

Chương 47. Mycoplasma và Ureaplasma

Mục lục

Chương 47. Mycoplasma và Ureaplasma.....	1
47.1. Giới thiệu	3
47.2. Phân loại	3
47.3. <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	4
47.4. Đặc điểm sinh học của <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	4
47.4.1. Hình thái	4
47.4.2. Nuôi cấy	5
47.4.3. Phản ứng sinh hoá	7
47.4.4. Đặc điểm khác	7
47.4.5. Thành phần thành tế bào và cấu trúc kháng nguyên	7
47.5. Đặc điểm gây bệnh	8
47.5.1. Yếu tố độc	8
47.5.2. Phát sinh bệnh do Mycoplasma xâm nhiễm.....	8
47.5.3. Miễn dịch của cơ thể chủ	9
47.5.4. Hội chứng lâm sàng.....	9
47.6. Dịch tễ học.....	10
47.6.1. Phân bố về địa lý	10
47.6.2. Môi trường sống.....	11
47.6.3. Nguồn, cơ thể chủ và sự lan truyền.....	11
47.7. Phát hiện tại phòng thí nghiệm.....	11
47.7.1. Mẫu vật.....	11
47.7.2. Soi kính hiển vi	12
47.7.3. Phát hiện trực tiếp kháng nguyên.....	12
47.7.4. Nuôi cấy	12
47.7.5. Xác định vi khuẩn	12

47.7.6. Phương pháp phân tử:	16
47.8. Điều trị	16
47.9. Ngăn ngừa và kiểm soát	16
47.10. Các loài <i>Mycoplasma</i> gây bệnh sinh dục	16
47.10.1. <i>Mycoplasma hominis</i>	16
47.10.2. <i>Mycoplasma genitalis</i>	17
47.11. Viêm phổi không điển hình	18

47.1. Giới thiệu

Mycoplasma thuộc lớp Mollicutes, bộ Mycoplasmatales. Trong bộ Mycoplasmatales này có bốn họ, đó là: (i) Mycoplasmataceae, (ii) Acholeplasmataceae, (iii) Spiroplasmataceae và (iv) Anaplasmatidae. Trong đó Mycoplasmataceae là họ quan trọng nhất vì hầu hết các loài mycoplasma gây bệnh ở người thuộc họ này. Chi tiết các loài mycoplasma gây bệnh ở người thuộc họ Mycoplasmataceae được tóm tắt tại Bảng 47.1.

Họ Acholeplasmataceae gồm các vi khuẩn mycoplasma hoại sinh. Nhóm mycoplasma này không đòi hỏi sterol như là yếu tố cần thiết cho tăng trưởng. Họ Spiroplasmataceae chủ yếu gồm các vi khuẩn mycoplasma ký sinh trong động vật chân đốt và thực vật. Các mycoplasma này đòi hỏi sterol làm yếu tố cần thiết cho tăng trưởng. Họ Anaplasmatidae có các mycoplasma là những vi khuẩn kỵ khí và được phát hiện trong đường ruột của gia súc và cừu.

Bảng 47.1. Bệnh ở người do các loài *Mycoplasma* và *Ureaplasma*.

Vi khuẩn	Bệnh
<i>M. pneumoniae</i>	Bệnh ở tuyến hô hấp trên, nhiễm trùng tuyến hô hấp dưới và viêm phổi sơ cấp không điển hình
<i>M. hominis</i>	Viêm quanh vùng chậu và sốt hậu sản
<i>M. fermentans</i>	Nhiễm trùng cơ hội ở những bệnh nhân bị nhiễm HIV
<i>M. pirum</i>	Nhiễm trùng máu ở những bệnh nhân bị nhiễm HIV
<i>M. salivarium</i>	Nhiễm trùng không rõ
<i>M. orale</i>	Nhiễm trùng không rõ
<i>M. genitalium</i>	Nhiễm trùng không rõ
<i>U. urealyticum</i>	Viêm màng ối, tình trạng đẻ non, viêm âm đạo, viêm cổ tử cung, viêm ống dẫn trứng cấp tính và viêm quanh vùng chậu

47.2. Phân loại

Họ Mycoplasmataceae gồm các mycoplasma ký sinh, đòi hỏi cholesterol hay các sterol khác làm yếu tố thiết yếu cho tăng trưởng. Họ này gồm hai giống: *Mycoplasma* và *Ureaplasma*. Có ít nhất 13 loài thuộc giống *Mycoplasma* và *Ureaplasma* là những vi

khuẩn tập kết hoặc gây bệnh ở người.

(1). Giống *Mycoplasma* có các vi khuẩn gây bệnh sử dụng glucose hay arginine, nhưng không sử dụng urea. Giống này có trên 90 loài. Các loài này xuất hiện ở dạng hội sinh, ký sinh và gây bệnh cho nhiều loại côn trùng ở thực vật và động vật chủ có vú.

Mycoplasma pneumoniae là loài quan trọng nhất được biết gây bệnh cho người. *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma pirum*, *Mycoplasma salivarium*, *Mycoplasma orale* và *Mycoplasma genitalium* là những vi khuẩn gây bệnh khác thường liên quan đến bệnh nhiễm trùng ở người.

Mycoplasma là prokaryote, nhưng khác với prokaryote ở chỗ chúng có một màng tế bào duy nhất chứa sterol. Hơn nữa mycoplasma không có thành tế bào. Lần đầu tiên khi khám phá về các *Mycoplasma* gây bệnh, người ta cho rằng chúng là virus hay dạng L của vi khuẩn.

(2). Giống *Ureaplasma* gồm các vi khuẩn sử dụng urea. Giống *Ureaplasma* có 5 loài, trong đó *Ureaplasma urealyticum* là loài quan trọng nhất được phân lập từ bệnh nhiễm trùng ở tuyến sinh dục và hô hấp ở người (Bảng 47.1).

47.3. *Mycoplasma pneumoniae*

M. pneumoniae là loài quan trọng nhất gây bệnh ở tuyến hô hấp trên. Loài này cũng được biết là nguyên nhân gây bệnh viêm phổi không điển hình.

47.4. Đặc điểm sinh học của *Mycoplasma pneumoniae*

47.4.1. Hình thái

Mycoplasma biểu hiện các đặc điểm hình thái sau:

(1). *Mycoplasma* là những vi khuẩn có kích thước rất nhỏ, đường kính từ 150 - 250 nm. Khuẩn này không có thành tế bào và màng tế bào của chúng chứa sterol.

(2). Nhiều mycoplasma có thể qua lọc có kích thước lỗ 0,45 μm , vì vậy chúng được xem là virus. Tuy nhiên chúng khác virus ở những đặc điểm sau: (a) mycoplasma có cả ribonucleic acid (RNA) và deoxyribonucleic acid (DNA); (b) trong điều kiện thí nghiệm *in vitro*, mycoplasma có khả năng tăng trưởng trên môi trường không có tế bào và (c) trong cơ thể sống *in vivo*, khuẩn này biểu hiện cả ký sinh nội bào và ngoại bào.

(3). Các loài *Mycoplasma* cũng được xem là dạng L của vi khuẩn bởi vì chúng

thiếu thành tế bào. Tuy nhiên khuẩn này khác với vi khuẩn bao gồm cả dạng L ở những đặc tính sau: (a) chúng có sterol trong màng tế bào; (b) không biểu hiện bất kỳ sự soát xét nào về cấu trúc đối với thành tế bào; (c) không chia sẻ bất kỳ sự tương đồng về DNA với vi khuẩn khác; (d) bộ gen có trọng lượng phân tử thấp; (e) hàm lượng guanine và cytosine thấp; (f) do không có thành tế bào nên *Mycoplasma* kháng được penicillin, cephalosporin, vancomycin và các kháng sinh khác can dự vào sự tổng hợp thành tế bào.

(4). Các loài *Mycoplasma* biểu hiện tiêu biểu cho sự đa hình, xuất hiện ở dạng hạt và sợi của nhiều kích cỡ khác nhau. Thể sợi có dạng mảnh khảnh có chiều dài dao động và biểu hiện sự phân nhánh thật sự.

(5). Chúng gia tăng tế bào bằng cách trực phân. Tuy nhiên sự sao chép của bộ gen và phân đôi tế bào thường không đồng bộ, dẫn đến sự hình thành các mảnh đa nhân và các dạng hình thể khác và chuỗi hạt.

(6). Chúng không có tiên mao hay sợi tơ nhưng một số loài *Mycoplasma* gồm *M. pneumoniae* biểu hiện kiểu di động lướt trên bề mặt có phủ chất lỏng.

(7). *Mycoplasma* ăn chất nhuộm kém khi nhuộm Gram và có Gram âm. Khuẩn này cho kết quả nhuộm tốt hơn khi nhuộm bằng chất nhuộm Giemsa và Diene.

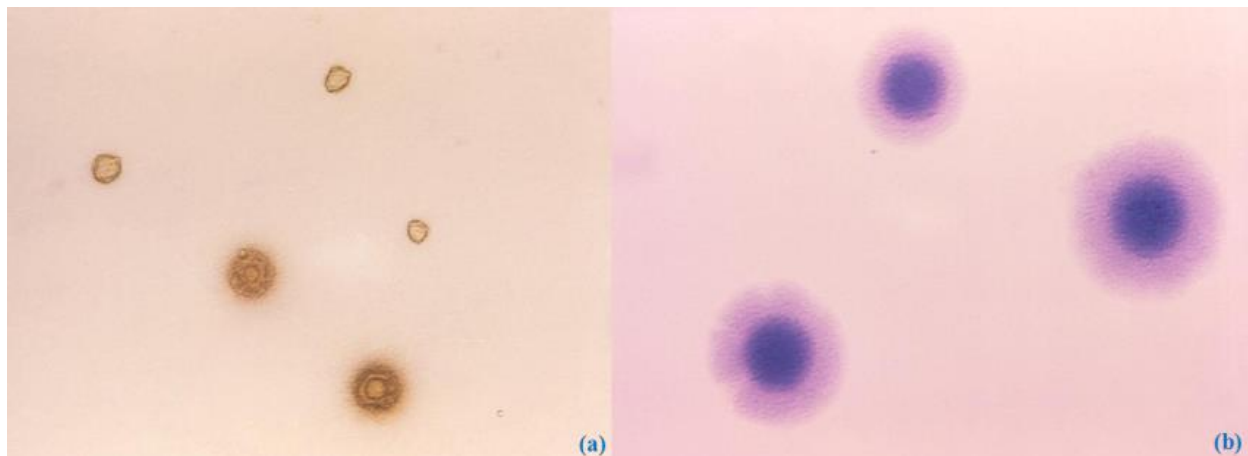
47.4.2. Nuôi cấy

Mycoplasma là vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí tùy nghi. *M. pneumoniae* là một ngoại trừ, khuẩn này yêu cầu hiếu khí tuyệt đối. Chúng tăng trưởng ở 37°C và ở khoảng pH từ 7,3 - 7,8.

(1). Môi trường lỏng PPLO: môi trường lỏng PPLO (Pleuropneumonia-like organism) là môi trường được sử dụng rộng rãi để phân lập mycoplasma. Môi trường này có bổ sung 20% huyết thanh ngựa, 10% chiết xuất nấm men và glucose. Phenol red được sử dụng làm chất chỉ thị pH. Hàm lượng cao huyết thanh ngựa được sử dụng làm nguồn sterol, cholesterol và các lipid khác. Khi chế biến thành môi trường rắn cần thêm agar vừa đủ vào. Môi trường này có bổ sung penicillin, ampicillin và polymyxin B để ức chế vi khuẩn nhiễm và amphotericin B được sử dụng để ức chế nấm.

(2). Môi trường thạch PPLO: PPLO lỏng được làm rắn lại bằng cách thêm agar. Mycoplasmas thường tăng trưởng chậm có thời gian thế hệ từ 1 - 6 giờ. *Mycoplasma* trên

môi trường thạch PPLO tạo ra khuẩn lạc nhỏ, thường có kiểu hình dạng trứng chiên, gồm có tâm, mờ đục, là khu vực tăng trưởng có dạng hạt được bao xung quanh một khu vực ngoại biên, phẳng, mờ đục (Hình 47.1). Đầu tiên mycoplasma nhân lên trên môi trường thạch để tạo ra sự mờ đục, các khuẩn lạc có dạng hình cầu phát triển nhô lên bề mặt thạch và sau đó lan ra xung quanh, hình thành vùng ngoại biên mờ. Các khuẩn lạc có thể được nhìn thấy rõ qua kính lúp cầm tay, nhất là sau khi nhuộm Diene.



Hình 47.1. Hình dạng khuẩn lạc *Mycoplasma hominis* và chủng phân lập *Mycoplasma* phát triển trên môi trường có agar (CDC). (a). Khuẩn lạc hình thành trong giống như hình dạng trứng chiên. (b). Khuẩn lạc sau nhuộm.

Khuẩn lạc mycoplasma sau nhuộm, hình dạng trông giống trứng chiên có tính phân hạt cao, tâm khuẩn lạc ăn chất nhuộm có màu xanh đậm và khu vực ngoại biên có màu xanh nhạt. Thạch trong môi trường có màu trong hoặc có màu tím nhạt (Hình 47.1b). *Mycoplasma* khác với *M. pneumoniae* ở chỗ sẽ mất màu sau thời gian nhuộm vì nó sẽ khử xanh methylene.

(a). *M. pneumoniae* không giống với các loài *Mycoplasma* ở chỗ tăng trưởng rất chậm. Chúng đòi hỏi 1 - 4 tuần để hình thành khuẩn lạc trên môi trường thạch.

(b). *M. pneumoniae* không hình thành dạng khuẩn lạc trông giống như trứng chiên nhưng thay vào đó hình thành khuẩn lạc có dạng giống như quả dâu tằm.

Hầu hết khuẩn lạc *Mycoplasma* tạo vùng tiêu huyết trên môi trường thạch máu. *Mycoplasma* không có khả năng tổng hợp cholesterol và các sterol liên quan; vì vậy chúng cần cung cấp các chất này từ môi trường bên ngoài để tăng trưởng. Khuẩn này

cũng không có khả năng tổng hợp purine và pyrimidine.

47.4.3. Phản ứng sinh hoá

Mycoplasma biểu hiện các phản ứng sinh hoá sau:

(1). *M. pneumoniae* và các loài khác như *M. fermentans*, *M. genitalia* và *M. agalactiae* sử dụng glucose và các carbohydrate khác làm nguồn năng lượng chủ yếu.

(2). *M. salivarium* và các loài khác như *M. orale*, *M. hominis* và *M. fermentans* sử dụng arginine làm nguồn năng lượng chủ yếu.

(3). Mycoplasma là nhóm hữu cơ - hoá dưỡng (chemo-organotroph), chúng biến dưỡng chủ yếu qua con đường lên men. Môi trường nuôi cấy lỏng được sử dụng để lên men có bổ sung glucose, arginine và urea cùng với phenol red làm chỉ thị. Các loài *Mycoplasma* lên men carbohydrate sử dụng glucose để tạo acid lactic, dẫn đến hình thành pH acid. Các loài *Mycoplasma* sử dụng arginine tạo ammonia, CO₂ và adenosine triphosphate do biến dưỡng arginine. Việc sản sinh ra ammonia làm cho môi trường đổi sang kiềm.

47.4.4. Đặc điểm khác

Mycoplasma dễ dàng bị tiêu diệt ở 56°C trong 30 phút. Khuẩn này nhạy cảm với các dung dịch khử trùng như cycloheximide và cetrimide, các chất này ức chế sự tăng trưởng của mycoplasma. Khuẩn này kháng được ánh sáng UV và tác động của quang động lực học của xanh methylene. Vì vậy *M. pneumoniae* có thể tăng trưởng khi có sự hiện diện của 0,002% xanh methylene trong môi trường thạch, ngược lại nhiều loài *Mycoplasma* khác bị ức chế ở nồng độ này.

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

Glycolipid màng và protein là các quyết định kháng nguyên chính của mycoplasma. Kháng nguyên glycolipid màng biểu hiện phản ứng chéo với các mô ở người và các vi khuẩn khác.

Các kháng nguyên này được xác định nhờ thử nghiệm cố định bổ thể. Glycolipid có cấu trúc kháng nguyên tương tự đã được chứng minh có trong các neuron ở não người. Các kháng thể chống lại glycolipid của *M. pneumoniae* có thể phản ứng chéo với tế bào não, vì vậy gây tổn thương tới các tế bào thần kinh. Sự tổn thương của tế bào này có thể

là những biểu hiện thuộc thần kinh do *M. pneumoniae* xâm nhiễm.

M. pneumoniae có hai protein bề mặt chính gồm protein dính P1, protein này có vai trò trong việc giúp vi khuẩn bám dính lên cấu trúc tế bào. Có thể sử dụng kỹ thuật ELISA để xác định các kháng nguyên protein này. Protein P1 cảm ứng sản sinh kháng thể, không phản ứng với protein P1 nhưng phản ứng với các yếu tố quyết định độc tính của các tế bào máu đỏ dẫn đến làm ly giải hồng cầu trong quá trình bệnh tự miễn dịch.

47.5. Đặc điểm gây bệnh

Mycoplasma là những vi khuẩn chủ yếu gây bệnh ngoại bào, chúng bám vào bề mặt các tế bào biểu mô có và không có lông mao.

47.5.1. Yếu tố độc

Protein dính P1 là yếu tố gây độc chính của *Mycoplasma*. Khuẩn này thường không gây ra sự xâm lấn vào máu để biểu hiện bệnh toàn thân.

(1). Kháng nguyên P1: kháng nguyên P1 là protein liên quan đến màng, protein này hỗ trợ mycoplasma dính vào tế bào biểu mô. Protein dính hay yếu tố dính kết hợp một cách chuyên biệt với các thụ thể sialated glycoprotein hiện diện tại đáy của lông mao trên bề mặt biểu mô. Thụ thể tương tự như thụ này cũng hiện diện trên bề mặt của hồng cầu. Kháng thể chống lại kháng nguyên P1 cũng có thể hoạt động như tự kháng thể (autoantibody) chống lại các tế bào máu đỏ gây ra sự ngưng kết của máu.

47.5.2. Phát sinh bệnh do Mycoplasma xâm nhiễm

Sau khi bám dính, *Mycoplasma* trực tiếp gây tổn thương tế bào biểu mô, trước tiên là ở lông mao và sau đó là các tế bào biểu mô có lông mao bị phá hủy. Việc làm mất các tế bào này làm ảnh hưởng đến chức năng bình thường của tuyến hô hấp trên và dẫn đến tuyến hô hấp dưới trở nên bị nhiễm vi khuẩn và bị tắc nghẽn cơ học. Sự tắc nghẽn cơ học gây ra ho lâu dài thường được phát hiện ở bệnh nhân bị nhiễm tuyến hô hấp do *M. pneumoniae* gây ra.

M. pneumoniae có hoạt tính như là siêu kháng nguyên. Điều này là do sự di chuyển của các tế bào gây viêm đến vị trí nhiễm và tạo ra cytokine như yếu tố gây hoại tử khối u alpha, interleukin-1 và interleukin-6. Các cytokine này giúp làm sạch vi khuẩn và bệnh. *M. pneumoniae* thường không gây ra sự xâm lấn vào máu và tạo ra biểu hiện bệnh

toàn thân.

Mycoplasma hiếm khi xâm nhập vào dưới niêm mạc ngoại trừ các trường hợp bị suy giảm miễn dịch hay sau khi lắp ghép thiết bị. Ở những bệnh nhân này, vi khuẩn có thể xâm lấn vào máu và gây nhiễm các cơ quan khác nhau của cơ thể.

47.5.3. Miễn dịch của cơ thể chủ

Sự xâm nhiễm của *M. pneumoniae* không cảm ứng sự miễn dịch bảo vệ. Các cá thể đã bị nhiễm *M. pneumoniae* trước đó thì dễ dàng tái nhiễm với vi khuẩn này. Kháng nguyên P1 cảm ứng sự sản ra sinh kháng thể. Các kháng thể này được phát hiện trong gần 50% bệnh nhân bị nhiễm *M. pneumoniae*. Kháng thể chống lại kháng nguyên P1 là kháng thể tự động phản ứng chéo với kháng nguyên I của tế bào máu đỏ và không được bảo vệ.

47.5.4. Hội chứng lâm sàng

M. pneumoniae chủ yếu gây nhiễm trùng hô hấp ở người.

(1). Nhiễm trùng hô hấp: phần lớn bệnh nhiễm trùng hô hấp thì nhẹ và tự giới hạn. *M. pneumoniae* gây ra (a) nhiễm trùng tuyến hô hấp trên, (b) nhiễm trùng tuyến hô hấp dưới và (c) viêm phổi sơ cấp không điển hình.

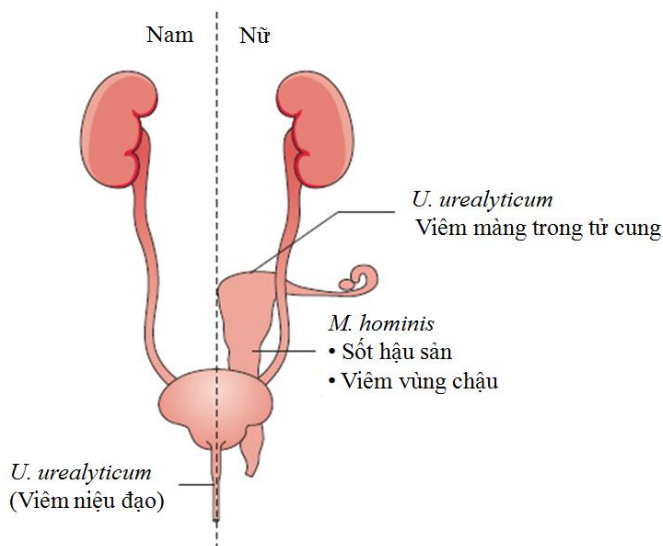
(a). Nhiễm trùng tuyến hô hấp trên: *M. pneumoniae* chủ yếu gây nhiễm trùng nhẹ tuyến hô hấp trên. Bệnh có đặc điểm là sốt nhẹ, khó chịu và đau đầu. Ho không có đờm là biểu hiện điển hình, xuất hiện trong 2 - 3 tuần sau khi phơi nhiễm. Ban đầu ho này không có đờm nhưng sau đó có thể ho ra đờm với một lượng nhỏ đến lượng trung bình, có thể trở nên nhầy mủ và thậm chí pha lẫn máu ở các trường hợp nghiêm trọng hơn.

(b). Nhiễm trùng hô hấp dưới: gồm viêm khí - phế quản (tracheobronchitis) và viêm phổi phế quản (bronchopneumonia). Bệnh có đặc điểm do sự xâm nhiễm sơ cấp phế quản cùng với đó là sự thâm nhiễm các tế bào biểu mô thuộc phế quản do bạch cầu lympho và tương bào.

(c). Viêm phổi sơ cấp không điển hình: thời gian ủ bệnh dao động từ 2 đến 3 tuần. Bệnh nhân trải qua chứng viêm phổi không điển hình thường không bị bệnh. Họ bị ảnh hưởng, trở nên phù nhưng không có bất kỳ hạch cổ nào. Trường hợp này liên quan đến sự hiện diện của chứng viêm phổi loang lổ được phát hiện khi chụp tia X ngực. Sự

khác biệt giữa những phát hiện về thân thể giữa bằng tia X của ngực là dấu hiệu xác nhận bệnh nhiễm trùng. Bệnh này thường tự giới hạn. Trong đó 5 - 20% bệnh nhân có thể xuất hiện chứng tràn màng phổi.

(2). Nhiễm trùng ngoài phổi: các biểu hiện lâm sàng ngoài phổi thì không hiếm.



Tính bất thường của tim như viêm cơ tim và viêm màng ngoài tim là những biểu hiện ngoài phổi thường xuất hiện nhất. Các triệu chứng khác gồm tính bất thường của hệ thần kinh, viêm tai giữa và hồng ban đa dạng (erythema multiforme) còn gọi là hội chứng Stevens - Johnson.

Hình 47.2. Minh họa vị trí nhiễm trùng do các loài *Mycoplasma* và

***Ureaplasma* gây ra.**

Nhiễm trùng do *M. pneumoniae* có khuynh hướng gây bệnh nghiêm trọng hơn ở: (i) trẻ bị bệnh ức chế miễn dịch (immunosuppressive disease); (ii) cá thể bị bệnh thiếu máu do hồng cầu hình liềm (sickle cell anemia), thiếu chức năng lách (functional asplenia) và (iii) trẻ bị hội chứng Down.

Bệnh nhiễm trùng biểu hiện cận lâm sàng có thể xuất hiện trong 20% người trưởng thành (Hình 47.2).

47.6. Dịch tễ học

47.6.1. Phân bố về địa lý

M. pneumoniae phân bố khắp nơi trên thế giới. Khuẩn này làm cho trên 20% viêm phổi mắc phải trong cộng đồng (community-acquired pneumonia), bệnh này đòi hỏi phải nhập viện. Bệnh nhiễm trùng do *M. pneumoniae* xảy ra ở cả hai hình thức là dịch bộc phát (epidemic) và dịch cục bộ (endemic). Trường hợp này ghi nhận ở các quốc gia Châu Âu và ở Hoa Kỳ. Các quốc gia đang phát triển thì không có đủ thông tin chính xác về nhiễm trùng do *M. pneumoniae*. Tuy nhiên các kết quả của một số nghiên cứu về sự phổ

biến của huyết thanh cho thấy có thể có dịch cục bộ ở nhiều quốc gia đang phát triển.

47.6.2. Môi trường sống

M. pneumoniae là vi khuẩn gây bệnh ở người và gắn kết với người một cách nghiêm ngặt. Khuẩn này sinh sống trong tuyến hô hấp trên của cơ thể chủ bị nhiễm. Chúng thường hiện diện trong niêm mạc, định cư ngoại bào ở tuyến hô hấp trên.

47.6.3. Nguồn, cơ thể chủ và sự lan truyền

Con người là động vật chủ thường xuyên của *M. pneumoniae* và vì thế là nguồn lây nhiễm quan trọng. Những bệnh nhân bị bệnh thường lan truyền *M. pneumoniae* cao hơn. *M. pneumoniae* được lan truyền phổ biến nhất do tiếp xúc gần thông qua chất tiết từ mũi. Bệnh được lan truyền do hít vào các giọt khí. Lan truyền từ người sang người thường xảy ra ở những cộng đồng như sinh viên trường học và quân đội, những người sống cận kề với nhau. *M. pneumoniae* thường liên quan đến chứng viêm phổi, tỷ lệ bệnh cao nhất thường xảy ra ở trẻ có độ tuổi từ giữa 9 và 10 và cũng được phát hiện ở trẻ vị thành niên. Bệnh thường phổ biến ở trẻ đang độ tuổi đến trường.

Những năm qua các kết quả ghi nhận cho thấy bệnh do khuẩn này gây ra tăng dần ở những người trên 65 tuổi. Trong quần thể người già, tỷ lệ *M. pneumoniae* gây viêm phổi mắc phải trong cộng đồng chiếm gần 15% và kế tiếp là viêm phổi do *Streptococcus pneumoniae*.

Nhiễm trùng do *M. pneumoniae* thường không phổ biến ở trẻ sơ sinh. Các cá thể bị bệnh hồng cầu hình liềm và bị ức chế miễn dịch là những đối tượng có nguy cơ cao về nhiễm trùng toàn thân do *M. pneumoniae* gây ra và có thể phát triển chứng tràn dịch phổi ảnh hưởng sâu rộng đến hô hấp.

47.7. Phát hiện tại phòng thí nghiệm

Điều trị ban đầu bệnh do *M. pneumoniae* infection được dựa trên chẩn đoán lâm sàng bệnh này. Chẩn đoán mang tính quyết định thường được đưa ra sau 3 - 4 tuần xét nghiệm, phân tích. Vì vậy việc điều trị thường phải tiến hành mà không phải đợi kết quả thử nghiệm.

47.7.1. Mẫu vật

Mẫu lấy từ tuyến hô hấp gồm dịch xúc miệng, dịch hút phế quản và đờm khạc.

dịch hút khí quản thì phù hợp hơn để phát hiện vi khuẩn so với mẫu đờm, bởi vì hầu hết bệnh nhân bị nhiễm trùng tuyến hô hấp thường không tạo đờm và không bị ho. Các mẫu này được thu thập và vận chuyển về phòng thí nghiệm ngay sau đó.

Vì điều kiện nào đó mà không vận chuyển ngay về phòng thí nghiệm thì (a) nên cấy các mẫu này vào môi trường vận chuyển thích hợp như SP4 chẳng hạn để ngăn chặn sự mất nước, (b) có thể bảo quản mẫu ở -70°C chờ phân tích sau.

47.7.2. Soi kính hiển vi

Trong trường hợp này không thể sử dụng kính hiển vi để quan sát và chẩn đoán sự xâm nhiễm do *M. pneumoniae* vì mycoplasma ăn chất nhuộm kém do chúng không có thành tế bào.

47.7.3. Phát hiện trực tiếp kháng nguyên

Phương pháp miễn dịch bắt kháng nguyên được sử dụng để phát hiện trực tiếp *M. pneumoniae* trong mẫu đờm có độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Miễn dịch huỳnh quang trực tiếp, điện di miễn dịch đôi dòng và miễn dịch thấm (immunoblotting) có kháng thể đơn dòng là những thử nghiệm được sử dụng để phát hiện kháng nguyên trong các mẫu bệnh phẩm.

47.7.4. Nuôi cấy

Nuôi cấy vi khuẩn có giá trị rất thấp trong thực nghiệm vì vi khuẩn này đòi hỏi sự tăng trưởng nghiêm ngặt và cần thời gian 3 - 4 tuần để nuôi cấy. Việc phân lập *M. pneumoniae* từ các mẫu bệnh phẩm bằng nuôi cấy để khẳng định *M. pneumoniae* gây ra bệnh hô hấp. Môi trường sử dụng để cấy mycoplasma là thạch PPLO có bổ sung huyết thanh nhằm cung cấp sterol, glucose, chỉ thị pH, chiết xuất nấm men để cung cấp các tiền chất nucleic acid cùng với đó là kháng sinh và chất kháng nấm để ức chế vi khuẩn có thành tế bào và nấm, sau đó ủ ở 37°C. Trên môi trường này, *M. pneumoniae* tăng trưởng và hình thành khuẩn lạc rất chậm. Sự tăng trưởng của khuẩn sẽ thuận lợi hơn khi ủ trong điều kiện có 95% N₂ và 5% CO₂. Khuẩn này hình thành khuẩn lạc nhỏ có hình dạng đồng nhất, khuẩn lạc thường có hình dạng giống như trái dâu tằm (Hình 47.1).

47.7.5. Xác định vi khuẩn

(1). Đặc điểm xác định *Mycoplasma*

M. pneumoniae có những đặc điểm như sau:

(a). Vi khuẩn có kích thước rất nhỏ; ăn chất nhuộm kém khi nhuộm Gram nhưng cho kết quả tốt khi nhuộm bằng phương pháp Diene;

(b). Thay đổi màu sắc từ đỏ sang vàng nhờ chỉ thị phenol red;

(c). Có thể nhuộm trực tiếp khuẩn lạc bằng chất nhuộm Diene;

(d). Thử nghiệm hấp thu hồng cầu (hemadsorption) cho kết quả dương;

(e). Có khả năng khử tetrazolium;

(f). Khuẩn lạc sau khi xác định được khẳng định nhờ sự ức chế tăng trưởng của chúng bằng kháng huyết thanh chuyên biệt cho *M. pneumoniae*;

(g). Trên môi trường thạch, mycoplasma hình thành khuẩn lạc có dạng hình trứng chiên có vùng trung tâm mờ đục và vùng ngoại biên trong mờ trên bề mặt (Hình 47.1a).

Khuẩn này được xác định nhờ những thử nghiệm sau: (i) thay đổi màu sắc khuẩn lạc, (ii) thử nghiệm Diene, (iii) thử nghiệm hấp thu hồng cầu (hemadsorption), (iv) thử nghiệm khử tetrazolium.

(i). Thay đổi màu sắc khuẩn lạc: khuẩn lạc được xác định do sự thay đổi màu sắc từ đỏ sang vàng nhờ chỉ thị phenol red, do lên men glucose tạo acid làm cho pH của môi trường giảm xuống.

(ii). Thử nghiệm Diene: trong phương pháp này, chất nhuộm Diene (pha loãng 1:10 bằng nước cất) được thêm trực tiếp đĩa có khuẩn lạc nghi ngờ là *Mycoplasma*. Sau đó rửa nhanh đĩa nhuộm bằng nước cất để loại bỏ chất nhuộm. Cho khuẩn lạc này khử màu bằng cách thêm vào môi trường 1 mL ethanol 95% và giữ trong 1 phút. Đĩa chứa khuẩn lạc sau đó được rửa lại bằng nước cất và để khô. Sau khi để khô, quan sát khuẩn lạc dưới kính hiển vi có độ phân giải thấp.

Bằng kỹ thuật nhuộm Diene, khuẩn lạc *Mycoplasma* có dạng hình trứng chiên, xuất hiện dạng hạt cao, có tâm khuẩn lạc ăn màu xanh đậm và rìa khuẩn lạc ăn màu xanh nhạt. Thạch trong môi trường có màu trong hoặc có màu tím violet nhạt (Hình 47.1b). *Mycoplasma* khác hơn *M. pneumoniae* ở chỗ sẽ trở nên không màu sau một thời gian bị giảm màu xanh methylene. Khuẩn lạc sau khi xác định được khẳng định nhờ sự ức chế sự tăng trưởng của chúng bằng huyết thanh kháng chuyên biệt cho *M. pneumoniae*.

(iii). Thử nghiệm hấp thu hồng cầu: thử nghiệm này được tiến hành bằng cách cho 2 mL dịch huyền phù hồng cầu chuột lang có nồng độ 0,2 - 0,4% vào đĩa có các khuẩn *M. pneumoniae* tăng trưởng trên môi trường thạch. Ủ đĩa này ở nhiệt độ 35°C trong 35 phút sau đó rửa bằng cách xoay tròn nhẹ nhàng với 3 mL môi trường cho *Mycoplasma* tăng trưởng. Loại bỏ dịch rửa nhẹ nhàng bằng cách dùng pipette để hút. Khuẩn lạc *M. pneumoniae* hấp thu hồng cầu chuột lang, sự hấp thu này được làm dễ ở 37°C. Sự hấp thu hồng cầu trên bề mặt của khuẩn lạc *M. pneumoniae* được chứng minh dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 X.

(iv). Thử nghiệm khử tetrazolium: thử nghiệm này được dựa trên nguyên tắc *M. pneumoniae* có khả năng khử triphenyl tetrazolium, một phức không màu, thành formazan, một phức có màu đỏ. Thử nghiệm này được tiến hành bằng cách cho đĩa thạch có khuẩn lạc *M. pneumoniae* chảy tràn dung dịch 2-*p*-iodophenyl- 3-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium chloride và ủ đĩa ở 35°C trong một giờ. Ở trường hợp dương tính, khuẩn lạc *M. pneumoniae* xuất hiện màu đỏ sau 1 giờ và có thể xuất hiện màu tím đến đen sau 3 - 4 giờ ủ.

(2). Chẩn đoán bằng huyết thanh: chẩn đoán bằng huyết thanh bằng cách sử dụng kháng nguyên *Mycoplasma* để chứng minh kháng thể đặc hiệu trong huyết thanh. Kháng nguyên glycolipid của *M. pneumoniae* được ly trích bằng chloroform và methanol cũng được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán huyết thanh của chứng viêm phổi không điển hình. Cố định bổ thể và ELISA là những thử nghiệm thường được sử dụng.

(a). Cố định bổ thể: sử dụng lượng kháng thể cố định bổ thể gấp 4 lần hay lượng có nồng độ đơn theo tỷ lệ 1:64 hoặc lớn hơn để cố định. Kháng thể cố định bổ thể xuất hiện sau 7 - 10 ngày vi khuẩn xâm nhiễm và đạt đỉnh sau 4 - 6 tuần xâm nhiễm. Kháng thể cố định bổ thể được chứng minh trong khoảng 80% các trường hợp.

(b). Phương pháp miễn dịch dựa trên enzyme liên kết: IgM ELISA là thử nghiệm thường được sử dụng nhất. IgM ELISA được sử dụng để phát hiện kháng thể IgM chuyên biệt trong mẫu thử có huyết thanh đơn. Thử nghiệm này có độ đặc hiệu 99% và độ nhạy 97%. Hiện nay việc phát hiện định lượng, cho kết quả nhanh, ELISA dựa trên màng (membrane-based ELISA) được đánh giá là phương pháp phát hiện nhanh để

chứng minh hoặc kháng thể IgM hoặc IgG trong vòng 30 phút.

(3). Thử nghiệm huyết thanh không chuyên biệt: thử nghiệm này được gọi là không chuyên biệt vì chúng không sử dụng kháng nguyên *Mycoplasma* chuyên biệt; thay vào đó là sử dụng phản ứng chéo và kháng nguyên không chuyên biệt. Các thử nghiệm này gồm thử nghiệm ngưng kết *Streptococcus* MG và thử nghiệm ngưng kết lạnh.

(a). Thử nghiệm ngưng kết *Streptococcus*: trong thử nghiệm này, gia nhiệt dịch khuẩn để tiêu diệt *Streptococcus* MG, được sử dụng như là kháng nguyên. Kháng nguyên này được trộn với huyết thanh của bệnh nhân chưa gia nhiệt được pha loãng theo dãy nồng độ. Quan sát ngưng kết sau khi ủ qua đêm ở 37°C. Chuẩn độ lượng kháng thể theo tỷ lệ 1:20 hoặc nhiều hơn được cho là nhiễm *M. pneumoniae*.

(b). Thử nghiệm ngưng kết lạnh: trong thử nghiệm này, hồng cầu của người nhóm máu O được sử dụng như là kháng nguyên. Thử nghiệm này dựa trên nguyên tắc tự kháng thể (autoantibody) ngưng kết với các tế bào nhóm O của người ở nhiệt độ thấp xuất hiện trong hầu hết các trường hợp viêm phổi không điển hình. Thử nghiệm này được tiến hành bằng cách thu thập máu của bệnh nhân, máu này không được để lạnh trước khi tách huyết thanh vì khi ở nhiệt độ thấp, các yếu tố ngưng kết agglutinin dễ dàng bị tế bào máu đỏ đồng dạng hấp thu. Huyết thanh của bệnh nhân được trộn với dịch huyền phù có 0,2% hồng cầu của người thuộc nhóm máu O qua rửa theo tỷ lệ bằng nhau. Dịch huyền phù này được ủ qua đêm ở 4°C và sau đó quan sát khối kết. Khối kết này tan ra ở 37°C. Chuẩn độ theo tỷ lệ 1:32 hoặc nhiều hơn cho thấy có sự xâm nhiễm của *M. pneumoniae*.

Các yếu tố ngưng kết lạnh agglutinin thường xuất hiện trong hơn 50% trường hợp sau tuần thứ hai khi vi khuẩn xâm nhiễm và đạt đỉnh sau 4 - 5 tuần. Sau đó lượng kháng thể giảm nhanh chóng và kết quả sẽ âm tính trong khoảng 5 tháng.

Một lượng gấp bốn lần agglutinin lạnh của huyết thanh đôi (paired serum) và huyết thanh người bệnh vừa mới phục hồi (convalescent sera), hay một lượng chuẩn độ đơn (single titer) 1:32 được cho là nhiễm *M. pneumoniae*. Điểm bất lợi của thử nghiệm này đó chính là thử nghiệm không đặc hiệu, bởi vì các agglutinin lạnh cũng được chứng minh có trong huyết thanh của các bệnh nhân bị bệnh khác như rubella, bệnh tăng bạch cầu đơn nhân do xâm nhiễm (mononucleosis), bệnh do adenovirus, bệnh xâm nhiễm vệt

(psittacosis), chứng tăng bạch cầu ưa eosin (eosinophilia) ở nhiệt đới, bệnh trypanosoma, bệnh xơ gan (cirrhosis) và chứng thiếu máu tan huyết (hemolytic anemia).

47.7.6. Phương pháp phân tử:

Hiện nay kỹ thuật seminested PCR sử dụng DNA ribosome 60S được phát triển để chứng minh yếu tố đích P1 ở protein để phát hiện bệnh xâm nhiễm do *M. pneumoniae*. Các thử nghiệm này có độ đặc hiệu và độ nhạy cao. Điểm thuận lợi của phương pháp này là để phát hiện sớm sự xâm nhiễm do *M. pneumoniae*. Điểm bất lợi của phương pháp này đó là chi phí đắt đỏ và cần phải đầu tư thiết bị và đào tạo nâng cao.

47.8. Điều trị

Liệu pháp kháng sinh thường không cần thiết để điều trị cho bệnh xâm nhiễm ở tuyến hô hấp trên do *M. pneumoniae*. Tuy nhiên điều trị bằng kháng sinh giúp quản lý được chứng viêm phổi do *Mycoplasma*, bởi vì kháng sinh làm giảm thời gian bị bệnh và giảm số lượng *Mycoplasma*. Kháng sinh cũng làm giảm triệu chứng viêm phổi và tạo thuận lợi cho sự phục hồi bệnh. Viêm phổi thường là bệnh tự giới hạn và không đe dọa mạng sống của hầu hết mọi người.

M. pneumoniae vẫn còn nhạy cảm với nhóm tetracycline và erythromycin, bởi vì các kháng sinh này tấn công lên mycoplasma bằng cách ức chế sự tổng hợp protein. Tetracycline có thêm thuận lợi đó là hiệu quả để chống lại hầu hết các mycoplasma khác và chlamydiae là các vi khuẩn gây chứng viêm niệu đạo không phải là lậu cầu khuẩn.

Mycoplasma kháng được nhóm penicillin và nhóm cephalosporin bởi vì các kháng sinh này tấn công lên thành tế bào nhưng khuẩn này lại không có cấu trúc này.

47.9. Ngăn ngừa và kiểm soát

Phân lập *M. pneumoniae* từ bệnh nhân bị nhiễm là cách tốt nhất để ngăn chặn sự lây lan bệnh. Phòng bệnh bằng kháng sinh tetracycline hay erythromycin là biện pháp hữu dụng. Hiện nay chưa có vaccine để chống lại *Mycoplasma*.

47.10. Các loài *Mycoplasma* gây bệnh sinh dục

M. hominis và *Mycoplasma genitalis* là các loài *Mycoplasma* sống trong niêm mạc của đường niệu dục.

47.10.1. *Mycoplasma hominis*

M. hominis là vi khuẩn kỵ khí tùy nghi và là *Mycoplasma* tăng trưởng nhanh, trong vòng 1 - 4 ngày. Khuẩn này biến dưỡng arginine nhưng không sử dụng glucose. Trên môi trường Mycoplasma, *M. hominis* tạo khuẩn lạc lớn có dạng hình trứng chiên điển hình. Ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn này bằng kháng huyết thanh chuyên biệt cho *M. hominis* được sử dụng để phân biệt khuẩn này với mycoplasma sinh dục khác. Biểu hiện lâm sàng của mycoplasma sinh dục thì phụ thuộc vào kiểu xâm nhiễm:

(1). *M. hominis* liên quan đến bệnh xâm nhiễm qua đường niệu dục sinh. *M. hominis* gây nhiễm trùng sinh dục, nhiễm trùng này có thể dẫn đến sự biểu hiện đa dạng như viêm ống dẫn trứng (salpingitis), áp se chậu (pelvic abscess), nhiễm trùng sản (puerperal infection), sảy thai do nhiễm khuẩn (septic abortion).

(2). Khuẩn này cũng gây nhiễm trùng ngoài sinh dục như viêm khớp do nhiễm khuẩn (septic arthritis), chứng viêm phúc mạc (peritonitis), chứng viêm tĩnh mạch huyết khối do nhiễm khuẩn (septic thrombophlebitis) và áp se não.

(3). Khuẩn này cũng là nguyên nhân chủ yếu gây viêm phổi không điển hình và viêm màng não ở trẻ sơ sinh.

Tỷ lệ mycoplasma tập kết trong sinh dục tăng lên sau tuổi dậy thì và có liên quan đến hoạt động tình dục. Có khoảng 15% nam và nữ hoạt động tình dục có *M. hominis*. *M. hominis* tập kết, trong khi đó sự tập kết của *Ureaplasma* chiếm khoảng 45 - 70% nữ hoạt động tình dục. Không giống như các mycoplasma khác, *M. hominis* kháng được erythromycin và đôi khi kháng cả nhóm tetracycline. Clindamycin thì hiệu quả trong điều trị nhưng một số chủng *M. hominis* cũng có khả năng kháng.

47.10.2. *Mycoplasma genitalis*

M. genitalis cũng gây chứng viêm niệu đạo không phải do lậu cầu khuẩn và bệnh sung vùng chậu (PID). *M. genitalis* chủ yếu là vi khuẩn gây bệnh tuyến da dày ruột, khuẩn này đôi khi có thể gây nhiễm trùng niệu đạo và tuyến hô hấp. Khuẩn này rất khó để phân lập và nuôi cấy. Để phân lập chúng có thể phải mất từ 2 - 4 tháng ủ.

Các loài *Mycoplasma* sinh dục đã được phân lập nhiều ở những người Mỹ gốc Phi hơn là ở những người da trắng. Sự tập kết của *Mycoplasma* species ở trẻ thường xảy ra trong quá trình sinh thường. Sự tập kết của các mycoplasma sinh dục chỉ xuất hiện trên 2

năm. Do mycoplasma sinh dục được lan truyền theo đường tình dục, vì vậy tránh hoạt động tình dục hay sử dụng biện pháp an toàn để ngăn ngừa bệnh do mycoplasma sinh dục gây ra.

47.10.3. *Ureaplasma urealyticum*

U. urealyticum là vi khuẩn gây bệnh sinh dục, bệnh liên quan đến tuyến niệu dục của người và động vật. Khuẩn này cũng là nguyên nhân quan trọng nhất trong gây viêm niệu đạo không phải lậu cầu khuẩn. Khuẩn này đòi hỏi bổ sung urea cho tăng trưởng. Môi trường *Mycoplasma* bổ sung urea, môi trường có đệm cao nhằm ngăn chặn sự kiềm hóa của môi trường, nhờ đó phù hợp cho *U. urealyticum* tăng trưởng. *U. urealyticum* thường thủy giải urea, urea là yếu tố thiết yếu cho sự tăng trưởng của vi khuẩn này. Khuẩn này giống như các mycoplasma hình thành khuẩn rất ít khuẩn lạc có kích thước 15 - 50 m. Vì vậy trước đây chúng được gọi là chủng T hay chủng T *Mycoplasma*. Chủng T *Mycoplasma* ở người hiện nay được gọi là *U. urealyticum*.

U. urealyticum là vi khuẩn gây bệnh được truyền qua đường tình dục gây chứng viêm màng ối (chorioamnionitis), đẻ non (prematurity), viêm âm đạo (vaginitis), viêm cổ tử cung (cervicitis), viêm ống dẫn trứng cấp tính (acute salpingitis) và bệnh sưng vùng chậu ở nữ giới. *Ureaplasma* thường được phân lập phổ biến nhất từ trẻ sơ sinh nhất là trẻ gái. Khuẩn này cũng là nguyên nhân gây ra chứng viêm niệu đạo (urethritis), chứng viêm trực tràng (proctitis), viêm bao quy đầu (balanoposthitis) và hội chứng Reiter ở nam giới.

47.11. Viêm phổi không điển hình

Viêm phổi không điển hình là thuật ngữ được dùng để phân biệt với viêm phổi điển hình do *Streptococcus pneumoniae* gây ra. Trước đây bất kỳ bệnh nhân nào bất có triệu chứng thành lình như sốt, lạnh, đau do viêm màng phổi và khạc đờm ra máu thường được chẩn đoán là viêm phổi điển hình do *S. pneumoniae*. Bệnh nhân không biểu hiện các triệu chứng đặc trưng được cho là viêm phổi không điển hình. Ngày nay người ta đã chứng minh được *M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* và *Legionella pneumophila* là vi khuẩn quan trọng trong gây chứng viêm phổi không điển hình. Trong trường hợp này các vi khuẩn gây bệnh trên thường không phân lập được qua mẫu đờm theo phương pháp nuôi cấy thông thường.

Beta-lactam là nhóm kháng sinh không hiệu quả để tiêu diệt *Mycoplasma* vì khuẩn này không có thành tế bào, và kháng sinh nhóm này thường hoạt động bằng cách ức chế sự tổng hợp thành tế bào.

Penicillin và cephalosporin là các kháng sinh không hiệu quả khi dùng điều trị chứng viêm phổi không điển hình vì chúng không có khả năng xâm nhập vào nội bào của các vi khuẩn gây bệnh ở trên.