

Trực khuẩn Gram âm

ThS.BS. Nguyễn Ngọc Lân

Mục tiêu học tập:

1. Liệt kê được một số loại trực khuẩn gram âm quan trọng gây bệnh ở người
2. Nêu được đặc điểm hình dạng, tính chất tăng trưởng của trực khuẩn gram âm quan trọng (Vi khuẩn *Acinetobacter* & *Pseudomonas*)
3. Liệt kê được các yếu tố độc lực của trực khuẩn gram âm quan trọng, và vai trò của các yếu này trong khả năng gây bệnh và cơ chế bệnh sinh

Nội Dung Bài Học

I. TRỰC KHUẨN GRAM ÂM ĐƯỜNG RUỘT

- Hình dạng
- Tính chất tăng trưởng
- Yếu tố độc lực và vai trò của chúng trong gây bệnh & cơ chế bệnh sinh
- Chẩn đoán vi sinh, phòng ngừa và điều trị

II. VI KHUẨN PSEUDOMONAS

- Hình dạng
- Tính chất tăng trưởng
- Yếu tố độc lực và vai trò của chúng trong gây bệnh & cơ chế bệnh sinh
- Chẩn đoán vi sinh, phòng ngừa và điều trị

Trực khuẩn gram âm

- Trực khuẩn gram âm đường ruột (gọi chung là vi khuẩn đường ruột):

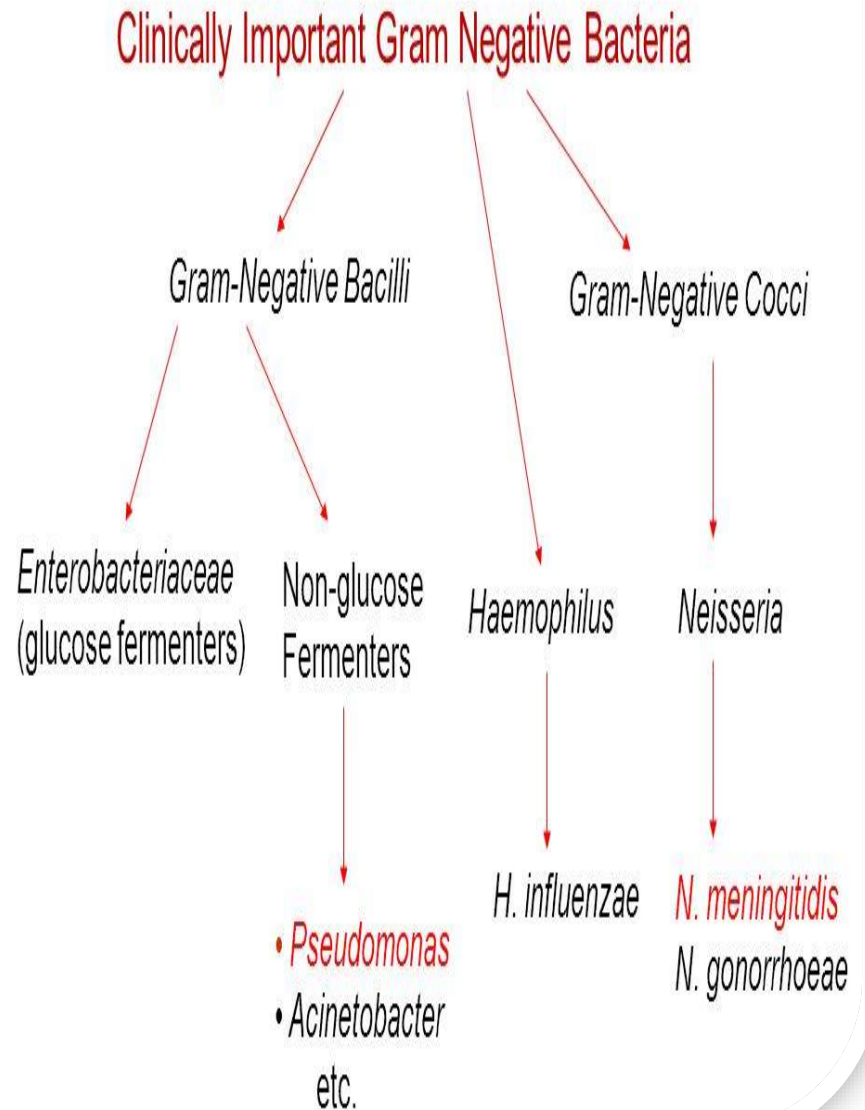
Enterobacteriaceae

- Trực khuẩn gram âm không lên men glucose:

Nhóm *Pseudomonad*

Nhóm *Acinetobacter*

Nhóm khác



VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT (ENTEROBACTERIACEAE)

- Đại cương về vi khuẩn đường ruột (VKĐR)
- Đặc điểm cấu trúc, sinh lý của VKĐR
- Đặc điểm nuôi cấy của VKĐR
- Khả năng gây bệnh của VKĐR
- Một số VKĐR quan trọng

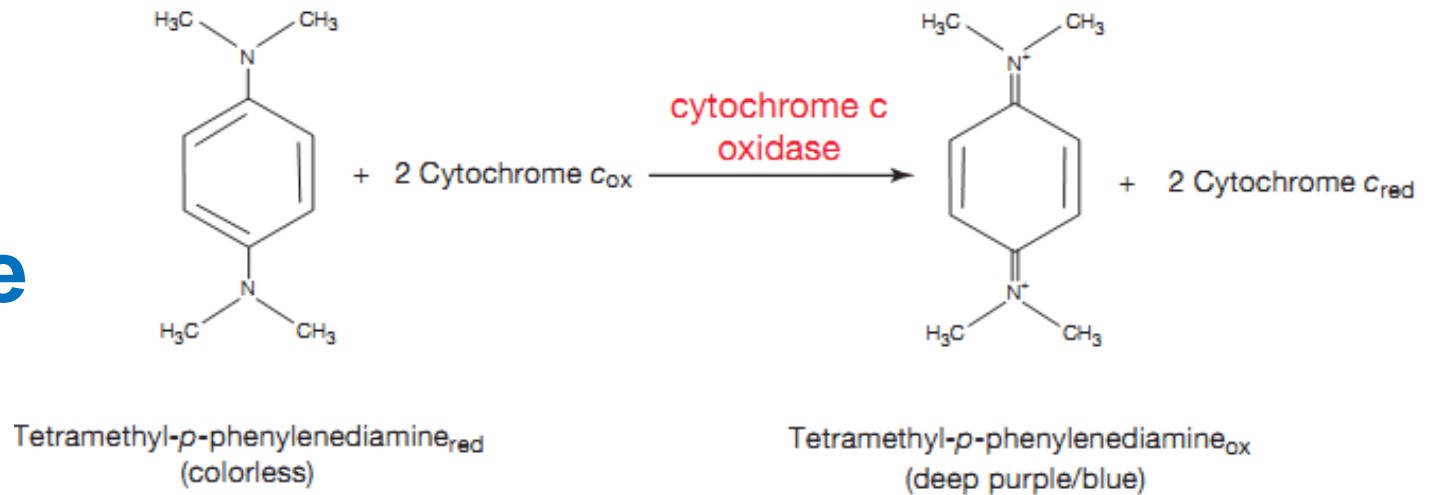
Tính chất chung

Vi khuẩn đường ruột là trực khuẩn Gram âm:

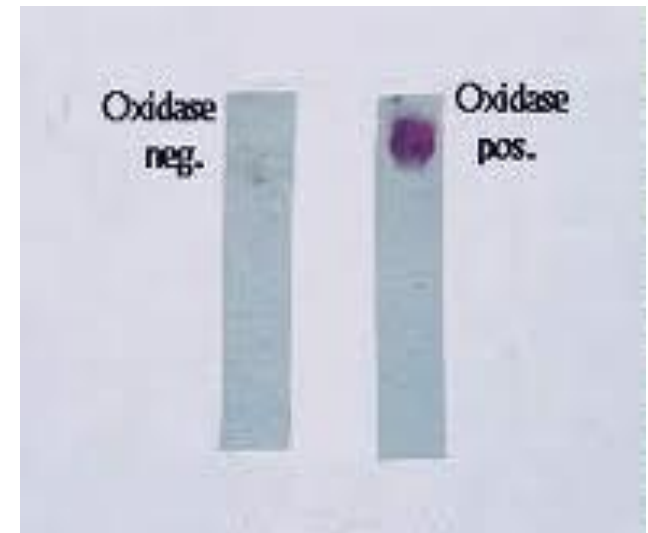
- Di động (có hoặc không có)
- Hiếu khí hoặc kỵ khí tùy nghi
- Lên men glucose, sinh hơi (có hoặc không có)
- Khử nitrate thành nitrite
- Không có enzyme oxidase
- Mọc được trên các môi trường nuôi cấy thông thường

Vi khuẩn đường ruột không có enzyme oxidase

Phản ứng oxidase



<http://chswab.lk12.nj.us/psidelsky/class%20eleven%20summer.htm>



http://www.coleparmer.com/Product/Test_for_cytochrome_oxidase_activity/EW-36151-16

Edwards-Ewing, 1986

<i>Tộc (Tribe)</i>		<i>Chi (Genus/Genera)</i>
Tộc I	Escherichieae	<i>Escherichia</i>
		<i>Shigella</i>
Tộc II	Edwardsielleae	<i>Edwardsiella</i>
Tộc III	Salmonelleae	<i>Salmonella</i>
Tộc IV	Citrobactereae	<i>Citrobacter</i>
Tộc V	Klebsielleae	<i>Klebsiella</i>
		<i>Enterobacter</i>
		<i>Serratia</i>
		<i>Hafnia</i>
Tộc VI	Proteeae	<i>Proteus</i>
		<i>Morganella</i>
		<i>Providencia</i>
Tộc VII	Yersinieae	<i>Yersinia</i>
Tộc VIII	Erwinieae	<i>Erwinia</i>

Đặc điểm cấu trúc, sinh lý VKĐR

Nhóm gây bệnh đường ruột:

E. Coli

Shigella

Salmonella

Yersinia

Nhóm không gây hay ít gây bệnh đường ruột (vi khuẩn thường trú):

E. Coli

Proteus

Enterobacter

Klebsiella

Morganella

Providencia

Citrobacter

Serratia

Vi khuẩn đường ruột

Đứng rải rác, đôi khi xếp thành cặp;
trung bình dài $2-4\mu\text{m}$, đường kính $0.8-1\mu\text{m}$

Một số có nang

Phần lớn di động nhờ chiên mao

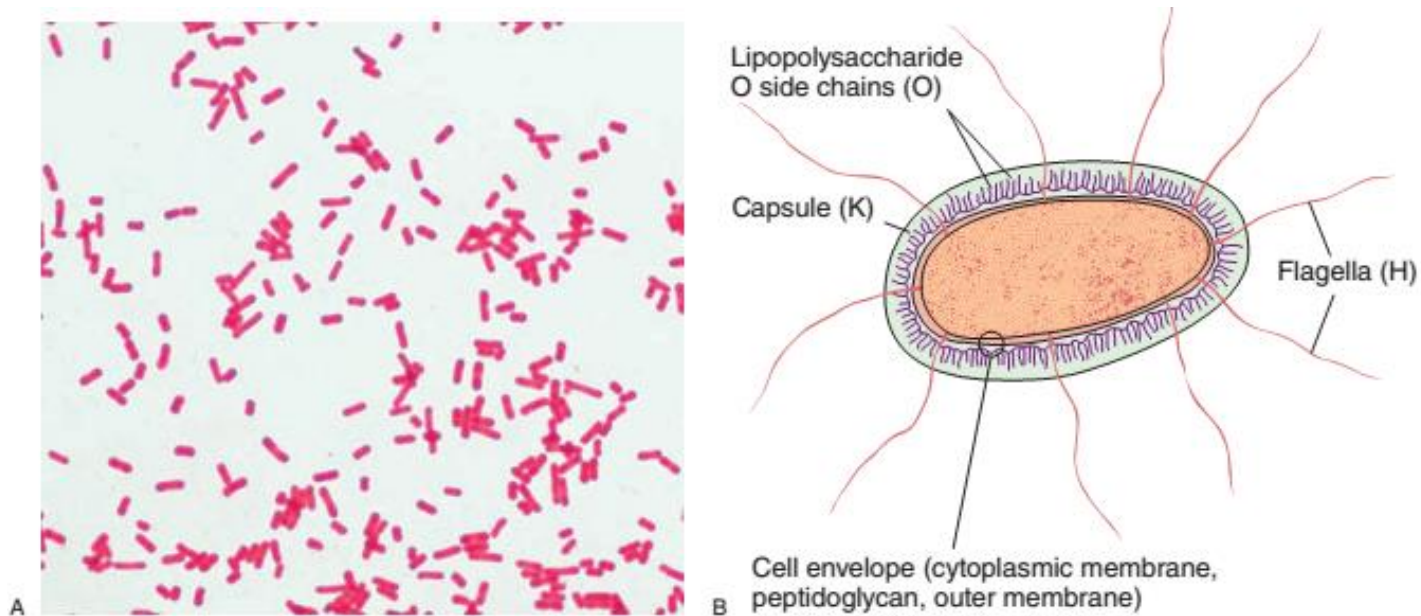
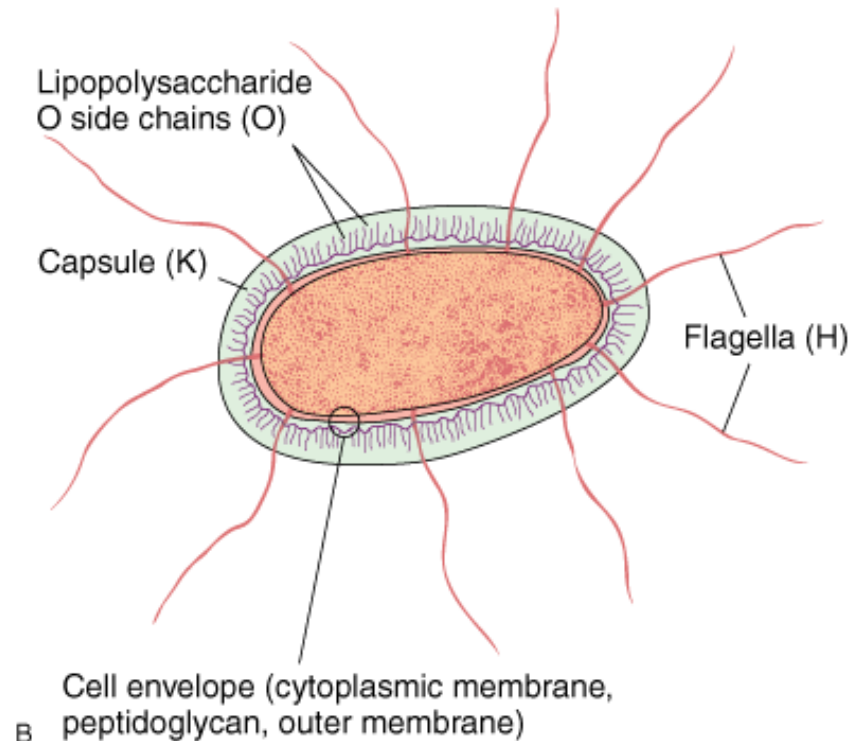


FIGURE 15-1 A: Gram stain of *Escherichia coli*. Original magnification $\times 1000$. (Courtesy of H Reyes.) B: Antigenic structure of *Enterobacteriaceae*.

Kháng nguyên bề mặt của vi khuẩn đường ruột

- Có cấu trúc kháng nguyên phức tạp
- Dựa vào tính chất kháng nguyên để phân chia thành các *serogroup* hay *serotype* khác nhau
- Có 3 loại cơ bản:
 1. Kháng nguyên O
 2. Kháng nguyên H
 3. Kháng nguyên K



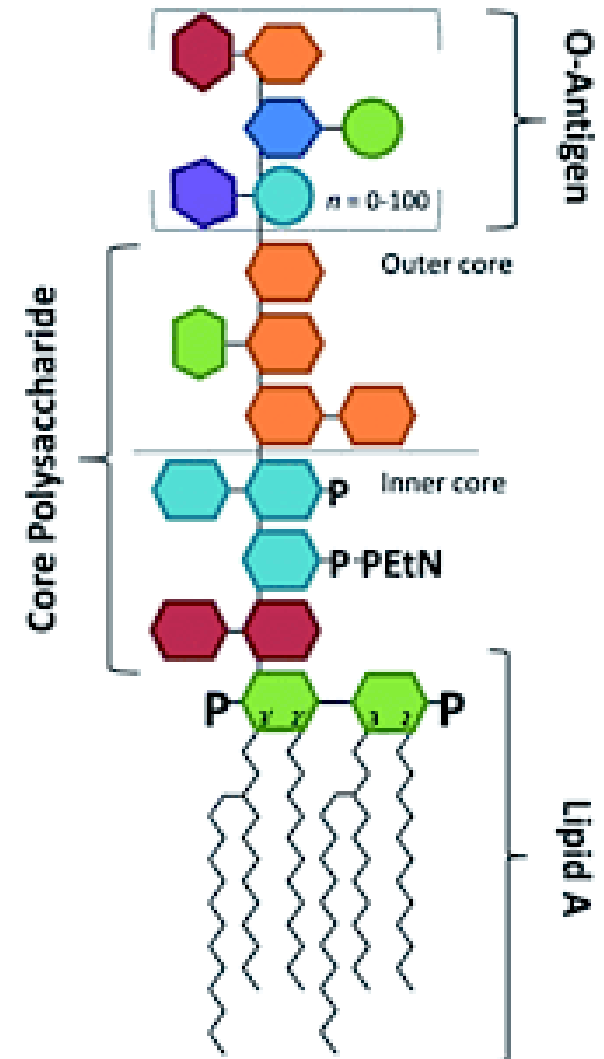
Source: Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA: *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 25th Edition: <http://www.accessmedicine.com>

Kháng nguyên O

Là kháng nguyên nằm trong vách tế bào, bản chất là lipopolysaccharide (LPS)

LPS bao gồm:

- ***O polysaccharide***: quyết định tính **đặc hiệu** của kháng nguyên
- ***Core polysaccharide***: quy định tính kháng nguyên (common antigen)
- ***Lipid A***: quyết định tính độc lực



Đặc tính kháng nguyên O

- Không bị hủy bởi nhiệt độ 100°C trong 2 giờ
- Không bị hủy bởi alcohol 50%
- Mất hoạt tính bởi formol 5%
- Rất độc: gây ra các phản ứng *giảm bạch cầu*, sốt và *nhiễm độc* ở người và động vật
- Có kháng thể kháng kháng nguyên O.

Hiện tượng “ngưng kết O”: vi khuẩn ngưng kết với nhau dưới dạng những hạt nhỏ, lắng khó tan

Kháng nguyên H (kháng nguyên chiêm mao)

Chỉ có ở vi khuẩn có chiêm mao, bản chất là protein giống như myosin của cơ

- Bị hủy bởi nhiệt độ 100⁰C
- Bị hủy bởi alcohol 50%
- Bị hủy bởi proteinase
- Không bị hủy bởi formol 5%
- Kháng thể kháng kháng nguyên H: IgG

Hiện tượng “ngưng kết H”: dạng những hạt to hơn, lắng dễ tan hơn; vi khuẩn mất khả năng di động

Kháng nguyên K (kháng nguyên nang)

- *Chỉ có ở vi khuẩn đường ruột có nang*, bản chất là polysaccharide hoặc protein (tùy theo loài)
- Liên quan đến độc tính của vi khuẩn

Ở Salmonella: kháng nguyên Vi (**Vilurence**)

- Kháng nguyên K: ở bên ngoài kháng nguyên O
 - *Vi khuẩn không có kháng nguyên K: kháng nguyên O ở ngoài cùng → “Ngưng kết O”: xảy ra rất rõ*
 - *Vi khuẩn có kháng nguyên K: kháng nguyên O bị che phủ → “Ngưng kết O”: bị che lấp*

Yếu tố độc lực của vi khuẩn đường ruột

❑ LPS (endotoxin)

- *O polysaccharide*
- *Core polysaccharide*
- *Lipid A*

❑ Kháng nguyên

- Nang (K)
- Lôg (H)

❑ Yếu tố bám dính, yếu tố xâm nhập tế bào chủ

- Nang
- Fimbriae (pili)
- Hệ thống tiết type III

❑ Exotoxin

❑ Hemolysin

❑ Protein gắn sắt

❑ Bacteriocin

siderophores or iron-chelating compounds (e.g., **enterobactin**, **aerobactin**)

Nuôi cấy

Hiếu khí hoặc kỵ khí tùy nghi, phát triển được trên môi trường nuôi cấy thông thường

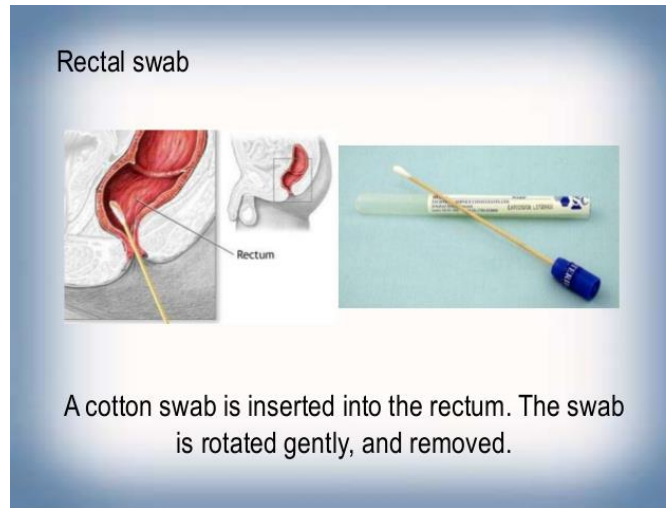
- Khuẩn lạc nhẵn, bóng
(**dạng S**, smooth)
- Khuẩn lạc có bề mặt khô và xù xì
(**dạng R**, rough)
- Khuẩn lạc nhầy
(**dạng M**, mucoid)



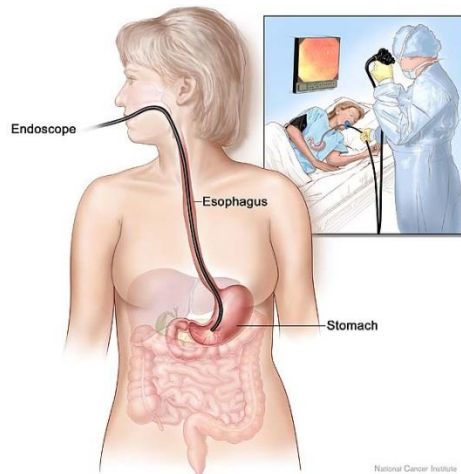
PP LẤY BỆNH PHẨM ĐƯỜNG TIÊU HÓA



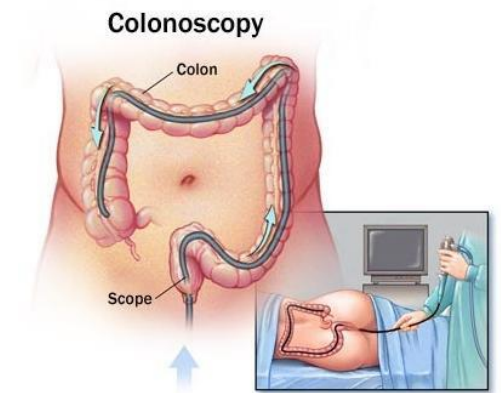
Phân



Phết trực tràng

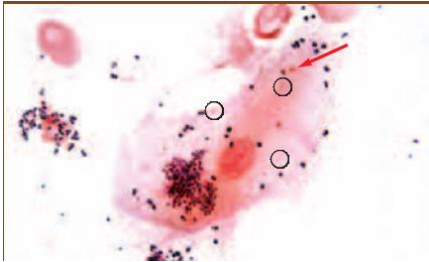


Nội soi dạ dày



Nội soi đại tràng

CÁC LOẠI XÉT NGHIỆM VI SINH



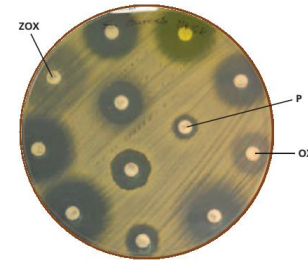
Nhuộm

- Nhuộm Gram
- Nhuộm kháng acid



Nuôi cấy, định danh

- Hiếu khí
- Kỵ khí



Tính chất sinh hoá

- Lên men glucose có sinh hơi hoặc không sinh hơi
- Oxidase âm tính; catalase dương tính; khử nitrate thành nitrite
- Lên men hoặc không lên men một số loại đường (lactose)
- Có hay không có một số enzym như urease; tryptophanase
- Khả năng sinh ra H_2S khi dị hoá protein, acid amin, hoặc các dẫn xuất có lưu huỳnh

	TSI	GA S	H ₂ S	MOT	IND	Sucr ose	Man nitol	Duci tol	CIT	LY S	UR E	PAD
E.coli	A/A	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
Klebsiella	A/A	++	-	-	-	+	+	+/-	+	+	+	-
Proteus	Alk/ A	+	+	+	+	+	-	-	+	-	++	+
Shigella	Alk/ A	-	-	-	-	+	+	+/-	-	-	-	-
<i>Salmonella</i>	Alk/ A	+	+	+	-	-	+	+/-	+	+	-	-

CÁC LOẠI MÔI TRƯỜNG

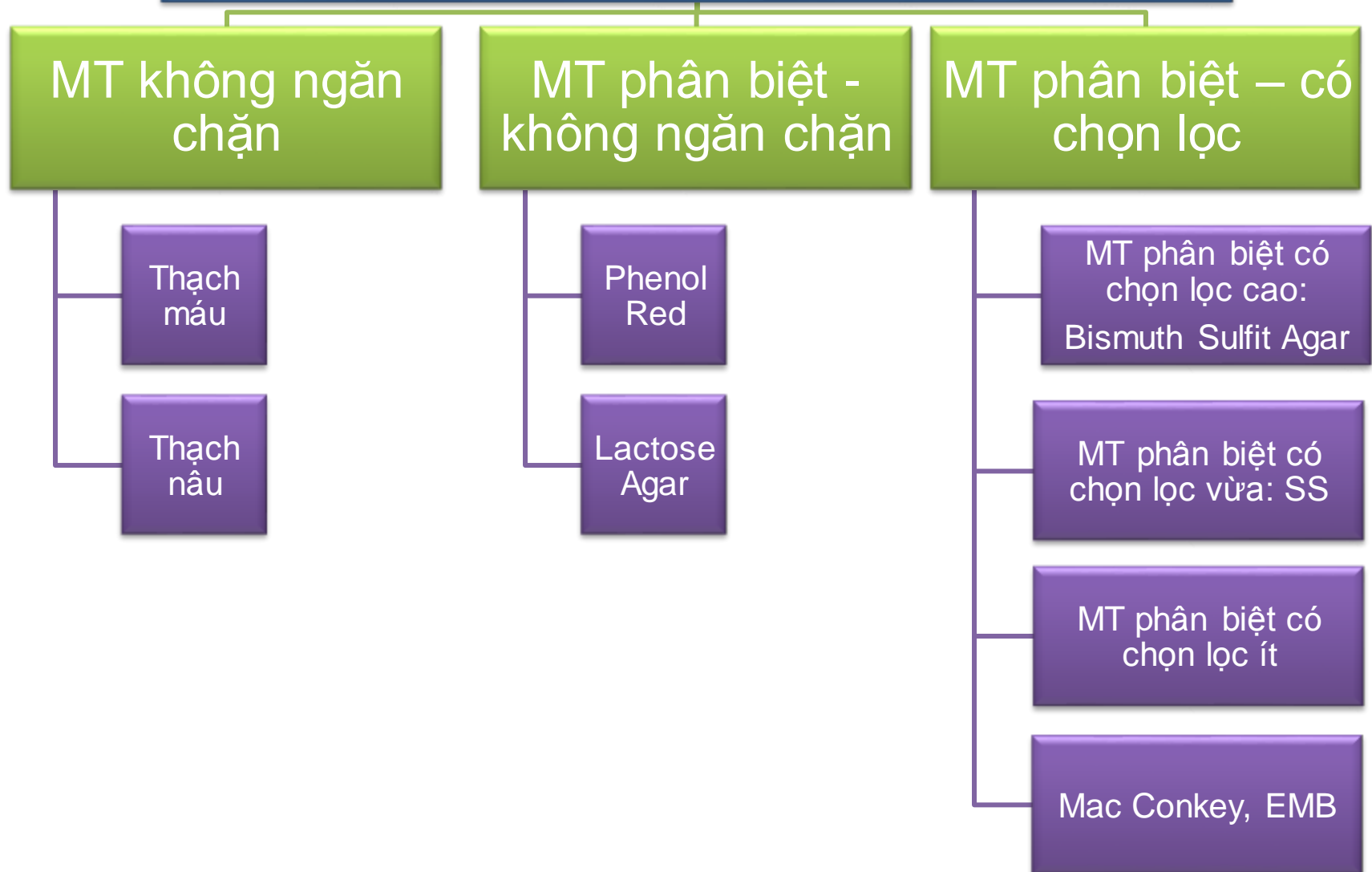
Môi trường chuyên chở

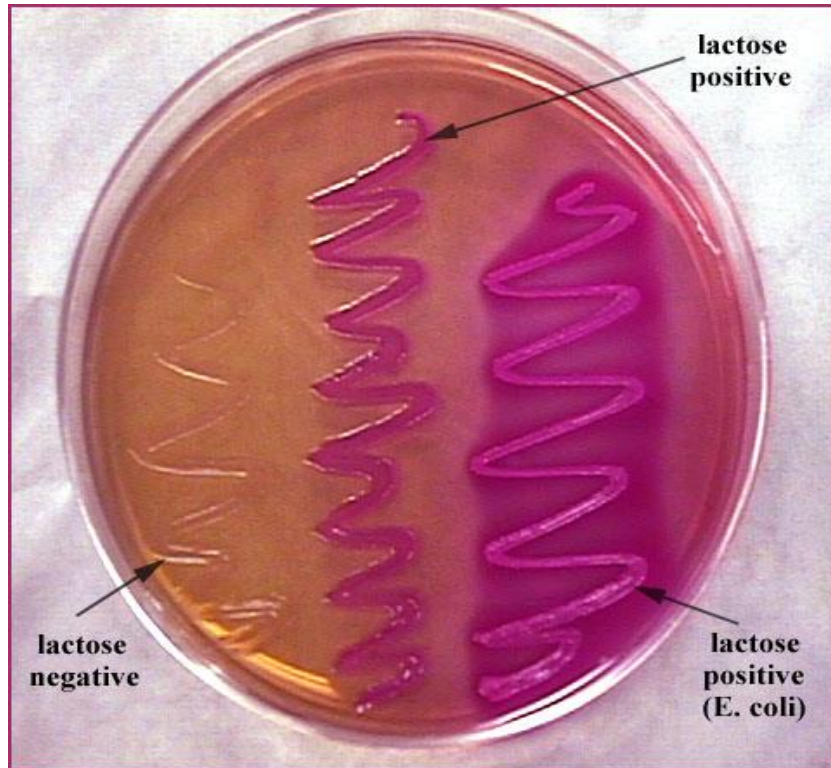


Môi trường phong phú

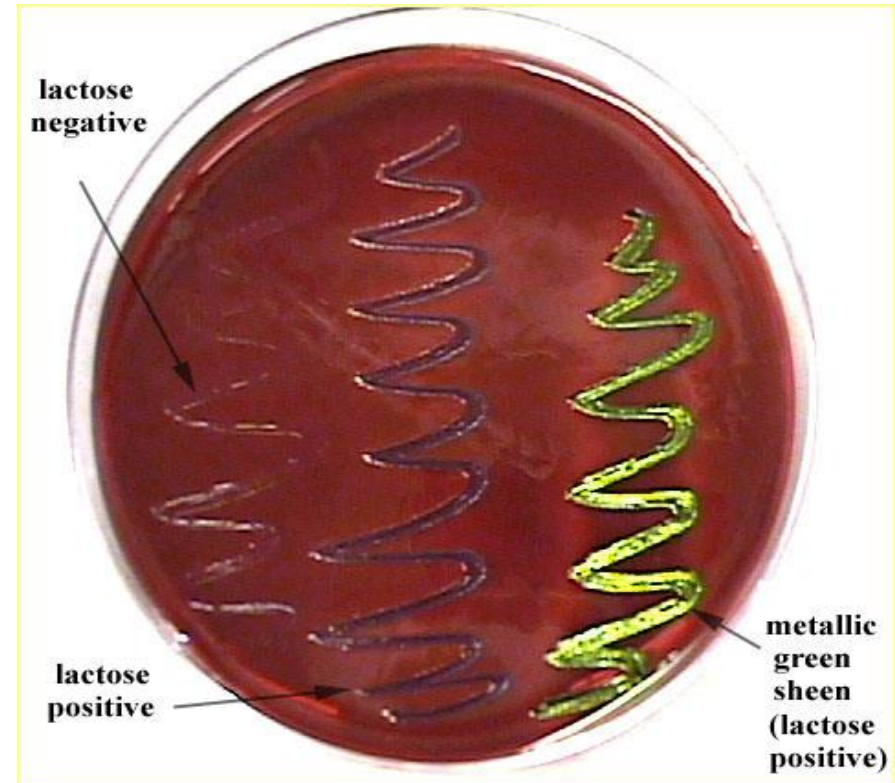


Môi trường phân lập

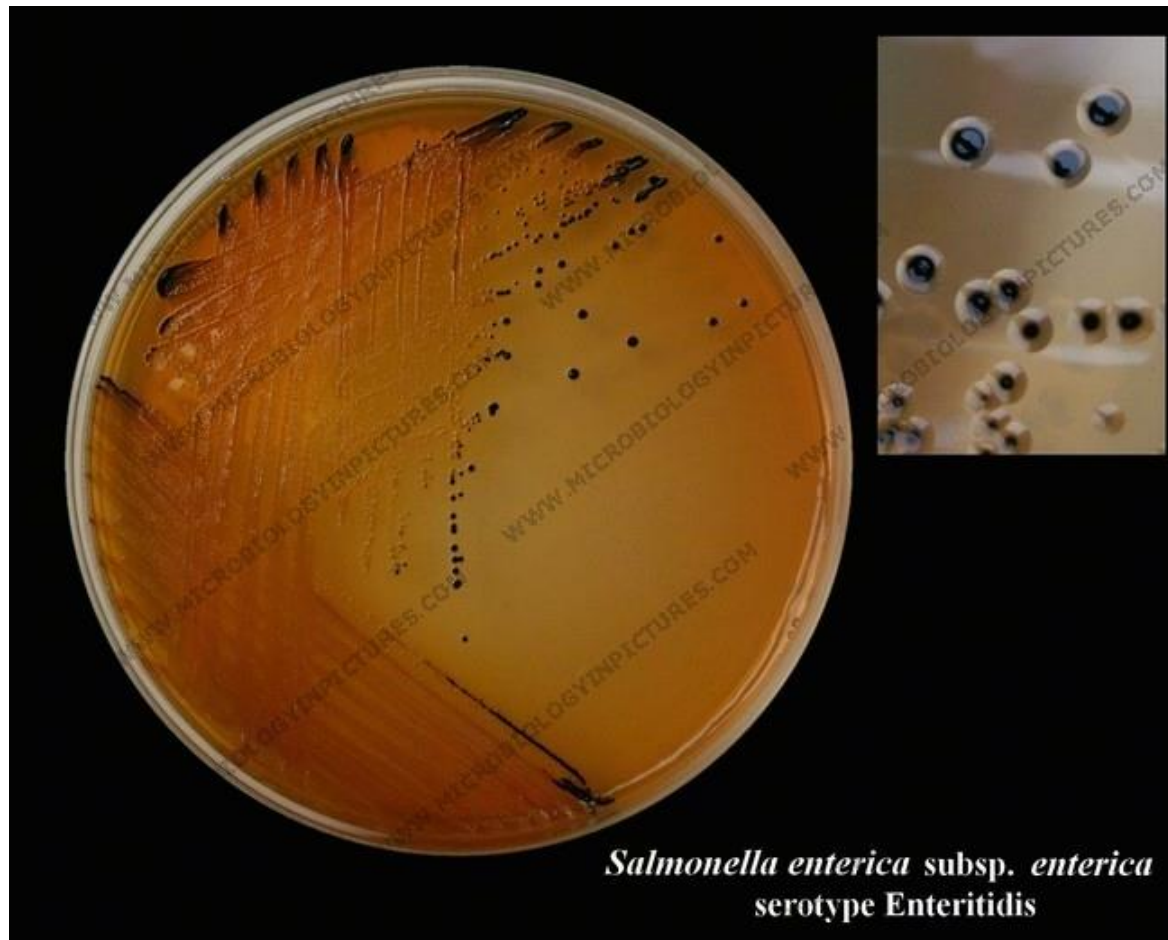




**Mac Conkey (Bile salt+Crystal violet)
Lactose/Neutral Red...**



EMB (Eosin Methylen Blue)



SS Agar (Salmonella-Shigella Agar)

Peptones 10.0; lactose 10.0; ox bile 8.5; sodium citrate 10.0; sodium thiosulfate 8.5; ammonium iron(III) citrate 1.0; brilliant green 0.0003; neutral red 0.025; agar-agar 12.0.

Một số VKĐR quan trọng

ESCHERICHIA COLI (E.coli)

- **Thường trú ở đường ruột**

(vd: ruột già - vùng hồi manh tràng)

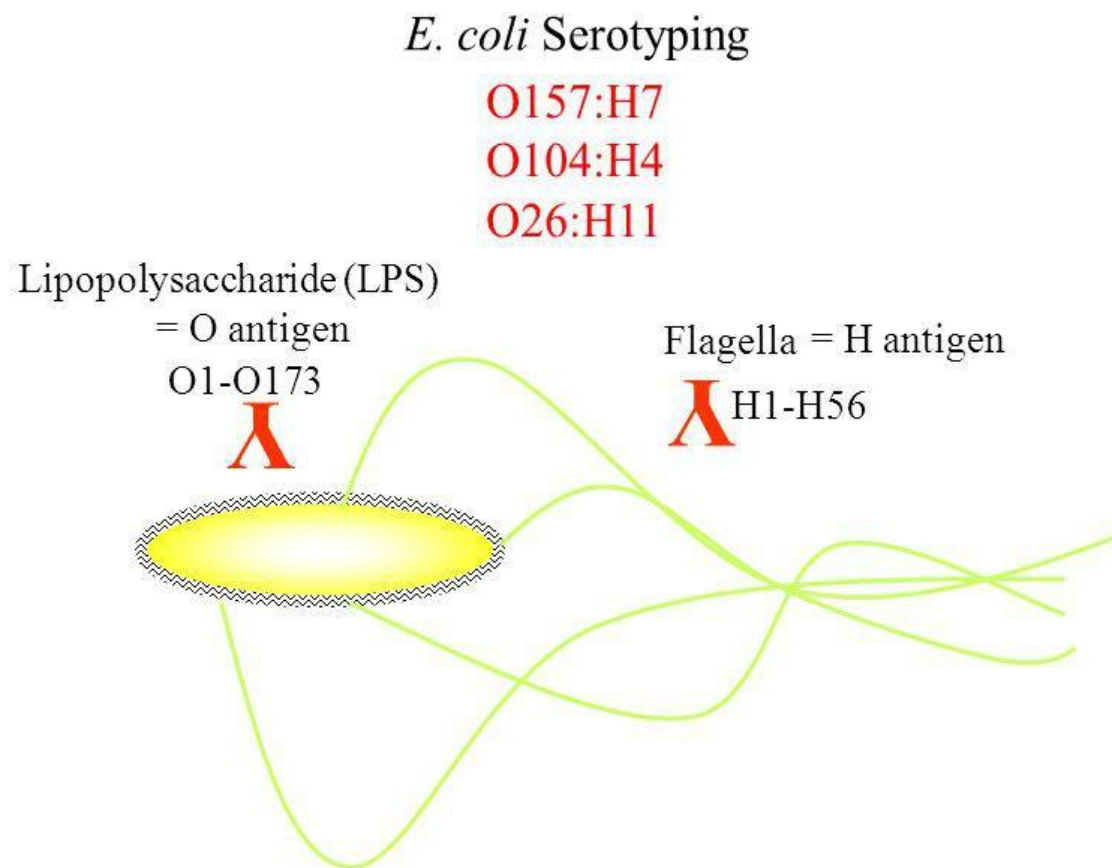
- **Gây bệnh khi ra khỏi nơi
thường trú**

(vd: nhiễm khuẩn tiểu, nhiễm khuẩn
huyết, viêm màng não sơ sinh)


Serotype của *E.coli*

Hiện nay *E.coli* có rất nhiều **serotype**, dựa vào:

- Kháng nguyên O:
160 yếu tố
- Kháng nguyên K:
100 yếu tố
- Kháng nguyên H:
50 yếu tố



Pathotype của *E.coli*

- 
1. **Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)**
 2. **Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)**
 3. **Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)**
 4. **Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)**
 5. **Enteraggregative *E. coli* (EAEC)**

4 → Verocytotoxin (VTEC); Shiga toxin (STEC)

Bệnh tiêu chảy do *E.coli* gây bệnh ở người

Pathotype	Vị trí	Bệnh
ETEC	Ruột non	Tiêu chảy ở trẻ em Tiêu chảy ở khách du lịch
EPEC	Ruột non	Tiêu chảy ở trẻ sơ sinh
EAEC	Ruột non	Tiêu chảy ở trẻ sơ sinh; người lớn
STEC/VTEC (EHEC)	Ruột già	Viêm đại tràng xuất huyết Hội chứng HUS
EIEC/ <i>Shigella</i>	Ruột già	Tiêu chảy phân đàm máu

Các yếu tố độc lực liên quan *E.coli*

Bacteria	Adhesins
ETEC	Colonization factor antigens (CFA/I, CFA/II, CFA/III)
EPEC	Bundle-forming pili (Bfp); intimin
EAEC	Aggregative adherence fimbriae (AAF/I, AAF/II, AAF/III)
EHEC	Bfp; intimin
EIEC	Invasive plasmid antigen (Ipa)
Uropathogens	P pili; Dr fimbriae

Bacteria	Exotoxins
ETEC	Heat-labile toxin (LT-1); Heat-stable toxin (STa) (#cholera toxin)
EPEC	
EAEC	Enteraggregative heat-stable toxin (EAST); Plasmid encoded toxin (Pet)
EHEC	Shiga toxins (Stx-1, Stx-2)
EIEC	Hemolysin (HlyA)
Uropathogens	

Các yếu tố độc lực liên quan *E.coli*

Bacteria	Adhesins
ETEC	Colonization factor antigens (CFA/I, CFA/II, CFA/III)
EPEC	Bundle-forming pili (Bfp); intimin
EAEC	Aggregative adherence fimbriae (AAF/I, AAF/II, AAF/III)
EHEC	Bfp; intimin
EIEC	Invasive plasmid antigen (Ipa)
Uropathogens	P pili; Dr fimbriae

Bacteria	Exotoxins
ETEC	Heat-labile toxin (LT-1); Heat-stable toxin (STa) (#cholera toxin)
EPEC	
EAEC	Enteraggregative heat-stable toxin (EAST); Plasmid encoded toxin (Pet)
EHEC	Shiga toxins (Stx-1, Stx-2)
EIEC	Hemolysin (HlyA)
Uropathogens	

Pathogenecity:

Enterotoxigenic *E. coli*

Heat labile toxin

like cholera toxin

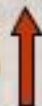
Adenyl cyclase

activated

cyclic AMP

secretion

water/ions



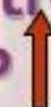
Heat stable toxin

cyclase activated

cyclic GMP

uptake

water/ions



Enteropathogenic *E. coli*

Intimin an adhesin



Bind to intestinal cell



Causes rearrangement
of actin in host cell



Attachment and effacement



Changes in ultrastructure of
intestinal cells



Prime cause of diarrhoea
affected with EPEC

Các bệnh khác do E.coli

+ Nhiễm khuẩn đường tiết niệu:

tiểu lắt nhắt, tiểu đau, tiểu máu, tiểu ra mủ

+ Nhiễm khuẩn đường sinh dục, gan mật

+ Viêm màng não:

40%: ở trẻ còn bú

*75%: có kháng nguyên K1 (phản ứng chéo với
kháng nguyên nang N.meningitidis group B*

+ Nhiễm khuẩn huyết

+ Bệnh khác

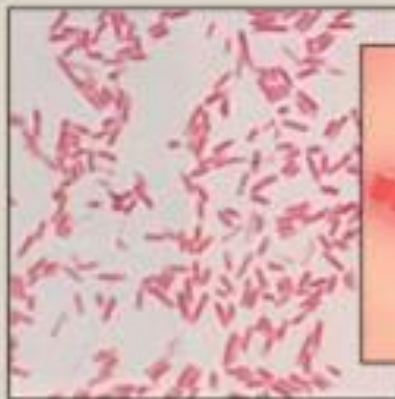
Phòng bệnh và chữa bệnh

- + Chưa có vaccin đặc hiệu (phòng bệnh chung: tôn trọng các nội quy về vệ sinh).
- + *E.coli* gây bệnh kháng một KS và kháng với nhiều loại kháng sinh khá phổ biến,
- + Điều trị dựa vào kết quả kháng sinh đồ



Gram (-) rods

Escherichia species



E. coli
(Gram stain)



MacConkey agar

- **Gram-negative**
- Short rods
- Facultative anaerobe
- Ferments glucose
- Most strains ferment lactose
- Catalase-positive
- Oxidase-negative
- Culture on MacConkey agar

Escherichia coli

● Urinary tract infections (UTI)

PENICILLINS
CEPHALOSPORINS
TETRACYCLINES
AMINOGLYCOSIDES¹

Fluoroquinolones **1** Ciprofloxacin

Other **1** Trimethoprim/
sulfamethoxazole

¹ Active against *Escherichia coli*; however,
less toxic drugs may be effective.

● Local or systemic disease

Test for sensitivity
Empiric therapy may include:

Penicillins **1** Ampicillin

Cephalosporins **1** Cefotaxime

TETRACYCLINES
AMINOGLYCOSIDES¹

Fluoroquinolones **1** Ciprofloxacin

Other **1** Trimethoprim/
sulfamethoxazole

¹ Active against *Escherichia coli*; however,
less toxic drugs may be effective.

● Meningitis in infants

PENICILLINS

Cephalosporins **1** Cefotaxime

TETRACYCLINES
AMINOGLYCOSIDES¹
FLUOROQUINOLONES
OTHER

¹ Active against *Escherichia coli*; however,
less toxic drugs may be effective.

SHIGELLA

- Tính chất sinh hóa: lên men glucose không sinh hơi (trừ *S.flexneri* type 6)
- Không lên men lactose (trừ *S.sonnei*), không sinh H₂S, không sử dụng citrate...

	TSI	GA S	H ₂ S	MOT	IND	Sucr ose	Man nitol	Duci tol	CIT	LY S	UR E	PAD
<i>E.coli</i>	A/A	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>Klebsiella</i>	A/A	++	-	-	-	+	+	+/-	+	+	+	-
<i>Proteus</i>	Alk/ A	+	+	+	+	+	-	-	+	-	++	+
<i>Shigella</i>	Alk/ A	-	-	-	-	+	+	+/-	-	-	-	-

Kháng nguyên Shigella:

- Kháng nguyên K (một số)
- Kháng nguyên H (không có)
- Kháng nguyên O kết hợp với tính chất sinh hóa:

4 nhóm gây bệnh

Present Designation	Group and Type	Mannitol	Ornithine Decarboxylase
<i>Shigella dysenteriae</i>	A (10 type)	–	–
<i>Shigella flexneri</i>	B (6 type, VN)	+	–
<i>Shigella boydii</i>	C (15 type)	+	–
<i>Shigella sonnei</i>	D (1 type, Nhật)	+	+

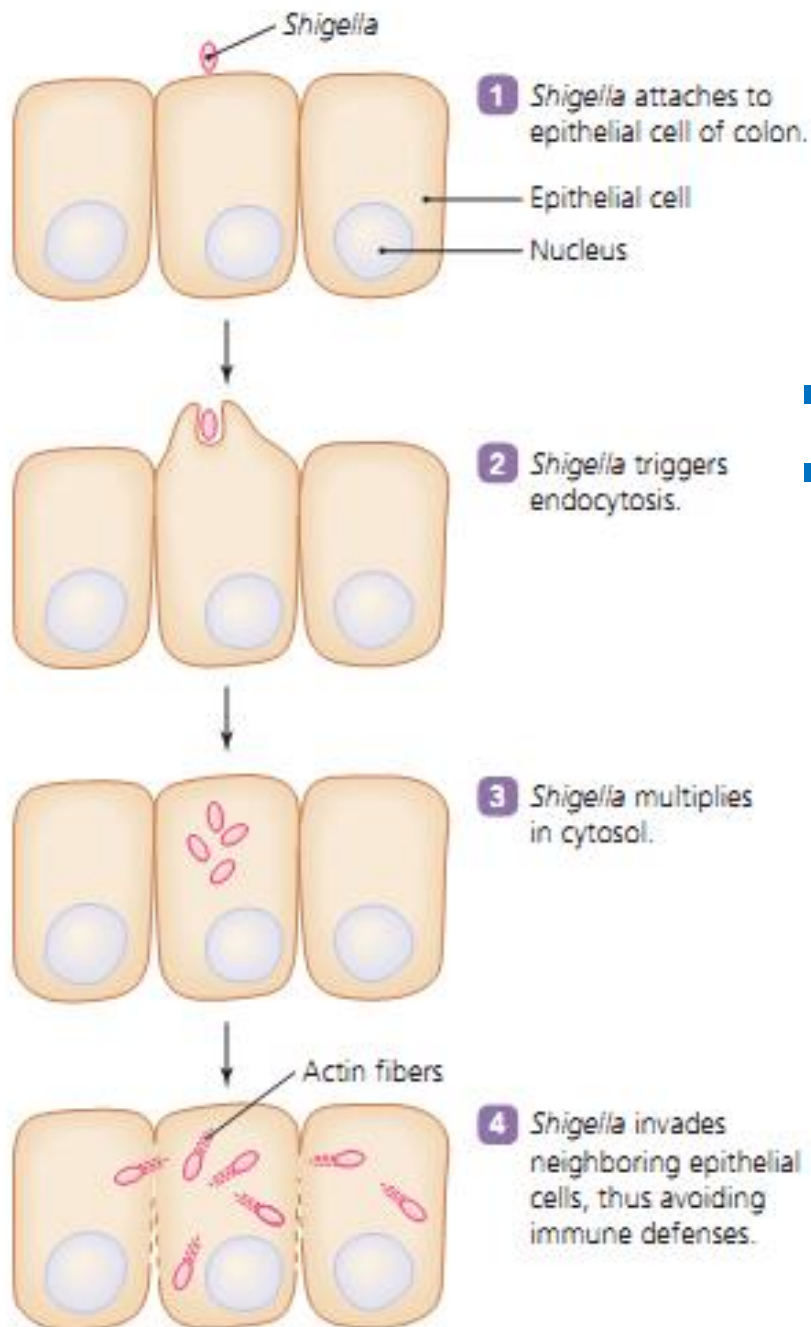
Độc tố Shigella:

- Nội độc tố (lipopolysaccharide)
- Ngoại độc tố:

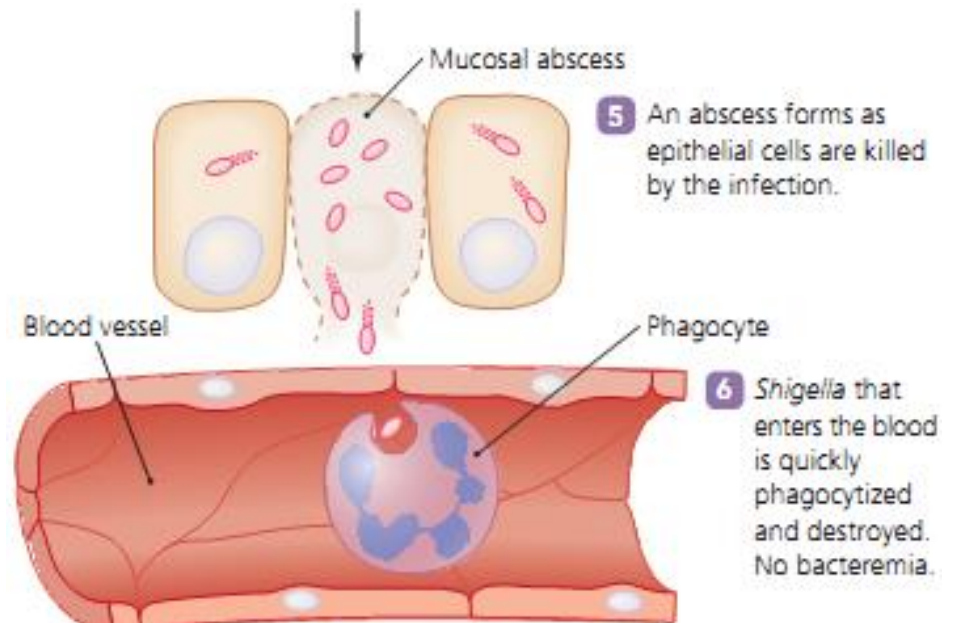
S.dysenteriae → Shiga toxin

(ruột: LT/ E.coli; hệ thần kinh: neurotoxin)...

KHẢ NĂNG GÂY BỆNH



- Thường giới hạn ở đường tiêu hóa
- 10-100 vi khuẩn là đủ gây bệnh

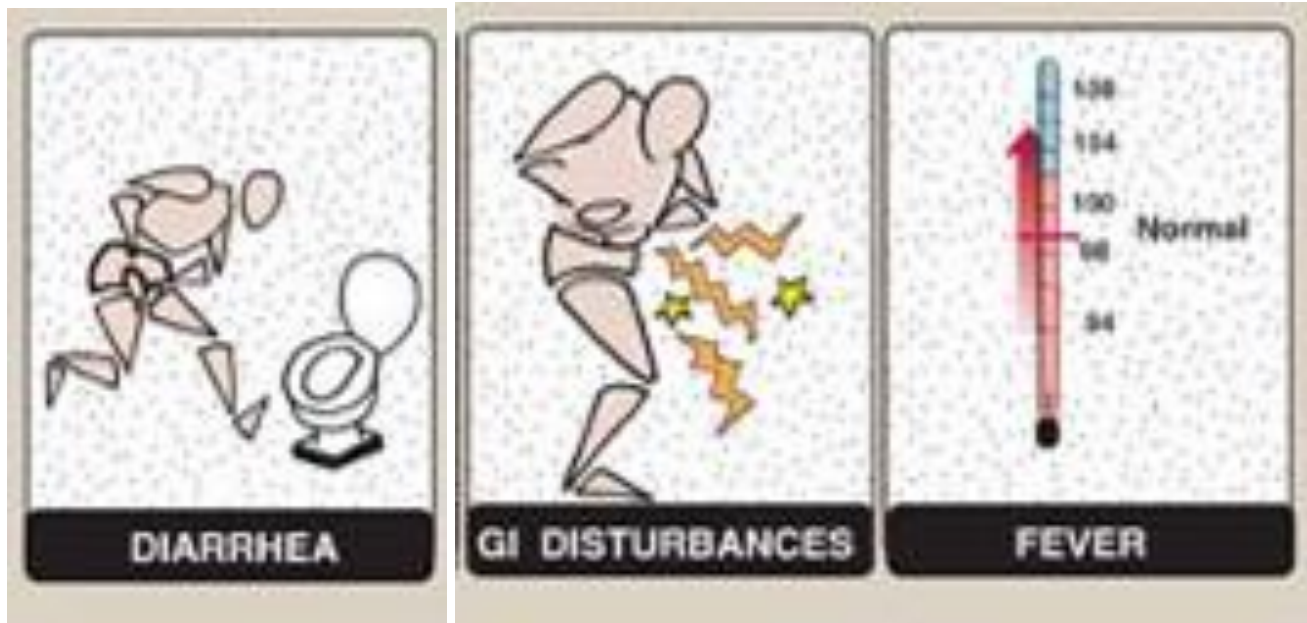


Shigella - bệnh lỵ trực khuẩn

Bệnh truyền nhiễm (khả năng gây dịch địa phương)

Biểu hiện lâm sàng:

Thương tổn đặc hiệu khu trú ở ruột già: hội chứng lỵ
(đau bụng quặn, đi ngoài nhiều lần, phân có nhiều
mũi nhầy và thường có máu)



**TABLE
224-2**

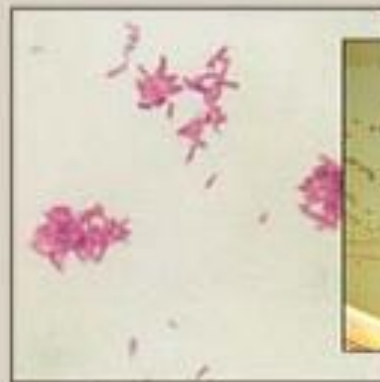
Antibacterial Therapy for Patients with Shigellosis

Adults		Children	
<i>Agent</i>	<i>Dosage</i>	<i>Agent</i>	<i>Dosage</i>
Levofloxacin	500 mg qd × 3 days	Ceftriaxone	50 mg/kg IV once daily (maximum, 2 g/day) × 5 days
Ciprofloxacin	500 mg bid × 3 days	Cefixime*	8 mg/kg/day as single daily dose or divided q12h × 5 days
		Azithromycin	10 mg/kg/day in a single daily dose × 3 days
Azithromycin	500 mg qd × 3 days	Ciprofloxacin*	25 mg/kg/day, divided q12h × 3-5 days

*Not approved for use in children.



Gram (-) rods



Gram stain



Hektoen agar

- **Gram-negative rods**
- Nonmotile and nonencapsulated
- Cannot ferment lactose
- Most strains do not produce gas in a mixed acid fermentation of glucose
- Culture on selective medium such as Hektoen agar

Shigella sonnei

- Bacillary dysentery (shigellosis)

PENICILLINS
CEPHALOSPORINS
TETRACYCLINES
AMINOGLYCOSIDES

Macrolides

1

Azithromycin

Fluoroquinolones

1

Ciprofloxacin

OTHER

Figure 12.12 Summary of shigella disease.

Sanitation, insect control, handwashing, and cooking block transmission

Live attenuated vaccines are under investigation

SALMONELLA

Có 2 loại (*with multiple subspecies and serotypes*):

Salmonella enterica:

- ❖ subspecies enterica(subspecies I),
- ❖ subspecies salamae(subspecies II),
- ❖ subspecies arizonae(subspecies IIIa),
- ❖ subspecies diarizonae (subspecies IIIb),
- ❖ subspecies houtenae(subspecies IV)
- ❖ subspecies indica(subspecies VI).

Salmonella bongori

SALMONELLA

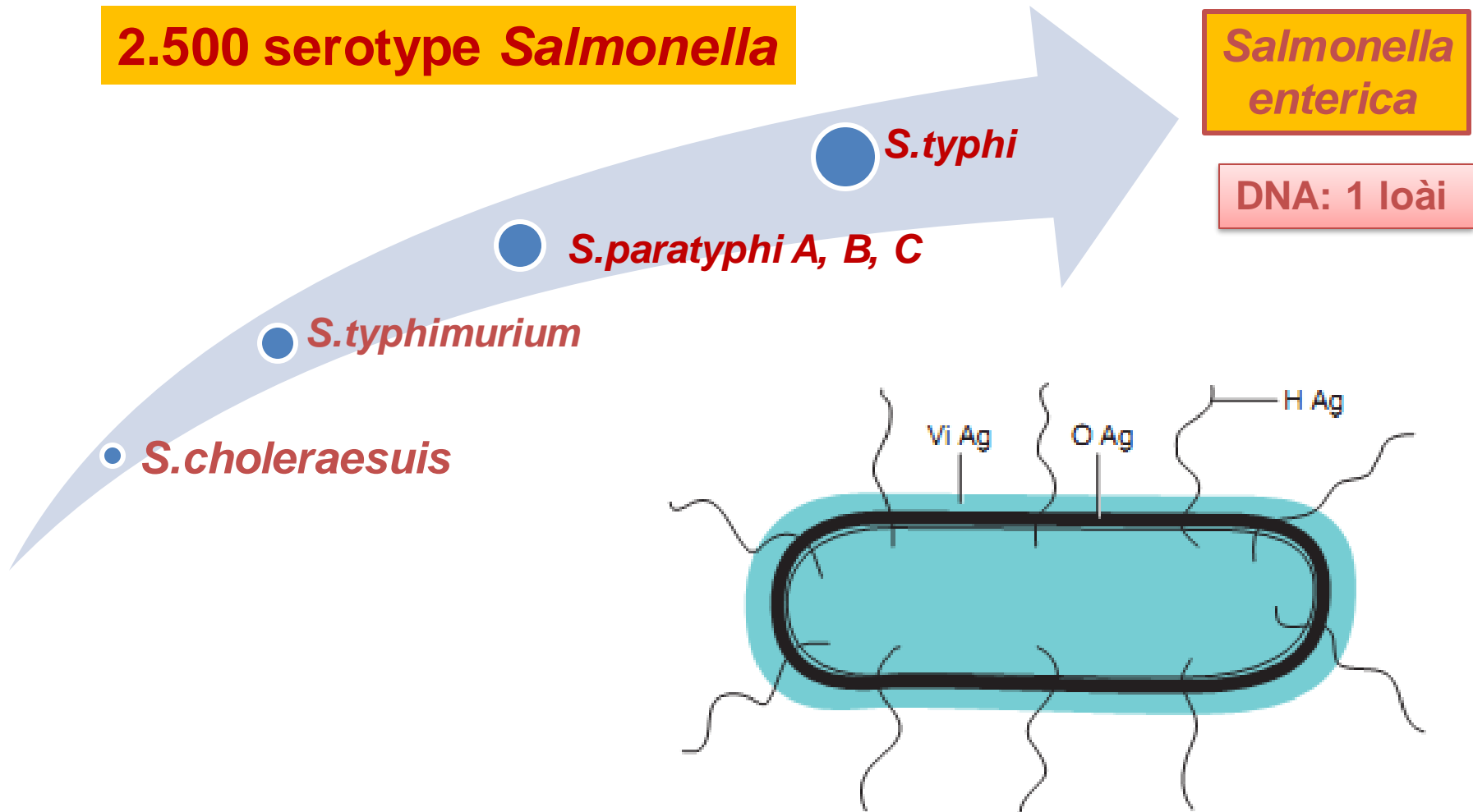
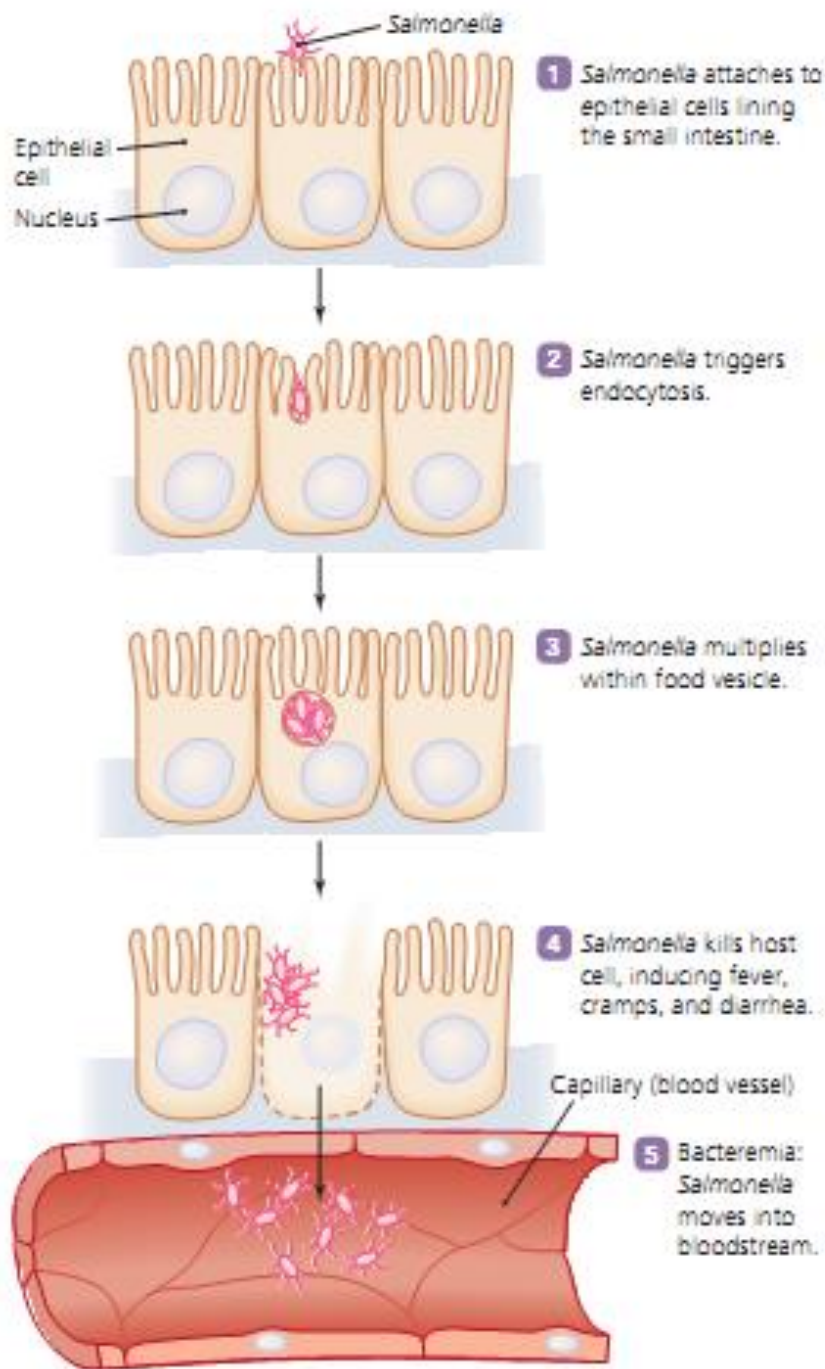


FIGURE 19-8 The antigenic structures of salmonellae used in serologic typing.



KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

1000–10,000 vi khuẩn

- Vi khuẩn đến các cơ quan (lách, gan, thận, tủy xương, túi mật)
- Gây bệnh do nội độc tố
→ biểu hiện: sốt, chảy máu, loét mảng Payer làm thủng ruột

Carriers can remain infected for years even with treatment

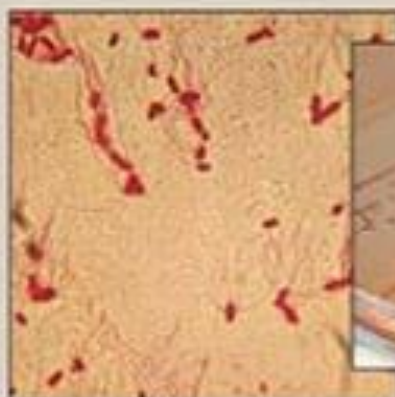
**TABLE
223-3****Recommended Antimicrobial Treatment for Typhoid Fever**

<i>Susceptibility</i>	Optimal Treatment		
	<i>Drug</i>	<i>Typical Adult Dose</i>	<i>Duration (days)</i>
Uncomplicated Typhoid Fever			
Fully sensitive	Ciprofloxacin	500 mg PO bid	5-7*
	Ofloxacin	400 g PO bid	5-7
Multidrug resistance	Fluoroquinolone (e.g., ciprofloxacin)	500 mg PO bid	5-7*
	Cefixime	200 mg PO bid	7-14
Quinolone resistance	Azithromycin	1 g PO daily	7
	Ceftriaxone	2 g IV daily	10-14
Severe Typhoid Fever Requiring Parenteral Treatment			
Fully sensitive	Fluoroquinolone (e.g., ciprofloxacin)	400 mg IV q12h	10-14
Multidrug resistance	Fluoroquinolone (e.g., ciprofloxacin)	400 mg IV q12h	10-14
Quinolone resistance	Ceftriaxone	2 g IV q12h	10-14
	Cefotaxime	2 g IV q8h	10-14

Salmonella species



Gram (-) rods



Salmonella typhi



Salmonella species on MacConkey agar

- **Gram-negative**
- Short, flagellated rods
- Facultative anaerobes
- Ferment glucose
- Do not ferment lactose
- Catalase-positive
- Oxidase-negative
- Culture on MacConkey agar

Serotypes enteritidis and typhimurium

- Enterocolitis (gastroenteritis, food poisoning)

Antibiotics are not normally used except in immuno-compromised individuals to prevent systemic spread of the infection. They may be used in individuals older than fifty years to prevent seeding of atherosclerotic plaques.

Serotype typhi

- Enteric (typhoid) fever and paratyphoid fever

PENICILLINS

Cephalosporins

1

Ceftriaxone

CARAPENEMS
TETRACYCLINES
AMINOGLYCOSIDES
MACROLIDES

Fluoroquinolones

1

Ciprofloxacin

OTHER

Tài liệu tham khảo

- Nguyễn Thanh Bảo. Hộ vi khuẩn đường ruột. Vi khuẩn y học. Bộ môn Vi sinh - Khoa Y - Đại học Y Dược TP. HCM. Chủ biên: PGS. TS. Cao Minh Nga. Nhà Xuất Bản Y Học TP. HCM. 2016. Tr. 154-167.

Tài liệu tham khảo

- Karen C. Carroll and Jeffery A. Hobden: Enteric Gram-Negative Rods (Enterobacteriaceae) (chapter 15). In Jawetz, Melnick & Adelberg's (editors in chief). Medical Microbiology 27th edition, Practice Hall International Inc., 2016. p231-239.

Thanks for your participation!



Ý kiến đóng góp và câu hỏi gửi về email

bm_visinh@yahoo.com hay
lan.nguyen5000@gmail.com