda*.

43.5.4. Dịch tễ học

Viêm dạ dày ruột do *E. tarda* xảy ra khắp nơi trên thế giới, mặc dù có nhiều thống kê cho thấy thường xảy ra ở các khu vực có khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới, nơi tiêu thụ thủy sản chưa qua nấu chín. Bệnh gan - ống gan, bệnh ác tính /ung thư và tiểu đường là những yếu tố nguy cơ mắc phải bệnh nhiễm trùng ngoài ruột do *E. tarda*. Viêm dạ dày ruột thì phổ biến hơn ở trẻ và nhiễm trùng ngoài ruột thì phổ biến hơn ở người lớn.

Người, động vật sống trong môi trường nước ngọt và nước mặn như bò sát (rắn và rùa), lưỡng cư, cá, động vật có vú và động vật có vú ở dưới nước là những động vật chủ của vi khuẩn này. Kiểu lan truyền là do phơi nhiễm với môi trường nước và động vật; do tiêu thụ thủy sản bị nhiễm. Không lan truyền từ người sang người.

43.5.5. Điều trị

Chúng phân lập từ bệnh nhân nhận cấy ghép thận bị viêm dạ dày ruột do

Edwardsiella tarda thì nhạy với ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, piperacillin và ticarcilla - clavulanate trong *in vitro*. Trong thực nghiệm, *E. tarda* cũng nhạy cảm với nhóm tetracycline, nhóm quinolone, nhóm antifolate, chloramphenicol, nitrofurantoin, fosfomycin, cephalixin và gentamycin.

Hầu hết các chủng kháng được colistin, polymixin B, oxacillin, rifampin, fusidic acid và penicillin. Các chủng kháng ampicillin, piperacillin, gentamicin và trimethoprim/sulfamethoxazole cũng đã được phân lập.

E. tarda nhạy cảm với hydrogen peroxide ở nồng độ 1600 ppm, sodium hypochlorite 11,5%, povidon iodine 800 ppm, dung dịch formalin 3200 ppm, glutaraldehyde, sulfate đồng 3200 ppm, phức ammonium bậc bốn, didecyl dimethyl ammonium chloride (DDAC) và ortho-dichlorobenzen.

Hemolysin do *E. tarda* sản sinh ra thì không bền nhiệt và nhạy với protease và formalin có thể phá hủy hemolysin này.

Viêm dạ dày ruột do *E. tarda* có thể tự chấm dứt mà không cần sử dụng kháng sinh. Tuy nhiên các trường hợp gây cản hơn cần được điều trị bằng amoxicillin (ví dụ 80 mg/kg, hai lần/ ngày/3 ngày), cotrimoxazole và cephalosporin. Nhiễm trùng ngoài ruột do *E. tarda* được điều trị bằng kháng sinh hoặc can thiệp bằng phẫu thuật như mở ổ và làm khô chẳng hạn.

43.6. *Citrobacter*

Citrobacter là giống vi khuẩn thường sống trong đường ruột người. Giống *Citrobacter* gồm ba loài có tên là *Citrobacter freundii*, *Citrobacter amalonaticus* và *Citrobacter koseri* (trước đây gọi là *C. diversus*). Các vi khuẩn này tăng trưởng tốt trên môi trường thạch dinh dưỡng và môi trường thường khác, tạo khuẩn lạc nhẵn và lồi.

Các khuẩn lạc này không màu. Trên môi trường MacConkey và DCA, chúng hình thành khuẩn lạc đục mờ. *Citrobacter* spp. là vi khuẩn di động, có H₂S dương, MR dương, citrate dương và indole dao động. Chúng không có khả năng khử nhóm carboxyl của lysine nhưng hầu hết các chủng khử được nhóm decarboxyl của ornithine. Nhóm này lên men lactose chậm hoặc không lên men hoàn toàn cơ chất này. Sự khác biệt giữa các loài về đặc tính sinh hóa được tóm tắt ở Bảng 43.8.

Tính kháng nguyên của *Citrobacter* có những đặc điểm giống rãi với salmonellae, nên có thể nhầm lẫn với salmonellae. Một số chủng có kháng nguyên Vi, có quan hệ gần với kháng nguyên của *Salmonella* Typhi và *Salmonella* Paratyphi. *Citrobacter* spp. có thể gây nhiễm trùng ở tuyến tiết niệu, bàng đái và tai giữa cùng với đó là màng não. Đôi khi *C. koseri* có thể gây viêm màng não ở trẻ sơ sinh.

Bảng 43.8. Đặc tính quan trọng để phân biệt sự khác nhau của các loài *Citrobacter*.

Đặt điểm	Tên vi khuẩn		
	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
Indole	-	+	+
Sinh H ₂ S	+	-	-
Sinh acid từ:			
salicin	-	+	+
malonate	-	+	-
adonitol	-	+	-

43.7. Klebsiella

43.7.1. Giới thiệu

Giống *Klebsiella* thuộc bộ Klebsiellales nằm trong họ Enterobacteriaceae. Vi khuẩn này được đặt tên sau khi Edwin Klebs là người đầu tiên chứng minh được chúng. Các thành viên của giống *Klebsiella* có hình que nhọn, Gram âm, không di động, có capsule được cấu tạo chủ yếu là polysaccharide. Việc phân loại *Klebsiella* đã trải qua nhiều thay đổi. Đầu tiên giống *Klebsiella* gồm các loài chính dựa trên các phản ứng sinh hóa. Hiện nay căn cứ vào sự đồng dạng DNA, giống này được chia thành bảy loài có tên là:

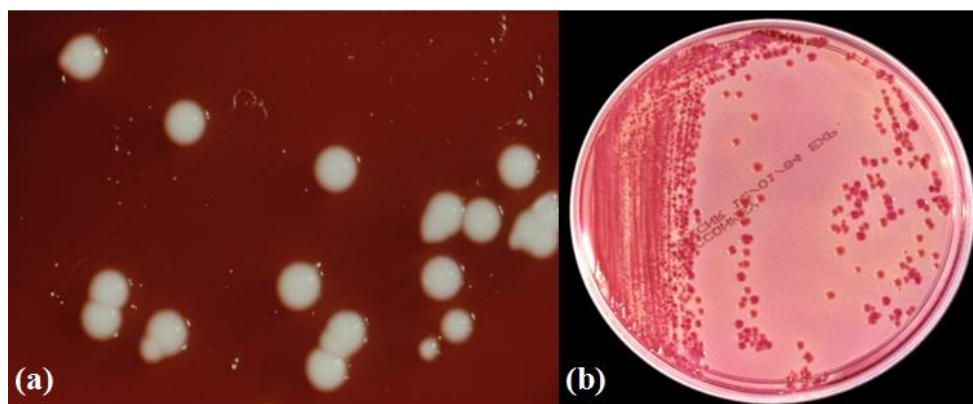
- (1). *Klebsiella pneumoniae*,
- (2). *Klebsiella ozaenae*,
- (3). *Klebsiella rhinoscleromatis*,
- (4). *Klebsiella oxytoca*,
- (5). *Klebsiella planticola*,
- (6). *Klebsiella terrigena* và

(7). *Klebsiella ornithinolytica*.

Trong những năm gần đây klebsielleae nổi lên như là những yếu tố gây nhiễm khuẩn bệnh viện. *K. pneumoniae* là loài quan trọng của nhóm này gây nhiễm trùng cho người. *K. oxytoca* và *K. rhinoscleromatis* đôi khi cũng gây nhiễm trùng cho người.

43.7.2. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae còn được biết với tên là trực khuẩn *Friedlander*, được Friedlander phân lập đầu tiên từ các trường hợp tử vong do viêm phổi vào năm 1883. *K. pneumoniae* là vi khuẩn Gram âm, hình que thẳng, ngắn, không di động và không sinh bào tử, có kích thước khoảng $1-2 \times 0,5 - 0,8 \mu\text{m}$. Vi khuẩn này sắp xếp ở dạng tế bào đơn lẻ hoặc dạng khuẩn đôi. Chúng mới vừa phân lập biểu hiện capsule polysaccharide rất rõ. Capsule này thường chiếm ưu thế và có thể làm xuất hiện các vòng bao xung quanh vi khuẩn khi nhuộm Gram. Capsule được tạo ra khi vi khuẩn tăng trưởng trên môi trường giàu carbohydrate. Capsule cũng có thể chứng minh bằng cách nhuộm với mực Tàu qua phản ứng phồng (Quellung). Polysaccharide tích lũy ngoại bào như là chất nhớt được thải ra làm xuất hiện hình dạng khuẩn lạc nhầy *Klebsiella*.



Hình 43.5. Khuẩn lạc *Klebsiella pneumoniae* (a). *Klebsiella pneumoniae* hình thành khuẩn lạc nhầy trên môi trường thạch máu; (b). Khuẩn lạc *K. pneumoniae* trên môi trường MacConkey sau 24 giờ ủ (CDC).

Klebsiella pneumoniae có sợi tơ thể tua và hầu hết các chủng có một hoặc nhiều hơn ba kiểu thể tua: kiểu 1, 3 và 6. Khuẩn này không di động và không hình thành bào tử. Chúng lên men được lactose, có phản ứng urease dương và không có phản ứng tạo indole. Tuy nhiên một số chủng *K. pneumoniae* và *K. oxytoca* là ngoại lệ. *K. pneumoniae*

không tạo hydrogen sulphide và có VP và MR dương. Chúng tăng trưởng tốt trên môi trường dinh dưỡng bình thường như môi trường thạch dinh dưỡng và MacConkey ở 37°C và hình thành khuẩn lạc lớn, có dạng vòm và nhầy. Trên môi trường thạch MacConkey khuẩn lạc của *K. pneumoniae* có màu đỏ do chúng lên men được lactose. *Klebsiella* sở hữu 77 kháng nguyên K (capsule polysaccharide) và 8 kháng nguyên O (LPS). Dựa vào kháng nguyên capsule K và kháng nguyên thân O, các thành viên của klebsielleae được phân loại thành trên 80 kiểu huyết thanh. Tất cả kiểu huyết thanh có cùng độc tính.

Klebsielleae bao gồm các vi khuẩn xâm lấn. Chúng có nhiều yếu tố gây độc như:

(1). Capsule là yếu tố gây độc chính. Vì capsule này ngăn chặn sự thực bào do các bạch cầu trung tính đa nhân (polymorphonuclear granulocyte) gây ra. Capsule cũng giúp vi khuẩn thoát chết khỏi sự tấn công của yếu tố diệt khuẩn có trong huyết thanh bằng cách ức chế sự hoạt hóa hoặc hấp thu của các thành phần bổ thể, đặc biệt là C3b.

Bảng 43.9. Đặc tính quan trọng được sử dụng để phân biệt giữa các loài *Klebsiella*

Đặc tính	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Indole	-	-	-	+
Urease	+	-	-	+
Citrate	+	v	-	+
ONPG	+	+	-	+
Malonate	+	-	+	+
Lysine decarboxylase	+	V(40%)	-	+
Ornithine decarboxylase	-	-	-	-
MR	-	+	+	V(20%)
VP	+	-	-	+

(2). Các yếu tố dính là những yếu tố độc. Các yếu tố dính này giúp tế vi khuẩn dính vào tế bào chủ, khởi đầu cho tiến trình gây bệnh.

(3). LPS là một yếu khác ngăn chặn sự tổn thương màng và làm vi khuẩn chết.

LPS của vi khuẩn hoạt hóa bổ thể, chúng làm cho C3b lắng đọng có chọn lọc trên các phân tử LPS tại vị trí cách xa màng tế bào vi khuẩn. Điều này làm ức chế sự hình thành phức hợp tấn công màng (C5b–C9), yếu tố làm chết tế bào vi khuẩn.

Klebsiellae gây nhiều hội chứng lâm sàng ở người. Các hội chứng này bao gồm (a) viêm phổi mắc phải trong cộng đồng, (b). Nhiễm trùng tiết niệu (UTI), (c). Nhiễm khuẩn bệnh viện và (d) nhiễm trùng huyết (bacteremia) và nhiễm trùng huyết nặng (sepsis).

(a). Viêm phổi mắc phải trong cộng đồng là vấn đề rất nghiêm trọng vì chúng tấn công nhanh và gây chết mặc dù sớm được điều trị kháng sinh chính xác. Viêm phổi thùy (Lobar pneumonia) có liên quan một cách đặc trưng với khối nhầy dịch tiết viêm phân bố trong thùy phổi, liên quan đến một hoặc nhiều thùy phổi. Sự hình thành hoại tử và áp se (abscess) phổ biến hơn viêm phổi do phế cầu khuẩn (pneumococcus). *K.*



pneumoniae kiểu huyết thanh 1, 2 và 3 thường liên quan với các trường hợp này. Các bệnh nhân bị nhiễm cấp tính gây sốt cao và lạnh, các triệu chứng giống như cúm và gây ho tần suất dày, dai dẳng và đờm có máu. Có khoảng 25% trường hợp cho kết quả dương tính *K. pneumoniae* phân lập từ máu.

Hình 43.6. Ảnh nhuộm Hiss mẫu bệnh phẩm cho thấy nhiều tế bào vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* có capsule (CDC).

(b). Nhiễm trùng đường tiết niệu (UTI) do *K. pneumoniae* gây ra thường là vấn đề phổ biến ở những bệnh nhân có đặt ống thông tiểu bên trong. Triệu chứng UTI do *K. pneumoniae* gây ra không thể phân biệt với các triệu chứng do *E. coli* và các vi khuẩn khác gây ra.

(c). *K. pneumoniae* là đối tượng quan trọng đang nổi lên trong nhiễm khuẩn bệnh

viện. Sự hiện diện của các thiết bị xâm lấn (invasive devices), thiết bị hỗ trợ hô hấp bị ô nhiễm, sự dụng các ống đặt thông tiểu, tình trạng vệ sinh kém, ... và việc sử dụng kháng sinh làm gia tăng đáng kể nhiễm khuẩn bệnh viện ở những bệnh nhân đang điều trị. UTI, viêm phổi, nhiễm khuẩn huyết (bacteremia), nhiễm trùng vết thương, viêm túi mật (cholecystitis) và khuẩn niệu liên quan đến ống thông tiểu là những bệnh phổ biến do nhiễm khuẩn bệnh viện liên quan đến *K. pneumoniae*. Các bệnh khác liên quan đến nhiễm khuẩn bệnh viện gồm viêm đường mật (cholangitis), viêm màng não (meningitis), viêm nội mạc tâm (endocarditis) và viêm nội nhãn do vi khuẩn (endophthalmitis).

(d). Du khuẩn huyết (bacteremia) và nhiễm trùng máu (sepsis) do *Klebsiella* tạo ra có biểu hiện lâm sàng tương tự như các triệu chứng do *E. coli* và do các vi khuẩn đường ruột Gram âm khác gây ra. Ở những buồng bệnh chăm sóc trẻ sơ sinh tích cực (NICU), sự bùng nổ các chủng *Klebsiella* có enzyme beta-lactamase phổ rộng (ESBL) ngày càng trở nên nghiêm trọng hơn và có thể liên quan đến tỷ lệ chết cao. Các chủng ESBL *Klebsiella* biểu hiện các đặc điểm sau: (i) chúng có độc tính mạnh, (ii) có capsule kiểu kháng nguyên K55 và (iii) có khả năng đặc biệt dễ lây lan.

Xác định *K. pneumoniae* bằng cách phân lập chúng từ các mẫu bệnh phẩm lấy được từ các vị trí phù hợp như vết thương, các vị trí tiếp cận tĩnh mạch ngoại biên và tĩnh mạch trung tâm, các ống thông tiểu, thiết bị hỗ trợ hô hấp và bằng nuôi cấy. *Klebsiella* cũng có thể được phân lập từ nước tiểu, máu, dịch màng phổi (pleural fluid) và vết thương.

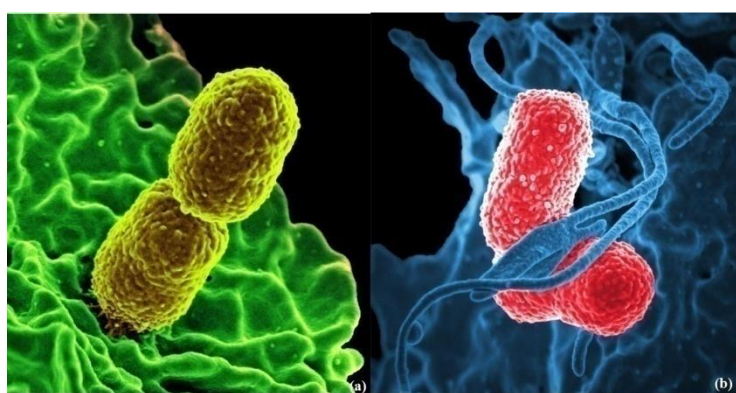
Thử nghiệm huyết thanh không hữu dụng để phát hiện sự xâm nhiễm do *K. pneumoniae*.

Việc lựa chọn yếu tố kháng khuẩn đặc hiệu tùy thuộc vào kiểu nhạy cảm của chủng được phân lập. Nhiều chất diệt khuẩn như nhóm kháng sinh beta-lactam, nhóm aminoglycoside, nhóm quinolone và các kháng sinh khác có thể được chỉ định để điều trị nhiễm khuẩn do *Klebsiella*.

Kháng sinh nhóm cephalosporin là liệu pháp đơn chất được chỉ định để điều trị và liệu pháp này cũng có thể kết hợp với kháng sinh nhóm aminoglycoside. Cephalosporin không được sử dụng để điều trị cho các chủng *K. pneumoniae* có ESBL. Nhóm

carbapenem và nhất là imipenem là các chất hiệu quả chống lại các chủng *K. pneumoniae* có ESBL. Aztreonam và quinolone được khuyến cáo sử dụng cho các bệnh nhân bị dị ứng với penicillin. Tuy nhiên theo các báo cáo gần đây của CDC vào năm 2016 cho thấy *K. pneumoniae* kháng được Carbapenem vì chúng có enzyme carbapenemase.

Rửa tay thường xuyên là cách thức đơn giản nhất để ngăn chặn sự lan truyền từ người bệnh sang người bệnh qua nhân viên y tế. Hạn chế tiếp xúc với người bệnh bị nhiễm các chủng *Klebsiella* kháng kháng sinh cao như *K. pneumoniae* có ESBL và *Klebsiella pneumoniae* có carbapenemase.



Hình 43.8. Ảnh tế bào vi khuẩn *Klebsiella pneumoniae* kháng kháng sinh dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM). (a). *K. pneumoniae* kháng carbapenem; (b). *K. pneumoniae* đa kháng (CDC).

43.7.3. *Klebsiella rhinoscleromatis*

Bệnh xơ cứng mũi (rhinoscleroma) do *K. rhinoscleromatis* gây ra là bệnh viêm sung mạn tính liên quan đến mũi hầu (nasopharynx).

Sự xâm nhiễm do *K. rhinoscleromatis* phân bố khắp nơi trên thế giới và thường quan sát được ở những khu vực phía Nam Châu Âu, Trung Mỹ và Ấn Độ. Bệnh nhân tiết ra dịch mũi có mủ (purulent nasal discharge) cùng với đó sự hình thành vảy cứng và các cục nhỏ có thể làm cản trở hô hấp. Trục khuẩn này được phát hiện bên trong những vị trí bị tổn thương, có thể sử dụng các phản ứng sinh hóa để xác định vi khuẩn này. Chẩn đoán bằng nuôi cấy máu cùng với đó là mô học. Rifampin được sử dụng để điều trị bệnh xơ cứng mũi.

43.7.4. *Klebsiella ozaenae*

Bệnh trĩ ở mũi (ozena) do *K. ozaenae* gây ra là chứng viêm làm teo mũi (atrophic rhinitis) mạn tính là do hoại tử niêm mạc mũi và tiết niêm dịch mũi có mủ. Bệnh thường xuất hiện ở người già. Nghẹt mũi và mũi thường có mùi hôi là những triệu chứng phổ

biến. Tuy nhiên không giống như bệnh xơ cứng mũi, chứng nghẹt mũi không phải là đặc điểm nổi trội. Bệnh nhân cũng có thể có hiện tượng nhức đầu và các triệu chứng có thể quy kết vào chứng viêm xoang mạn tính.

Xác định *K. ozaenae* thì thật sự khó khăn do các chủng phân lập có đặc điểm sinh hóa dao động. Trimethoprim và sulfamethoxazole được sử dụng để chỉ định điều trị bệnh trĩ ở mũi.

43.7.5. *Klebsiella oxytoca*

K. oxytoca hiếm khi phân lập được ở mẫu bệnh phẩm. Vi khuẩn này phân lập được ở trẻ sơ sinh nhiễm trùng máu. *K. oxytoca* có liên quan với bệnh nhiễm trùng máu ở trẻ sơ sinh, đặc biệt là ở trẻ sinh non và trẻ đang chăm sóc tích cực. Các phản ứng sinh hóa để phân biệt được *Klebsiella* được tóm tắt ở Bảng 43.9.

43.8. Enterobacter

43.8.1. Giới thiệu

Giống *Enterobacter* gồm 12 loài, trong số này *Enterobacter cloacae* và *Enterobacter aerogenes*, cùng với *Enterobacter sakazakii* là những loài thường gây bệnh ở người. Các loài khác hiếm khi gây bệnh cho người gồm *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter taylorae* và *Enterobacter hormaechei*. *E. cloacae* và *E. aerogenes* là hai loài *Enterobacter* quan trọng trong nhiễm khuẩn bệnh viện. Sự khác nhau giữa *E. cloacae* và *E. aerogenes* được tóm tắt ở Bảng 43.10.

Bảng 43.10. Sự khác nhau giữa *E. cloacae* và *E. aerogenes* về đặc điểm sinh hóa.

Đặc điểm	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
Sinh hơi từ glycerol	+	-
Thuỷ giải aesculin	+	-
Arginine dihydrolase	+	-
Lysine decarboxylase	+	-

43.8.2. Đặc điểm sinh học

Enterobacter là trực khuẩn Gram âm, hiếu khí và kỵ khí tùy nghi, thuộc bộ Klebsiellales. Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc *Enterobacter* có kích thước lớn, màu xám khô hoặc nhầy; trên MacConkey hình thành khuẩn lạc có màu hồng do lên men

lactose. Khuẩn này lên men glucose tạo acid. Chúng khác với *Klebsiella* ở chỗ di động, không có enzyme urease nhưng lại có ornithine decarboxylase. Nội độc tố của vi khuẩn có vai trò chính trong phát sinh bệnh nhiễm trùng máu và những biến chứng của nhiễm trùng máu.

43.8.3. Đặc điểm gây bệnh

Các loài *Enterobacter* hiếm khi gây bệnh cho những người khỏe mạnh. Chúng là những vi khuẩn gây bệnh cơ hội. Bệnh nhân đang điều trị tại bệnh viện trong một thời gian dài, nhất là ở phòng điều trị tích cực, sẽ có nguy cơ mắc phải *Enterobacter* rất cao. Bệnh nhân được điều trị kháng sinh sớm và những trường hợp bị bệnh tiểu đường, bị ác tính, bỏng, thở máy, lắp thiết bị lạ ví dụ như đặt ống thông tĩnh mạch và suy giảm miễn dịch cũng làm tăng nguy cơ nhiễm trùng vi khuẩn này.

Những bệnh nhân này thường và bị mắc phải nhiễm khuẩn bệnh viện nghiêm trọng như UTI, nhiễm trùng tuyến hô hấp dưới và nhiễm trùng da và mô mềm, du khuẩn huyết, viêm màng trong tim, nhiễm trùng ổ bụng, viêm khớp nhiễm khuẩn và viêm tủy xương. Các bệnh nhiễm trùng này có liên quan đến: điều trị dài ngày, sử dụng nhiều quy trình có phẫu thuật và không có phẫu thuật khác nhau và sử dụng các kháng sinh hiện có và kháng sinh đất tiền để điều trị.

Các vi khuẩn này gây tỷ lệ bệnh và tỷ lệ chết đáng kể và việc quản lý nhiễm khuẩn là vấn đề phức tạp vì vi khuẩn này đã kháng nhiều được loại kháng sinh. Nhóm vi khuẩn này có enzyme beta-lactamase, Nguồn xâm nhiễm cũng có thể là nội tại hoặc từ bên ngoài.

Nhiễm trùng *Enterobacter* nội tại có nguồn gốc từ da, tuyến dạ dày ruột hay tuyến tiết niệu có vi khuẩn kết cụm.

43.8.4. Lan truyền

Tay của nhân viên y tế, dung dịch truyền tĩnh mạch, dụng cụ nội soi, sản phẩm máu, thiết bị giám sát áp suất trong động mạch và ống nghe là những vật dụng thường là nguồn vi khuẩn *Enterobacter* bên ngoài xâm nhập vào cơ thể.

43.8.5. Phát hiện

Xác định chủng vi khuẩn được thực hiện bằng cách nuôi cấy lặp lại các mẫu bệnh

phẩm. Mẫu máu cũng được sử dụng để phân lập vi khuẩn từ bệnh nhân nhiễm trùng máu.

43.8.6. Điều trị

Carbapenem, cephalosporin thế hệ thứ tư, nhóm aminoglycoside, nhóm kháng sinh quinolone thế hệ mới và tổ hợp trimethoprim–sulfamethoxazole là những kháng sinh phổ biến nhất được dùng để điều trị bệnh nhiễm trùng do *Enterobacter*.

Cephalosporin thế hệ thứ ba thường cho kết quả tốt trong thực nghiệm kháng lại các vi khuẩn này, nhưng thực tế kháng sinh này không còn hiệu quả do khả năng kháng của vi khuẩn này càng hoàn thiện. Carbapenem đang là kháng sinh hiệu quả chống lại các vi khuẩn *E. cloacae*, *E. aerogenes* và các loài khác. Tuy nhiên hiện nay cũng có báo cáo cho rằng *Enterobacter* đã kháng được cả carbapenem. Cephalosporin thế hệ thứ nhất và thứ hai không có khả năng tiêu diệt được *Enterobacter*.

43.9. *Hafnia*

Hafnia là vi khuẩn có dạng hình que thẳng, Gram âm, hiếu khí tùy nghi, có oxidase âm, catalase dương, kích thước khoảng 1,0 x 2,0–5,0 µm, thuộc họ *Enterobacteriaceae*. Khuẩn này không có capsule. Di động ở 30°C nhờ tiên mao xung quanh, nhưng cũng có những chủng không di động. Phần lớn các chủng sử dụng citrate như là nguồn carbon ở 30 °C sau 3 - 4 ngày ủ. Chúng có khả năng khử nitrate thành nitrite, không sinh H₂S trên môi trường thạch Kligler có sắt, không có enzyme gelatinase, lipase, deoxyribonuclease và phenylalanine deaminase, không sử dụng nitrate, alginate, pectate. Khuẩn này có khả năng khử nhóm carboxyl của lysine và ornithine nhưng lại không có arginine dihydrolase. Lên men glucose tạo acid và hơi. Không có khả năng tạo acid từ D-sorbitol, raffinose, melibiose, D-adonitol, D-arabitol và myo-inositol. Lên men được L-arabinose, glycerol, maltose, D-mannitol, D-mannose, L-rhamnose, trehalose và D-xylose tạo acid nhưng không sinh hơi. Có MR và VP dương ở 35 °C và âm ở 22°C, có KCN dương. Acetylmethylcarbinol thường được tạo ra từ D-glucose ở 22–28 °C nhưng lại không tạo ra chất này khi ở nhiệt độ 35°C. Khuẩn này có trong phân người và nhiều động vật kể cả chim. Chúng cũng có trong chất thải, đất, nước và các sản phẩm từ sữa. *Hafnia alvei* là loài thuộc nhóm này được nghiên cứu nhiều nhất.

Trong xác định *Hafnia alvei* đôi khi nhầm lẫn với *Salmonella* có H₂S âm tính bởi

vì các khuẩn lạc của *H. alvei* có thể giống với *Salmonella* ở chỗ không sinh H_2S trên các môi trường phân lập thường quy. *H. alvei* cũng thường ngưng kết với kháng huyết thanh của *Salmonella* O nhưng *Salmonella* có VP âm trong khi phần lớn các chủng *H. alvei* có VP dương ở 22°C. Hầu hết các chủng *H. alvei* di động di động nhờ tiên mao xung quanh nhưng lại bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ. *H. alvei* là vi khuẩn kỵ khí tùy nghi, tăng trưởng tối thích ở 30 - 37°C và có thể hình thành kén sinh học (biofilm) tùy thuộc vài giai đoạn tăng trưởng, nhiệt độ, môi trường nuôi cấy và chủng phân tích. *H. alvei* có thể xâm nhập vào tồn tại lâu dài trong người và tế bào cá không phải là thực bào. *H. alvei* là một phần của hệ vi khuẩn đường ruột ở người và nó cũng có trong môi trường tự nhiên như đất, chất thải và nước. Trong tuyến tiêu hoá của động vật cụ thể là động vật có vú là môi trường sinh thái đối với vi khuẩn này. Tuy nhiên *H. alvei* được phân lập từ bò sát, cá, không có xương sống, côn trùng và chim. Khuẩn này cũng được phân lập từ nhiều thực phẩm khác nhau như sữa, mật và phô mai. Chúng làm biến màu thịt đóng gói có áp suất oxygen thấp, thịt thái, sản phẩm thịt heo và thịt bò băm đóng gói. Vi khuẩn này cũng được phân lập từ áp se, vết thương, đờm, nước tiểu, máu và từ các vị trí khác nhưng thường có vi khuẩn khác. Vai trò gây bệnh của *H. alvei* chưa được thiết lập.

43.10. *Serratia*

Serratia là vi khuẩn Gram âm được xếp vào bộ Klebsiellaceae. *Serratia marcescens* là loài gây bệnh duy nhất xâm nhiễm ở người. *S. marcescens* là yếu tố làm thay đổi màu của bột bắp thành màu máu được gọi là polenta, đặc điểm này được Bartolomeo Bizio, một dược sỹ từ Padua, Italy lần đầu tiên xác định vào năm 1819. Vi khuẩn này được đặt tên là *Serratia* để tôn vinh dược sỹ người Ý có tên là Serrati, người đã phát minh ra tàu thủy chạy bằng hơi nước. Tên loài là *marcescens* xuất phát từ tên Latin có nghĩa là phân rã do vi khuẩn này làm hư hỏng nhanh chóng đặc tính tự nhiên của sắc tố máu. Từ thập niên 1960, *S. marcescens* được công nhận là vi khuẩn gây bệnh cơ hội ở người. Một số chủng *S. marcescens* sản sinh ra sắc tố điển hình không có khả năng khuếch tán gọi là prodigiosin. Sắc tố này có màu sắc dao động từ màu đỏ đậm đến màu hồng hoặc đỏ thẫm (magenta) phụ thuộc vào tuổi của khuẩn lạc. *S. marcescens* thường tăng trưởng trên thực phẩm dạng tinh bột, khi đó chúng có thể hình thành các khuẩn lạc có sắc tố dễ dàng nhầm

tưởng là giọt máu. *S. marcescens* là vi khuẩn đa hình từ kiểu hình có dạng cầu trực khuẩn và dạng trực khuẩn bình thường.

Trong bệnh viện, *Serratia* thường kết cụm trong tuyến hô hấp và tiết niệu của người trưởng thành bị bệnh. Khuẩn này gây ra gần 2 % nhiễm khuẩn bệnh viện của các bệnh nhiễm khuẩn đường tiết niệu, tuyến hô hấp dưới, vết thương do giải phẫu, máu, da và các mô mềm của các bệnh nhân này. *S. marcescens* liên quan đến sự bùng nổ bệnh viêm màng não, nhiễm trùng vết thương và viêm khớp trong các buồng bệnh nhi và trong các buồng chăm sóc tích cực. Khuẩn này cũng gây ra chứng viêm màng trong tim và chứng viêm tuỷ xương ở người nghiện ma tuý đưa heroin vào tĩnh mạch. Các bệnh nhân lớn tuổi hơn trước đây có điều trị kháng sinh và bị bệnh mạn tính hay suy nhược có nguy cơ cao nhiễm khuẩn *Serratia*.

S. marcescens thì nhạy cảm với amikacin và quinolone nhưng lại có khả năng kháng được gentamicin và tobramycin. Khuẩn này cũng có khả năng kháng tự nhiên ampicillin, nhóm macrolide và cephalosporin thế hệ thứ nhất. Tuy nhiên khi điều trị *S. marcescens* cần dựa trên thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh.

43.11. *Proteus*

43.11.1. Giới thiệu

Giống *Proteus* cùng với hai giống khác là *Morganella* và *Providencia* thuộc bộ Proteaceae. Tên “*Proteus*”, theo thần thoại Hy Lạp, Proteus là người có thể nắm giữ bất cứ hình dạng nào trong tự nhiên, nên tên của vi khuẩn này có liên quan đến đặc điểm đa hình thể (pleomorphism) của chúng. Tất cả các thành viên proteus thuộc bộ Proteaceae là trực khuẩn Gram âm, không có capsule, đa hình, di động, ngoại trừ một số ít ngoại lệ.

43.11.2. Đặc điểm sinh học

Giống *Proteus* có bốn loài: *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, và *Proteus myxofaciens*. *P. mirabilis* là loài quan trọng nhất, chiếm 90 % các ca nhiễm trùng do *Proteus* và liên quan đến nhiễm trùng tuyến tiết niệu mắc phải trong cộng đồng và nhiễm trùng vết thương. *P. vulgaris* và *P. penneri* thường liên quan đến nhiễm khuẩn bệnh viện. Khuẩn này cũng được phân lập từ các bệnh nhân bị bệnh suy nhược mạn tính và từ những người bị suy giảm miễn dịch.

Proteeae gồm những vi khuẩn Gram âm, là trực cầu khuẩn (coccobacillus) không có capsule, kích thước 1 - 3 x 0,6 μm . Chúng có kiểu sắp xếp dạng tế bào đơn, tế bào đôi hoặc dạng chuỗi. Nhiều chủng vi khuẩn trong giai đoạn tăng trưởng hình thành các sợi tơ dài, cong. Hầu hết các loài *Proteus* di động nhờ tiên mao xung quanh, ngoại trừ một số ít. Khuẩn này hình thành sợi tơ thể tua.

Bảng 43.11. Sự khác biệt giữa các giống thuộc bộ Proteae.

Đặc điểm sinh hoá	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Providencia rettgeri</i>
Indole	-	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	- (20%)	-	-
Citrate	+(65%)	V (15%)	-	+	+
Lên men sucrose	-	+	-	V (50%)	-
Lên men maltose					
Lên men mannitol	-	+	-	-	-
Lên men trehalose	+	V (30%)	-	+	-
Ornithine decarboxylase	+	-	+	-	-

Proteeae là vi khuẩn hiếu khí, tăng trưởng tốt trên môi trường bình thường như thạch dinh dưỡng. Khuẩn lạc *Proteus* trên môi trường này phát ra mùi thối rửa.

Hầu hết các vi khuẩn này tạo enzyme urease thủy giải nhanh urea để hình thành ammonia và carbon dioxide, ngoại trừ một số chủng *Providencia*. Chúng có MR dương và VP âm, phân giải tyrosine và tăng trưởng trong môi trường có KCN. Khuẩn này không có khả năng khử nhóm carboxyl của các amino acid như arginine hay lysine do không có enzyme decarboxylase hoặc không có khả năng khử nhóm hydrogen của ornithine do không có dehydrogenase; không lên men lactose hay dulcitol và không sử dụng malonate. Hình thành enzyme phenyl alanine deaminase để chuyển phenyl alanine thành phenyl pyruvic acid (phản ứng PPA) là đặc điểm của bộ Proteae và đây cũng là đặc điểm khác với các thành viên khác của họ Enterobacteriaceae. Đặc điểm khác biệt của các giống thuộc Proteae được tóm tắt ở Bảng 43.11.

P. mirabilis và *P. vulgaris* thường lan ra trên bề mặt môi trường. Chúng lan ra trên

bề mặt thạch ở dạng sóng để hình thành lớp mỏng có các vòng đồng tâm. Kiểu hình dạng này gọi là mọc trải thành đám (swarming). Cơ chế chính xác làm thế nào để *Proteus* hình thành swarming thì chưa được biết. Mọc trải thành đám của *Proteus* là một vấn đề khi *Proteus* cùng tăng trưởng với vi sinh vật khác trên cùng một môi trường phân lập. Vì vậy một số phương pháp đã chủ động ức chế mọc trải thành đám này; các biện pháp ức chế bao gồm tăng hàm lượng của thạch lên từ 1–2% đến 6% và sử dụng chloral hydrate tỷ lệ 1:500, sodium azide tỷ lệ 1:500, alcohol 56%, sulfonamide, các yếu tố hoạt động bề mặt hay boric acid tỷ lệ 1:1000. Mọc trải thành đám không xuất hiện trên môi trường MacConkey, trên môi trường này khuẩn lạc của *Proteus* không màu do không lên men lactose. Vì môi trường này có muối mật bò nên cũng ức chế sự hình thành đám của vi khuẩn.

Các loài *Proteus* lên men glucose chỉ tạo acid. Chúng có enzyme urease và có phản ứng PPA dương; không lên men lactose, mannitol, mannose, inositol, adonitol, dulcitol, sorbitol, raffinose và arabinose. Có khả năng khử nitrate thành nitrite nhưng không sử dụng malonate; không khử nhóm decarboxyl của amino acid như lysine hay arginine. *Proteus* biểu hiện các phản ứng dao động trong sản sinh hydrogen sulfide và indole. *P. mirabilis* có indole âm nhưng *P. vulgaris* lại có phản ứng indole dương. Đặc tính sinh hoá của các loài *Proteus* được tóm tắt ở Bảng 43.11.

Các chủng *Proteus* di động có kháng nguyên thân O và tiên mao H. Kháng nguyên thân O là protein bền nhiệt, có khả năng kháng được nhiệt ở 100 °C. Kháng nguyên này cũng kháng được ethanol và hydrochloric acid pha loãng. Có đến 32 kháng nguyên O đã được tìm thấy ở *P. mirabilis*, 22 ở *P. vulgaris* và 5 kháng nguyên trong *P. penneri* và *P. myxofaciens*.

Kháng nguyên O chứa cả đoạn alkali dễ bị bẻ gãy và đoạn alkali bền vững. Thành phần alkali bền vững là polysaccharide tự nhiên, biểu hiện hoạt tính phản ứng chéo với một số kháng nguyên của rickettsia. Điều này đã được Weil và Felix quan sát phát hiện đầu tiên. Họ đã quan sát được một số chủng *P. vulgaris* không di động gọi là chủng X có khả năng ngưng kết với huyết thanh từ các bệnh nhân bị sốt thương hàn. Sự ngưng kết có tính dị ái này (heterophilic agglutination) do một số chủng *Proteus* hình thành dựa trên

phản ứng Weil - Felix dùng để nhận biết một số bệnh xâm nhiễm do rickettsia. Ba chủng *Proteus* không di động là OX19 (*P. vulgaris* kiểu huyết thanh O1), OX2 (*P. vulgaris* kiểu huyết thanh O2) và OXK (*P. mirabilis*) được sử dụng trong thử nghiệm ngưng kết Weil - Felix.

Kháng nguyên tiên mao là protein không bền nhiệt nhạy cảm với ethanol và hydrochloric acid pha loãng. Dựa trên kháng nguyên O của chúng, *P. mirabilis* và *P. vulgaris* được phân thành 54 nhóm O. Các nhóm O được phân chia sâu hơn nữa thành một số lượng lớn kiểu O phụ thuộc vào kháng nguyên H của chúng.

43.11.3. Đặc điểm gây bệnh

Proteus là vi khuẩn xâm nhiễm.

43.11.3.1. Các yếu tố gây độc

(1). **Sợi tơ:** sợi tơ hoặc sợi tơ thể tua là những yếu tố gây độc quan trọng vì chúng tạo thuận lợi cho *P. mirabilis* bám lên bề mặt mô của vật chủ như biểu mô của tuyến tiết niệu.

(2). **LPS hay nội độc tố:** yếu tố này gây ra hàng loạt các phản ứng viêm cho vật chủ và gây nhiễm khuẩn huyết do nội độc tố của *Proteus*.

(3). **Sản sinh urease:** *Proteus* có khả năng tạo ra urease là yếu tố quan trọng trong phát sinh bệnh UTI do *Proteus* gây ra. Sự thủy giải urea thành ammonia làm kiềm hoá nước tiểu, giúp tạo môi trường thích hợp cho *Proteus* tồn tại. Hậu quả là làm kiềm hoá nước tiểu gây trầm hiện các hợp chất hữu cơ và vô cơ, dẫn đến hình thành sỏi thận. Thành phần cấu tạo của viên sỏi này là magnesium ammonium phosphate (struvite) và calcium carbonate (apatite).

43.11.3.2. Phát sinh bệnh UTI

Phát sinh bệnh do nhiễm trùng *Proteus* phụ thuộc vào sự tương tác giữa vi khuẩn và cơ chế phòng vệ của cơ thể chủ. Vi khuẩn bám dính vào mô chủ qua trung gian thể tua là bước đầu tiên trong quá trình gây bệnh. Sự bám dính của các loài *Proteus* lên các tế bào biểu mô tiết niệu (uroepithelial cell) gây tiết ra interleukin-6 và interleukin-8. *Proteus* cũng cảm ứng quá trình làm chết tế bào (apoptosis) và làm tróc các tế bào biểu mô. Sự xâm nhiễm vào tuyến tiết niệu được làm dễ hơn nhờ sản sinh ra enzyme urease và cũng

nhờ vào sự di động của vi khuẩn. Urease phân cắt urea thành ammonia và carbon dioxide (CO₂). Cặp đệm ammonia/ammonium có pH 9,0 làm cho nước tiểu có độ kiềm cao, giàu ammonia. Sự kiềm hóa của nước tiểu góp phần làm sản sinh ra sỏi thận, đây là đặc điểm quan sát được ở những bệnh nhân bị bệnh tiết niệu do các loài *Proteus*.

43.11.3.3. Hội chứng lâm sàng

Các bệnh nhân điều trị nhiều kháng sinh, sự tắc nghẽn đường tiểu hoặc sự xâm nhiễm phát triển sau khi đặt ống thông hoặc thiết bị thường bị nhiễm *Proteus* spp. hoặc các vi khuẩn khác như *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. và *Acinetobacter* spp. Các loài *Proteus* gây (a) nhiễm trùng đường tiết niệu, (b) nhiễm khuẩn mắc phải ở bệnh viện và (c) nhiễm trùng do nhiều vi khuẩn khác nhau (miscellaneous infection).

(1). Nhiễm trùng tiết niệu: UTI là biểu hiện lâm sàng phổ biến nhất của nhiễm trùng do *Proteus*. Nhiễm trùng tiết niệu ở phụ nữ khỏe mạnh do *Proteus* chiếm gần 1 - 2 % và 5 % do mắc phải tại bệnh viện. 20 - 45 % nhiễm trùng tiết niệu do vi khuẩn gây ra liên quan đến đặt ống thông. Bệnh nhân bị nhiễm trùng tiết niệu có thể viêm niệu đạo (urethritis), viêm bàng quang (cystitis), viêm tuyến tiền liệt (prostatitis) hay viêm thận (pyelonephritis). Nhiễm trùng tiết niệu mạn tính liên quan với sỏi thận mạn tính, sỏi thận tái diễn. Cặn lắng của nước tiểu là những tinh thể magnesium ammonium phosphate.

(2). Nhiễm trùng do mắc phải tại bệnh viện: nhiễm trùng do mắc phải tại bệnh viện thường được lan truyền từ thầy thuốc hoặc người chăm sóc sức khỏe.

(3). Xâm nhiễm hỗn hợp: các loài *Proteus* là yếu tố quan trọng trong nhiễm trùng vết thương. Các loài này cũng gây nhiễm trùng cuống rốn (umbilical stump) ở trẻ sơ sinh, đôi khi dẫn đến nhiễm trùng máu ở trẻ, du khuẩn huyết (bacteremia) và viêm màng não. *Proteus* spp. cũng gây hoại tử cơ do vi khuẩn kỵ khí không phải là clostridium, trường hợp liên quan đến mô dưới da, cân mạc (fascia) và cơ. Trường hợp này thường xảy ra có sự kết hợp với các trực khuẩn Gram âm khác như *E. coli*, *Klebsiella* spp., hay *Enterobacter* spp. và vi khuẩn kỵ khí. *Proteus* giống như *Pseudomonas* có thể gây nhiễm trùng máu do nội độc vi khuẩn Gram âm, dẫn đến hội chứng phản ứng viêm toàn thân, bệnh này gây chết từ 20 - 50 %.

43.11.4. Dịch tễ học

Bệnh do *Proteus* được phát hiện khắp nơi trên thế giới. Chúng là những vi sinh vật cơ hội, gây bệnh đường tiết niệu và nhiễm khuẩn mắt phải tại bệnh viện. *Proteus* phân bố rộng rãi đóng vai trò như là những đối tượng hoại sinh (saprophyte) có trong tự nhiên. Khuẩn này thường tìm thấy trong chất thải, đất có phân hữu cơ, trong phân người và động vật, có trong sản phẩm động vật đang phân huỷ. Các loài *Proteus* như là một phần trong hệ vi khuẩn đường ruột ở người, cùng với *E. coli* và *Klebsiella*. Chúng cũng hiện diện trong những khu vực ẩm ướt của da. Ở bệnh viện, khuẩn này thường tập kết phổ biến nhất ở da và niêm mạc miệng của bệnh nhân và nhân viên bệnh viện. Nhiễm trùng vào bệnh nhân khác chủ yếu xuất hiện từ nguồn này.

43.11.5. Phát hiện tại phòng kiểm nghiệm

Nước tiểu là mẫu bệnh phẩm được chỉ định để chẩn đoán UTI. Các mẫu bệnh phẩm khác được thu thập tùy thuộc vào đặc tính nhiễm trùng. Các mẫu này gồm mủ để xác định đối tượng gây nhiễm trùng vết thương, máu để xác định nhiễm trùng máu, dịch não tủy xác định viêm màng não... . Xác định đối tượng gây bệnh chính xác dựa trên sự phân lập *Proteus* spp. từ nhiều loại mẫu.

Sau khi ủ qua đêm ở 37 °C, trên môi trường MacConkey và thạch máu, *Proteus* hình thành khuẩn lạc điển hình dẹt, không lên men lactose, lựa chọn các khuẩn lạc điển hình này để tiến hành các thử nghiệm sinh hoá và phản ứng ngưng kết (Bảng 11). Tùy thuộc vào triệu chứng lâm sàng, các máu, dịch não tủy và các mẫu bệnh phẩm khác được tiến hành để xác định nguyên nhân *Proteus*.

Các loài *Proteus* có thể được phân kiểu nhờ (a) phân kiểu huyết thanh (b) phân kiểu phage, (c) phân kiểu bacteriocin (proticin) và (d) phân kiểu Diene. Phân Xác kiểu proticin thường được tiến hành bằng cách sử dụng 12 chủng sản sinh proticin chuẩn và hầu hết các chủng *Proteus* có thể được phân kiểu kiểu theo phương pháp này.

43.11.6. Điều trị

Việc lựa chọn kháng sinh đặc hiệu tùy thuộc vào kiểu nhạy cảm kháng sinh của các chủng được phân lập. *P. mirabilis* thì nhạy cảm với gần như tất cả các kháng sinh ngoại trừ tetracycline. *P. mirabilis* nhạy cảm với ampicillin; nhóm penicillin phổ rộng như: ticarcillin, piperacillin; cephalosporin từ thế hệ thứ nhất đến thế hệ thứ ba;

imipenem và aztreonam.

Khả năng kháng đối với các kháng sinh này không phải là vấn đề đáng kể; chỉ có 10 - 20 % các chủng phát triển khả năng kháng ampicillin và cephalosporin thế hệ thứ nhất. Sự phát triển khả năng kháng betalactam phổ rộng chưa được phổ biến.

P. vulgaris và *P. penneri* nhạy cảm với trimethoprim và sulfamethoxazole, nhóm quinolone, imipenem, nhóm aminoglycoside và cephalosporin thế hệ thứ tư. Chúng kháng được ampicillin và cephalosporin thế hệ thứ nhất. Khả năng kháng được thực hiện qua trung gian nhờ sự hoạt hóa cảm ứng gen mã hóa cho enzyme beta-lactamase nằm trên nhiễm sắc thể. Có 30% các chủng của *P. vulgaris* và *P. penneri* có khả năng kháng beta-lactam.

43.11.7. Ngăn chặn và kiểm soát

Rửa tay thường xuyên và đúng cách là phương cách đơn giản và hiệu quả để ngăn chặn sự lan truyền từ bệnh nhân qua nhân viên y tế. Vaccine điều chế từ protein thể tua tương tự như *Proteus* kháng mannose (MR/P) tinh sạch được đánh giá để ngăn chặn sự xâm nhiễm trong thực nghiệm cảm nghiệm trên chuột đang hứa hẹn triển vọng.

43.12. *Morganella*

Giống *Morganella* thuộc bộ Proteaceae. Giống *Morganella* chỉ có loài duy nhất là *Morganella morganii*, loài này có hai loài phụ, *morganii* và *sibirica*. Trước đây *M. morganii* được xếp vào giống *Proteus*, có tên gọi là *Proteus morganii* nhưng nay được tách ra thành giống *Morganella*. *M. morganii* là trực khuẩn Gram âm, kỵ khí tùy nghi, không có capsule, có kích thước nhỏ, di động, nhưng không giống với *Proteus* ở chỗ nó không tạo ra đặc điểm mọc trải thành đám trên môi trường rắn. Khuẩn này tăng trưởng trên môi trường thạch máu và MacConkey. Chúng có oxidase âm, catalase và indole dương. *M. morganii* lên men glucose và mannose nhưng không lên men được lactose. Vi khuẩn này khử được nhóm carboxyl của ornithine, có enzyme thủy giải urease và khử nitrate thành nitrite. *M. morganii* không hóa lỏng được gelatin và không tạo hydrogen sulfide (H₂S). *M. morganii* thường được phát hiện trong phân người và động vật và hiếm khi gây bệnh nhiễm trùng nghiêm trọng.

Vi khuẩn này thường được phát hiện đóng vai trò như là vi khuẩn gây bệnh cơ hội

ở những bệnh nhân đang điều trị tại bệnh viện, cụ thể là những người đang điều trị bằng liệu pháp kháng sinh kéo dài. *M. morganii* gây nhiễm trùng tiết niệu, đây là bệnh thường liên quan đến nước tiểu có pH kiềm. *M. morganii* thỉnh thoảng gây nhiễm trùng máu, viêm phổi, nhiễm trùng vết thương, viêm màng ngoài tim (pericarditis), viêm màng ối (chorioamnionitis), viêm nội nhãn (endophthalmitis), viêm mủ màng phổi (empyema), viêm phúc mạc tự phát do vi khuẩn (spontaneous bacterial peritonitis) và nhiễm trùng hệ thần kinh trung ương (CNS).

Các chủng *M. morganii* gây nhiễm khuẩn bệnh viện thường nhạy cảm với cefepime, imipenem, meropenem, piperacillin, nhóm aminoglycoside và fluoroquinolone. Các chủng này cũng kháng được ceftazidime và cephalosporin thế hệ thứ ba. Hiện nay cũng xuất hiện các chủng *M. morganii* có enzyme betalactamase phổ rộng (ESBL).

43.13. *Providencia*

Giống *Providencia* gồm 5 loài: *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens*, *Providencia rustigianii* và *Providencia heimbachae*. *Providencia* spp. là trực khuẩn Gram âm, di động. Chúng sinh ra mùi giống như mùi trái cây và trên môi trường DNC hình thành dạng khuẩn lạc có màu vàng đến cam.

Tất cả các loài này thường khử amin của phenylalanine; chỉ có *P. rettgeri* thủy giải được urea. Các đặc tính sinh hóa khác của *Providencia* được tóm tắt ở bảng 11. Các loài *Providencia* được phân lập từ nước tiểu, phân và máu cũng như từ họng, đáy chậu, nách và vết thương từ người.

P. stuartii là loài phổ biến nhất gây nhiễm trùng ở người. *P. stuartii* thường được phát hiện ở những bệnh nhân đặt ống thông tiểu lâu ngày và đôi khi cũng phát hiện có *P. rettgeri*. Người lớn tuổi có nguy cơ nhiễm trùng *P. stuartii* hay *P. rettgeri* cao hơn, nhiễm trùng này liên quan đến việc sử dụng ống thông tiểu và điều này thường phổ biến ở người lớn tuổi. *P. stuartii* chiếm gần 60% nhóm vi sinh vật gây bệnh phân lập được từ nước tiểu của những bệnh nhân này. *P. stuartii* có yếu tố dính, protein hemagglutinin tương tự như *Klebsiella* kháng mannose (MR/K), protein hemagglutinin này cho phép vi khuẩn dính lên ống thông tiểu. Từ nước tiểu, *P. stuartii* có thể xâm nhập vào máu, gây nhiễm trùng máu, là bệnh phổ biến ở những bệnh nhân lớn tuổi và người suy giảm miễn dịch.

P. alcalifaciens, *P. rettgeri* và *P. stuartii* cũng có thể xâm nhiễm và gây tiêu chảy. Các loài này đang nổi lên là nguyên nhân quan trọng gây bệnh tiêu chảy cho những người hay di chuyển.

Việc chẩn đoán bệnh nhiễm trùng tiết niệu và tiêu chảy bằng cách phân lập vi khuẩn từ nước tiểu và phân, nuôi cấy mẫu máu khi nghi ngờ nhiễm trùng máu.

Cần thử tính nhạy cảm kháng sinh để chỉ định kháng sinh phù hợp cho điều trị bởi vì hầu hết các loài *Providencia* biểu thị tính đa kháng với nhiều loại kháng sinh.

P. stuartii là loài kháng mạnh nhất trong tất cả các loài *Providencia*. Vi khuẩn này kháng được nhóm tetracycline, penicillin thế hệ trước, cephalosporin, fluoroquinolone, aminoglycoside, và trimethoprim/sulfamethoxazole. Vi khuẩn này cũng nhạy cảm với cephalosporin thế hệ sau, aztreonam và carbapenem. *P. alcalifaciens* và *P. rustigianii* thường nhạy cảm với kháng sinh nhóm fluoroquinolone, aminoglycoside, cephalosporin thế hệ sau, aztreonam, carbapenems và trimethoprim/sulfamethoxazole. Chúng kháng được tetracycline, penicillin thế hệ trước và cephalosporin.

43.14. *Erwinia*

Erwinia là giống thuộc họ Enterobacteriaceae thường được phát hiện trong đất và chúng gây bệnh cho thực vật, gồm chủ yếu các loài vi khuẩn gây bệnh cho thực vật. Tên *Erwinia* được đặt từ tên của nhà bệnh học thực vật nổi tiếng là Erwin Frink Smith. Giống này là vi khuẩn Gram âm, chủ yếu có dạng hình que nhọn.

Erwinia herbicola là loài duy nhất thỉnh thoảng phân lập được từ bệnh nhiễm trùng hô hấp và tiết niệu ở những bệnh nhân bị suy nhược mạn tính và những bệnh nhân đang điều trị tại bệnh viện.