

Chương 60. *Yersinia*

Mục lục

Chương 60. <i>Yersinia</i>	1
60.1. Giới thiệu	2
60.2. <i>Yersinia pestis</i>	3
60.2.1. Đặc tính sinh học	3
60.2.2. Đặc điểm gây bệnh	5
60.2.3. Phát sinh bệnh dịch hạch	7
60.2.4. Hội chứng lâm sàng	9
60.2.5. Miễn dịch của cơ thể chủ	10
60.2.6. Phương pháp phát hiện	13
60.2.7. Ngăn ngừa và kiểm soát	15
60.3. <i>Yersinia enterocolitica</i>	16
60.3.1. Giới thiệu	17
60.3.2. Đặc điểm sinh học	17
60.3.3. Đặc điểm gây bệnh	18
60.3.4. Phương pháp phát hiện	22
60.3.5. Điều trị	26
60.4. <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	27
60.4.1. Giới thiệu	27
60.4.2. Đặc điểm sinh học	27
60.4.3. Đặc điểm gây bệnh	28
60.4.4. Phương pháp phát hiện	29
60.4.5. Điều trị	30

60.1. Giới thiệu

Giống *Yersinia* hiện nay được xếp vào họ Enterobacteriaceae. Tuy nhiên trước đây trực khuẩn gây bệnh dịch hạch và các trực khuẩn ngắn, Gram âm khác chủ yếu gây bệnh cho động vật gặm nhấm được xếp vào giống *Pasteurella*. Hiện nay nhóm này được chia thành ba giống gồm: *Yersinia*, *Pasteurella* và *Francisella*. Giống *Yersinia* có 11 loài được xếp vào bộ Yersiniaceae, họ Enterobacteriaceae. Trong 11 loài thuộc giống *Yersinia* thì có ba loài là vi khuẩn gây bệnh ở người (Bảng 60.1).

Bảng 60.1. Bệnh ở người do các loài *Yersinia* gây ra.

Vi khuẩn	Bệnh
<i>Yersinia pestis</i>	Dịch hạch (sung phồng lên, viêm phổi và nhiễm trùng máu)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Viêm ruột non và kết tràng chủ yếu ở trẻ nhỏ
	Viêm hạch bạch huyết cùng với đó là viêm ruột hồi đoạn cuối (hay hội chứng viêm ruột thừa giả)
	Viêm ngoài ruột như viêm mô tế bào, viêm kết mạc, viêm màng não, viêm tủy xương, viêm họng, viêm phổi và nhiễm trùng đường tiết niệu (hiếm gặp)
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Viêm dạ dày ruột (viêm hạch mạc treo giả viêm ruột thừa cấp)
	Sốt Izumi
	Sốt tinh hồng nhiệt Viễn Đông
	Các biểu hiện khác như nốt hồng ban (erythema nodosum), chứng đau khớp, viêm khớp phản ứng (reactive arthritis), viêm cột sống dính khớp; viêm ruột hồi đoạn cuối và chứng lồng ruột nhất là ở trẻ em

Yersinia pestis là loài quan trọng nhất gây bệnh dịch hạch, là bệnh truyền nhiễm sốt, cấp tính. Người bị lây nhiễm bệnh dịch hạch là do bọ chét trên chuột cắn và truyền khuẩn *Yersinia pestis* sang người. *Yersinia enterocolitica* là loài gây bệnh viêm hạch mạc treo (mesenteric lymphadenitis) xảy ra chủ yếu ở trẻ. *Yersinia pseudotuberculosis* là vi khuẩn gây bệnh viêm hạch bạch huyết, có triệu chứng tương tự như viêm ruột thừa. Bệnh ở người do các loài *Yersinia* gây ra được tóm tắt ở Bảng 60.1.

60.2. *Yersinia pestis*

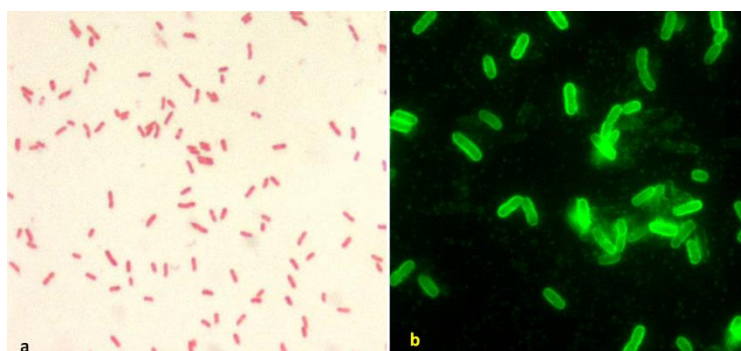
Dịch hạch do *Y. pestis* là một trong những bệnh gây ra cho loài người khủng khiếp nhất trong lịch sử. Dịch này gây bộc phát dịch trên diện rộng và ước có trên 200 triệu người chết do bệnh này.

60.2.1. Đặc tính sinh học

60.2.1.1. Hình thái

Y. pestis là cầu trực khuẩn Gram âm, có kích thước 1,5 - 3 x 0,7 μm , đầu cuối tròn và mặt lồi. Khuẩn này sắp xếp theo dạng đơn, dạng đôi hoặc dạng chuỗi ngắn. Sự đa hình là tình trạng rất phổ biến. Các hình thức tiến hóa về hình dạng để hình thành các dạng hình cầu, dạng hình chùy và dạng sợi xuất hiện ở chủng nuôi cấy lâu hơn hoặc khi khuẩn phát triển trên môi trường không phù hợp như thạch dinh dưỡng có 3% NaCl. Khi nhuộm Giemsa hay xanh methylene các mẫu bệnh phẩm cho thấy chúng ăn chất nhuộm ở hai cầu cực với cả hai đầu ăn chất nhuộm dày đặc và phần ở giữa của vi khuẩn thì sáng hơn. *Y. pestis* là vi khuẩn không di động, không sinh bào tử, không bị mất màu sau khi nhuộm

acid (acid fast), có capsule.



Hình 60.1. *Yersinia pestis*, (a). Ảnh nhuộm trực khuẩn Gram âm, 1000x (b). Ảnh nhuộm kháng thể phát huỳnh quang *Yersinia pestis*, 200x (CDC).

60.2.1.2. Nuôi cấy

Y. pestis là vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí tùy nghi. Khuẩn này tăng trưởng trong khoảng nhiệt độ 2 - 45°C, tối thích ở 27°C, thông số về nhiệt độ thì không giống với hầu hết các vi khuẩn khác, nhưng trong nuôi cấy chúng phát triển tốt hơn ở 37°C. *Y. pestis* tăng trưởng trong khoảng pH khá rộng từ 5 - 9,6, tối thích ở 7,2.

(a). Trên môi trường rắn: *Y. pestis* có thể tăng trưởng trên nhiều môi trường rắn gồm thạch Mueller - Hinton, thạch dinh dưỡng, thạch máu, thạch MacConkey, thạch chocolate, Trên môi trường thạch, *Y. pestis* hình thành khuẩn lạc nhỏ, mỏng manh và trong suốt và trở nên mờ đục khi ủ kéo dài. Môi trường thạch máu có sodium azide (7

µg/mL) là môi trường chọn lọc cho *Y. pestis*. Khuẩn lạc trên môi trường thạch máu có màu sẫm do hấp thu sắc tố hemin. *Y. pestis* tăng trưởng kém trên môi trường thạch MacConkey và môi trường thạch deoxycholate citrate.



Hình 60.2. Hình dạng khuẩn lạc *Yersinia pestis* trên

(a) môi trường thạch máu sau 24 giờ ủ ở 37°C, (b) môi trường chocolate sau 72 giờ ủ ở 37°C, (c) môi trường MacConkey trong 48 giờ ở 37°C (nguồn CDC).

(b). Trong môi trường lỏng: *Y. pestis* tăng trưởng tạo ra sự kết bông cùng với đó là sự lắng đọng hạt ở đáy và dọc theo ống nghiệm, dịch khuẩn tăng trưởng có chút ít đục hoặc không. Khi ủ kéo dài, có thể xuất hiện màng mỏng trên bề mặt. *Y. pestis* tạo ra sự tăng trưởng đặc trưng khi phát triển ở môi trường lỏng chứa trong bình có lớp phủ dầu hoặc bơ tinh luyện phủ trên bề mặt. Sự tăng trưởng của chúng trong môi trường này sẽ xuất hiện dạng thông xuống từ bề mặt, trong giống như sợi dây treo lơ lửng.

60.2.1.3. Phản ứng sinh hoá

Yersinia pestis có catalase, coagulase, aesculin và MR dương; có indole, oxidase, urease và citrate âm. *Y. pestis* không có khả năng khử nitrate và không phân giải được gelatin. Khuẩn này lên men glucose, maltose và mannitol tạo acid nhưng không sinh hơi. Chúng không lên men được lactose, sucrose hay rhamnose.

60.2.1.4. Đặc điểm khác

Yersinia pestis nhạy cảm với nhiệt, ánh sáng mặt trời, làm khô và các chất khử trùng. Chúng sẽ bị tiêu diệt ở 55°C trong 30 phút. Khuẩn này cũng bị tiêu diệt nhanh chóng bằng các chất khử trùng như phenol 0,5% trong 15 phút. *Y. pestis* có khả năng sống sót một thời gian dài trong ống thạch nghiêng được niêm phong, trong mô đông lạnh và ở môi trường lạnh và ẩm ướt như trong đất đào bới của động vật gặm nhấm. Tất

cả các chủng bị thực khuẩn thể kháng dịch hạch (antiplague bacteriophage) ly giải ở 22°C.

60.2.1.5. Thành phần thành tế bào

Thành tế bào *Y. pestis* chứa lipopolysaccharide có chức năng như là nội độc tố và là thành phần gây độc quan trọng của vi khuẩn.

60.2.1.6. Cấu trúc kháng nguyên

Y. pestis có sự đồng nhất về kháng nguyên; vì vậy không có kiểu huyết thanh nào phát hiện. Cấu trúc kháng nguyên của vi khuẩn này thì phức tạp và có 20 kháng nguyên khác nhau. *Y. pestis* có các kháng nguyên chính đóng vai trò quan trọng trong sự phát sinh bệnh như sau:

(a). Kháng nguyên V và W: hai kháng nguyên này luôn luôn hiện diện cùng với nhau. Kháng nguyên V là một protein có trọng lượng phân tử 90 kDa, trong khi đó kháng nguyên W là một lipoprotein có tính acid, trọng lượng phân tử 145 kDa. Hai protein này được các chủng *Y. pestis* độc tạo ra khi tăng trưởng ở 37°C trong môi trường có calcium ở nồng độ thấp. Việc sản sinh ra kháng nguyên V và W do plasmid kiểm soát.

(b). Kháng nguyên màng bao ngoài F1: kháng nguyên của màng bao ngoài F1 (được viết tắt từ từ fraction I hay kháng nguyên F - I) là protein của màng bao ngoài không bền nhiệt thường chỉ hiện diện ở các chủng độc. Kháng nguyên này được hình thành trong *in vivo* và trong nuôi cấy các chủng gây bệnh ở 37°C. Sự sản sinh kháng nguyên F1 là do plasmid quy định. Kháng thể đối với kháng nguyên F1 được bảo vệ trong chuột.

60.2.2. Đặc điểm gây bệnh

Y. pestis là vi khuẩn có độc lực cao, khuẩn này gây bệnh dịch hạch với tỷ lệ chết cao. Các loài *Yersinia* có khả năng kháng được sự tiêu diệt của thực bào là chỉ dấu xác nhận cho sự phát sinh bệnh dịch hạch. Kháng huyết thanh và khả năng hấp thu sắt hữu cơ qua cơ chế độc lập không phụ thuộc vào thể mang sắt của khuẩn này sẽ góp phần hơn nữa cho sự phát sinh bệnh.

60.2.2.1. Yếu tố gây bệnh

Y. pestis sản sinh ra nhiều độc tố và enzyme, tất cả các yếu tố này đều góp phần

cho sự phát sinh bệnh. Yếu tố độc của *Y. pestis* là phức hợp tương tự như của *Salmonella*. Các phức hợp này được mã hóa trong nhiễm sắc thể và cả trong plasmid lớn. Bảng 60.2 tóm tắt các yếu tố gây độc của *Y. pestis*.

Bảng 60.2. Yếu tố gây độc của *Yersinia pestis*.

Yếu tố gây độc	Chức năng sinh học
Độc tố dịch hạch	Gây biểu hiện triệu chứng dịch hạch toàn thân
Kháng nguyên F1	Ức chế sự thực bào
Kháng nguyên V và W	Ức chế sự thực bào và tiêu diệt nội bào đối với trực khuẩn nằm bên trong các đại thực bào
Hệ thống tiết kiểu III	Hệ thống tiết kiểu III (TTSS) gồm nhiều protein, chúng tạo thuận lợi cho quá trình tiết các yếu tố gây độc của <i>Y. pestis</i> vào trong tế bào chủ Ngăn chặn sự tiêu diệt của thực bào đối với các loài <i>Yersinia</i> gây bệnh
Plasminogen activator (pIa) protease	Phá huỷ các thành phần C3b và C5a của bổ thể Phá huỷ khối đông tụ fibrin
Protein màng ngoài của (YOPs)	Chất dính bề mặt, thu nhận sắt, ức chế sự thực bào và tiêu diệt nội bào.

60.2.2.2. Độc tố dịch hạch

Thuật ngữ độc tố dịch hạch được gọi cho phức hợp có ít nhất hai kiểu khác nhau của độc tố: (a) nội độc tố và (b) độc tố chuột (murine), được phát hiện trong chủng qua lọc (culture filtrate) hoặc trong các sản phẩm ly giải tế bào.

(a). Nội độc tố là lipopolysaccharide được tìm thấy trong thành tế bào và đóng vai trò trong biểu hiện triệu chứng bệnh toàn thân do *Y. pestis* gây ra.

(b). Độc tố chuột biểu hiện một số đặc tính của cả ngoại độc tố và nội độc tố.

(i). Độc tố chuột là độc tố không bền nhiệt. Độc tố này có thể được biến độc tính nhưng không hoàn toàn khuếch tán vào trong môi trường và chỉ được phóng thích do sự ly giải tế bào.

(ii). Độc tố này gây bệnh cho chuột nhưng không gây bệnh cho chuột lang, thỏ,

người và động vật linh trưởng khác. Độc tố tác động trên chuột tạo ra hiện tượng phù cụt bộ và hoại tử với hiệu ứng toàn thân trên hệ thống thần kinh ngoại biên và gan khi tiến hành thực nghiệm xâm nhiễm ở động vật. Vai trò của độc tố tác động trên chuột trong phát sinh bệnh dịch hạch ở người thì chưa được hiểu rõ.

60.2.2.3. Kháng nguyên màng bao F1

Là yếu tố gây độc chính, nó ức chế sự thực bào và đóng vai trò quan trọng trong việc đem lại sự miễn dịch bảo vệ ở người và chuột.

60.2.2.4. Kháng nguyên V và W:

Hai kháng nguyên này ức chế sự thực bào và tiêu diệt tế bào vi khuẩn bên trong các đại thực bào.

60.2.2.5. Hệ thống tiết kiểu III

Hệ thống tiết kiểu III (TTSS) gồm nhiều protein, chúng tạo thuận lợi cho quá trình tiết các yếu tố gây độc của *Y. pestis* vào trong tế bào chủ. Khả năng của các loài *Yersinia* gây bệnh kháng lại sự tiêu diệt của thực bào được thực hiện qua trung gian TTSS. Vi khuẩn khi tiếp xúc với tế bào thực bào trong các tế bào chủ bị nhiễm, chúng sẽ tiết ra nhiều loại protein nhằm ngăn chặn sự tiêu diệt của thực bào đối với vi khuẩn. Trước tiên, protein được tiết vào bên trong thực bào sẽ khử nhóm phosphoryl của một số protein cần thiết cho sự thực bào (sản phẩm của gen YopH) và sau đó cảm ứng tính gây độc tế bào bằng cách phá hủy các sợi actin (sản phẩm của gen YopE). Tiếp đến protein bắt đầu chết trong các đại thực bào (sản phẩm của gen YopJ/P). TTSS cũng ức chế sự sản sinh ra các cytokine, tới lượt chất này làm giảm phản ứng miễn dịch gây viêm đối với sự xâm nhiễm.

60.2.2.6. Các yếu tố gây độc khác

Yersinia sản sinh ra coagulase, fibrinolysin, và plasminogen activator (pIa) protease, các enzyme này góp phần vào tính gây độc của vi khuẩn. Ví dụ enzyme plasminogen activator (pIa) protease phá hủy các thành phần C3b và C5a của bổ thể, nhờ đó ngăn chặn sự opsonin hóa và sự di chuyển thực bào. Enzyme này cũng phá hủy các khối đông fibrin, nhờ đó tạo thuận lợi cho *Y. pestis* lan ra nhanh chóng. Tính gây bệnh của vi khuẩn được tăng cường hơn nữa nhờ khả năng hấp thu sắt hữu cơ.

60.2.3. Phát sinh bệnh dịch hạch

Dịch hạch ở người hoặc là do động vật mang và lây truyền hoặc là do tiếp xúc với mô hoặc dịch cơ thể bị nhiễm hoặc do hít vi khuẩn vào.

60.2.3.1. Dịch hạch thể hạch

Đây là bệnh động vật được truyền nhờ bọ chét ở chuột có tên khoa học là *Xenopsylla cheopis* để lây lan từ động vật sang người. *Y. pestis* là ký sinh tự nhiên trên động vật gặm nhấm; bệnh được truyền và duy trì giữa các loài bọ chét ký sinh trên động vật gặm nhấm với nhau. Bọ chét mắc phải vi khuẩn dịch hạch là do sử dụng thức ăn trên động vật gặm nhấm bị nhiễm. Khi bọ chét chuột cắn vào chuột bị nhiễm, nó hút gần 0,5mL máu cho một lần ăn, chứa khoảng 5×10^3 - 50×10^3 vi khuẩn dịch hạch. Trong dạ dày của bọ chét vi khuẩn nhân lên đến mức làm nghẽn điều của nó và vì vậy ngăn chặn thức ăn vào dạ dày. Thời gian khi bọ chét *X. cheopis* nuốt máu bị nhiễm vào đến khi bị nghẽn ở điều được gọi là thời gian ủ bệnh, dao động trong khoảng từ 2 đến 3 tuần.

Khi bọ chét bị nghẽn, nó sẽ đói, bắt đầu nổi điên để hút máu bằng cách cắn vào các động vật gặm nhấm khác. Khi chúng nỗ lực để nuốt vào sẽ làm dội lại vi khuẩn mà chúng đã nuốt trước đó, điều này sẽ làm lắng đọng vi khuẩn vào da người nơi mà chúng cắn, vì vậy sẽ làm lan truyền bệnh. Khi chuột bị bệnh chết, bọ chét sẽ rời đi và tìm kiếm vật chủ chuột khác, có thể cắn người gây ra bệnh dịch hạch thể hạch.

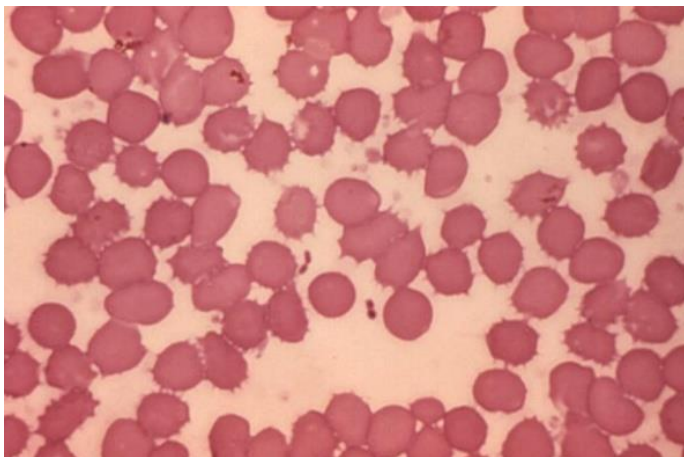
Dịch hạch thể hạch có đặc điểm đặc trưng là bệnh hạch xoài “bubo”. Bệnh xảy ra sau khi bọ chét chuột cắn, đưa hàng ngàn trực khuẩn vào da cơ thể chủ sau khi chúng hút máu. Trực khuẩn di chuyển đến hạch bạch huyết vùng (regional lymph node), nơi đó chúng được các tế bào bạch cầu đa hình, bạch cầu đơn thực bào và nhân lên trong nội bào.

Trực khuẩn xâm lấn vào mô bạch huyết gần kề tạo ra đặc điểm như sưng lên, hoại tử và xuất huyết, khi đó hạch bạch huyết được gọi là bubo, như đã được chứng minh trong dịch hạch thể hạch. Hạch bạch huyết bị nhiễm có một lượng lớn trực khuẩn hạch, phá hủy kiến trúc bình thường và làm hoại tử tủy (medullary necrosis). Tiếp đến vi khuẩn lan ra dọc theo các kênh bạch huyết đến ống ngực, cuối cùng vi khuẩn hiện diện trong hệ tuần hoàn làm xuất hiện chứng du khuẩn huyết và nhiễm trùng máu. Khi không sử dụng liệu pháp điều trị đặc biệt, sẽ dẫn đến nguy cơ nhiễm khuẩn này vào các cơ quan như

phổi, gan, lách, thận và hiếm hơn là màng não.

60.2.3.2. Bệnh dịch hạch gây viêm phổi

Bệnh này được lan truyền từ người sang người. Bệnh xảy ra sau khi trực tiếp hít phải các giọt khí có chứa vi khuẩn do tiếp xúc gần với cơ thể chủ bị nhiễm hay hít phải vi khuẩn trong các sol khí. Chính cách thức lan truyền này có thể được sử dụng làm vũ khí sinh học. Vi khuẩn lan vào phổi, tạo ra bệnh viêm phổi phế quản đa thùy (multilobar



bronchopneumonia) tiến triển nhanh và nghiêm trọng, kế tiếp dẫn đến làm xuất hiện du khuẩn huyết (bacteremia) và nhiễm trùng máu. Đây không phải là bệnh lan truyền từ động vật.

Hình 60.3. Nhuộm Gram mẫu máu. *Yersinia pestis* Gram âm, có hình dạng trông giống như chốt an toàn.

60.2.3.3. Bệnh dịch hạch gây nhiễm trùng máu

Thường là giai đoạn cuối của bệnh dịch hạch hay bệnh viêm phổi. Đôi khi có thể chủ yếu xảy ra bệnh này. Nhiễm trùng máu có thể xảy ra khi trực khuẩn dịch hạch trực tiếp vào tuần hoàn, lẫn tránh được bạch huyết. Sự phát tán sớm làm xảy ra nhiễm trùng huyết nhưng lại không hình thành bệnh sung hạch bạch huyết (bubo). Điều này quan sát thấy ở những cá nhân bị bọ chét chuột cắn ở khu vực như miệng, amidan và họng.

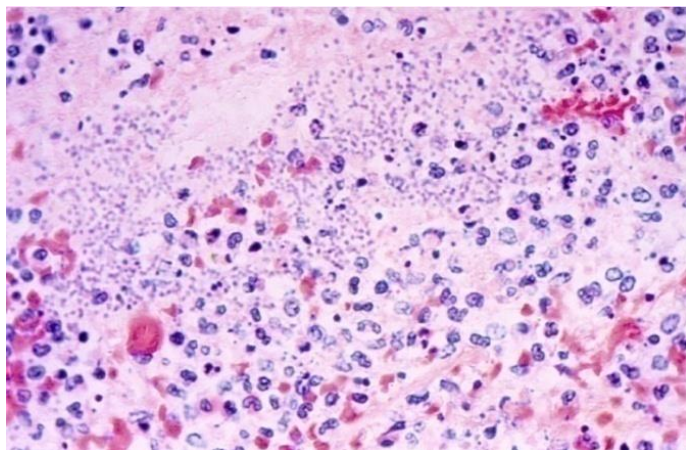
60.2.4. Hội chứng lâm sàng

Y. pestis gây dịch hạch, bệnh này xuất hiện ở ba hình thức: (1) dịch hạch thể hạch (bubonic plague), (2) dịch hạch phổi (pneumonic plague) và (3) dịch hạch nhiễm trùng máu.

60.2.4.1. Dịch hạch thể hạch

Dịch hạch thể hạch là hình thức lâm sàng phổ biến nhất của bệnh. Thời gian ủ bệnh dao động từ 2 đến 6 ngày. Trường hợp này có liên quan đến các triệu chứng tấn công thành linh như sốt cao, ớn lạnh và đau đầu, cùng với đó đau nhức cơ thể, kiệt sức tột độ, đau bụng và tiêu chảy. Tuyến bạch huyết đau và sưng phồng lên (sưng bạch hạch)

thường ở háng (groin), nách hay cổ là biểu hiện đặc trưng. Sưng bạch hạch (bubo) chỉ có một phía, hình oval và cực kỳ đau. Chúng có kích thước 2 - 10 cm. Các hạch bạch huyết bên thường liên quan nhất. Các hạch xoài lớn ra có thể gây vỡ ra và chảy mủ có mùi hôi.



Chúng gan to và lách to có thể làm nhạy cảm đau. Tỷ lệ chết do dịch hạch khi không được điều trị là 40 - 70%.

Hình 60.4. Ảnh nhuộm Giemsa mô phổi từ bệnh nhân bị bệnh chết do viêm phổi cho thấy có nhiều vi khuẩn *Y. pestis*.

60.2.4.2. Dịch hạch thể phổi

Các triệu chứng thường tấn công bất ngờ như: sốt và ớn lạnh, bệnh hạch bạch huyết tụy - lách (lymphadenopathy), đau ngực, khó thở (dyspnea), đờm có mủ hay ho ra máu là những biểu hiện của bệnh dịch hạch viêm phổi. Trong bệnh dịch hạch viêm phổi, hạch xoài (bubo) có thể có hoặc không. Dịch hạch thể phổi là bệnh xâm nhiễm cao do lan truyền bằng các sol khí. Nếu không được điều trị chắc chắn sẽ gây chết.

60.2.4.3. Dịch hạch nhiễm trùng huyết

Dịch hạch nhiễm trùng huyết thường là giai đoạn cuối của dịch hạch thể hạch hay dịch hạch viêm phổi, nhưng đôi khi chủ yếu xảy ra ở những người bệnh lớn tuổi. Trường hợp này liên quan đến các triệu chứng tấn công nhanh như buồn nôn, nôn mửa, đau bụng và tiêu chảy.

Tiêu chảy có thể là triệu chứng nổi trội. Người bệnh có biểu hiện ngộ độc là do bị nhiễm quá nặng trực khuẩn dịch hạch và có thể làm nhịp tim nhanh (tachycardia), hô hấp nhanh (tachypnea) và giảm huyết áp. Chứng giảm nhiệt thì phổ biến. Ban xuất huyết mở rộng (generalized purpura) dẫn đến làm hoại tử và hoại thư (gangrene) các chi ở xa. Bệnh dịch hạch nhiễm trùng máu thì không có hạch xoài. Bệnh dịch hạch nhiễm trùng máu gây tỷ lệ chết cao, bệnh nhân thường tử vong là do hàm lượng vi khuẩn trong máu cao.

60.2.5. Miễn dịch của cơ thể chủ

Khi bị nhiễm vi khuẩn dịch hạch, cơ thể chủ sẽ có miễn dịch và thiết lập miễn dịch lâu dài.

60.2.5.1. Dịch tễ học

Bệnh dịch hạch phân bố khắp nơi trên thế giới, hầu hết các trường hợp ở người xảy ra ở các nước đang phát triển.

60.2.5.2. Phân bố về địa lý

Hầu hết các trường hợp bệnh dịch hạch xảy ra ở các nước đang phát triển thuộc Châu Phi và Châu Á như Việt Nam và Ấn Độ. Ấn độ là một trong số ít nước bị dịch dịch hạch tấn công tồi tệ nhất. Đầu tiên dịch hạch xuất hiện ở Bombay vào năm 1896 và lan ra tất cả các vùng, làm chết hơn 10 triệu người vào năm 1918.

60.2.5.3. Môi trường sống

Môi trường sống của *Y. pestis* nhiễm vào hạch bạch huyết, phổ biến nhất là hạch bạch huyết ben trong dịch hạch thể hạch, tuyến hô hấp dưới trong dịch hạch thể phổi và tuần hoàn máu trong dịch hạch nhiễm trùng huyết.

60.2.5.4. Nguồn và sự lan truyền bệnh

Bệnh dịch hạch là bệnh truyền nhiễm từ động vật sang người do bọ chét chuột bị nhiễm vi khuẩn cắn. Bệnh cũng có thể được truyền do vết thương nhiễm phân bọ chét chuột nhiễm vi khuẩn. Lan truyền từ người sang người thì hiếm gặp, ngoại trừ trong quá trình xảy ra dịch bọ phát bệnh dịch hạch thể phổi. Có hai chu trình tự nhiên của bệnh dịch hạch, đó là: (a). Dịch hạch ở thành thị và (b). Dịch hạch nơi hoang dã.

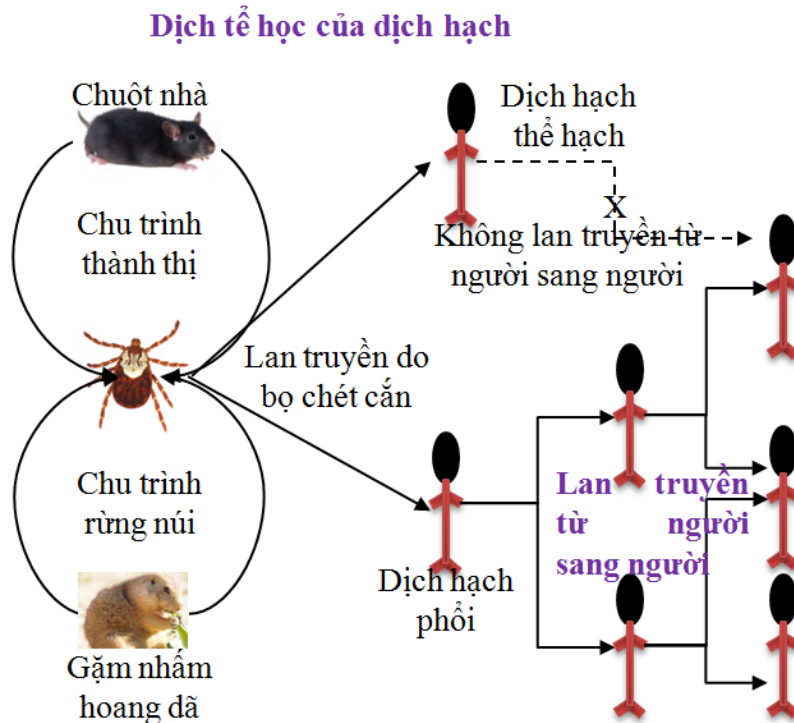
(a). Dịch hạch ở thành thị: dịch hạch ở thành thị được nuôi giữ trong quần thể bọ chét chuột và được lan truyền trong số quần thể chuột và lan truyền sang người là do bọ chét chuột bị nhiễm cắn.

(b). Dịch hạch hoang dã hay núi rừng: kiểu này xảy ra giữa động vật và gặm nhấm hoang dã độc lập với con người. Hơn 200 loài động vật khác nhau đã được xác định là động vật chủ. Các loài này bao gồm mèo và chó thuần dưỡng, sóc (squirrel), chuột sóc (chipmunk), thỏ, thỏ rừng, lạc đà và cừu,

Bọ chét bị nhiễm có thể sống sót qua một năm. Trục khuẩn này vẫn còn sống và thậm chí nhai lên trong đất ở các hang của gặm nhấm. Trục khuẩn dịch hạch nhiễm vào

gặm nhấm mới từ đất (hang). Điều này góp phần việc im ắng bệnh dịch hạch trong thời gian dài và sau đó là tái nổi lên của bệnh dịch hạch.

Bệnh dịch hạch ở miền núi thì khó loại bỏ bởi vì nguồn động vật có vú và động vật chuyển bọ chết phân bố khắp nơi. Lây lan từ người sang người chỉ xảy ra ở bệnh dịch hạch phổi. Bệnh dịch hạch phổi lây lan là do nhiễm giọt khí và có thể thấy được trong các trường hợp bùng phát dịch hạch thể hạch.



Kiểu xâm nhiễm núi rừng xảy ra khi con người bị nhiễm từ những động vật hoang dã này. Bệnh ở người có thể xảy ra trong quá trình xử lý thịt động vật hoang dã bị nhiễm và tiêu thụ thịt động vật hoang dã bị nhiễm. Bệnh ở người cũng có thể là do hít vào các giọt khí phát ra từ mèo bị nhiễm.

Hình 60.5. Sơ đồ minh

họa dịch tễ học của bệnh dịch hạch.

60.2.3.4. Phân kiểu

Dựa trên khả năng lên men glycerol và khử nitrate, *Y. pestis* được phân thành ba kiểu khác biệt, đó là: *Y. pestis* var. *orientalis*, *Y. pestis* var. *antiqua* và *Y. pestis* var. *medievalis* (Bảng 60.3). Các kiểu sinh học này biểu hiện sự khác biệt về phân bố địa lý. Các locus chính của *Y. pestis* var. *orientalis* là Ấn Độ (India), Miến Điện (Myanmar) và Trung Quốc (China). Kiểu sinh học này cũng đóng vai trò trong bệnh dịch hoang dã ở Tây Hoa Kỳ, Nam Mỹ và Nam Phi. *Y. pestis* var. *antiqua* phân bố ở Mông Cổ, Manchuria và Transbaikalia. *Y. pestis* var. *medievalis* hạn chế ở Phía Nam nước Nga.

Bảng 60.3. Phân biệt các kiểu sinh học *Yersinia pestis*.

Kiểu sinh học	Khử nitrate	Lên men glycerol
<i>Yersinia pestis</i> var. <i>orientalis</i>	+	-
<i>Yersinia pestis</i> var. <i>antiqua</i>	+	-
<i>Yersinia pestis</i> var. <i>medievalis</i>	-	+

60.2.6. Phương pháp phát hiện

60.2.6.1. Mẫu vật

Gồm dịch rút từ bệnh sung bạch hạch (trong bệnh dịch hạch), đờm (trong dịch hạch thể phổi), máu và dịch não tủy (dịch hạch nhiễm trùng máu).

60.2.6.2. Soi dưới kính hiển vi

Dịch rút từ bệnh sung bạch hạch (*Bubo aspirate*) được thu thập bằng cách tiêm 1mL nước muối sinh lý vô trùng vào chỗ sung bạch hạch (*bubo*) bằng kim tiêm 20-G. Sau đó dịch được rút ra và trải lên lam kính để nhuộm Gram, Wright, Wayson hay Giemsa nhằm quan sát hình dạng lưỡng cực điển hình (dạng ghim băng) của *Y. pestis*. Máu và dịch não tủy của bệnh nhân nhiễm trùng máu có thể được nhuộm để thấy rõ vi khuẩn.

(a). Nhuộm Gram dịch rút ra từ hạch bạch huyết ben cho thấy khuẩn này có dạng cầu trực khuẩn Gram âm, dạng lưỡng cực đặc trưng trông giống với ghim băng và thấy được các bạch cầu đa hình (*polymorphonuclear leukocyte*).

(b). Khi nhuộm Wayson mẫu dịch rút ra, *Y. pestis* là trực khuẩn có màu xanh da trời nhạt thân phân cực có màu xanh đậm. Thử nghiệm kháng thể phát huỳnh quang trực tiếp sử dụng kháng thể đơn dòng là phương pháp nhanh dùng để chứng minh *Y. pestis* kháng nguyên F1 có trong máu hoặc đờm của người bệnh. Thử nghiệm kháng thể huỳnh quang cho kết quả dương là bằng chứng giả định của bệnh.

60.2.6.3. Nuôi cấy

Phân lập *Y. pestis* bằng nuôi cấy khẳng định để kết luận bệnh dịch hạch. Khuẩn này có thể được phân lập từ máu, CSF, đờm và dịch rút ra từ hạch xoài, phụ thuộc vào miêu tả lâm sàng, hoặc là dịch hạch thể hạch hoặc là dịch hạch phổi hoặc thể dịch hạch nhiễm trùng máu. *Y. pestis* tăng trưởng chậm nhưng lại không đòi hỏi bất kỳ môi trường

đặc biệt nào cho sự tăng trưởng. Mẫu bệnh phẩm được nuôi cấy trên môi trường thạch máu hoặc môi trường thạch dinh dưỡng và trên môi trường chọn lọc chuyên biệt để phân lập *Y. pestis*. Với môi trường chọn lọc như thạch máu có sodium azide được sử dụng để phân lập chọn lọc *Y. pestis* từ đờm và dịch rút từ hạch xoài có nhiều vi khuẩn khác.

60.2.6.4. Xác định khuẩn lạc

Khuẩn lạc có màu nâu thâm trên môi trường thạch máu và khuẩn lạc có dạng hình đầu đinh ghim trên môi trường thạch MacConkey là những đặc điểm đặc trưng của khuẩn lạc *Y. pestis*. Đặc tính xác định khuẩn lạc *Y. pestis* được tóm tắt như sau:

- (a). Nhuộm Gram *Y. pestis* cho thấy chúng biểu hiện hình thái lưỡng cực (dạng ghim băng).
- (b). Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc có màu nâu thâm.
- (c). Trên môi trường thạch MacConkey khuẩn lạc không màu có dạng đinh ghim.
- (d). Khuẩn này di động ở 22°C,
- (e). *Y. pestis* tạo indole và
- (f). *Y. pestis* lên men glucose, maltose và mannitol tạo acid và hơi.

60.2.6.5. Cấy khuẩn vào động vật

Y. pestis có thể được phân lập từ dịch rút ra từ hạch xoài hay đờm cấy vào chuột lang hoặc chuột trắng. Dịch rút ra từ hạch xoài được tiêm vào dưới da động vật thử nghiệm. *Y. pestis* sẽ gây chết động vật trong vòng 2 - 5 ngày. Quan sát động vật sau khi chết sẽ thấy hoại tử và phù tại vị trí cấy khuẩn. Hạch bạch huyết lớn ra, bị xung huyết và có các mảng trắng xám xám. Nhuộm Gram và xanh methylene hạch bạch huyết, lách và máu từ tim thấy được trực khuẩn Gram âm lưỡng cực điển hình.

Mẫu đờm được thu thập từ các trường hợp nghi ngờ bệnh dịch hạch phổi, đem cấy lên da đã được cạo hoặc cấy vào niêm mạc mũi của chuột lang. Vi khuẩn có trong mẫu sẽ xâm nhập vào da ở những chỗ bị bào mòn. Chứng minh vi khuẩn có trong mẫu đờm và máu lấy từ tim của chuột lang, chuột sẽ chết sau 2 - 3 ngày cấy khuẩn.

60.2.6.6. Huyết thanh

Thử nghiệm huyết thanh thường là chẩn đoán bổ sung để xác định bệnh dịch hạch. Phương pháp miễn dịch dựa trên enzyme liên kết (ELISA) và thử nghiệm ngưng kết hồng

cầu bán trực tiếp (IHA) được tiến hành để phát hiện kháng thể đặc trưng trong huyết thanh của người bệnh cấp tính và hồi phục. Lượng kháng thể khác biệt gấp bốn lần hoặc lớn hơn giữa huyết thanh của trường hợp cấp tính và trường hợp phục hồi được thu thập trong 10 ngày để riêng ra, chứng minh bằng kỹ thuật ELISA hoặc IHA cho thấy là nhiễm dịch hạch. Chỉ một thử nghiệm ELISA hay IHA cho kết quả dương ở những bệnh nhân không tiêm vaccine dịch hạch hay không bị bệnh dịch hạch trước đó cũng được cho là nhiễm dịch hạch giả định.

60.2.6.7. Phương pháp phân tử

PCR dùng để phát hiện *Y. pestis* có trong dịch rút từ hạch xoài. Cơ quan Bảo vệ Môi trường của Hoa Kỳ (EPA) đã phát triển phương pháp PCR và Real-time PCR để phát hiện và định lượng *Y. pestis* có trong các mẫu môi trường.

60.2.6.8. Điều trị

Điều trị các trường hợp nghi ngờ bệnh dịch hạch bằng kháng sinh nên bắt đầu càng sớm càng tốt, không phải đợi kết quả khẳng định của phòng thí nghiệm. Điều trị ngay bằng kháng sinh sẽ làm giảm tỷ lệ chết do bệnh. Streptomycin, doxycycline và chloramphenicol là những kháng sinh hiệu quả để điều trị bệnh dịch hạch. Thời gian điều trị kháng sinh thường phải kéo dài 10 ngày. Nên sử dụng chế độ điều trị kết hợp hai loại kháng sinh trong các trường hợp bệnh nghiêm trọng.

Streptomycin là kháng sinh được lựa chọn để điều trị bệnh dịch hạch. Doxycycline được chỉ định cho những bệnh nhân bị dị ứng với streptomycin hay người không dung nạp streptomycin. Chloramphenicol là kháng sinh chỉ định để điều trị bệnh dịch hạch nhiễm trùng máu hay cho những bệnh nhân bị chứng giảm huyết áp. Ở những bệnh nhân bị chứng giảm huyết áp, khi đưa streptomycin vào cơ có thể bị hấp thu kém. Khả năng kháng của *Y. pestis* đối với streptomycin, gentamicin, doxycycline và chloramphenicol thì rất hiếm.

60.2.7. Ngăn ngừa và kiểm soát

Các biện pháp này gồm phòng ngừa miễn dịch bằng cách sử dụng vaccine dịch hạch, phòng bệnh hóa học bằng cách sử dụng liệu pháp kháng sinh và vệ sinh môi trường.

60.2.7.1. Sử dụng vaccine

Chủng *Y. pestis* độc được nuôi cấy trong môi trường lỏng casein hydrolysate từ 2 - 4 tuần ở 32°C, sau đó làm bất hoạt bằng 0,05% formaldehyde và bảo quản trong phenyl mercuric nitrate. Vaccine chứa 2.10^9 vi khuẩn dịch hạch/mL. Sử dụng ba mũi vaccin liều 0,5 mL, hai liều đầu cách nhau khoảng 1 - 3 tháng, sau 6 tháng tiêm liều thứ ba. Vaccine này chỉ bảo vệ dịch hạch thể hạch trong vòng 6 tháng. Vaccine này được khuyến cáo sử dụng cho:

(1). Người làm việc tại phòng thí nghiệm và hiện trường tiếp xúc với vi khuẩn gây bệnh dịch hạch hay

(2). Người đang sống trong vùng đang có dịch nhưng không thể tránh phơi nhiễm được với các loài gặm nhấm hoặc bọ chét.

Vaccine này không hiệu quả để chống lại dịch hạch phổi.

60.2.7.2. Phòng bệnh bằng liệu pháp kháng sinh

Liệu pháp phòng ngừa bằng kháng sinh gồm phòng bệnh bằng tetracycline hay streptomycin. Tổ hợp Trimethoprim/sulfamethoxazole cũng cho kết quả hiệu quả trong phòng bệnh. Liệu pháp phòng ngừa bằng kháng sinh được khuyến cáo sử dụng cho:

(1). Người tiếp xúc với nạn nhân bị dịch hạch phổi.

(2). Người bị phơi nhiễm với vi khuẩn do bọ chét của loài gặm nhấm cắn trong quá trình bùng nổ dịch hạch.

(3). Người xử lý động vật bị nhiễm vi khuẩn dịch hạch.

Phòng bệnh bằng kháng sinh thì không nên tiếp xúc với dịch hạch thể hạch hoặc dịch hạch nhiễm trùng máu.

60.2.7.3. Vệ sinh môi trường

Xác định nguồn lây nhiễm là yếu tố quan trọng trong việc ngăn chặn bùng nổ dịch hạch. Kiểm soát gặm nhấm là biện pháp chính ngăn chặn dịch hạch ở vùng thành thị. Sử dụng thành thạo hóa chất để tiêu diệt bọ chét và loài gặm nhấm. Điều quan trọng là ở những vùng có dịch hạch nên hướng dẫn người dân tránh tiếp xúc với chuột chết và tránh những nơi động vật hoang dã sinh sống.

60.3. *Yersinia enterocolitica*

60.3.1. Giới thiệu

Y. enterocolitica là vi khuẩn đường ruột được nhận biết rất rõ nhờ gây ra các biểu hiện lâm sàng khác biệt, từ nhiễm trùng không biểu hiện triệu chứng đến nhiễm trùng máu đe dọa mạng sống, đặc biệt là ở trẻ. *Y. enterocolitica* đã được Schleifstein và Coleman mô tả lần đầu tiên vào năm 1939.

60.3.2. Đặc điểm sinh học

Y. enterocolitica là cầu trực khuẩn Gram âm, di động ở 22°C nhưng bất động ở 37°C. Khuẩn này giống với *Y. pseudotuberculosis* ở chỗ di động ở 22°C, nhưng khác ở chỗ lên men được sucrose và cellobiose, có khả năng khử nhóm carboxyl của ornithine. *Y. enterocolitica* không lên men rhamnose, melibiose và lactose, có oxidase âm. Nhiều chủng *Y. enterocolitica* có VP và indole dương. *Y. enterocolitica* là vi khuẩn hiếu khí và tăng trưởng trong khoảng nhiệt độ tối thích từ 22 - 29°C, pH tối thích trong khoảng 5 - 9. Do đó tỷ lệ nhiễm *Y. enterocolitica* mắc phải gia tăng ở những bệnh nhân bị chứng giảm acid trong dạ dày. Do khuẩn này đòi hỏi sắt để tồn tại, nên *Yersinia sepsis* được cho là sẽ nhiễm vào những trẻ sau khi sử dụng quá liều sắt và bị bệnh nhiễm sắc tố mô sắt (hemochromatosis), trạng thái lâm sàng do quá liều sắt.

Yersinia enterocolitica thường được phân lập từ đất, nước, động vật và nhiều loại thực phẩm. Chúng bao gồm nhóm có đặc điểm sinh hóa không đồng nhất, có thể tăng trưởng ở nhiệt độ lạnh và đây cũng là vấn đề gây tranh cãi nhiều về việc có nên sử dụng lên men lạnh khi khuẩn này xâm nhiễm vào. Dựa trên đặc điểm không đồng nhất về đặc tính sinh hóa và đặc tính liên quan đến DNA, các thành viên của nhóm vi khuẩn này được tách thành bốn loài, đó là: *Y. enterocolitica*, *Y. intermedia*, *Y. frederiksenii* và *Y. kristensenii*. Sau đó được xem xét bổ sung nên giống *Yersinia* gồm 11 loài, ba trong số 11 loài này có khả năng gây bệnh cho người là: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica*. Trong đó *Y. pestis* là vi khuẩn gây bệnh dịch hạch và *Y. enterocolitica* là nguyên nhân quan trọng nhất gây bệnh qua đường thực phẩm.

Khuẩn *Y. enterocolitica* tăng trưởng tốt trên môi trường cơ bản. Trên môi trường thạch MacConkey, sau 24 giờ ủ, chúng hình thành khuẩn lạc dạng đầu đinh ghim. Trên môi trường thạch máu sau 2 ngày ủ ở 22°C, chúng hình thành khuẩn lạc nhẵn không có

tiêu huyết, màu sắc đục mờ, kích thước 2 - 3 mm. Môi trường thạch Cefsulodinirgasan - novobiocin (CIN) được sử dụng làm môi trường chọn lọc cho *Y. enterocolitica*.

Dựa trên kháng nguyên thân bền nhiệt, các chủng *Y. enterocolitica* và các loài có liên quan có thể được chia thành các nhóm huyết thanh (serogroup). Wauters đã mô tả có 54 nhóm huyết thanh cho *Y. enterocolitica* và các loài có liên quan. Aleksic và Bockemuhl đề xuất đơn giản hóa thành 18 nhóm huyết thanh cho *Y. enterocolitica*. Hiện nay các chủng gây bệnh thuộc các nhóm huyết thanh là: O:1, 2a, 3; O:2a,3; O:3; O:8; O:9; O:4,32; O:5,27; O:12,25; O:13a,13b; O:19; O:20 và O:21 đã được xác định. Tuy nhiên các chủng gây bệnh có thể thuộc các nhóm huyết thanh đa dạng. Các nhóm huyết thanh chủ yếu gây bệnh cho người là O:3, O:8, O:9 và O:5,27.

60.3.3. Đặc điểm gây bệnh

Mối liên quan về bệnh ở người với việc tiêu thụ thực phẩm bị nhiễm *Y. enterocolitica*, chất thải động vật và nước chưa qua xử lý đã được ghi nhận. Vi khuẩn này có thể sống sót và tăng trưởng trong quá trình bảo quản lạnh. Do sự ô nhiễm có thể xảy ra tại cơ sở sản xuất hay tại nhà nên thực phẩm bảo quản lạnh sẽ là phương tiện gây bệnh tiềm ẩn cho người.

Cơ chế gây bệnh của *Yersinia* gây bệnh đường ruột thì phức tạp. Cơ chế này bao gồm nhiều yếu tố quyết định do nhiễm sắc thể và plasmid kiểm soát. Các yếu tố do nhiễm sắc thể quyết định gồm: xâm lấn vào tế bào chủ như *ail* ở *Y. enterocolitica* và *inv* ở *Y. pseudotuberculosis*, khả năng tạo phức sắt và hấp thu protein (*irps*) và độc tố đường ruột bền nhiệt (*ystA*). Các yếu tố được tiến hành trên plasmid độc có kích thước 70 kb, pYV ở *Y. enterocolitica* và pIB1 ở *Y. pseudotuberculosis* gồm: protein ngoài *Yersinia* (*yops*), phản ứng với calcium thấp (*lcr*), protein bám dính của *Yersinia* (*yadA*) và yếu tố điều hòa phụ thuộc nhiệt độ của nhiều gen nằm trên plasmid khác (*virF*).

Nhiều phương pháp xác định yếu tố gây độc đã được đề xuất nhằm phân biệt các *Y. enterocolitica* gây bệnh. Độc tố đường ruột bền nhiệt (ST) được tạo ra trong *in vitro* do một số chủng *Y. enterocolitica* và các loài liên quan tạo ra có thể được phát hiện bằng cách tiêm các chủng nuôi cấy sau lọc vào dạ dày của chuột đang trong giai đoạn bú mẹ và nhận thấy rằng độc tố này rất giống với độc tố ST của *Escherichia coli*. Tuy nhiên trong

thực nghiệm in vitro, *Yersinia* spp. chỉ sản sinh độc tố ST ở nhiệt độ dưới 30°C. Nhiều chủng *Yersinia* môi trường tạo ra độc tố này, ngược lại các chủng có đầy đủ độc tính khác của *Y. enterocolitica* thì lại không sản sinh ra độc tố này. Gần đây phát hiện có một kiểu phụ (subtype) đặc trưng của gen ST là *stA* có liên quan gần hơn với các chủng *Y. enterocolitica* gây bệnh. Cho đến nay vai trò của ST trong tiến trình bệnh của *Yersinia* vẫn chưa được hiểu rõ.

Bệnh yersiniosis do *Yersinia* spp. gây ra ở người là do chúng mang plasmid có kích thước khoảng 70kb. Plasmid này có nhiều đặc điểm liên quan đến tính độc như: tự ngưng kết trong một số môi trường khi ủ ở 35 - 37°C; ức chế sự tăng trưởng trong môi trường thiếu hụt calcium và tạo cầu nối với chất nhuộm crystal violet ở 35 - 37°C; gia tăng tính kháng đối với huyết thanh bình thường ở người; sản sinh ra hàng loạt protein màng ngoài ở 35 - 37°C; khi tiêm vào màng bụng (i.p.), độc tố này có khả năng tạo ra chứng viêm kết mạc ở chuột lang hay chuột và gây chết cho chuột trưởng thành và chuột trong giai đoạn bú mẹ. Plasmid liên quan đến tính độc có thể được phát hiện bằng điện di trên gel hay bằng lai DNA khuẩn lạc. Tuy nhiên bằng chứng hiện tại cho thấy chỉ có một mình plasmid thì sẽ không biểu hiện đầy đủ độc lực của *Yersinia*. Cường độ của một số đặc tính gây độc qua trung gian plasmid như gây chết và viêm kết mạc ở chuột thì dao động, phụ thuộc vào các gen trên nhiễm sắc thể vi khuẩn và nhóm huyết thanh, nên có đề xuất cho rằng các gen trên nhiễm sắc thể cũng đóng góp vào khả năng gây độc của *Yersinia*.

Các chủng độc của *Yersinia* cũng xâm lấn vào tế bào động vật có vú như dòng tế bào HeLa trong nuôi cấy mô. Tuy nhiên các chủng này sẽ mất đi các đặc tính gây độc khi được lưu giữ trên HeLa và cũng sẽ mất đi tính xâm lấn, là do kiểu hình xâm lấn vào tế bào động vật có vú được các locus trên nhiễm sắc thể mã hóa. Hai gen nhiễm sắc thể của *Y. enterocolitica* là *inv* và *ail*, mã hóa cho kiểu hình xâm lấn vào tế bào động vật có vú đã được xác định. Khi chuyển các locus di truyền này vào *E. coli* thì nhận thấy *E. coli* được chuyển gen có khả năng xâm lấn vào tế bào chủ. Gen *inv* này cho phép *Yersinia* xâm lấn ở mức độ cao vào một số dòng tế bào nuôi cấy. Tuy nhiên khi phân tích bằng kỹ thuật Southern blot cho thấy trình tự gen *inv* có mặt trên cả chủng phân lập có khả năng xâm

lấn vào mô nuôi cấy và chủng phân lập không có khả năng xâm lấn. Mặc dù đề xuất này cho rằng gen *inv* ở *Y. enterocolitica* có thể không trực tiếp liên quan đến tính xâm lấn, nhưng bằng chứng di truyền cho thấy gen *inv* không có chức năng trong các chủng phân lập không xâm lấn. Gen *ail* cho thấy có tính chuyên biệt lớn hơn về tính xâm lấn vào tế bào và chỉ xuất hiện ở *Y. enterocolitica* gây bệnh. Ở các chủng gây bệnh, tất cả các chủng độc *Y. enterocolitica* phân lập đều xâm lấn vào môi trường nuôi cấy và mang gen *ail*. Hơn nữa locus *ail* có thể là yếu tố gây độc thiết yếu của nhiễm sắc thể ở *Y. enterocolitica*. Lai DNA khuẩn lạc và thử nghiệm PCR có thể được sử dụng để khẳng định sự hiện diện của gen này liên quan đến tính gây độc trong các chủng phân lập từ mẫu thực phẩm.

Y. pseudotuberculosis thì ít gặp hơn so với *Y. enterocolitica* và mặt dù chúng thường liên quan đến động vật, hiếm khi phân lập được từ đất, nước và thực phẩm. Trong số các chủng *Y. pseudotuberculosis* có ít hoặc không có sự thay đổi về các phản ứng sinh hóa, ngoại trừ một số loại đường như melibiose, raffinose và salicin. Thử nghiệm huyết thanh dựa trên kháng nguyên thân bền nhiệt, các chủng *Y. pseudotuberculosis* được phân thành sáu nhóm, mỗi nhóm huyết thanh có các chủng gây bệnh. Gemski và cộng sự cho rằng các chủng thuộc nhóm huyết thanh III có mang plasmid 70kb cũng như các chủng thuộc nhóm huyết thanh II gây chết cho chuột trưởng thành. Mối liên quan của bệnh do yersina ở người khi có plasmid 70kb ở *Y. pseudotuberculosis* đã được hiểu rõ.

Các gen độc hiện diện trên nhiễm sắc thể của *Y. pseudotuberculosis* đã được xác định. Gen *inv* *Y. pseudotuberculosis* thì đồng nhất với gen *inv* ở *Y. enterocolitica* và mã hóa cho yếu tố xâm lấn vào tế bào động vật. Khi chuyển gen *inv* vào *E. coli* K-12 sẽ làm biểu hiện kiểu hình xâm lấn ở *E. coli*. Gen *inv* được điều hòa bằng nhiệt độ; nó mã hóa cho protein có kích thước 103 Kdal là yếu tố xâm lấn, yếu tố này liên kết với thụ thể chuyên biệt trên tế bào động vật có vú và tạo thuận lợi cho *Y. pseudotuberculosis* xâm nhập vào mô chủ. Các thử nghiệm về độc tính của *Y. pseudotuberculosis* thì không nhiều như thử nghiệm ở *Y. enterocolitica*; tuy nhiên các chủng phân lập có đặc tính xâm lấn vào tế bào chủ và có mang plasmid của *Y. pseudotuberculosis* có thể được xác định bằng lai DNA khuẩn lạc hay chạy PCR.

Điểm thuận lợi của thử nghiệm *in vitro* đối với độc tính tiềm năng ở các chủng *Y.*

enterocolitica và *Y. pseudotuberculosis* là sự hình thành các khuẩn lạc dạng lồi cao cùng với đó là sự hấp thu chất màu đỏ congo khi được ủ ở 35 - 37°C nhưng đặc điểm này không có khi ủ ở 26°C.

Nhiều kiểu đánh giá trên động vật đã được sử dụng để đánh giá độc lực của các loài *Yersinia* đối với người. Các kiểu đánh giá trên động vật này bao gồm viêm kết - giác mạc ở chuột lang sử dụng thử nghiệm Sereny, thử nghiệm viêm ruột (enterocolitis) ở thỏ, khả năng gây chết đối với chuột nhảy (gerbil) và chuột đang bú cũng như chuột trưởng thành. Khi cho chuột uống sắt và phức iron chelator, desferrioximine B, trước khi tiêm vào màng bụng chuột trưởng thành sẽ làm gia tăng tính nhạy cảm của chuột đối với sự xâm nhiễm của *Yersinia*.

Bệnh ở người mắc phải là do tiêu thụ thức ăn hay nước uống bị nhiễm khuẩn. Theo đường tiêu hóa, khuẩn này bám dính vào niêm mạc của đoạn cuối ruột hồi, xâm nhập và nhân lên ở mảng Peyer. Khuẩn này cảm ứng làm thâm nhiễm sưng lên ở lớp đệm niêm mạc (lamina propria). Protein màng ngoài của vi khuẩn là yếu tố độc quan trọng làm trung gian cho sự bám dính và xâm lấn của vi khuẩn. Sau đó vi khuẩn này có thể lan ra các hạch bạch huyết ruột treo và có thể gây du khuẩn huyết, hoặc hình thành các áp xe và gây đau ở phần tư bụng dưới bên phải, kích thích gây ra chứng viêm ruột thừa.

Mặc dù *Y. enterocolitica* sản sinh ra độc tố đường ruột bền nhiệt tương tự như độc tố đường ruột của *Escherichia coli*, nhưng lại không góp phần vào việc phát sinh bệnh. *Y. enterocolitica* chủ yếu gây ra chứng viêm ruột kết ở trẻ, hội chứng viêm ruột thừa giả và gây nhiễm ngoài ruột.

(a). Chứng viêm ruột non (enterocolitis) là hình thức lâm sàng phổ biến nhất của bệnh, xuất hiện chủ yếu ở trẻ nhỏ có độ tuổi trung bình là 24 tháng. Thời gian ủ bệnh ngắn, dao động từ 4 đến 6 ngày. Trường hợp này có những biểu hiện như tiêu chảy ra nước, nhầy, phần lớn ở bệnh nhân; sốt, đau bụng, phân ra máu và có bạch cầu leukocyte trong phân. Tiêu chảy thường kéo dài từ 1 ngày đến 3 tuần. Hầu hết các trường hợp thì tự hết.

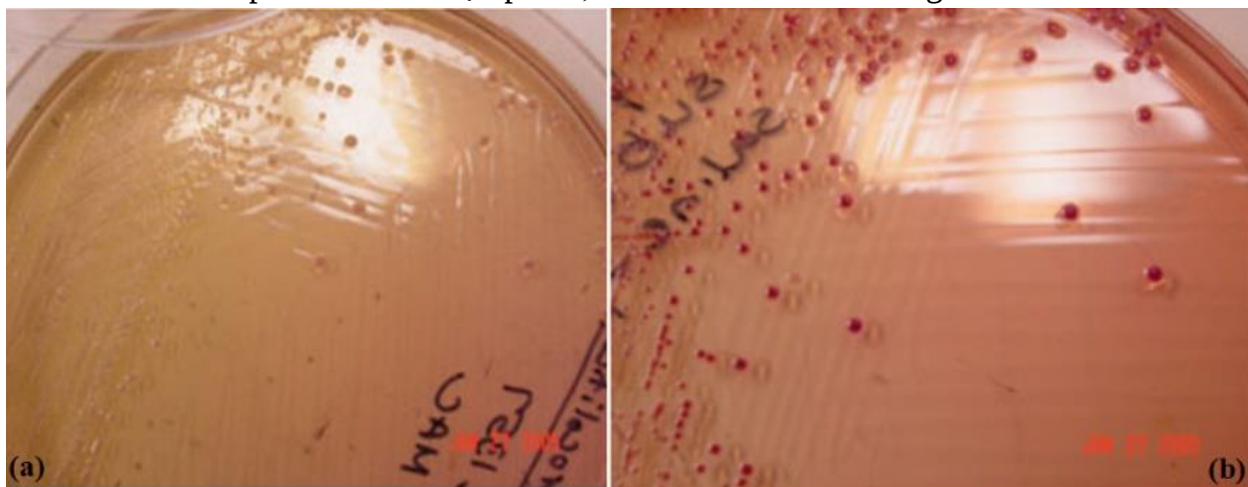
(b). *Y. enterocolitica* xâm nhiễm gây ra chứng viêm hạch mạc treo (mesenteric lymphadenitis) cùng với đó là viêm ruột hồi đoạn cuối (terminal ileitis). Trường hợp này

được biết như là hội chứng viêm ruột thừa giả (pseudoappendicitis syndrome), phổ biến ở trẻ em lớn tuổi và vị thành niên. Bệnh có đặc điểm như sốt, đau bụng, khó chịu ở phần tư dưới bụng phải và chứng tăng bạch cầu (leukocytosis). Hội chứng viêm ruột thừa giả cũng do *Y. pseudotuberculosis* xâm nhiễm gây ra.

(c). Các bệnh ngoài ruột như viêm tế bào, viêm kết mạc, viêm màng não, viêm tủy xương (osteomyelitis), viêm họng, viêm phổi và nhiễm trùng đường tiểu do *Y. pseudotuberculosis* gây ra thì hiếm gặp.

60.3.4. Phương pháp phát hiện

Phát hiện vi khuẩn tại phòng thí nghiệm được tiến hành bằng cách phân lập *Y. enterocolitica* từ phân và mẫu thực phẩm, nước và mẫu môi trường.

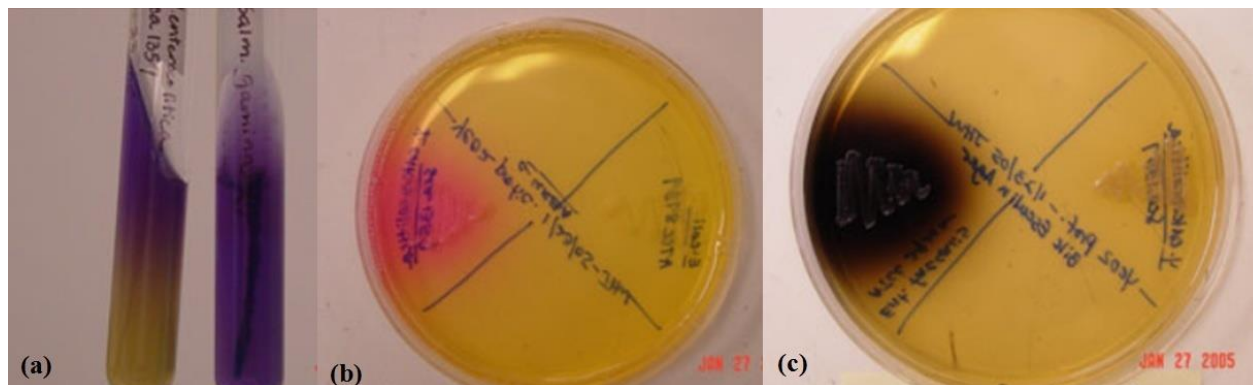


Hình 60.6. Khuẩn lạc của *Y. enterocolitica* trên môi trường thạch.

(a). MacConkey sau 1 - 2 ngày ủ, khuẩn lạc đục có kích thước 1 - 2 mm, không màu hoặc có màu hồng tái. (b). CIN sau một ngày ủ, hình thành khuẩn lạc có kích thước nhỏ 1 - 2 mm, có tâm đỏ sẫm, có vòng không màu bao xung quanh khuẩn lạc có bờ đều (BAM, FDA).

Nuôi cấy mẫu phân cho kết quả dương khi bệnh nhân bị bệnh tấn công trong vòng 2 tuần. Ngưng kết trong ống nghiệm, ELISA và miễn dịch phóng xạ là những phương pháp thường được sử dụng để phát hiện kháng thể có trong huyết thanh dùng để chẩn đoán bệnh. Lượng kháng thể sẽ gia tăng 1 tuần sau khi bệnh tấn công và đạt mức cực đại tại tuần thứ 2; mức kháng thể tăng có thể được phát hiện trong nhiều năm sau khi nhiễm khuẩn. Lượng kháng thể nhiều hơn 1:128 được cho là nhiễm *Y. enterocolitica*.

Đối mẫu thực phẩm, nước và môi trường, quy trình phân lập và xác định vi khuẩn được tiến hành như sau: lấy 25 g mẫu cho vào 225 ml môi trường lỏng peptone sorbitol bile (PSBB). Đồng nhất trong 30 giây và ủ ở 10°C trong 10 ngày.



Hình 60.7. Nuôi cấy *Y. enterocolitica* trên môi trường thạch.

(a). Thạch nghiêng LAIA, *Y. enterocolitica*, có K A --, *Salmonella* (phải) có K K + -; (b). *Y. enterocolitica* màu hồng, có urease dương, *E. coli* không màu, có urease âm. (c). *Y. enterocolitica* có esculin âm nên không có màu đen ngoại trừ biotype 1A, *Ent. faecalis* có esculin dương nên có màu đen (BAM, FDA).

Nếu nghi ngờ hàm lượng *Yersinia* quá cao trong sản phẩm, nên cấy trải 0,1 ml mẫu đã đồng nhất và sau chế độ ủ lên môi trường thạch MacConkey và 0,1 ml lên môi trường thạch CIN. Lấy 1 ml dịch đã đồng nhất cho vào 9 ml KOH 0,5% trong saline 0,5%, trộn trong 2 - 3 giây và lấy 0,1 ml trải lên đĩa thạch MacConkey và CIN. Ủ ở 30°C trong 1 - 2 ngày.

Vào ngày 10, lấy dịch lên men từ tủ ủ và trộn kỹ. Chuyển một que cấy vòng dịch lên men vào 0,1 ml KOH 0,5% trong muối và trộn trong 2 - 3 giây. Cấy trải lên môi trường thạch MacConkey và CIN. Chuyển 0,1 ml dịch tăng sinh vào 1 ml nước muối 0,5% và trộn 5-10 giây trước khi cấy trải lên môi trường thạch MacConkey và CIN. Ủ ở 30°C trong 1-2 ngày.

Trên môi trường thạch CIN sau 1 ngày ủ, chọn các khuẩn lạc nhỏ có kích thước khoảng 1 - 2 mm, có tâm màu đỏ sẫm, bờ nhẵn, có vòng không màu bao xung quanh bờ đều.

Bảng 60.4. Đặc điểm sinh hóa của các loài *Yersinia* (BAM, FDA).

Phản ứng	<i>Yersinia species</i>										
	<i>Y. pestis</i>	<i>Y. pseudo tuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. kristensenii</i>	<i>Y. aldovae</i>	<i>Y. rohdei</i>	<i>Y. mollaretii</i>	<i>Y. bercovieri</i>	<i>Y. ruckeri</i>
Arginine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornithine	-	-	+(c)	+	+	+	+	+	+	+	+
Di động ở 22-26°C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35-37°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urea	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Phenylalanine deaminase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+/-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cellobiose	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	+/-(+)	+/-(+)	+/-(+)	+/-(+)	+	-	+/-	-	-
Sucrose	-	-	+(c)	+	+	-	-	+	+	+	-
Rhamnose	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
Raffinose	-	+/-	-	+	-	-	-	+/-	-	-	-
Melibiose	-	+/-	-	+	-	-	-	+/-	-	-	-
Simmons citrate	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+	-	-	+

Chương 60. Yersinia

VP	-	-	+/-(+)	+	+	-	+	-	-	-	-
Indole	-	-	+/-	+	+	+/-	-	-	-	-	-
Salicin	+/-	+/-	+/-	+	+	-(+/-)	-	-	+/-	(+)	
Esculin	+	+	+/-	+	+	-	+	-	(+)	(+)/-	-
Lipase	-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	
Pyrazinamidase	-	-	+/-	+	+	+	+	+	+	+	

^a+ = dương sau 3 ngày ở nhiệt độ phòng, (+) = dương sau 7 ngày ở nhiệt độ phòng.

^b Một số chủng *Y. intermedia* cho kết quả âm hoặc Simmons citrate, rhamnose và melibiose, hoặc là raffinose và Simmons citrate. ^c Một số kiểu sinh học của 5 chủng có kết quả âm.

Cấy khuẩn lạc đã được chọn lọc vào môi trường thạch nghiêng LAIA, đĩa môi trường thạch Christensen's urea hay thạch nghiêng và đĩa môi trường thạch bile esculin agar hay thạch nghiêng bằng que cấy thẳng. Sau 48 giờ ủ ở nhiệt độ phòng. Các chủng phân lập có phần nghiêng kiềm alkaline và phần thân acid, không sinh hơi và không sinh H₂S (KA– –) trong LAIA, cho thấy urease dương, là *Yersinia* giả định. Bỏ qua các chủng sinh H₂S và hoặc sinh hơi trong LAIA hay có urease âm. Các chủng phân lập điển hình thường không thủy giải esculin nên không có màu đen.

Bảng 60.5. Phản ứng sinh hóa của các kiểu sinh học *Y. enterocolitica*.

Thử nghiệm	Phản ứng cho các kiểu sinh học						
	1A	1B	2	3	4	5	6
Lipase	+	+	-	-	-	-	-
Esculin/salicin	+/-	-	-	-	-	-	-
(24 h)							
Indole	+	+	(+)	-	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	-	V	+
Trehalose	+	+	+	+	+	-	+
Pyrazinamidase	+	-	-	-	-	-	+
β -D-	+	-	-	-	-	-	-
Glucosidase							
Voges-	+	+	+	+/- ^(c)	+	(+)	-
Proskauer							

^a Dựa trên Wauters. ^b () = phản ứng chậm; V = phản ứng dao động. ^c Kiểu sinh học của serotype O:3 phát hiện ở Nhật Bản.

60.3.5. Điều trị

Dinh dưỡng tốt và hydrate hóa là biện pháp chính trong điều trị. Vai trò của liệu pháp kháng sinh ở trường hợp viêm ruột kết cấp tính không có biến chứng và viêm hạch mạc treo ruột (mesenteric adenitis) thì không được thiết lập. Liệu pháp kháng sinh chỉ sử dụng cho bệnh nhân (a) nhiễm trùng máu, (b) có biểu hiện chủ yếu ngoài ruột và (c) viêm ruột kết (enterocolitis) người bị suy giảm miễn dịch. Tetracycline, aminoglycosides và trimethoprim/sulfamethoxazole là những kháng sinh được lựa chọn.

60.4. *Yersinia pseudotuberculosis*

60.4.1. Giới thiệu

Y. pseudotuberculosis là loài thứ ba thuộc *Yersinia* gây bệnh xâm nhiễm ở người. Khuẩn này được mô tả vào năm 1889; trước đây *Y. pseudotuberculosis* được đặt tên là *Pasteurella* và sau đó là *Shigella pseudotuberculosis*. Đến những năm của thập niên 1960, khuẩn này được đặt tên là *Y. pseudotuberculosis*. Tính gây bệnh của vi khuẩn này đã được Znamenskiy người Nga đã chứng minh bằng cách tự cấy vào người của ông.

60.4.2. Đặc điểm sinh học

Y. pseudotuberculosis là trực khuẩn Gram âm, có kích thước nhỏ, lưỡng cực, có dạng hình trứng. Khuẩn này không hình thành bào tử, capsule và có tính acid fast nhẹ. *Y. pseudotuberculosis* di động ở 22°C nhưng bất động ở 37°C. Khuẩn này có oxidase âm, catalase dương và urease dương. Là cầu trực khuẩn không có khả năng lên men lactose, đây là đặc điểm khác với các loài *Yersinia* khác như *Y. enterocolitica* có khả năng lên men sorbitol, hoạt tính khử ornithine decarboxylase và các thử nghiệm khác (Bảng 60.6).

Bảng 60.6. Đặc điểm phân biệt các loài *Yersinia*.

Đặc điểm	<i>Yersinia pestis</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
Tăng trưởng trên môi trường thạch MacConkey	+	+	+
Di động ở 22°C	-	+	+
Thử nghiệm oxidase	-	-	+
Thử nghiệm urease	-	+	+
Thử nghiệm indole	+	-	+
Sinh acid từ sucrose	+	-	+
Sinh acid từ maltose	-	+	+
Sinh acid từ rhamnose	-	+	-
Sinh acid từ melibiose	-	+	-
Thử nghiệm ornithine decarboxylase	-	-	+

Y. pseudotuberculosis là vi khuẩn có khả năng biến dưỡng trong điều kiện hiếu khí

và kỵ khí tùy nghi. Trên môi trường thạch MacConkey hay eosin-methylene blue (EMB), khuẩn này tăng trưởng tối thích ở nhiệt độ 20 - 35°C. Sự tăng trưởng của vi khuẩn được tăng cường đáng chú ý ở nhiệt độ thấp hơn ví dụ tăng sinh ở 4°C trong đệm muối. Khuẩn này tăng trưởng chậm trên môi trường thạch máu và thạch chocolate, chúng hình thành khuẩn lạc nhỏ, có màu xám và trong mờ sau 24 - 72 giờ ủ.

Y. pseudotuberculosis được phân thành 6 serotype, được đánh số từ I - VI và một và một kiểu phụ (subtype), thuộc nhóm O, type I và II, có vai trò chính trong việc gây bệnh cho người. Khoảng 80% bệnh ở người do các serotype của type I gây ra. Khuẩn này biểu hiện phản ứng chéo kháng nguyên với *Y. pestis* và *salmonellae*.

Trong thực nghiệm cho *Y. pseudotuberculosis* xâm nhiễm vào chuột lang sẽ tạo ra nhiều cục u nhỏ (nodule) ở phổi, lá lách và gan, trong giống như tổn thương do lao, vì vậy nên được gọi là chứng bệnh lao giả (pseudotuberculosis).

60.4.3. Đặc điểm gây bệnh

Bệnh mắc phải ở người chủ yếu thông qua việc tiêu thụ thực phẩm bị nhiễm khuẩn. Liều xâm nhiễm của vi khuẩn khoảng 10^9 tế bào. *Y. pseudotuberculosis* gây ra nhiều triệu chứng bệnh lâm sàng như viêm hạch bạch huyết mạc treo ruột (mesenteric lymphadenitis), bệnh u hạt và nhiễm trùng lan tỏa. Bệnh nhân có tiền sử bị bệnh gan và có bằng chứng bị xơ gan thì dễ bị bệnh nhiễm trùng hơn.

Y. pseudotuberculosis chủ yếu gây viêm dạ dày ruột. Thời gian ủ bệnh dao động từ 5 đến 10 ngày. Viêm dạ dày ruột có đặc trưng bởi chứng viêm hạch bạch huyết mạc treo ruột tự giới hạn giống như viêm ruột thừa cấp (self-limited mesenteric lymphadenitis simulating acute appendicitis). Sốt, đau bụng (thường ở vị trí góc phần tư bên phải dưới) và phát ban (rash) là bộ ba triệu chứng chính của bệnh do *Y. pseudotuberculosis* xâm nhiễm gây ra. Tiêu chảy thì không phổ biến. Nốt hồng ban (Erythema nodosum) và chứng viêm khớp phản ứng (reactive arthritis) là những biến chứng đáng chú ý của bệnh do vi khuẩn này gây ra.

(a). Triệu chứng sốt Izumi, do *Y. pseudotuberculosis* gây ra. Bệnh có đặc trưng gồm sốt tinh hồng nhiệt (scarlatiniform rash), triệu chứng toàn thân và phình động mạch vành (coronary artery aneurysm).

(b). Sốt tinh hồng nhiệt viễn đông (Far East scarlatinoid fever) là một triệu chứng khác do vi khuẩn gây ra. Sự hiện diện của sốt dạng tinh hồng nhiệt (scarlatinoid-appearing rash) trên đầu và cổ, ban đỏ (erythema) ở các chi trên và dưới, ban nội (enanthem) niêm mạc và lưỡi nổi gai hay còn gọi là lưỡi dâu (strawberry tongue) là những đặc điểm đặc trưng của hội chứng này.

Ban đỏ nốt (erythema nodosum), đau khớp (arthralgias), viêm khớp phản ứng và viêm khớp dính đốt sống (ankylosing spondylitis), cùng với đó là viêm ruột hồi đoạn cuối và bệnh lồng ruột (intussusceptions), nhất là ở trẻ em, là những biểu hiện lâm sàng khác của bệnh do *Y. pseudotuberculosis* xâm nhiễm gây ra.

Bệnh *Y. pseudotuberculosis* phân bố khắp nơi trên thế giới. Hầu hết các trường hợp xuất hiện ở các tháng mùa đông, do nhiệt độ lạnh thích hợp cho vi khuẩn tăng trưởng. Hầu hết các trường hợp xuất hiện ở Châu Âu. Hà Lan đã bùng nổ quy mô lớn, ở vùng Aomori của Nhật Bản vào những năm đầu của thập niên 1990 và ở những trẻ sử dụng nước chưa xử lý trong vùng Okayama, Nhật Bản vào năm 1991. Các trường hợp nhiễm trùng huyết thì ít; ít hơn 30 trường hợp nhiễm trùng huyết đã được báo cáo trên thế giới.

Y. pseudotuberculosis chủ yếu lây lan từ động vật. Nguồn động vật gồm nhiều loài thú và chim như ngựa, gia súc, chó, nai, mèo, thỏ, gặm nhấm và lông vũ như ngỗng, gà tây, vịt, hoàng yến, vịt mào, Những người làm việc trong lò giết mổ heo có nguy cơ cao nhiễm *Y. pseudotuberculosis*.

60.4.4. Phương pháp phát hiện

Các phương pháp sau thường được sử dụng để phát hiện *Y. pseudotuberculosis* trong phòng thí nghiệm:

(a). Phân lập vi khuẩn bằng nuôi cấy phân, máu, CSF, dịch màng bụng, dịch hoạt dịch (synovial fluid) hay sinh thiết cơ quan như mô ruột, da.

(b). Khó phân lập vi khuẩn từ đất do chúng tăng trưởng chậm và bị hệ vi khuẩn phân tăng trưởng quá mức nên lấn át. Tuy nhiên nuôi cấy phân có thể thuận lợi phát hiện vi khuẩn này bằng cách cho tăng sinh trong điều kiện lạnh, cùng với đó là sử dụng môi trường đặc biệt như CIN agar hoặc xử lý bằng kiềm.

(c). Xét nghiệm mô cho đặc trưng như hạch bạch huyết mạc treo ruột có thể thấy được cả bệnh lý và vi khuẩn có trong mô.

(d). ELISA và thử nghiệm ngưng kết được sử dụng để chứng minh kháng thể huyết thanh xuất hiện ngay sau khi bệnh tấn công nhưng sẽ giảm qua thời gian từ 2 - 6 tháng.

Sự gia tăng của kháng thể ngưng kết trong các mẫu huyết thanh đôi, được thu thập sau 2 tuần dùng để chẩn đoán. Tuy nhiên thử nghiệm này sẽ cho kết quả dương tính giả do phản ứng trong huyết thanh từ những bệnh nhân bị nhiễm các loài vi khuẩn như: *Yersinia*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Brucella* và *Rickettsia* do có mặt của các kháng thể phản ứng chéo.

PCR và Realtime PCR được sử dụng để phát hiện *Y. enterocolitica* và *Y. pseudotuberculosis* trong thực phẩm, nước và các mẫu môi trường.

60.4.5. Điều trị

Liệu pháp kháng sinh chỉ chỉ định cho những bệnh nhân trẻ tuổi hơn bị bệnh nghiêm trọng và người bệnh bị suy giảm miễn dịch. Nhóm tetracycline, aminopenicillin và aminoglycoside là những kháng sinh thường được sử dụng để điều trị.