

Chương 55. Streptococcus pneumoniae

Mục lục

Chương 55. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	1
55.1. Giới thiệu	2
55.2. Đặc điểm sinh học	2
55.2.1. Hình thái	2
55.2.2. Nuôi cấy	2
55.2.3. Phản ứng sinh hoá	4
55.2.4. Đặc tính khác	5
55.2.5. Thành phần thành tế bào và cấu trúc kháng nguyên	6
55.2.6. Xác định kiểu huyết thanh của pneumococcus	8
55.3. Đặc điểm gây bệnh	8
55.3.1. Yếu tố gây bệnh	8
55.3.2. Phát sinh bệnh do pneumococcus	10
55.3.3. Triệu chứng lâm sàng	11
55.4. Miễn dịch của cơ thể chủ	12
55.5. Dịch tễ học	13
55.5.1. Phân bố về địa lý	13
55.5.2. Môi trường sống	13
55.5.3. Nguồn gốc và sự lan truyền	13
55.5.4. Phát hiện tại phòng thí nghiệm	14
55.5.5. Xác định vi khuẩn	15
55.6. Ngăn chặn và kiểm soát	18
55.6.1. Sử dụng vaccine polysaccharide của pneumococcus 23 - valent	18
55.6.2. Sử dụng vaccine liên hợp 7-valent pneumococcus	18

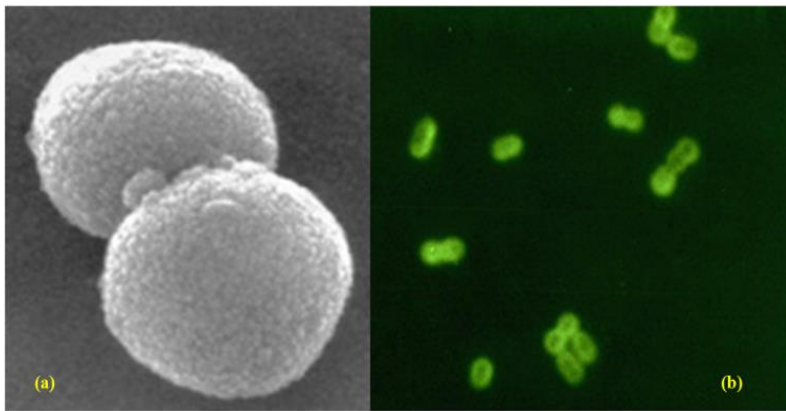
54.1. Giới thiệu

Streptococcus pneumoniae trước đây được phân loại là *Diplococcus pneumoniae*. Hiện nay được phân loại lại với tên chính thức là *Streptococcus pneumoniae*. Tên này được đặt là do sự di truyền của nó tương đồng với *Streptococcus*. Tuy nhiên *S. pneumoniae* khác với streptococcus về mặt hình thái nhờ có capsule dạng polysaccharide, hoà tan được mật và nhạy cảm với optochin.

54.2. Đặc điểm sinh học

54.2.1. Hình thái

S. pneumoniae là cầu khuẩn Gram dương, kích thước 0,5 - 1,25 μm , không di động và không sinh bào tử. Khi nhuộm Gram, các tế bào già hơn sẽ mất màu nhanh chóng và có thể xuất hiện Gram âm. Trong các mẫu bệnh phẩm, hình dạng khuẩn này trông giống như ngọn giáo với một đầu nhọn và đầu còn lại tròn. Chúng thường xếp dạng cầu đôi có các đầu rộng đối nhau (Hình 55.1). Trong nuôi cấy chúng thường có dạng tròn hơn và thường xếp thành chuỗi ngắn (Hình 55.2b).



Hình 55.1. Ảnh tế bào *Streptococcus pneumoniae* (a). Hai tế bào xếp dạng cầu đôi dưới kính hiển vi điện tử quét. (b) Tế bào *S. pneumoniae* nhuộm kháng thể phát huỳnh quang thấy

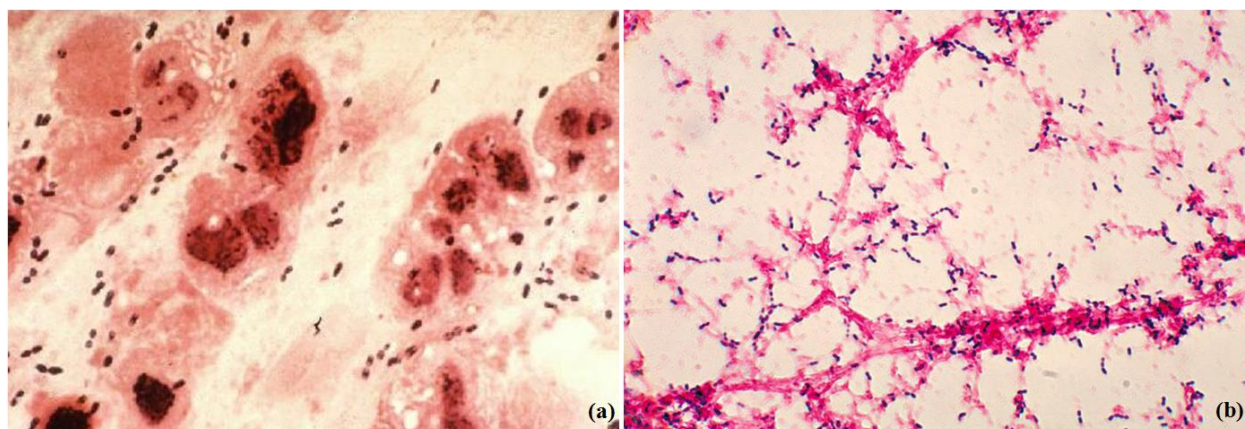
được capsule (CDC).

S. pneumoniae có capsule. Capsule của chúng được cấu tạo từ polysaccharide, bao xung quanh toàn bộ cặp cầu đôi (Hình 55.1b). Capsule này thấy được bằng cách nhuộm nhuộm âm với mực Tàu hay bằng phản ứng Quellung (phản ứng phồng lên) hay nhuộm chuyên biệt bằng kháng thể phát huỳnh quang (Hình 55.1b).

54.2.2. Nuôi cấy

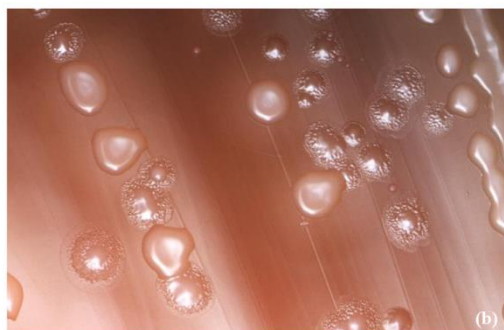
S. pneumoniae là vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí tùy nghi. Khuẩn này tăng trưởng trong khoảng nhiệt độ từ 25 - 42°C, tối thích ở 37°C và trong khoảng pH từ 6,5 - 8,3, tối

thích ở 7,8. Sự tăng trưởng của chúng được tăng cường khi có 5 - 10% CO₂. Phế cầu khuẩn này có nhu cầu dinh dưỡng khó tính. Chúng chỉ tăng trưởng trên môi trường giàu dinh dưỡng như môi trường thạch máu, môi trường thạch chocolate có bổ sung sản phẩm máu làm nguồn cung cấp dinh dưỡng, có đệm pH,



Hình 56.2. Ảnh nhuộm Gram *Streptococcus pneumoniae*. (a). Ảnh nhuộm Gram mẫu đờm lấy từ thủy phổi của bệnh nhân bị bệnh viêm phổi. (b). Ảnh nhuộm Gram *S. pneumoniae* nuôi cấy từ môi trường lỏng có máu (Nguồn CDC).

(a). Trên môi trường thạch máu: hình dạng khuẩn lạc dao động phụ thuộc vào đặc tính của chủng có hoặc không có capsule, điều kiện ủ hiếu khí hoặc kỵ khí và thời gian ủ.



Hình 56.3. Hình dạng khuẩn lạc *Streptococcus pneumoniae* trên môi trường thạch máu (a). Hình minh họa khuẩn lạc trong giống hình quân cờ (b).

Khuẩn lạc *S. pneumoniae* trên môi trường thạch máu (CDC).

Trên môi trường thạch máu, trong điều kiện kỵ khí, khuẩn lạc của vi khuẩn biểu hiện tiêu huyết beta ngã màu xanh lá cây nhạt nhưng ngược lại trong điều kiện hiếu khí lại biểu hiện tiêu huyết alpha.

Các chủng có capsule sau khi ủ qua đêm sẽ tạo khuẩn lạc tròn và nhầy có đường

kính 1 - 3 mm. Một số chủng có tính độc ví dụ như *S. pneumoniae* type 3 sản sinh ra một lượng lớn chất liệu capsule và vì vậy tạo nhiều khuẩn lạc nhầy. Các chủng không có capsule tạo khuẩn lạc nhỏ và dẹt.

Khi ủ kéo dài, khuẩn lạc sẽ diễn ra sự tự giải và tâm của chúng sẽ trở nên dẹt hoặc bị suy giảm và rìa sẽ nổi lên, làm cho khuẩn lạc có hình dạng trông giống hình quân cờ (Hình 55.3). Tâm của khuẩn lạc dẹt hoặc bị suy giảm là do tế bào vi khuẩn sản sinh ra enzyme nội bào như amidase, làm phân giải vi khuẩn. Muối mật, sodium lauryl sulfate và các chất hoạt động bề mặt sẽ tăng cường quá trình tự giải của khuẩn lạc vi khuẩn. Capsule hiện diện ở một số chủng được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm nhưng lại mất đi khi nuôi cấy lặp lại, điều này được gọi là sự biến đổi từ kiểu hình nhẵn (S) sang kiểu hình ráp hay xù xì (R).

(b). Biến đổi từ kiểu hình từ nhẵn sang kiểu hình ráp: capsule hiện diện ở một số chủng được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm nhưng lại mất đi khi nuôi cấy lặp lại, điều này được gọi là sự biến đổi từ kiểu hình nhẵn sang kiểu hình ráp. Chủng ráp (R) không có capsule nên không gây bệnh. Trong nuôi cấy nhân tạo, các chủng ráp này xuất hiện như là những thể đột biến tự nhiên và phát triển nhanh hơn so với các chủng nhẵn (S). Trong các mô, kiểu hình R bị loại bỏ do thực bào. Sự biến nạp của chủng ráp vào chủng nhẵn cũng có thể xảy ra với mã di truyền mã hóa cho capsule của chủng nhẵn được quy định trong DNA bộ gen.

54.2.3. Phản ứng sinh hoá

S. pneumoniae biểu hiện các phản ứng sinh hoá sau:

(1). *S. pneumoniae* lên men nhiều loại đường, chỉ sản sinh acid nhưng không sinh hơi. Lên men đường được tiến hành trong nước huyết thanh Hiss hay trong môi trường thạch nghiêng có huyết thanh.

(2). *S. pneumoniae* lên men inulin và đây là thử nghiệm quan trọng để phân biệt vi khuẩn này với các streptococcus khác do các loài này không lên men được inulin.

(3). *S. pneumoniae* sinh enzyme tự phân giải amidase. Enzyme này hoà tan peptidoglycan thuộc thành tế bào, theo đó các chủng nuôi cấy lâu hơn sẽ hình thành khuẩn lạc điển hình trong giống như quân cờ. Hoạt tính tự phân giải có thể gia tăng nhờ

các yếu tố bề mặt như mật và muối mật.

(4). Hoà tan mật là đặc tính bền vững của pneumococcus và cho kết quả dương tính ở tất cả các chủng có capsule và ở một số biến thể không có capsule.

(5). Pneumococcus có catalase và oxidase âm.

Các phản ứng sinh hoá được tóm tắt ở Sơ đồ 55.1.

Sơ đồ 1. Phản ứng sinh hoá của *Streptococcus pneumoniae*

- ① *S. pneumoniae* lên men nhiều loại đường, chỉ sản sinh acid nhưng không sinh hơi. Lên men đường được tiến hành trong nước huyết thanh Hiss hay trong môi trường thạch nghiêng có huyết thanh
- ② *S. pneumoniae* lên men inulin và đây là thử nghiệm quan trọng để phân biệt vi khuẩn này với các streptococcus do các loài này không lên men
- ③ *S. pneumoniae* sinh enzyme tự phân giải amidase, enzyme này hoà tan peptidoglycan của thành tế bào; theo đó các chủng nuôi cấy lâu hơn sẽ hình thành khuẩn lạc điển hình trong giống như quân cờ. Hoạt tính tự phân giải có thể gia tăng nhờ các yếu tố bề mặt như mật và muối mật.
- ④ Hoà tan mật là đặc tính không đổi của pneumococci và có kết quả dương tính ở tất cả các chủng có capsule và một số biến thể không có capsule
- ⑤ Pneumococcus có catalase và oxidase âm

Sơ đồ 55.1. Tóm tắt phản ứng sinh hóa của *S. pneumoniae*

54.2.4. Đặc tính khác

54.2.4.1. Nhạy cảm đối với các yếu tố vật lý và hoá học

Phế cầu khuẩn (pneumococcus) là vi khuẩn mỏng manh. Chúng dễ bị tiêu diệt ở 52°C trong 15 phút và bị tiêu diệt bằng các chất khử trùng mạnh. Các khuẩn lạc pneumococcus sẽ chết khi ủ kéo dài.

54.2.4.2. Thử nghiệm nhạy cảm với optochin

Phế cầu khuẩn này nhạy cảm với ethyl hydrocupreine còn gọi là optochin. Đây là đặc điểm để phân biệt giữa chúng với các streptococcus khác. Thử nghiệm nhạy cảm với optochin thường được tiến hành trên đĩa giấy có 5 µg ethyl hydrocupreine, khi xuất hiện vòng ức chế 14 mm hoặc lớn hơn biểu thị cho sự nhạy cảm với optochin. Hiện nay khả năng kháng optochin của pneumococcus cũng đã được ghi nhận. Đích của optochin ở pneumococcus là H + ATPase và khả năng kháng optochin của vi khuẩn được cho là do đột biến điểm trong tiểu đơn vị a^- hay c^- của H + ATPase. Khả năng kháng optochin thì không liên quan đến khả năng gây bệnh của vi khuẩn.

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

Thành tế bào vi khuẩn *S. pneumoniae* gồm các thành phần được minh họa ở Hình 55.4.

(a). Capsule: capsule polysaccharide bao xung quanh thành tế bào. Capsule là yếu tố cần thiết cho tính độc của vi khuẩn, vai trò của nó là bảo vệ phế cầu khuẩn thoát khỏi sự thực bào.

(b). Polysaccharide C: polysaccharide C hiện diện trên bề mặt của thành tế bào. Phần phosphoryl của teichoic acid liên kết với lớp peptidoglycan và đưa ra ngoài capsule, được gọi là polysaccharide C hay kháng nguyên C. Đây là kháng nguyên chuyên biệt và không có liên quan với nhóm kháng nguyên chuyên biệt carbohydrate C được tìm thấy trên streptococcus tiêu huyết beta. Polysaccharide C có trong thành tế bào pneumococcus trầm hiện với protein gây phản ứng C (CRP), một globulin huyết thanh.

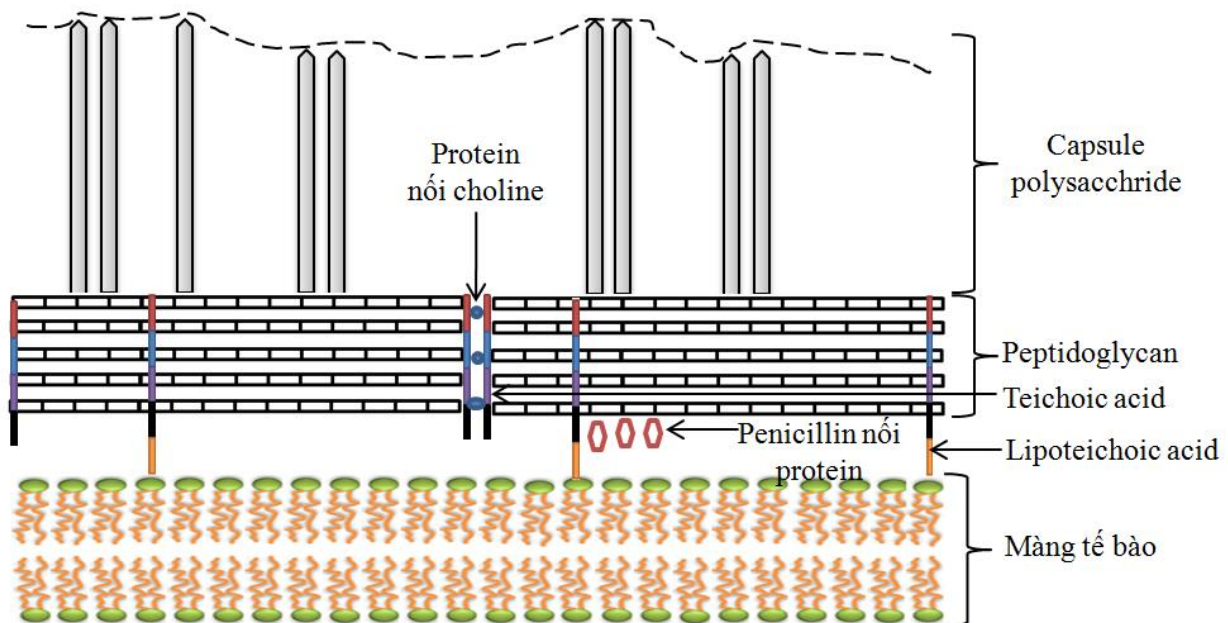
(c). Protein gây phản ứng C (CRP): CRP là chất phản ứng cấp tính được tổng hợp trong gan. Chất này không được tạo ra để chống lại kháng nguyên chuyên biệt C của pneumococcus. Nó hiện diện một lượng thấp ở những cá thể khỏe mạnh, nhưng hàm lượng của chúng sẽ tăng lên khi cơ thể bị viêm, bị ác tính và bị vi khuẩn xâm nhiễm. CRP tăng khi cơ thể bị viêm phổi và biến mất khi cơ thể hồi phục. Vì vậy chất này có thể được sử dụng như là một công cụ tiên chẩn đoán. CRP được sử dụng như là một chỉ số trong điều trị bệnh sốt thấp khớp và trong một số trường hợp khác.

(d). Thành tế bào: gồm (i) peptidoglycan, (ii) teichoic acid và (iii) protein.

(i). **Peptidoglycan:** peptidoglycan có vai trò chống đỡ cho thành tế bào.

(ii). **Teichoic acid:** teichoic acid hiện diện trong thành tế bào và có hai loại: (α) polysaccharide C và (β) forssman hay kháng nguyên F. Kháng nguyên F là một dạng khác của teichoic acid, nó có liên kết cộng hóa trị với lipid ở màng tế bào chất. Sở dĩ nó được gọi tên như vậy là bởi vì nó phản ứng chéo với kháng nguyên bề mặt Forssman của tế bào động vật có vú. Protein F làm trung gian cho pneumococcus liên kết với bề mặt tế bào chủ.

(iii). **Protein M:** protein M là một dạng protein có tính chuyên biệt tương tự như protein M của *Streptococcus pyogenes*, nhưng khác biệt về miễn dịch. Kháng thể chống lại protein M thì không được bảo vệ nên chúng không có khả năng ức chế sự thực bào đối với pneumococcus.



Hình 55.4. Sơ đồ tóm tắt cấu trúc kháng nguyên của *S. pneumoniae*. Teichoic acid liên kết với peptidoglycan nhờ liên kết phosphodiester, trong khi đó lipoteichoic acid liên kết với màng tế bào qua nhóm đầu C của nhóm acyl béo. Protein nổi choline liên kết với teichoic acid hay với lipoteichoic acid thông qua vùng liên kết với choline (CBDs). Protein nổi với penicillin (PBPs) nằm trong không gian chu chất và tương tác với peptidoglycan.

54.2.6. Xác định kiểu huyết thanh của pneumococcus

Polysaccharide của capsule là kháng nguyên ở người và thú. Polysaccharide của capsule cũng được gọi là chất hòa tan chuyên biệt do nó khuếch tán vào trong môi trường nuôi cấy hay nhiễm vào mủ hoặc mô chủ. Dựa trên cấu trúc kháng nguyên của capsule polysaccharide, hơn 90 kiểu huyết thanh (serotype) khác nhau được đánh số thứ tự từ 1 - 90 của *S. pneumoniae* được xác định. Trong số này chỉ có 23 kiểu huyết thanh có liên quan đến bệnh do pneumococcus. Xác định kiểu huyết thanh của *S. pneumoniae* không phải là quy trình thường quy và chỉ được tiến hành cho mục đích nghiên cứu về dịch tễ học.

Có ba phương pháp thực hiện:

(1). Ngưng kết vi khuẩn với kiểu huyết thanh đặc hiệu bằng phương pháp thử nghiệm đồng ngưng kết (Co-A). Thử nghiệm Co-A là thử nghiệm ngưng tụ nhanh trên lam kính, sử dụng ít huyết thanh và hoàn toàn tương đồng với thử nghiệm Quellung.

(2). Trầm hiện chất hòa tan chuyên biệt (SSS) với huyết thanh đặc trưng bằng điện di miễn dịch đối dòng (CIEP). Kỹ thuật này cũng là thử nghiệm nhanh được sử dụng để xác định kiểu huyết thanh của pneumococcus.

(3). Phản ứng làm trương phồng capsule với kiểu huyết thanh đặc hiệu còn gọi là phản ứng Quellung - theo tiếng Latin, Quellung có nghĩa là làm phồng lên. Phản ứng làm trương capsule nhờ sự phồng lên của capsule quan sát thấy trong thử nghiệm này. Phản ứng này được Neufeld mô tả đầu tiên vào năm 1902. Trong thử nghiệm này, một giọt huyết thanh đặc hiệu được thêm vào giọt dịch huyền phù vi khuẩn pneumococcus có trên lam kính, cùng với đó là một giọt dung dịch xanh methylene. Khi có mặt của huyết thanh đồng dạng chuyên biệt capsule sẽ trương lên một cách rõ ràng và bị khúc xạ.

54.3. Đặc điểm gây bệnh

Pneumococcus chủ yếu gây bệnh nhờ khả năng tránh được cơ chế phòng vệ của cơ thể chủ và khả năng nhân lên trong mô chủ.

54.3.1. Yếu tố gây bệnh

Phế cầu khuẩn này có các yếu tố gây bệnh được tóm tắt ở Bảng 55.1 và cụ thể như sau:

(1). **Capsule:** các chủng *S. pneumoniae* độc có phức hợp capsule dạng polysaccharide. Đặc tính acid và ưa nước tự nhiên của capsule cho phép vi khuẩn trốn thoát khỏi sự thực bào.

(2). **Pneumolysin:** pneumolysin là một độc tố do pneumococcus tạo ra. Độc tố này làm thay đổi chức năng làm sạch của lông dịch nhầy thuộc biểu mô hô hấp và ức chế tế bào thực bào sản sinh ra các gốc oxygen phản ứng (oxidative burst) cần thiết cho sự tiêu diệt nội bào của vi khuẩn. Nó hoạt hóa con đường bổ thể cổ điển dẫn đến làm sản sinh ra C3a và C5a, vì vậy góp phần vào quá trình bệnh.

(3). **IgA protease:** enzyme này do pneumococcus tạo ra nhằm phá vỡ sự làm sạch qua trung gian IgA tiết của vi khuẩn và vì vậy tăng cường khả năng để vi khuẩn tập kết lên niêm mạc của tuyến hô hấp trên.

(4). **Protein và polymer liên quan đến thành tế bào:** gồm teichoic acid, peptidoglycan, chất dính protein, phosphorylcholine, protein F, các chất này góp phần vào sự phát sinh bệnh của pneumococcus trong nhiều cách như đã đề cập ở Bảng 55.1.

Bảng 55.1. Yếu tố gây bệnh của *Streptococcus pneumoniae*.

Yếu tố gây bệnh	Chức năng sinh học
Protein và polymer liên quan đến thành tế bào	
Capsule	Ngăn chặn sự thực bào
Teichoic acid	Tạo cầu nối với tế bào biểu mô và hoạt hoá con đường bổ thể khác
Peptidoglycan	hoạt hoá con đường bổ thể khác
Protein adhesin	Tạo cầu nối với tế bào biểu mô
Phosphorylcholine	Chất trung gian cho sự xâm lấn của cầu khuẩn vào tế bào chủ
Protein F	Chất trung gian bám dính lên tế bào biểu mô
Enzyme	
IgA tiết protease	Phá huỷ IgA tiết
Độc tố	
Pneumolysin yếu tố tiêu huyết của phé	Làm thay đổi chức năng làm sạch của lông dịch nhầy thuộc biểu mô hô hấp và ức chế tế bào thực bào sản sinh ra các gốc oxygen

cầu khuẩn	phản ứng cần thiết cho sự tiêu diệt nội bào của vi khuẩn.
Autolysin	Là enzyme N-acetyl muramoyl-L-alanine amidase cùng với enzyme glycosidase có chức năng trong quá trình phân đôi tế bào để tách các tế bào con và phá vỡ vi khuẩn sau khi tăng trưởng cấp số nhân.

54.3.2. Phát sinh bệnh do pneumococcus

S. pneumoniae gây bệnh thông qua các giai đoạn sau: (1) kết cụm và xâm lấn, (2) phá huỷ mô và (3) tránh được sự opsonin hoá và sự thực bào.

(1). Kết cụm và xâm lấn: *S. pneumoniae* kết cụm ở họng miệng bằng cách dính vào tế bào biểu mô hầu. Sự bám dính này được thực hiện qua trung gian enzyme neuraminidase của pneumococcus hay bằng phối tử bề mặt của cầu khuẩn gọi là yếu tố dính. Cầu khuẩn cũng phóng thích ra enzyme IgA tiết protease, enzyme này phá huỷ IgA tiết vì vậy làm tăng cường khả năng tập kết của phẩy cầu khuẩn lên niêm mạc của tuyến hô hấp trên.

Pneumolysin do liên cầu khuẩn phóng thích ra phá huỷ tế bào biểu mô lông và tế bào thực bào bằng cách liên kết với cholesterol có trong màng tế bào biểu mô. Điều này có tác động đảo ngược chức năng làm sạch lông dịch nhầy của biểu mô hô hấp.

(2). Phá huỷ mô: quá trình phá huỷ mô được tiến hành qua phá huỷ trung gian các yếu tố như teichoic acid, peptidoglycan và phosphorylcholine. Hoạt động phá huỷ này được tăng cường hơn nữa khi bổ sung hydrogen peroxide do vi khuẩn tạo ra. Phức hợp peptidoglycan - teichoic acid của pneumococcus có tính gây viêm cao. Phức hợp này hoạt hoá con đường bổ thể khác để sản sinh ra C5a, chất này hấp dẫn hoá ứng động bạch cầu trung tính đến vị trí bị viêm.

Sự di chuyển của những tế bào gây viêm như: bạch cầu trung tính, đại thực bào, bạch cầu đơn, eosinophil hay basophil tới vị trí bị nhiễm là một đặc điểm quan trọng của bệnh xâm nhiễm do pneumococcus. Các bạch cầu được hoạt hoá này sản sinh ra các cytokine như IL-1 và TNF- α , chất này góp phần hơn nữa cho sự di chuyển của các tế bào gây viêm đến vị trí bị nhiễm, mô tổn thương, sốt và các biểu hiện khác của bệnh do pneumococcus. Phosphorylcholine hiện diện trong thành tế bào vi khuẩn liên kết với

phosphodiesterase - yếu tố hoạt hoá của các tế bào biểu mô chủ và hỗ trợ cầu khuẩn xâm nhập vào tế bào chủ.

(3). Tránh được opsonin hoá và sự thực bào: khả năng lẩn tránh được sự thực bào cho phép *S. pneumoniae* sống sót, nhân lên và lan ra nhiều cơ quan. Hoạt động kháng thực bào của capsule được tăng cường hơn nữa nhờ pneumolysin, chất này gây ức chế tế bào thực bào sản sinh ra các gốc oxygen phản ứng (oxidative burst), đáp ứng yêu cầu cho sự tiêu diệt nội bào của vi khuẩn.

54.3.3. Triệu chứng lâm sàng

Có đến 90 kiểu huyết thanh (serotype) của *S. pneumoniae* đã được xác định có tính gây bệnh dao động, trong số đó có 23 kiểu huyết thanh gây bệnh cho người. Các kiểu huyết thanh 3, 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F và 23F của *S. pneumoniae* chủ yếu gây bệnh xâm nhiễm. *S. pneumoniae* gây (a) viêm phổi, (b) viêm màng não, (c) viêm xoang và viêm tai giữa, (d) du khuẩn huyết (bacteremia) và (e) nhiễm trùng khác.

54.3.3.1. Viêm phổi

S. pneumoniae là vi khuẩn hàng đầu gây bệnh viêm phổi trong các chứng bệnh viêm phổi do vi khuẩn gây ra, chúng gây viêm cả thùy phổi và phế quản (cuống phổi). Viêm phổi phát triển khi vi khuẩn nhân lên trong phế nang (túi phổi). Do bệnh có liên quan đến sự hít vào và tập trung ở các thùy phổi dưới của phổi nên nó được gọi là viêm thùy phổi.

Viêm phổi thường xảy ra ở người già và trẻ em, là những người thường bị viêm phế quản. *S. pneumoniae* là vi khuẩn phổ biến gây viêm phổi ở trẻ, nhất là trẻ dưới 5 tuổi. Các serotype 6, 14, 18, 19 và 23 là các kiểu huyết thanh gây viêm phổi phổ biến nhất ở trẻ, trong khi đó các kiểu huyết thanh 1, 3, 4, 7, 8 và 12 gây viêm phổi ở người lớn, tỷ lệ gây chết trên 5 - 10%.

Ngoài ra *Haemophilus influenzae* và *Moraxella catarrhalis* là những vi khuẩn gây viêm phổi cấp. Trong khi đó *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* và *Legionella* spp. là những vi khuẩn gây viêm phổi không điển hình.

54.3.3.2. Viêm màng não

Pneumococcus là nguyên nhân phổ biến gây viêm màng não mủ ở trẻ, mặc dù

bệnh này có thể xuất hiện ở tất cả các độ tuổi. Viêm màng não luôn đi kèm với các nhiễm trùng khác do pneumococcus gây ra như viêm phổi, du khuẩn huyết (bacteremia), nhiễm trùng tai hay viêm xoang. Pneumococcus đi đến não qua đường máu hay từ họng sau khi chấn thương đầu.

Viêm màng não do pneumococcus hiện nay đang nổi lên như là nguyên nhân phổ biến làm chết trẻ và người lớn. Viêm màng não do *S. pneumoniae* có liên quan đến tỷ lệ tử vong cao và các biến chứng thần kinh phức tạp hơn so với viêm màng não do các vi khuẩn khác. Ngay cả khi có sử dụng liệu pháp kháng khuẩn, tỷ lệ chết vì bệnh viêm màng não do pneumococcus gây ra gần đến 25%.

Streptococcus agalactiae, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *H. influenzae* type B, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* spp., *Flavobacterium meningosepticum*, và *Staphylococcus aureus* là những vi khuẩn khác gây viêm màng não.

54.3.3.3. Viêm xoang và viêm tai giữa

Viêm xoang và viêm tai giữa xuất hiện ở bệnh nhân bị nhiễm virus trước. Nhiễm trùng virus làm hạ thấp miễn dịch niêm mạc, tạo thuận lợi cho *S. pneumoniae* xâm nhiễm. Viêm xoang do pneumococcus xảy ra cho mọi lứa tuổi nhưng viêm tai giữa do vi khuẩn này chỉ được phát hiện ở trẻ nhỏ. Pneumococcus gây viêm tai giữa chiếm tỷ lệ khoảng 40%. *H. influenzae* là yếu tố gây nhiễm khác.

54.3.3.4. Du khuẩn huyết

Du khuẩn huyết (bacteremia) do khuẩn *S. pneumoniae* thường phổ biến ở trẻ hơn là ở người lớn. Du khuẩn huyết xảy ra chiếm tỷ lệ lớn hơn 2/3 ở những bệnh nhân viêm màng não so với 1/4 ở tư bệnh nhân bị viêm phổi do phế cầu khuẩn. Du khuẩn huyết không xảy ra ở những bệnh nhân bị viêm xoang hay viêm tai giữa.

54.3.3.5. Nhiễm trùng khác

Gồm viêm phúc mạc tự phát do vi khuẩn, nhiễm trùng máu sau khi cắt bỏ lá lách, viêm màng trong tim liên quan đến việc phá hủy nhanh valve tim, nhiễm trùng xương và khớp nối (viêm khớp giả do nhiễm khuẩn hay viêm khớp tự nhiên do nhiễm khuẩn, đôi khi biến chứng thành viêm thấp khớp), viêm cơ và áp xe não và áp xe ngoài màng cứng.

54.4. Miễn dịch của cơ thể chủ

Miễn dịch của cơ thể chủ có tính chuyên biệt do sản sinh các kháng thể kháng capsule. Các kháng thể này xuất hiện trong huyết thanh từ 5 - 8 ngày sau khi cơ thể bị nhiễm, chúng được bảo vệ để chống lại kiểu huyết thanh của pneumococcus xâm nhiễm. Miễn dịch tự nhiên xuất hiện sau khi cơ thể chủ bị nhiễm và khi có sự tập kết của vi khuẩn.

54.5. Dịch tễ học

54.5.1. Phân bố về địa lý

S. pneumoniae phân bố khắp nơi trên thế giới. Khuẩn này là nguyên nhân chính gây viêm khuẩn mạc phổi trong cộng đồng. *S. pneumoniae* kiểu huyết thanh 6, 14, 18, 19 và 23 thường liên quan đến nhiễm trùng ở trẻ, ngược lại các kiểu huyết thanh 1, 3, 4, 7, 8 và 12 chủ yếu gây nhiễm cho người trưởng thành. *S. pneumoniae* kiểu huyết thanh 6, 14, 18 và 23 gây nhiễm trùng tuyến hô hấp dưới chiếm tỷ lệ 60 - 80%.

Nhiễm trùng do pneumococcus gây chết chiếm số lượng nhiều hơn bất kỳ bệnh nào khác, có thể phòng ngừa bệnh bằng vaccine. Trẻ từ 6 tháng đến 4 tuổi và người lớn trên 60 tuổi có nguy cơ cao nhất bị nhiễm trùng do pneumococcus. Ở các nước đang phát triển, tỷ lệ mắc phải của bệnh do pneumococcus ở trẻ em thì cao gấp 10 lần so với các quốc gia đã phát triển.

54.5.2. Môi trường sống

S. pneumoniae là vi khuẩn bình thường trong miệng và mũi hầu. *S. pneumoniae* tập kết trong mũi hầu trong khoảng 5 - 75% dân số. Vi khuẩn này tập kết ở trẻ phổ biến hơn là ở người lớn. Sự tập kết của vi khuẩn xảy ra ở trẻ khoảng 6 tháng tuổi.

54.5.3. Nguồn gốc và sự lan truyền

Pneumococcus là ký sinh bắt buộc và chỉ gây nhiễm trùng dưới những điều kiện đặc biệt như cơ thể bị nhiễm virus hay nhiễm trùng từ trước, miễn dịch bị ức chế, cơ thể bị dị dạng, Sự xâm nhiễm của *S. pneumoniae* chỉ xảy ra ở người và vì vậy động vật không phải là nguồn tự nhiên làm lây lan khuẩn này.

Chất tiết từ hệ hô hấp và họng ở người bệnh mang khuẩn là nguồn xâm nhiễm chính. Sự lan truyền theo đường ngang xảy ra khi có sự tiếp xúc gần giữa người với người, trong đó lượng người quá đông sẽ tạo thuận lợi cho bệnh lây lan. Nhiễm trùng

mắc phải do hít vào các giọt nhỏ và tiếp xúc với các đồ vật bị nhiễm.

54.5.4. Phát hiện tại phòng thí nghiệm

54.5.4.1. Mẫu thử

Đờm, mẫu hút nội quản, dịch rửa phế quản - phế nang (bronchoalveolar lavage fluid), dịch não tủy (CSF), dịch màng phổi, dịch khớp nối, dịch áp xe, xương và vật liệu sinh thiết khác là những mẫu vật được thu thập để nhuộm Gram và nuôi cấy vi khuẩn.

54.5.4.2. Soi kính hiển vi

(a). Nhuộm Gram mẫu đờm: đây là phương pháp nhanh để chẩn đoán viêm phổi cấp tính. Khi quan sát mẫu nhuộm kính phết dưới kính hiển vi, phế cầu khuẩn này biểu hiện dạng hình mũi giáo, Gram dương, dạng cầu đôi, bao xung quanh là capsule, đây là bằng chứng tốt để chứng minh có sự xâm nhiễm của pneumococcus. Hình thái của pneumococcus có thể thay đổi khi người bệnh điều trị bằng kháng sinh.

(b). Nhuộm Gram dịch não tủy: đây là phương pháp nhanh để chứng minh cầu khuẩn đôi Gram dương. 90% mẫu dịch não tủy nhuộm Gram phát hiện vi khuẩn.

(c). Nhuộm Gram dịch đệm (buffy coat) hay trải máu trên lam: thường cho kết quả dương trong các trường hợp nhiễm trùng huyết có lượng pneumococcus quá nhiều và kỹ thuật này hữu dụng để chẩn đoán nhanh. Trong viêm tai giữa cấp tính do pneumococcus, nhuộm Gram dịch hút được sử dụng để chứng minh có mặt của vi khuẩn.

54.5.4.3. Nuôi cấy

Cấy mẫu đờm lên môi trường thạch máu và ủ trong điều kiện có 5 - 10% CO₂. Sau khi ủ qua đêm khuẩn này hình thành khuẩn lạc có màu xám, tiêu huyết alpha. Nuôi cấy mẫu đờm có thể không phát hiện vi khuẩn này vì hệ vi khuẩn bình thường phát triển nhanh hơn pneumococcus hoặc sự tự giải diễn ra nhanh. Chẩn đoán viêm màng não do pneumococcus được khẳng định nhờ nuôi cấy dịch não tủy và có đến 90% cho kết quả dương ở những trường hợp không được điều trị. Tuy nhiên hơn 50% trường hợp nuôi cấy sẽ cho kết quả âm ở những người qua điều trị dù chỉ sử dụng một loại kháng sinh. Trong giai đoạn cấp tính của bệnh viêm phổi, cần tiến hành lấy máu để nuôi cấy khuẩn trong môi trường lỏng có glucose. Chứng minh có pneumococcus trong máu cho thấy tiên lượng xấu của bệnh. Nuôi cấy dịch rút từ tai giữa hay từ xoang là phương pháp quyết

định chẩn đoán bệnh viêm tai giữa hay viêm xoang. Tuy nhiên không nên nuôi cấy các mẫu bệnh phẩm thu thập từ mũi hầu và tai ngoài.

54.5.5. Xác định vi khuẩn

Đặc điểm xác định *S. pneumoniae* được tóm tắt như sau:

- (1). Là vi khuẩn Gram dương, hình cầu dạng mũi giáo có capsule bao xung quanh, xếp hình dạng cầu đôi.
- (2). Tiêu huyết alpha trên môi trường thạch máu,
- (3). Thử nghiệm hòa tan mật cho kết quả dương,
- (4). Thử nghiệm nhạy cảm với optochin cho kết quả dương,
- (5). Lên men inulin cho kết quả dương.

55.5.5.1. Thử nghiệm nhạy cảm với optochin

S. pneumoniae nhạy cảm với optochin. Trong thử nghiệm này, đĩa giấy có optochin (ethylhydrocupreine dihydrochloride) được đặt vào giữa đĩa thạch máu đã trải khuẩn pneumococcus và ủ đĩa thạch qua đêm. Sau khi ủ qua đêm quan sát vùng ức chế rộng 14 mm hoặc lớn hơn bao xung quanh đĩa giấy.

55.5.5.2. Thử nghiệm hòa tan mật:

Thử nghiệm này rất dễ phát hiện enzyme tự giải amidase có trong pneumococcus, chất này phá hủy liên kết giữa alanine và muramic acid của peptidoglycan nằm trong thành tế bào pneumococcus. Enzyme amidase được hoạt hóa do muối mật hiện diện trong mật, dẫn đến làm ly giải pneumococcus. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho một que cấy vòng dung dịch sodium deoxycholate 10% lên khuẩn lạc còn trẻ trên môi trường thạch máu. Hầu hết khuẩn lạc pneumococcus được hoà tan trong vòng một vài phút.

Bảng 55.2. Đặc điểm phân biệt pneumococcus và viridans streptococcus.

Đặc điểm	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. viridans</i>
Dạng sắp xếp của vi khuẩn	Hình cầu, dạng mũi giáo cặp đôi	Dạng cầu oval cặp đôi, chuỗi ngắn
Capsule polysaccharide	Có	Không
Khuẩn lạc	Quân cờ	Dạng vòm

Tăng trưởng trong môi trường lỏng	Đục đồng nhất	Đục vẩn hạt
Hoà tan mật	+	-
Nhạy cảm với optochin	+	-
Lên men inulin	+	-
Phản ứng Quellung	+	-
Tiêm vào màng bụng chuột	Gây chết	Không gây bệnh

55.5.5.3. Thử nghiệm lên men inulin

Pneumococcus lên men được inulin, nên thử nghiệm lên men inulin được sử dụng để phân biệt pneumococcus với streptococcus do streptococcus không lên men được inulin.

55.5.5.4. Cấy vào động vật

S. pneumoniae có thể được phân lập từ các mẫu bệnh phẩm có một lượng ít tế bào vi khuẩn pneumococcus, bằng cách cấy vào dưới màng bụng chuột. *Pneumococcus* được chứng minh là tiết dịch trong màng bụng và có máu trong tim chuột, làm chuột chết trong vòng 1 - 3 ngày sau khi cấy khuẩn này vào. Bảng 55.2 tóm tắt các thử nghiệm sinh hóa được dùng để phân biệt pneumococcus với viridans streptococcus.

55.5.5.5. Thử nghiệm huyết thanh

(a). **Phát hiện kháng nguyên pneumococcus:** kỹ thuật điện di miễn dịch đối dòng (counterimmunoelectrophoresis - CIEP) được sử dụng để phát hiện kháng nguyên capsule dạng polysaccharide của pneumococcus có trong dịch não tủy, kỹ thuật này dùng để chẩn đoán bệnh viêm não và kiểm tra máu và nước tiểu để chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết và viêm phổi. Thử nghiệm ngưng kết latex là kỹ thuật sử dụng các hạt latex có phủ kháng thể kháng CRP được sử dụng để phát hiện protein phản ứng C. CRP được sử dụng để tầm soát nhằm dự đoán trong các trường hợp viêm phổi cấp tính do pneumococcus, sốt thấp khớp và các bệnh xâm nhiễm khác. CRP được tìm thấy trong huyết thanh của các trường hợp viêm phổi cấp nhưng lại không thấy trong giai đoạn bệnh đã phục hồi.

(b). **Phát hiện kháng nguyên của pneumococcus:** thử nghiệm ngưng kết hồng cầu (hemagglutination) gián tiếp, kháng thể phát huỳnh quang gián tiếp và ELISA là

những kỹ thuật được dùng để chứng minh kháng thể chuyên biệt do pneumococcus xâm nhiễm gây ra.

55.5.5.6. Phương pháp phân tử

PCR và Real-time PCR được sử dụng để phát hiện *S. pneumoniae*

55.4. Nhạy cảm và kháng kháng sinh

Hầu hết pneumococcus nhạy cảm với penicillin, amoxicillin và erythromycin. Hiện nay nổi lên mối quan tâm về vấn đề pneumococcus kháng kháng sinh. Từ những năm của thập niên 1970, nhiều chủng *S. pneumoniae* đa kháng đã kháng nhiều loại kháng sinh ở Papua New Guinea và Nam Phi nhưng đến 1995 sự đa kháng của các chủng này đã lan nhanh trên phạm vi toàn cầu. Kháng penicillin ngày càng gia tăng và sau đó là kháng cephalosporin và đa kháng thuốc. Tỷ lệ kháng penicillin gia tăng từ <0,02 vào năm 1987 đến 3% vào năm 1994 đến 30% trong một số cộng đồng ở Hoa Kỳ và lên đến 80% vào năm 1998 ở các vùng của một số quốc gia. Khả năng kháng kháng sinh khác cũng được ghi nhận diễn ra đồng thời: 26% kháng được trimethoprim-sulfa, 9% kháng cefotaxime, 30% kháng nhóm macrolide và 25% đa kháng. Các chủng kháng vẫn còn đầy đủ độc tính nhưng dường như chỉ xuất hiện chưa tới 10 serotype. Đó là các serotype 6A, 6B, 9V, 14, 19A và 23F là những chủng kháng đáng kể.

Các chủng kháng penicillin: hầu hết pneumococcus nhạy cảm với penicillin, các chủng nhạy cảm với penicillin thì cũng nhạy cảm với gần như tất cả kháng sinh khác. Nhưng từ năm 1977, pneumococcus kháng penicillin ngày càng tăng. Các chủng kháng penicillin có thể là các chủng kháng vừa ($MIC > 0,1 - 1 \mu g/mL$) hoặc là chủng kháng cao ($MIC \geq 2 \mu g/mL$). Khả năng kháng penicillin và các kháng sinh nhóm beta-lactam khác là do enzyme beta-lactamase nhưng cũng là do sự biến đổi protein như protein liên kết penicillin được tìm thấy trên thành tế bào. Các chủng kháng penicillin cũng có khả năng đa kháng các kháng sinh khác như cefotaxime, ceftriaxone, erythromycin, tetracycline, macrolides và trimethoprim - sulfamethoxazole (TMP-SMX). Các chủng thường kháng nhất của *S. pneumoniae* là các kiểu huyết thanh 6, 9, 14, 19 và 23.

Thành công của liệu pháp kháng sinh thì phụ thuộc vào nồng độ thuốc có được trên phần cơ thể bị tác động. Nồng độ này phải lớn hơn nhiều lần so với MIC của vi

khuẩn. Không nên sử dụng đơn lẻ một kháng sinh beta-lactam để điều trị bệnh viêm màng não do pneumococcus kháng được penicillin. Điều này là do lượng kháng sinh beta-lactam đủ để tiêu diệt vi khuẩn kháng penicilline khó mà đạt được trong não. Có thể sử dụng ceftriaxone để điều trị viêm màng não do pneumococcus nhạy cảm với ceftriaxone (MIC < 0,5 µg/mL). Amoxicillin là thuốc được lựa chọn để điều trị bệnh viêm tai giữa, viêm xoang và chứng viêm. Ceftriaxone là kháng sinh được lựa chọn để điều trị bệnh do pneumococcus xâm nhiễm ngoài hệ thần kinh trung ương gây ra do các chủng pneumococcus, các chủng này kháng được penicillin và ceftriaxone. Vancomycin được sử dụng nếu pneumococcus kháng được ceftriaxone (MIC ≥ 0,5 µg/mL).

55.6. Ngăn chặn và kiểm soát

Vaccine pneumococcus đóng vai trò quan trọng trong ngăn chặn bệnh do pneumococcus.

Pneumococcus vaccine không được khuyến cáo sử dụng chung nhưng khuyến cáo sử dụng cho những người có nguy cơ cao hơn bị bệnh do pneumococcus.

Sau đây là những vaccine hiện được sử dụng.

55.6.1. Sử dụng vaccine polysaccharide của pneumococcus 23 - valent

Vaccine polysaccharide 23-hoá trị của pneumococcus được sử dụng để chống lại bệnh xâm nhiễm do pneumococcus và hiện nay vaccine này được sử dụng ở nhiều quốc gia. Vaccine này chứa kháng nguyên capsule từ một kiểu huyết thanh trong 23 serotype của *S. pneumoniae* liên quan đến bệnh phổ biến nhất ở người.

- Vaccine này hiệu quả và an toàn cho trẻ trên 5 tuổi.
- Vaccine này không được khuyến cáo sử dụng cho trẻ dưới 2 tuổi, như kháng nguyên polysaccharide, độc lập với tế bào T nhưng không cảm ứng tạo ra phản ứng miễn dịch đầy đủ ở trẻ dưới 2 tuổi. Vaccine này không tạo ra sự miễn dịch lâu bền và mức kháng thể không đạt tới mức đủ để tạo miễn dịch.

55.6.2. Sử dụng vaccine liên hợp 7-valent pneumococcus

Hiện vaccine này sẵn có để tiêm chủng cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ chống lại bệnh do các kiểu huyết thanh pneumococcus có capsule là 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F và 23F gây ra. Kháng nguyên polysaccharide được kết hợp với protein phụ thuộc tế bào T và vì vậy

nó có thể được sử dụng cho trẻ nhỏ hơn 2 tuổi.

Vaccine được khuyến cáo sử dụng cho những nhóm người sau:

- (1). Người có độ tuổi bằng hoặc lớn 65.
- (2). Người có độ tuổi 2 - 64 tuổi đã trải qua bệnh mạn tính như bệnh tim mạch mạn tính, bệnh phổi mạn tính, suy thận mạn tính, thận hư, bệnh đái tháo đường type 1 phụ thuộc insulin, xơ gan và nghiện rượu.
- (3). Người cắt bỏ lá lách nhất là trải qua bệnh hồng cầu hình liềm.
- (4). Người bị suy giảm miễn dịch như HIV, bệnh bạch cầu ác tính (leukemia), ung thư hạch bạch huyết (lymphoma), bệnh Hodgkin, đa tủy xương, u ác tính, cấy ghép cơ quan hay tủy xương và người tiếp nhận liệu pháp hóa học ức chế miễn dịch.