



# **VI KHUẨN *BORDETELLA PERTUSSIS* *HEMOPHILUS INFLUENZAE***

ThS. BS. Nguyễn Ngọc Lân  
Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

## Mục tiêu học tập:

1. Nêu được đặc điểm hình dạng, tính chất tăng trưởng của vi khuẩn *Bordetella pertussis* và *Hemophilus influenza*
2. Liệt kê được các yếu tố độc lực của vi khuẩn *Bordetella pertussis* và *Hemophilus influenza*, và vai trò của các yếu tố này trong khả năng gây bệnh và cơ chế bệnh sinh

## Nội Dung Bài Học

### A. VI KHUẨN *BORDETELLA PERTUSSIS*

- 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

### B. VI KHUẨN *HEMOPHILUS INFLUENZAE*

- 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



# VI KHUẨN *BORDETELLA PERTUSSIS*

# Lịch sử nghiên cứu

Năm	Tác giả	Nghiên cứu
1598	Guillaume de Baillou (Ballonius)	Mô tả trận dịch Ho gà đầu tiên (Paris, Pháp)
1679	Sydenham	Mô tả bệnh đường hô hấp trên ("pertussis")
1900	<b>Jules Bordet</b> <b>Octave Gengou</b>	Khám phá vi khuẩn gây bệnh ho gà: <i>Bordetella pertussis</i>
1906	nt	Lần đầu tiên uôi cấy phân lập được <i>B. pertussis</i>
1909	nt	Mô tả chi tiết hình thái và độc lực (DNT, dermonecrotic toxin)
1949	Pearl Kendrick Grace Eldering Margaret Pitman	Vaccine ho gà (FDA)



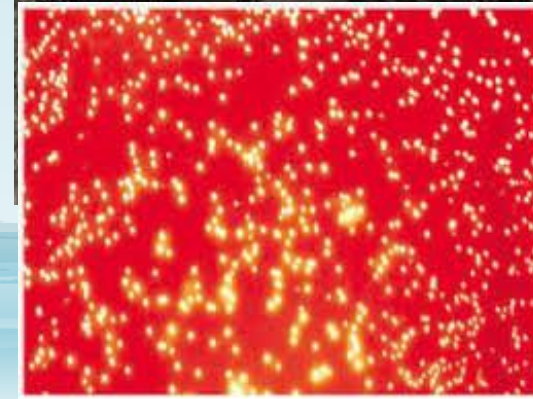
## Jules Bordet (1870-1961)

1919, ông được trao giải **Nobel Sinh lý học và Y khoa** vì những công trình nghiên cứu của ông liên quan đến hệ miễn dịch



## Octave Gengou (1875 –1957)

Nhà vi khuẩn học, nghiên cứu cùng Jules Bordet về vi khuẩn *Bordetella pertussis*



# Bệnh ho gà (pertussis)

- Là bệnh truyền nhiễm cấp tính do ***B. pertussis*** gây nên. Bệnh chỉ xuất hiện ở người, không có ở động vật hay ổ chứa trong môi trường.
- Tỷ lệ bệnh và tỷ lệ tử vong giảm đáng kể từ khi có vaccine (1949). Tuy nhiên vẫn gây ra dịch trên thế giới.

**Hàng năm:** khoảng 20-40 triệu ca nhiễm bệnh; 200.000 – 400.000 ca tử vong (chủ yếu ở trẻ chưa được tiêm ngừa vaccine)



**Bordetella pertussis**



## Tình hình bệnh ho gà ở Việt Nam năm 2005 - 2012

Chỉ số	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Số ca mắc /chết ho gà	194/7	144/0	183/0	280/0	122/0	81/0	105/0	98/0
Tỷ lệ mắc /100.000 dân	0,2	0,2	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1

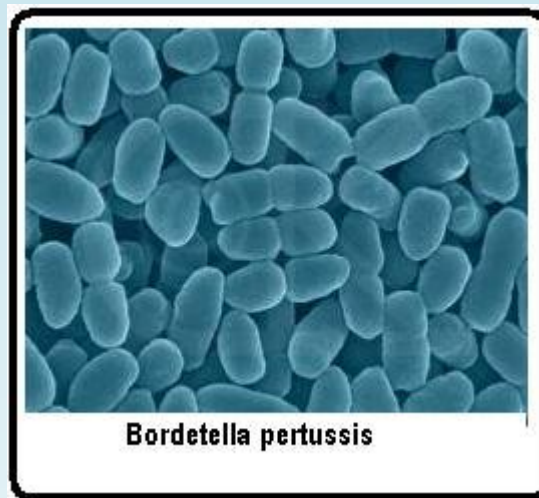
- Tỷ lệ mắc ho gà giảm tương ứng với sự gia tăng tỷ lệ trẻ được tiêm chủng DPT
- Khống chế tỷ lệ mắc ho gà → Không để xảy ra dịch bệnh ho gà



# ***BORDETELLA PERTUSSIS***

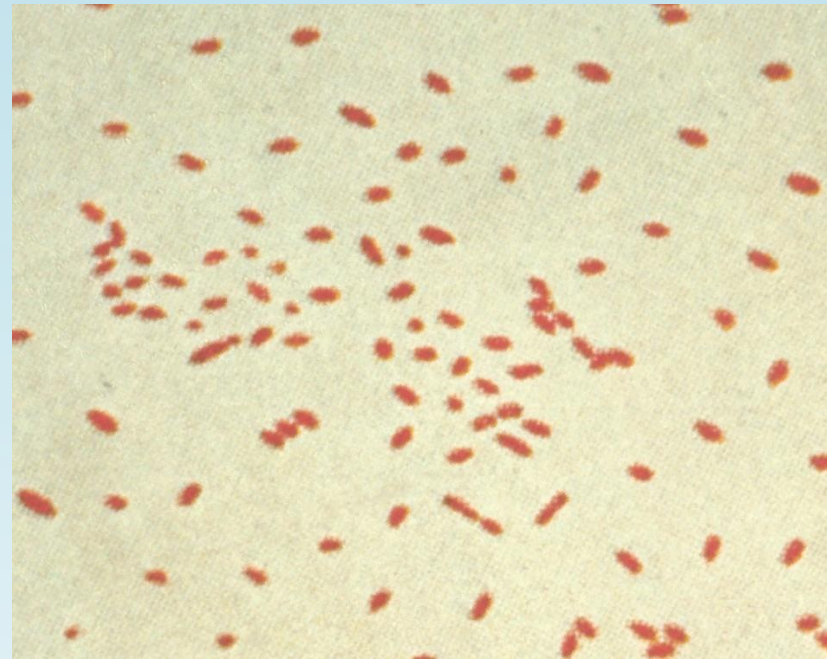
---

## **Tính chất vi khuẩn học**



# MÔ TẢ HÌNH THỂ

- Cầu trực khuẩn Gram âm (*coccobacillus*)
- Kích thước: **ngắn, nhỏ** ( $0.2-0.5\mu\text{m}$ ) $\times$ ( $0.5-1\mu\text{m}$ )
- Nhuộm toluidine blue hay methylene blue kiềm: ăn màu đậm hai đầu giống hình quả chùy
- Đôi khi có nang
- Không di động, không sinh nha bào

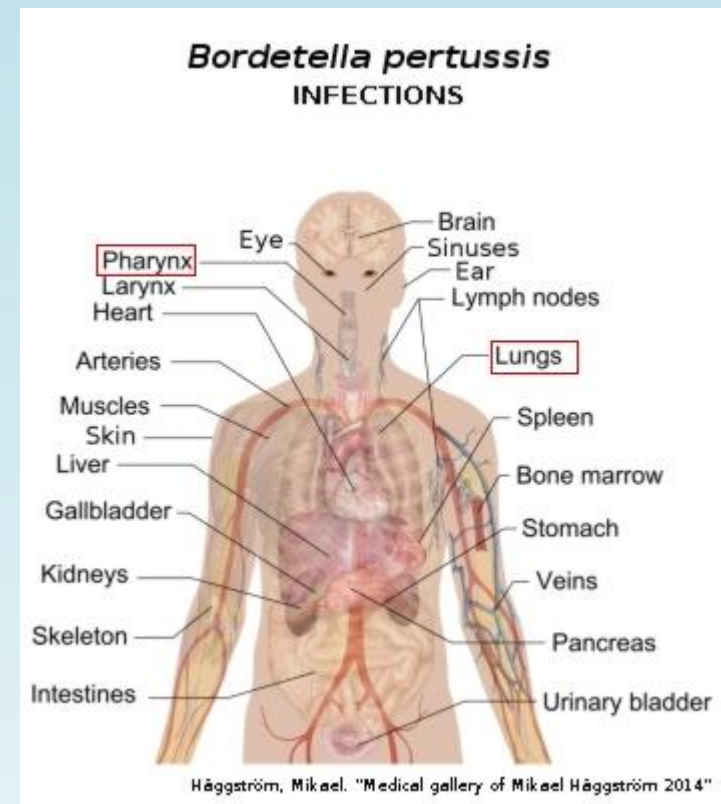


# MÔI TRƯỜNG SỐNG

## *Con người là ký chủ duy nhất*

- Môi trường sống: trong dịch nhầy đường hô hấp người; Không sống sót trong môi trường tự nhiên.
- **Sức đề kháng:** chịu nhiệt kém

*B. pertussis* nhạy cảm với tia cực tím (ánh sáng mặt trời, vài giờ), nhiệt độ (56°C/15 phút), hóa chất (dung dịch phenol/vài phút)



# ĐẶC ĐIỂM NUÔI CÂY

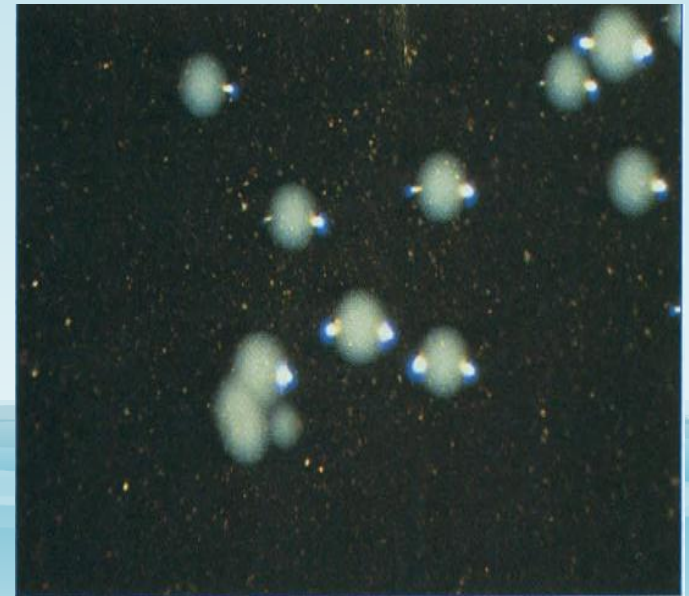
- Vi khuẩn hiếu khí tuyệt đối
- Nhiệt độ tăng trưởng tối ưu 35-37°C
- Khó nuôi cấy, không mọc trên môi trường dinh dưỡng thông thường → MT **Bordet-Gengou**; MT **Regan-Lowe charcoal**
- Tăng trưởng chậm (5-7 ngày; môi trường đặc; khí trường ẩm) → khúm nhỏ, tròn, lồi, nhẵn bóng và sáng như giọt thủy ngân

# Môi trường Bordet-Gengou

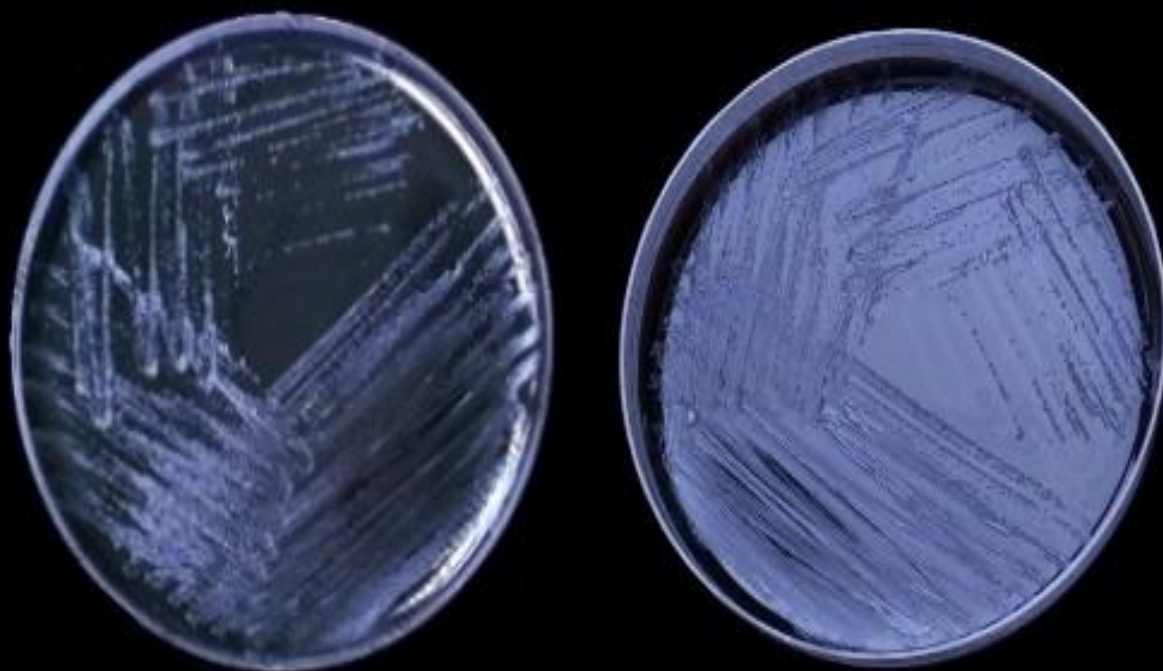
MT **Bordet-Gengou** (potato-blood-glycerol agar):  
do Bordet và Gengou xây dựng

*Hiện nay:* dựa trên MT Bordet-Gengou truyền  
thống, nhiều nghiên cứu đã cải tiến MT phân lập *B.*  
*pertussis*

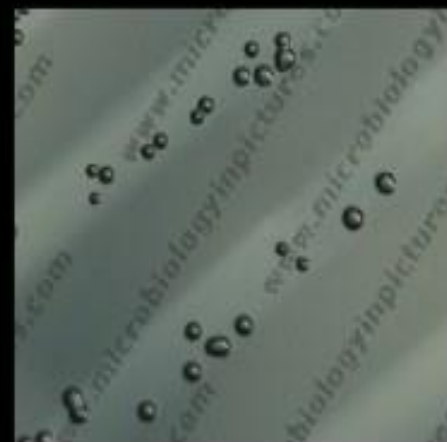
- ✓ Bordet Gengou Agar với 15% máu  
cừu: theo *American Public Health*  
*Association*
- ✓ Bordetella Agar với than hoạt tính  
và 7% máu ngựa: theo *Mishulow*  
và cs. → sau gọi là MT **than hoạt**  
**tính Regan-Lowe**







incubation 5 days, 35°C  
Charcoal agar with supplements



short gram-negative  
rods; nonmotile (x1.000)

*Bordetella pertussis*

# TÍNH CHẤT SINH HÓA

- Chuyển hóa đường glucose, lactose nhưng không sinh hơi (hô hấp, lên men)
- Không ly giải protein, mà chỉ ly giải được một số acid amin như: glutamin, alanin, prolin, serin → “trơ”
- Oxidase(+); Catalase(+); Citrate (-); Urease(-); Nitrate(-)

DIFFERENTIATION OF <i>BORDETELLA</i> SPECIES					
	Growth on Blood Free Peptone	Urease	Nitrate Reduction	Motility	Citrate
<i>B. pertussis</i>	-	-	-	-	-
<i>B. parapertussis</i>	+	+	-	-	+
<i>B. bronchiseptica</i>	+	+	+	+	+



# TÍNH BIẾN ĐỔI

Trong MT phân lập giàu chất dinh dưỡng: phase độc lực sinh độc tố và gây tán huyết

→ *phase I vs phase IV*

→ *Phase II và III: giai đoạn trung gian*

→ vaccine chỉ có hiệu lực khi chọn đúng *B. pertussis* đang ở phase I

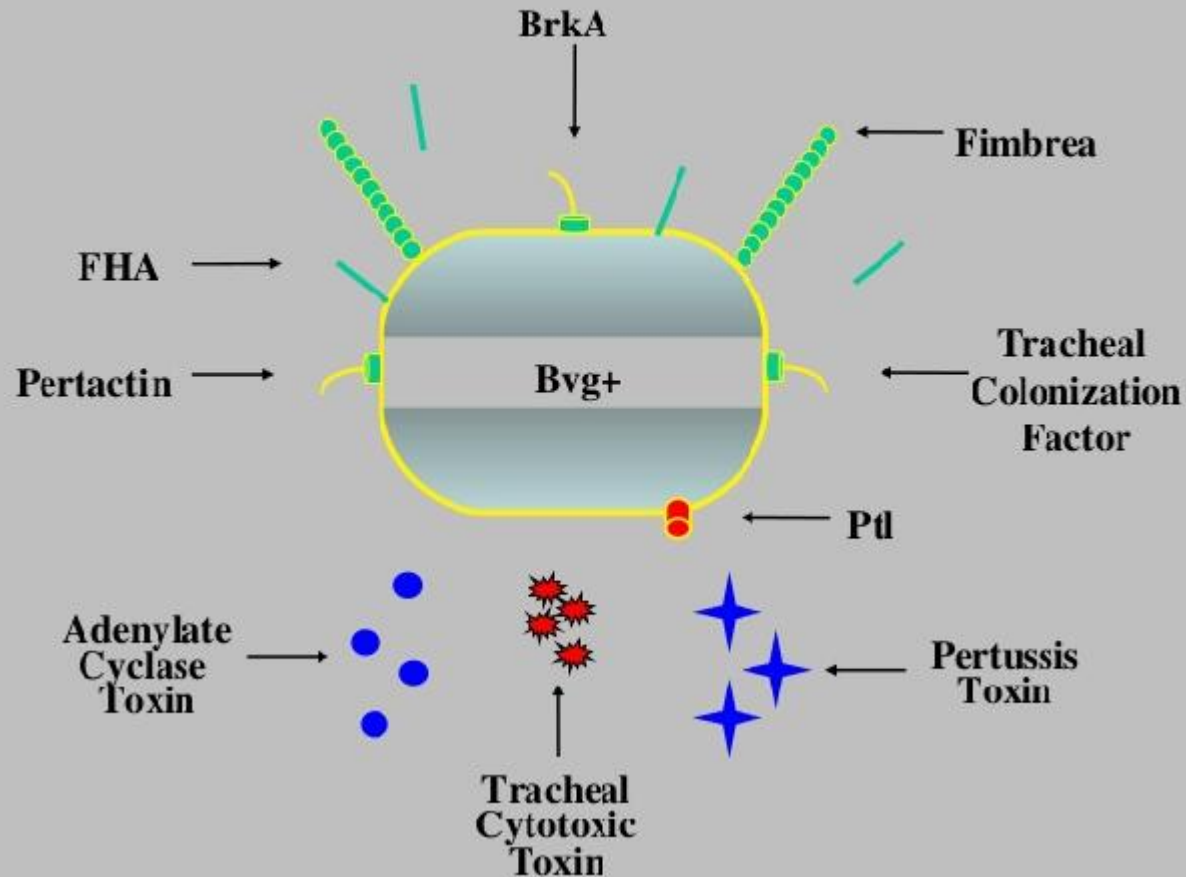
PHASE ĐỘC LỰC  
(I)

Điều kiện môi trường  
(VD: 28°C vs. 37°C, MgSO<sub>4</sub>)

Đột biến tần số thấp tại locus gene  
kiểm soát biểu hiện yếu tố độc lực  
(*bvgA*, *bvgS*)

PHASE KHÔNG CÓ ĐỘC LỰC  
(IV)

## *B. pertussis* in Virulent State



Phase độc lực sinh độc tố, có ngưng kết nguyên và kháng nguyên ngưng kết hồng cầu

# KHÁNG NGUYÊN

## 1. Kháng nguyên O:

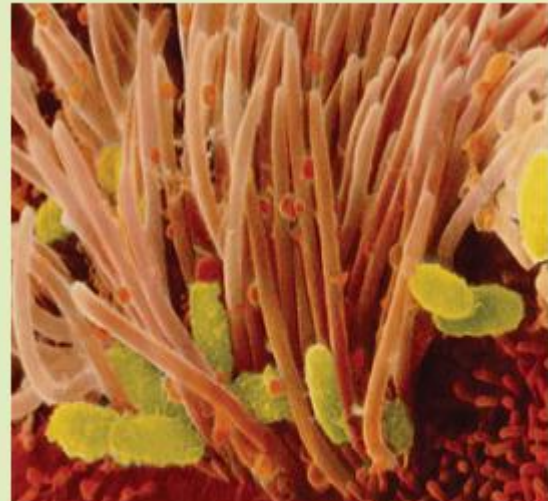
- **Ngưng kết nguyên** (agglutinogene)
- Kháng nguyên chung cho cả giống *Bordetella*, chịu nhiệt, gồm 14 yếu tố:
  - Yếu tố 1-6: *B. pertussis*
  - Yếu tố 7: giống *Bordetella*
  - Yếu tố 12: *B. bronchiseptica*
  - Yếu tố 14: *B. parapertussis*

## 2. Kháng nguyên độc tố ho gà (PT)

## 3. KN sợi ngưng kết hồng cầu (FHA)

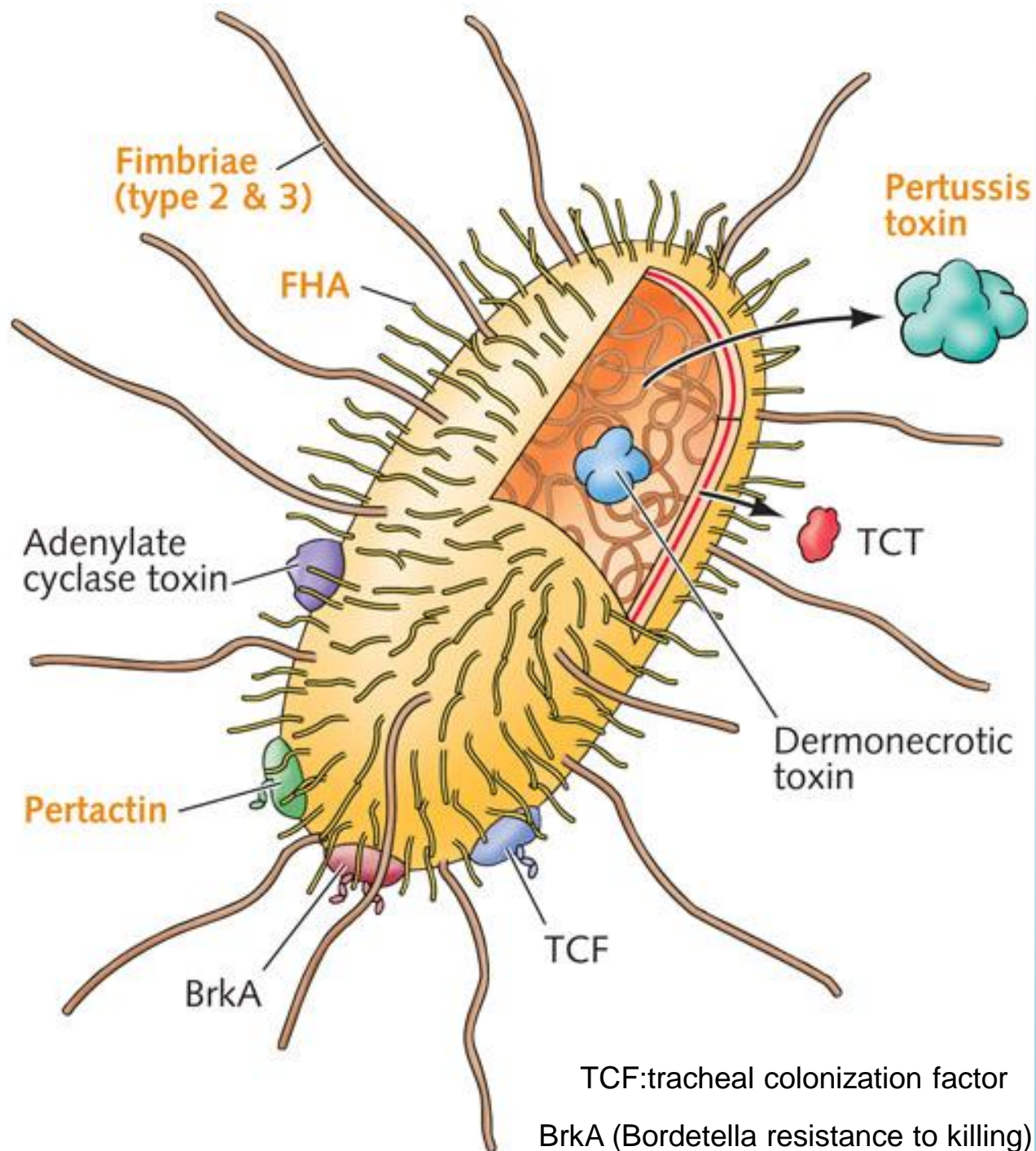
# YẾU TỐ ĐỘC LỰC

- **Adhesin:** gắn kết vào tế bào khí quản, tồn tại được trong phagosome
  - *Filamentous hemagglutinin*
  - *Pertussis toxin*
  - *Fimbriae*
  - *Pertactin*
- **Độc tố:**
  - *Pertussis toxin*
  - *Adenylate cyclase/hemolysin toxin*
  - *Dermonecrotic toxin*
  - *Tracheal cytotoxin*
  - *Lipopolysaccharide*



*Bordetella pertussis* bound to cilia of a tracheal epithelial cell. The bacteria (colored yellow) eventually cause the loss of the cells.

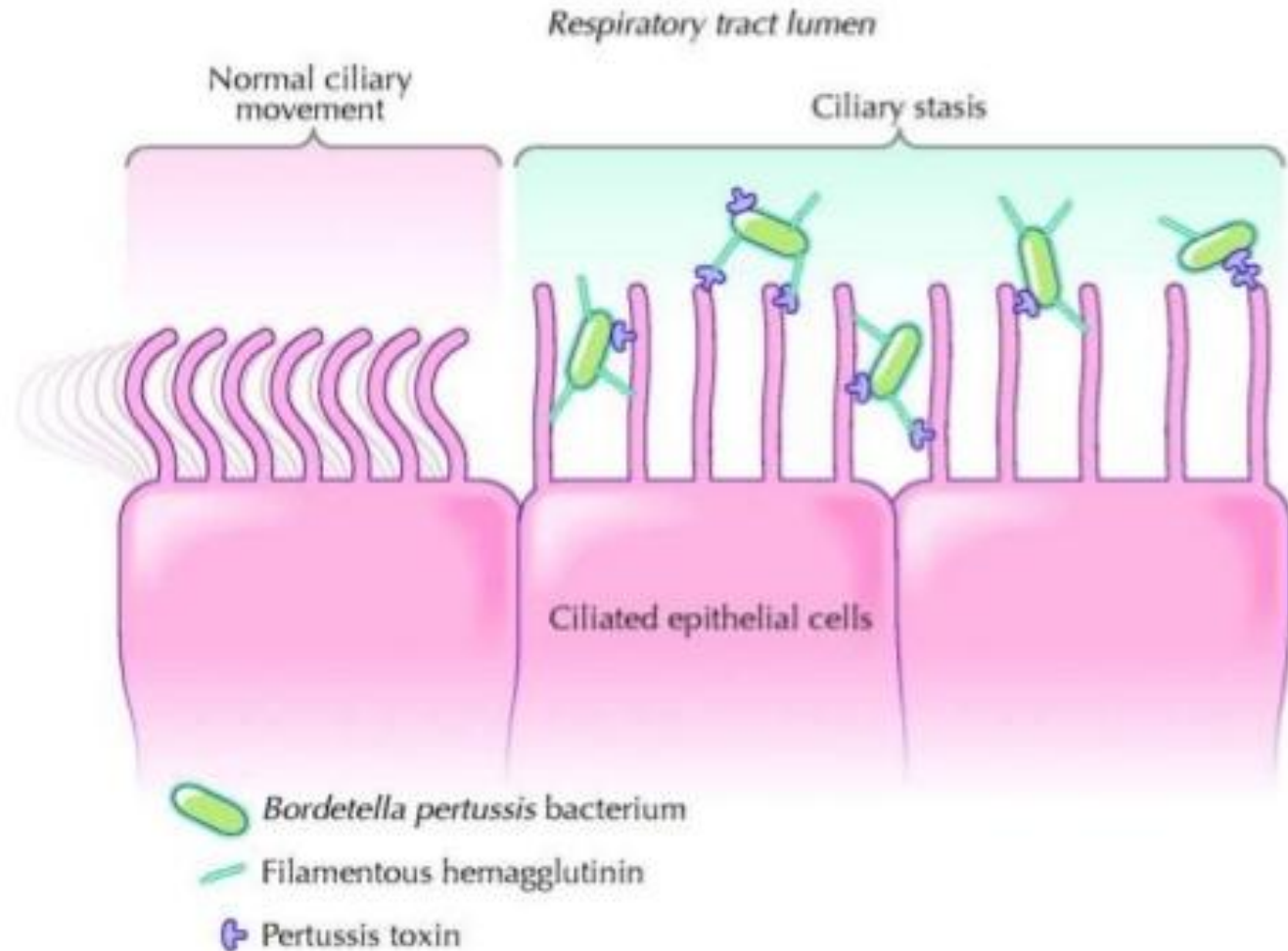
SEM 1  $\mu$ m



TCF:tracheal colonization factor

BrkA (Bordetella resistance to killing)

**Fig. 1: Synergy between pertussis toxin and filamentous hemagglutinin in binding to ciliated respiratory epithelial cells.**

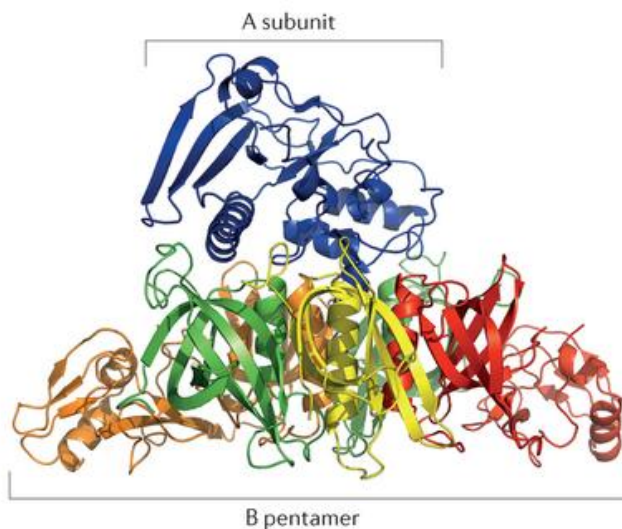




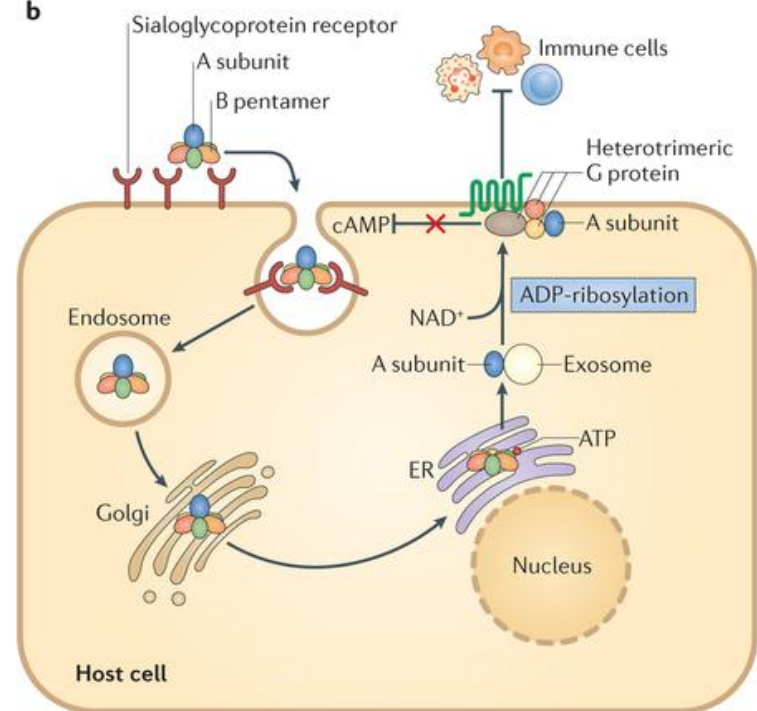
# ĐỘC TỔ HO GÀ (PERTUSSIS TOXIN, PT)

- Protein tác động gây các triệu chứng lâm sàng, làm tăng lympho bào
- Kháng thể kháng PT → bảo vệ động vật thí nghiệm khỏi mắc bệnh ho gà

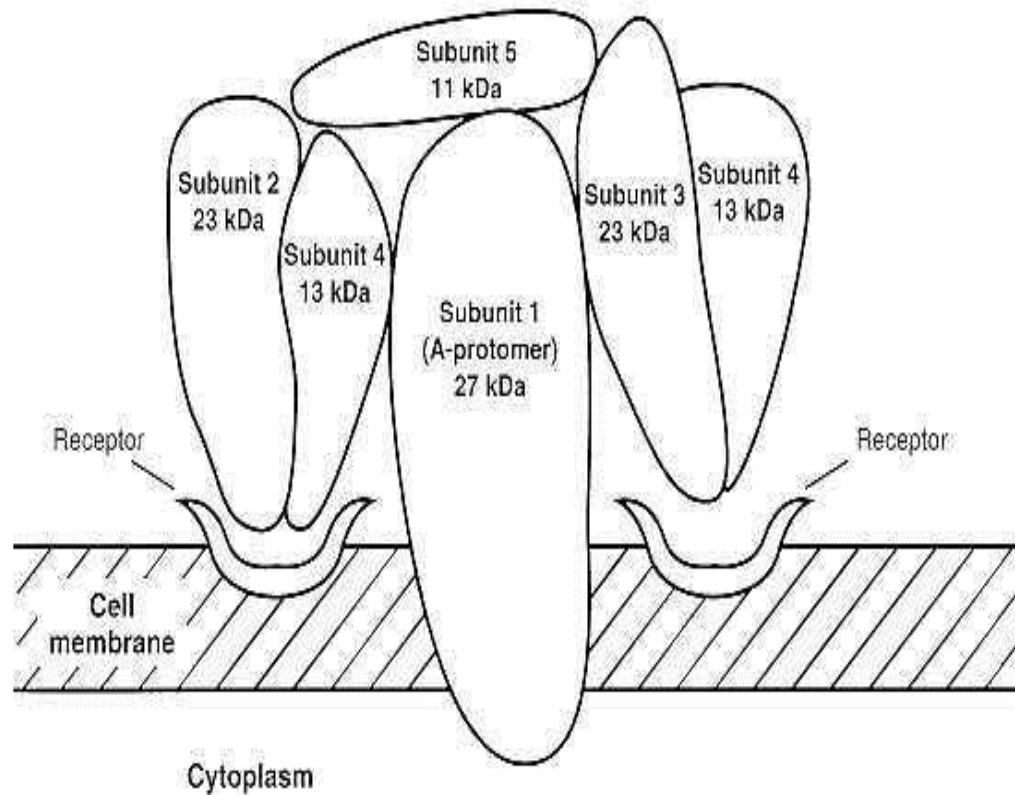
**a** Pertussis toxin



**b**





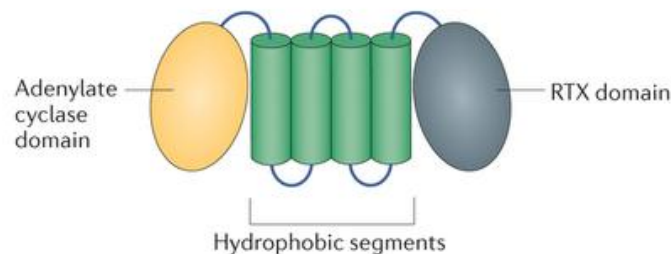


Pertussis toxin is a classic A-B toxin consisting of a toxic subunit (S1) and five binding subunits (S2 to S5; two S4 subunits are present in each toxin molecule). The S2 subunit binds to lactosylceramide, a glycolipid present on ciliated respiratory cells. The S3 subunit binds to receptors on phagocytic cells

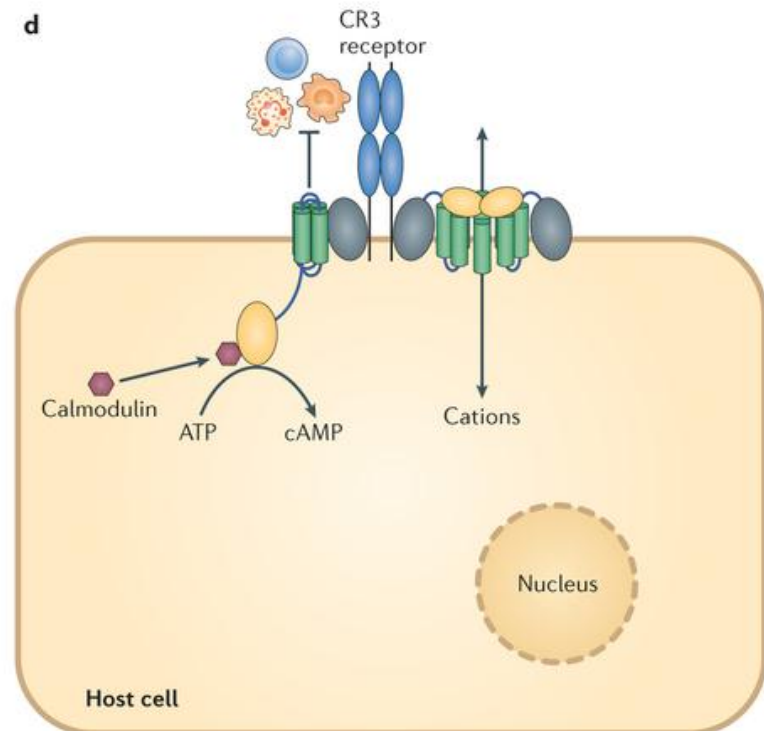
# Adenylate cyclase (ATC) - hemolysin toxin

- Tăng cAMP → ức chế hóa ứng động bạch cầu đa nhân và hiện tượng thực bào

c Adenylate cyclase toxin



d



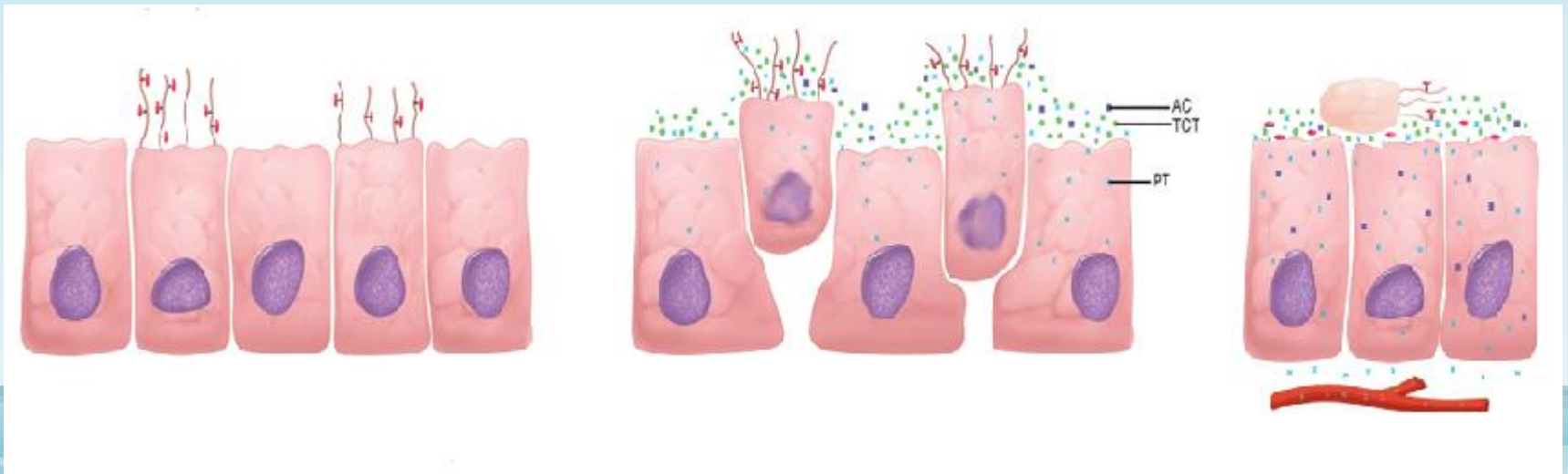
# ***BORDETELLA PERTUSSIS***

---

**Cơ chế sinh bệnh**

# KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

- *B pertussis* tồn tại thời gian ngắn ngoài ký chủ (ký chủ người; không có vector)
- Bệnh lây truyền trực tiếp qua đường hô hấp (*early cases and possibly via carriers*).

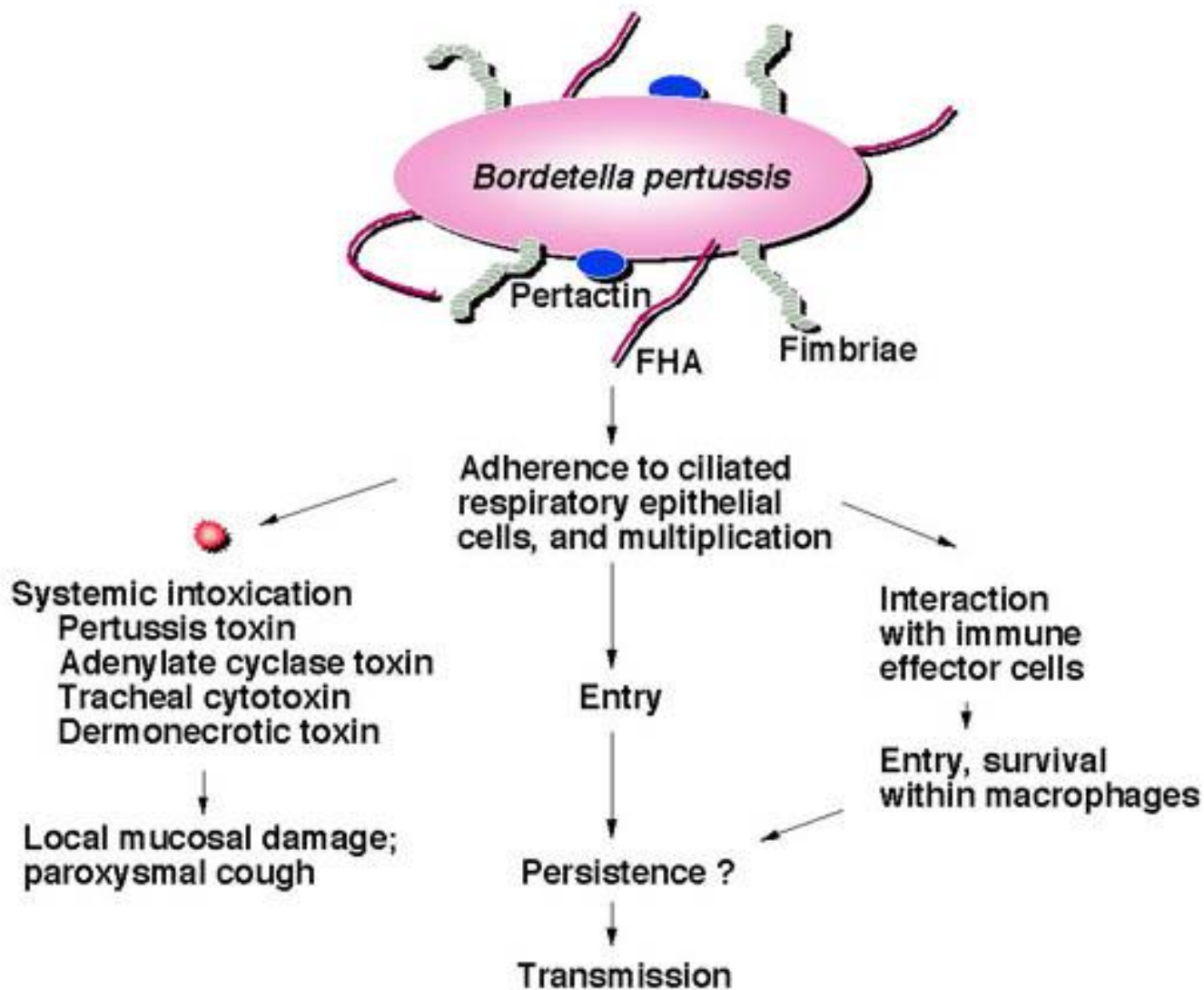


❖ Vi khuẩn bám dính và tăng sinh nhanh chóng bề mặt tb biểu mô khí quản và phế quản (*interferes with ciliary action; the blood is not invaded*)

❖ Vi khuẩn tiết độc tố và những chất gây kích thích bề mặt tế bào → hoại tử tế bào biểu mô, histamin từ các tổn thương được giải phóng, kích thích đường hô hấp cực độ gây những cơn ho liên tục kéo dài không kiềm chế được

❖ Đường hô hấp bị tổn thương → viêm phế quản, viêm phổi mô kẽ, bội nhiễm (*staphylococci or H influenzae may give rise to bacterial pneumonia*)

## Pathogenesis of *Bordetella pertussis*



# ***BORDETELLA PERTUSSIS***

---

**Lâm sàng của bệnh**



# LÂM SÀNG

## Disease Progression: Pertussis

Weeks

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

### Viêm long

#### Stage 1

#### Catarrhal Stage

May last 1 to 2 weeks

- Symptoms: runny nose, low-grade fever, mild, occasional cough - Highly contagious

### Ho giật

#### Stage 2 - Paroxysmal Stage

Lasts from 1-6 weeks; may extend to 10 weeks

Symptoms: fits of numerous, rapid coughs followed by "whoop" sound; vomiting and exhaustion after coughing fits (called paroxysms)

#### Stage 3 - Convalescent Stage

Lasts about 2-3 weeks; susceptible to other respiratory infections for many

Recovery is gradual. Coughing lessens but fits of coughing may return.

Những cơn co thắt, ho giật,  
ho ngạt thở

Ho liên tục ngày đêm, kém ăn, mất ngủ  
Biến chứng: viêm phổi, sung huyết  
não, ngạt thở do phế quản co thắt phù  
nề → suy kiệt

# ***BORDETELLA PERTUSSIS***

---

**Vi sinh lâm sàng phát hiện  
*B. pertussis***

# **BỆNH PHẨM:**

Quệt họng hay ho trực tiếp lên hộp thạch Bordet Gengou /MT regan-lowie charcoal

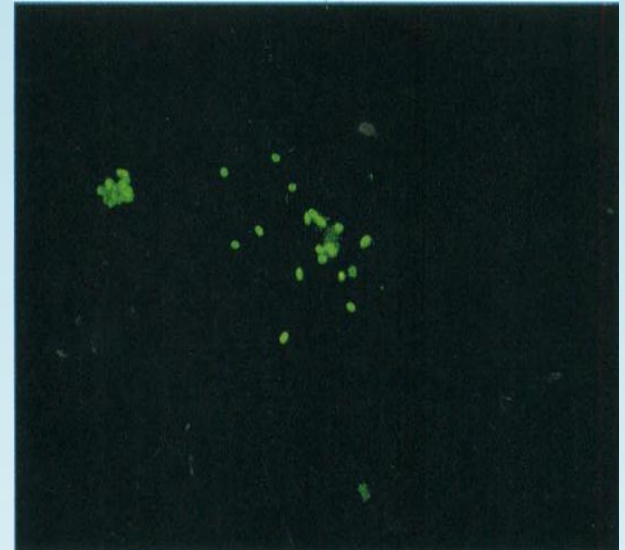
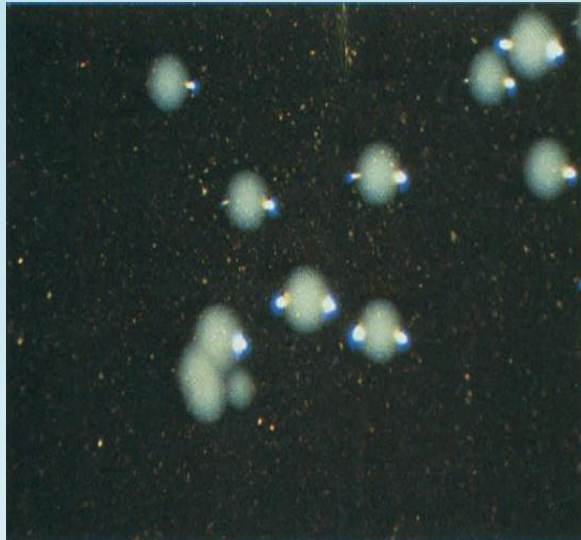
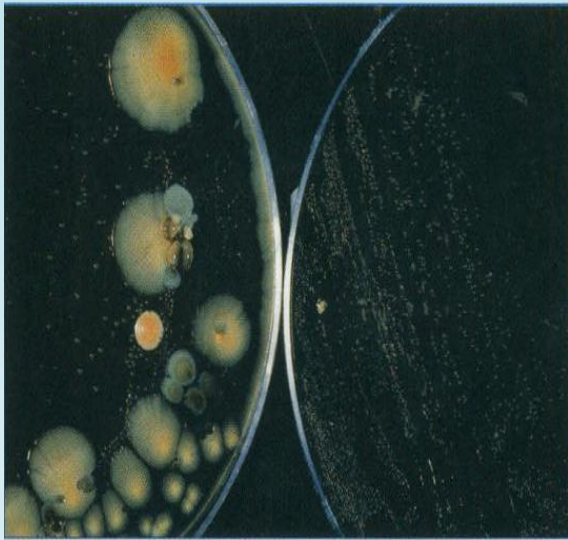
❖ **NHUỘM:** Gram, toluidine hay alkaline

methylene blue

❖ **HUYẾT THANH CHẨN ĐOÁN:** Kháng thể đơn dòng tìm độc tố ho gà (PT), sợi ngưng kết hồng (FHA)

❖ **KỸ THUẬT PCR:** DNA của vi khuẩn ho gà trong bệnh phẩm

- ❖ **NUÔI CÂY:** trên thạch Bordet Gengou 3-7 ngày:  
khúm đặc biệt giống giọt thủy ngân  
→ nhuộm huỳnh quang hay tụ trực tiếp, PCR



# HUYẾT THANH CHẨN ĐOÁN

Kháng thể xuất hiện sau khoảng 3 tuần

→ Ít có giá trị

→ Tìm kháng thể kháng PT, FHA



# ***BORDETELLA PERTUSSIS***

---

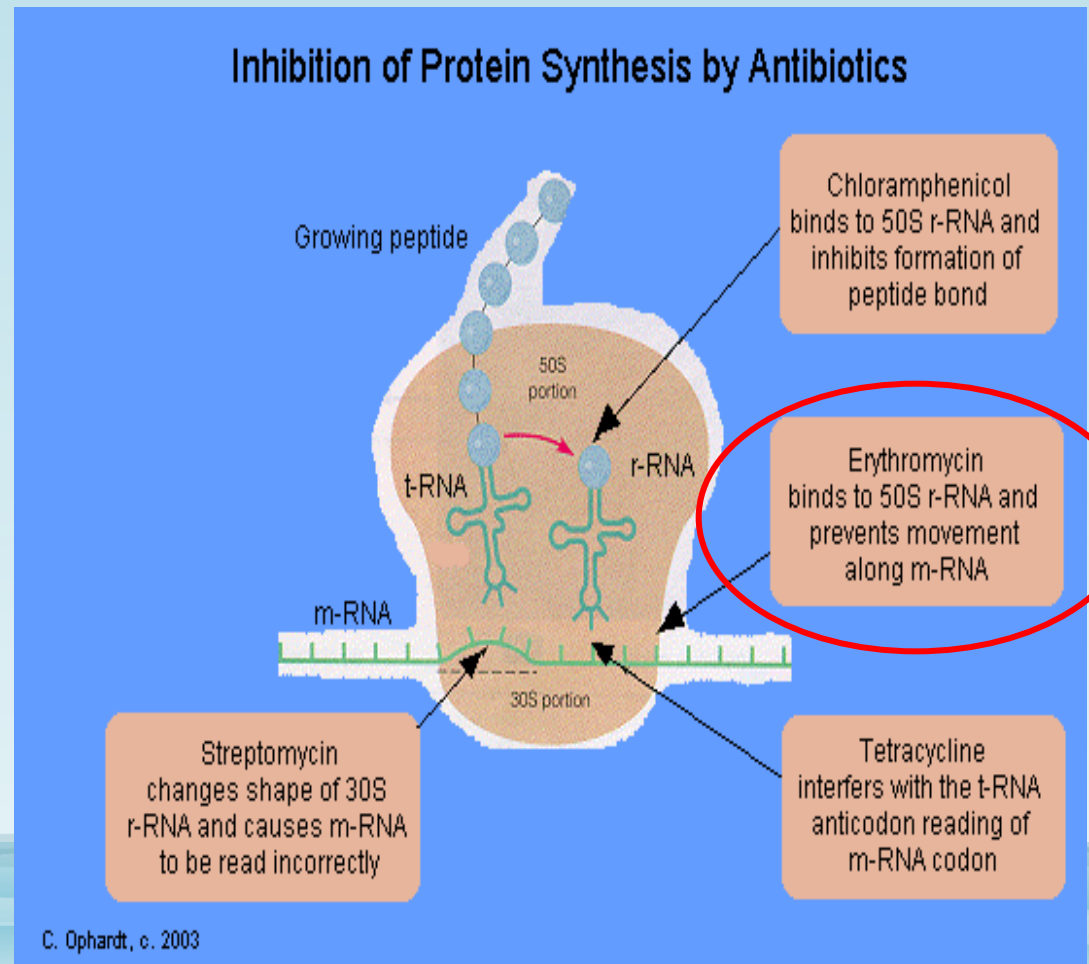
**Điều trị và phòng ngừa**

# KHÁNG SINH TRỊ LIỆU

Kháng sinh điều trị có hiệu quả: Erythromycine  
(giai đoạn xuất tiết)

**CDC:**

40 – 50 mg/kg/ngày  
cho trẻ em (2 g/ngày  
cho trẻ lớn hay người  
trưởng thành) trong 14  
ngày





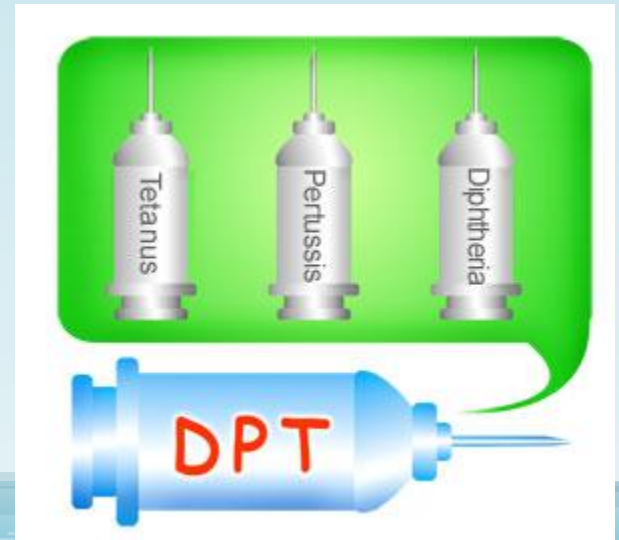
# DỊCH HỌC VÀ PHÒNG NGỪA

Vì khuẩn lây lan qua đường hô hấp  
(giai đoạn xuất tiết)

**Vaccine DTP** (Diphtheria, Tetanus, Pertussis)

Có thể: **Erythromycine** uống ngừa trong vùng dịch

*“GlaxoSmithKline’s six-vaccines-in-one-injection  
**Infanrix Hexa vaccine** is  
used in 90 countries.”*



Powder and suspension for suspension for injection.

1 dose (0.5 ml) contains:

Diphtheria toxoid<sup>1</sup> not less than 30 International units

Tetanus toxoid<sup>1</sup> not less than 40 International units

*Bordetella pertussis* antigens

Pertussis toxoid<sup>1</sup> 25 micrograms

Filamentous Haemagglutinin<sup>1</sup> 25 micrograms

Pertactin<sup>1</sup> 8 micrograms

Hepatitis B surface antigen<sup>2,3</sup> 10 micrograms

Poliovirus (inactivated)

type 1 (Mahoney strain)<sup>4</sup> 40 D-antigen unit

type 2 (MEF-1 strain)<sup>4</sup> 8 D-antigen unit

type 3 (Saukett strain)<sup>4</sup> 32 D-antigen unit

*Haemophilus influenzae* type b polysaccharide 10 micrograms

(polyribosylribitol phosphate)<sup>3</sup>

conjugated to tetanus toxoid as carrier protein 20 - 40 micrograms

<sup>1</sup>adsorbed on aluminium hydroxide, hydrated (Al(OH)<sub>3</sub>) 0.5 milligrams Al<sup>3+</sup>

<sup>2</sup>produced in yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) by recombinant DNA technology

<sup>3</sup>adsorbed on aluminium phosphate (AlPO<sub>4</sub>) 0.32 milligrams Al<sup>3+</sup>

<sup>4</sup>propagated in VERO cells

INFANRIX hexa

Combined Diphtheria-Tetanus-acellular Pertussis (DTPa), Hepatitis B, Poliovirus and *Haemophilus influenzae* type b vaccine

# Tài liệu tham khảo

- Lý Văn Xuân. Vi khuẩn *Hemophilus influenzae*. 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. 197-201.
- Lý Văn Xuân. Vi khuẩn ho gà *Bordetella pertussis*. 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. 208-212.

# Tài liệu tham khảo

- Karen C. Carroll and Jeffery A. Hobden: Haemophilus, Bordetella, Brucella, and Francisella (chapter 18). In Jawetz, Melnick & Adelberg's (editors in chief). Medical Microbiology 27<sup>th</sup> edition, Practice Hall International Inc., 2016. p263-268.

*Thanks for your participation!*



Ý kiến đóng góp và câu hỏi gửi về email

[bm\\_visinh@yahoo.com](mailto:bm_visinh@yahoo.com) hay  
[lan.nguyen5000@gmail.com](mailto:lan.nguyen5000@gmail.com)