



BORDETELLA PERTUSSIS (HO GÀ) 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 influenzae*
2. Liệt kê được yếu tố độc lực của các vi khuẩn trên và nêu vai trò của các yếu tố này trong khả năng gây bệnh & cơ chế bệnh sinh

NỘI DUNG BÀI HỌC

B.pertussis,
H.influenzae,

1. Hình dạng

2. Tính chất tăng trưởng

3. Yếu tố độc lực và vai trò của chúng
trong gây bệnh & cơ chế bệnh sinh

4. Chẩn đoán vi sinh, phòng ngừa và
điều trị



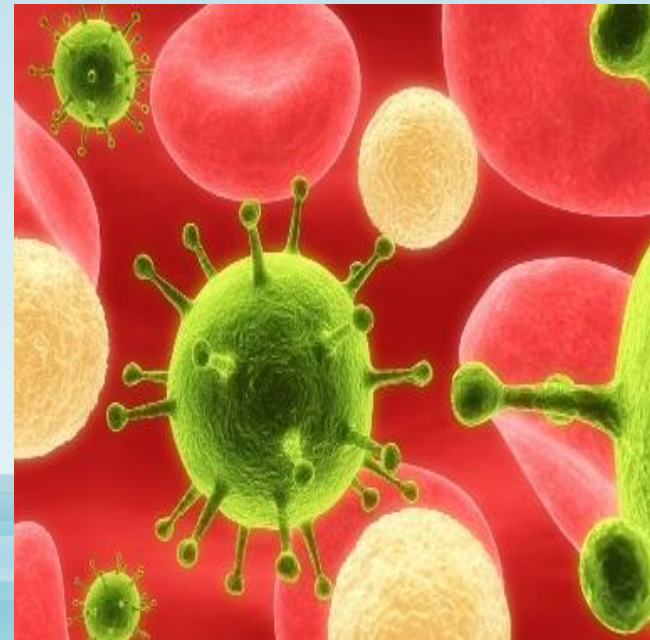
HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Hemophilus influenzae thuộc giống *Hemophilus*, họ Pasteurellaceae

“*Hemophilus*”: Winslow và cs., 1917 đề xuất

Box 34-1. Important Pasteurellaceae

Organism	Historical Derivation
<i>Haemophilus</i>	<i>haemo</i> , "blood"; <i>hilos</i> , "lover" ("blood lover"; requires blood for growth on agar media)
<i>H. influenzae</i>	Originally thought to be the cause of <i>influenza</i>
<i>H. aegyptius</i>	<i>aegyptius</i> , "Egyptian" (observed by R. Koch in 1883 in exudates from Egyptians with conjunctivitis)
<i>H. ducreyi</i>	Named after the bacteriologist <i>Ducrey</i> , who first isolated this organism)



✓ **1892:** *H. influenzae* do Richard Pfeiffer phân lập đầu tiên = vi khuẩn Pfeiffer → căn nguyên gây ra bệnh cúm

✓ **1933:** phát hiện virus cúm là căn nguyên chính của bệnh cúm → vai trò của *H. influenzae*: **nhiễm khuẩn thứ phát sau bệnh cúm**

Table 34-1. *Haemophilus* Species Associated with Human Disease

Species	Primary Diseases	Frequency
<i>H. influenzae</i>	Pneumonia, sinusitis, otitis, meningitis, epiglottitis, cellulitis, bacteremia	Common
<i>H. aegyptius</i>	Conjunctivitis	Uncommon
<i>H. ducreyi</i>	Chancroid	Uncommon (in United States)
<i>H. parainfluenzae</i>	Bacteremia, endocarditis, opportunistic infections	Rare
<i>H. haemolyticus</i>	Opportunistic infections	Rare
<i>H. parahaemolyticus</i>	Opportunistic infections	Rare

”In spite of the name, *H. influenzae* do not cause influenza (the “flu”)”

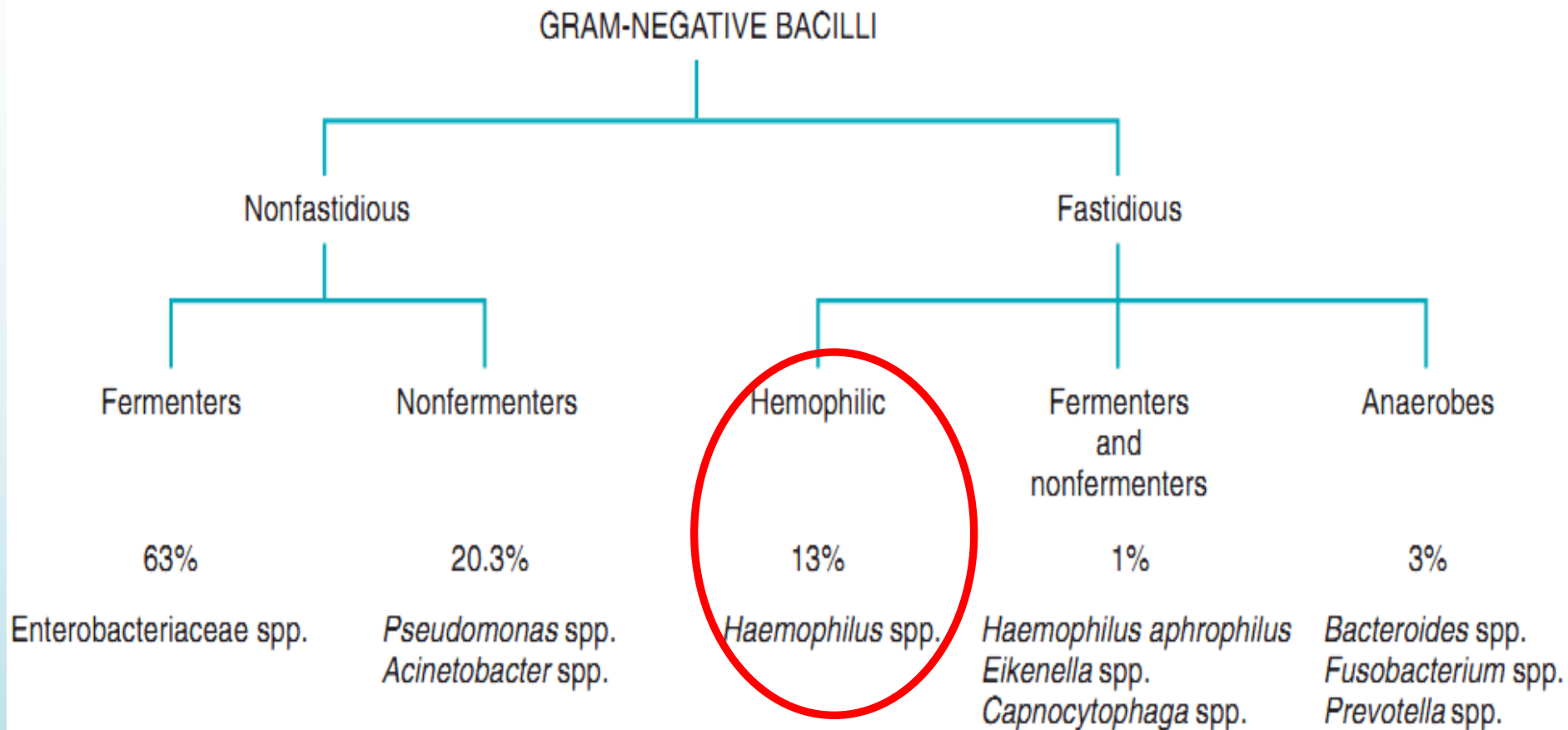
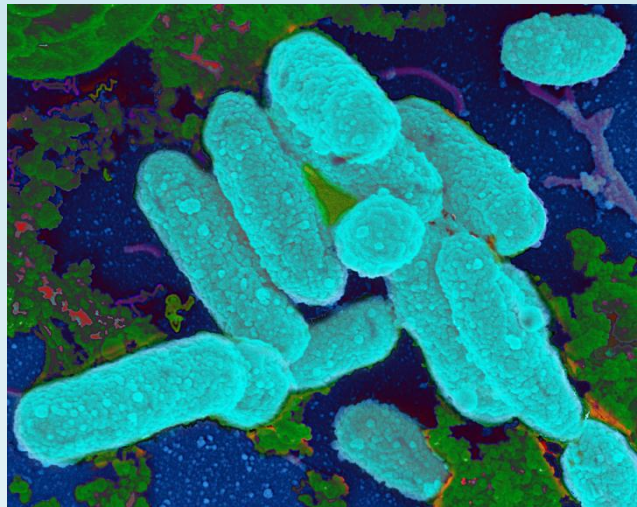


FIGURE 18-1 Prevalence of gram-negative bacilli isolated from cultures in a large tertiary hospital. Data on *Pasteurella*, *Brucella*, *Legionella*, and *Bordetella* are not included. (Data from Clinical Microbiology Laboratory, OSU Medical Center, 2000-2003.)

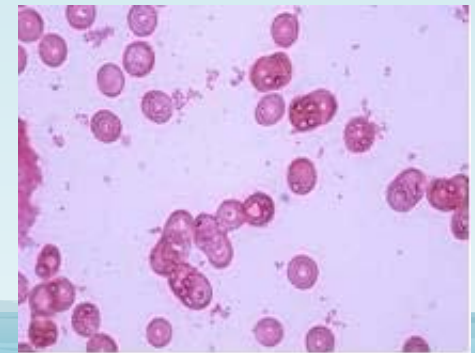
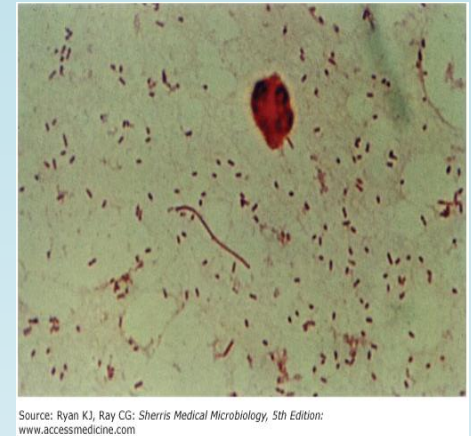
HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Tính chất vi khuẩn học

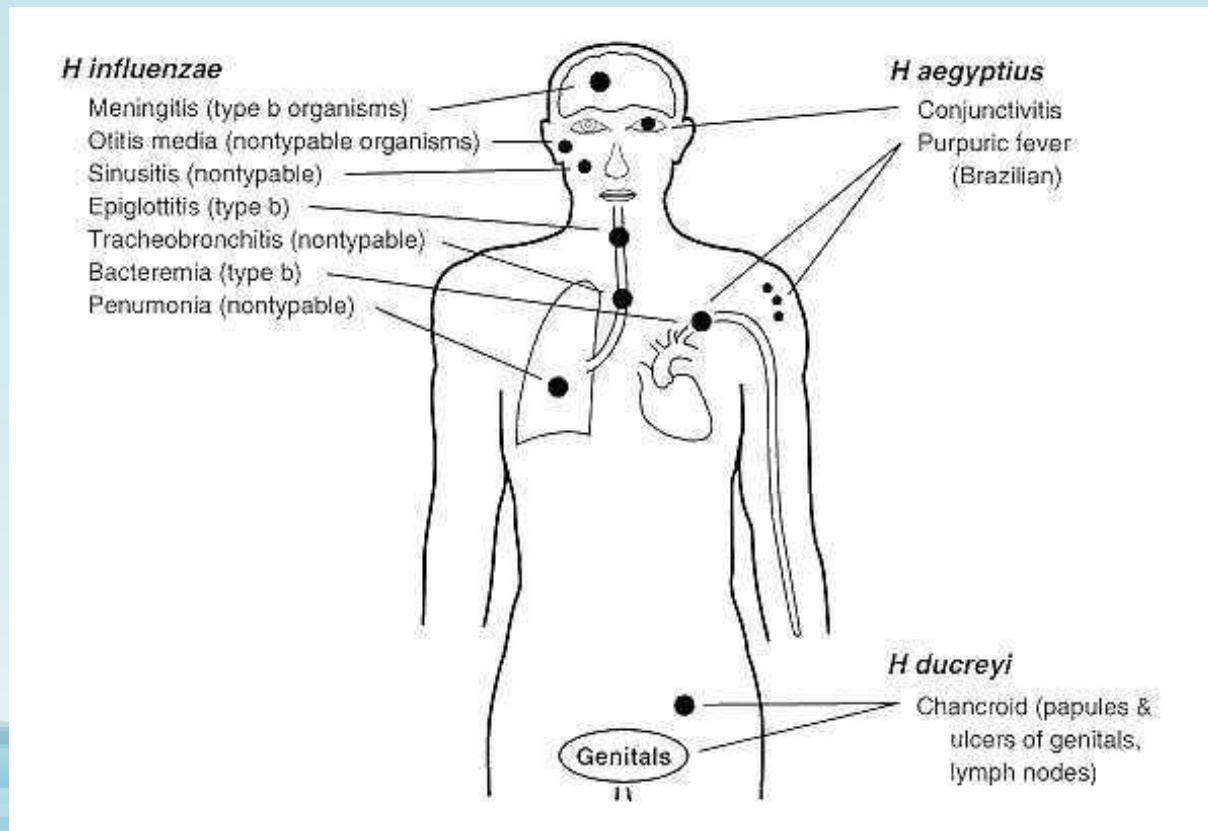


MÔ TẢ HÌNH THỂ

- **Trực khuẩn Gram âm:**
 - ✓ coccobacillary form: trong bệnh phẩm, canh cấy 6-8 giờ
 - ✓ pleomorphic form: canh cấy >8 giờ
- Kích thước: **ngắn, nhỏ**
(0,2-0,3)x(0,5-2) μm
- Một số có nang (*nang là một kháng nguyên để “typing” H. influenzae*)
- Không có lông, không di động, không sinh bào tử

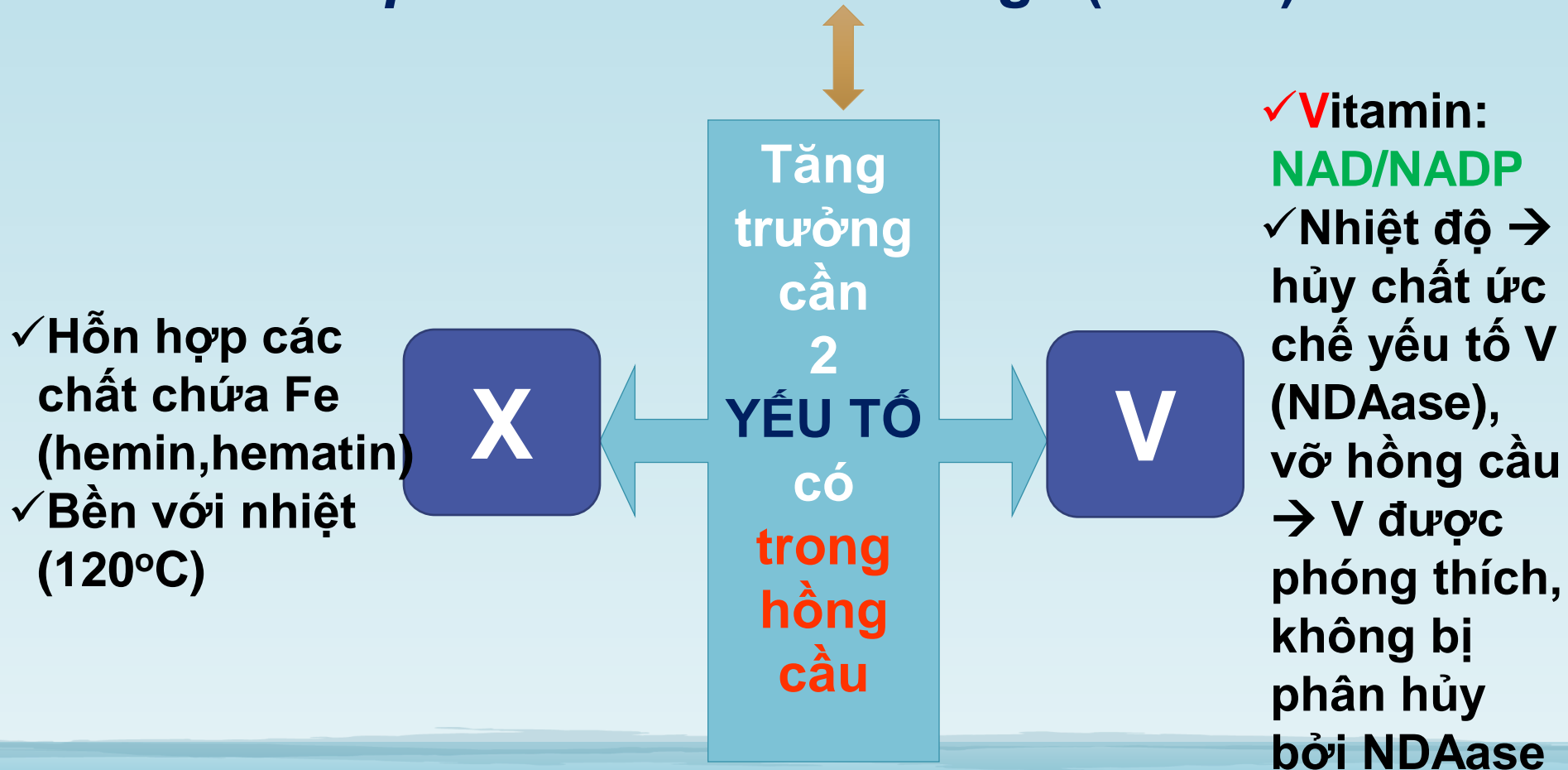


Sức đề kháng: không cao, không bền vững khi ra ngoài cơ thể (ánh sáng, khô, 55°C, các chất sát khuẩn thông thường)



ĐẶC ĐIỂM NUÔI CẤY

Haemophilus = “**blood** loving” (Greek)



NAD: nicotinamide adenine dinucleotide



HỒNG CẦU



Thạch máu 5%
cung cấp đủ
yếu tố X
(0.1-1 μ g/ml)

**Không mọc được ở MT
nuôi cấy thông thường,
chỉ mọc được khi
MT có X và V**

HỒNG CẦU



- Máu cừu: Thạch **chocolate** cung cấp đủ yếu tố V (0.2-1 μ g/ml)
- Thạch máu khác (máu thỏ)

KHÁC:

khoai tây tươi, tổ chức
động vật thực vật,
Staphylococci...

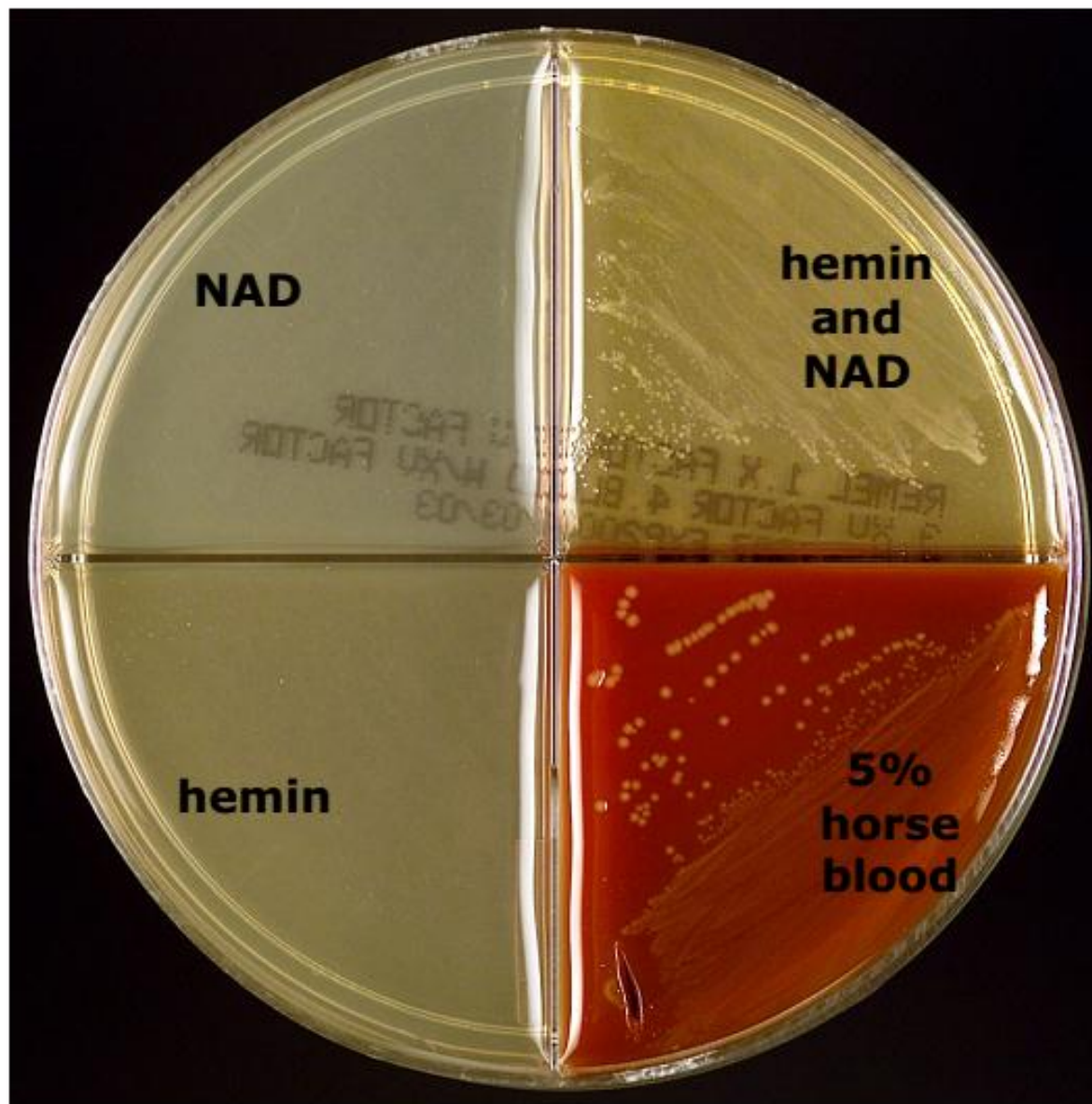
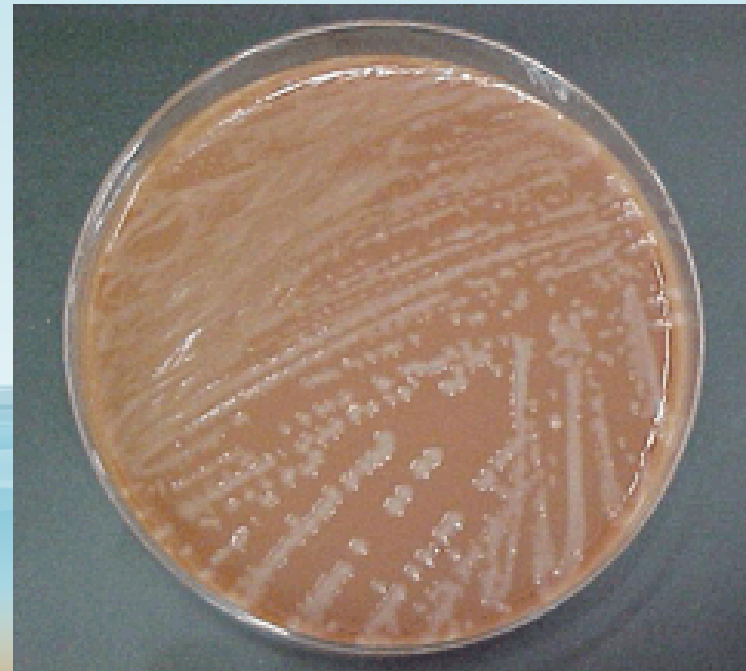


Figure 6. Growth pattern for *H. influenzae* on a *Haemophilus* ID Quad plate

<https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt09-id-characterization-hi.pdf>

- **Vi khuẩn vi hiếu khí**
- **Nhiệt độ tăng trưởng tối ưu 35-37°C**
- **CO₂ (5%): kích thích tăng trưởng**
- **Môi trường dinh dưỡng cao** (do vi khuẩn khó mọc)

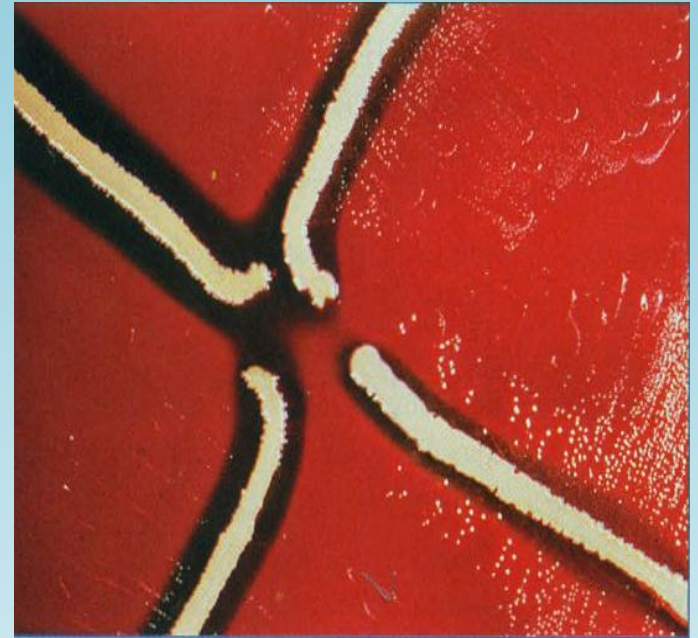
Thạch máu: khuẩn lạc trong, nhỏ như hạt sương
Thạch chocolate: khuẩn lạc to, trong, nhẵn



H. influenzae trong môi trường thạch máu

HIỆN TƯỢNG VỆ TINH (“satellite phenomenon”)

vi khuẩn mọc quanh các khúm vi khuẩn tiết được NAD (*Staphylococci...*) hay các đĩa giấy tẩm XV



Thạch máu

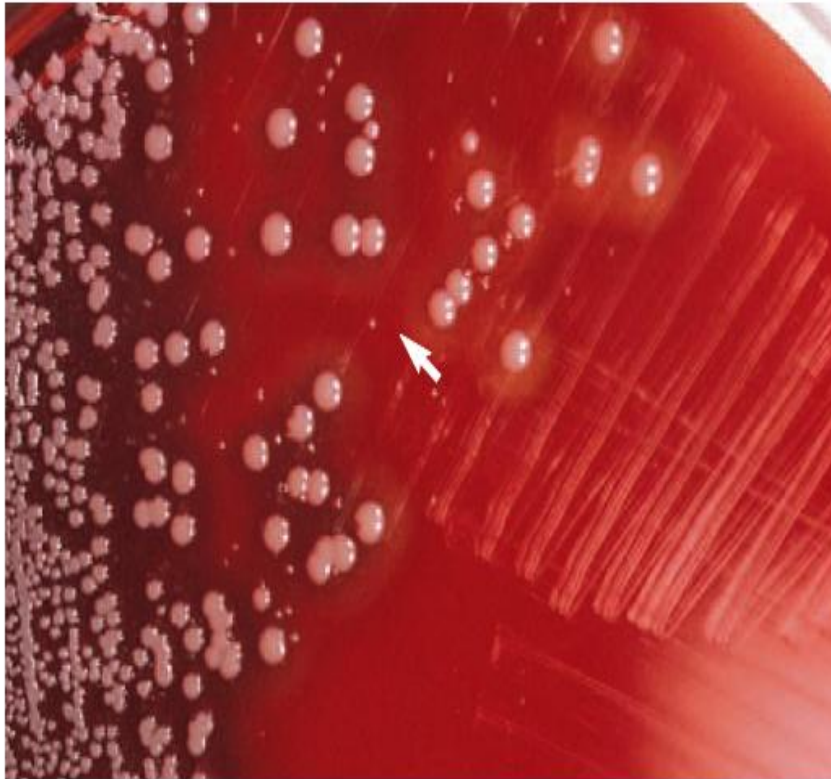


FIGURE 18-2 *Haemophilus influenzae* satellitism around and between the large, white, hemolytic staphylococci. The small, gray glistening colony is *H. influenzae* (arrow).

Thạch chocolate



FIGURE 18-6 Example of *Haemophilus influenzae* growing on chocolate agar. Notice the tan mucoid colonies characteristic of encapsulated strains.

TABLE 18–1 **Characteristics and Growth Requirements of the *Haemophilus* and *Aggregatibacter* Species Important to Humans**

Species	Requires		Hemolysis
	X	V	
<i>Haemophilus influenzae</i> (<i>H aegyptius</i>)	+	+	–
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	–	+	–
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	–	–
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+	+
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i> ^a	–	+/-	–
<i>Haemophilus</i> <i>paraphrophaemolyticus</i>	–	+	+
<i>Aggregatibacter segnis</i> ^b	–	+	–

^aFormerly *Haemophilus aphrophilus* and *Haemophilus paraphrophilus*.

^bFormerly *Haemophilus segnis*.

X, heme; V, nicotinamide-adenine dinucleotide.

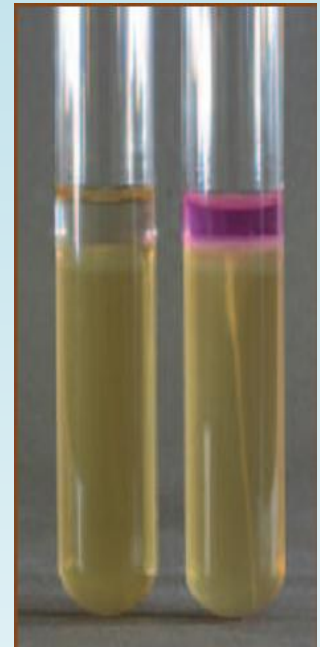
TÍNH CHẤT SINH HÓA

Hemophilus influenzae

- Lên men glucose, saccharose
- Không lên men maltose, galactose, fructose
- Có khả năng khử nitrate, sinh indole

Biotype của *H. influenzae*: I → VIII

- ✓ Indole
- ✓ Urease
- ✓ Ornithine decarboxylase



INDOLE TEST RESULTS

Biotype của *H. influenzae*: I → VIII

Biotype	Indol	Urease	Ornithine Decarboxylase
I	+	+	+
II	+	+	-
III	-	+	-
IV	-	+	+
V	+	-	+
VI	-	-	+
VII	+	-	-
VIII	-	-	-

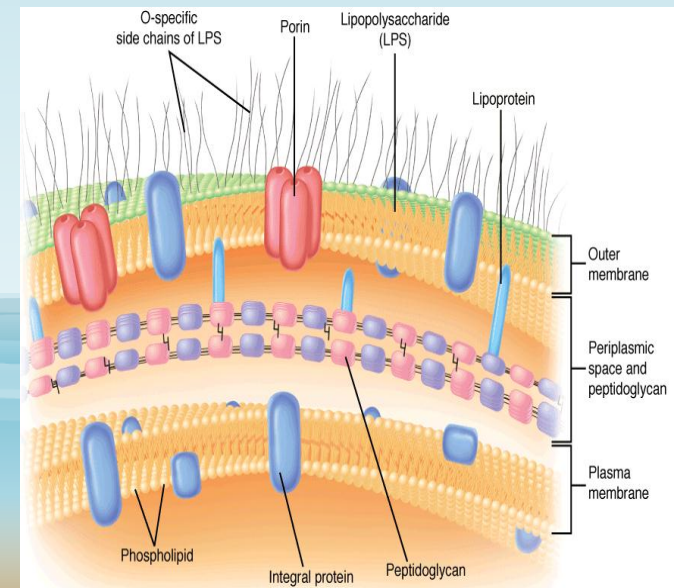
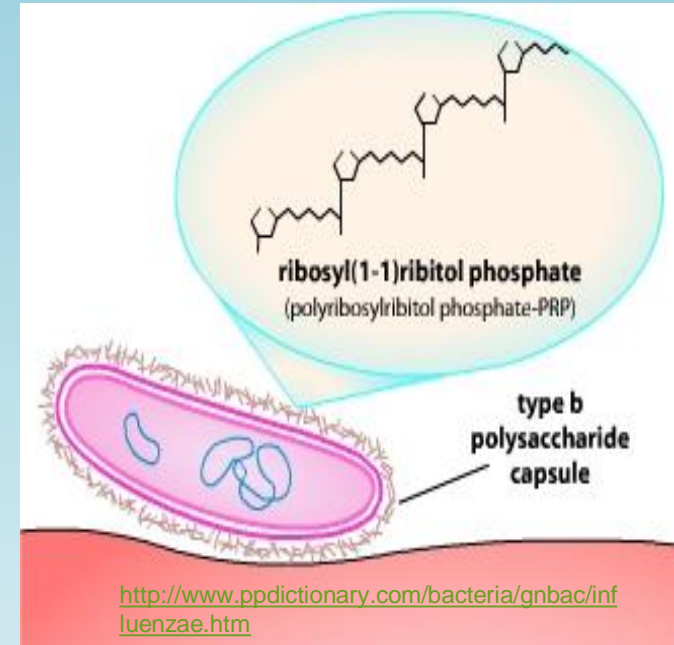
	Requires						
Species	X	V	Hemolysis	Porphyrins	Glucose	Lactose	Catalase
<i>Haemophilus influenzae</i> (<i>H aegyptius</i>)	+	+	-	-	+	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+	-	+	+	-	+/-
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	-	-	-	+/-	-	-
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+	+	-	+	-	+
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i> ^a ^a Now called <i>Aggregatibacter</i>	-	-	-	Yếu	+	+	-
<i>Haemophilus paraphrophaemolyticus</i>	-	+	+	+	+	+	-
<i>Haemophilus segnis</i>	-	+	-	+	-	-	+/-

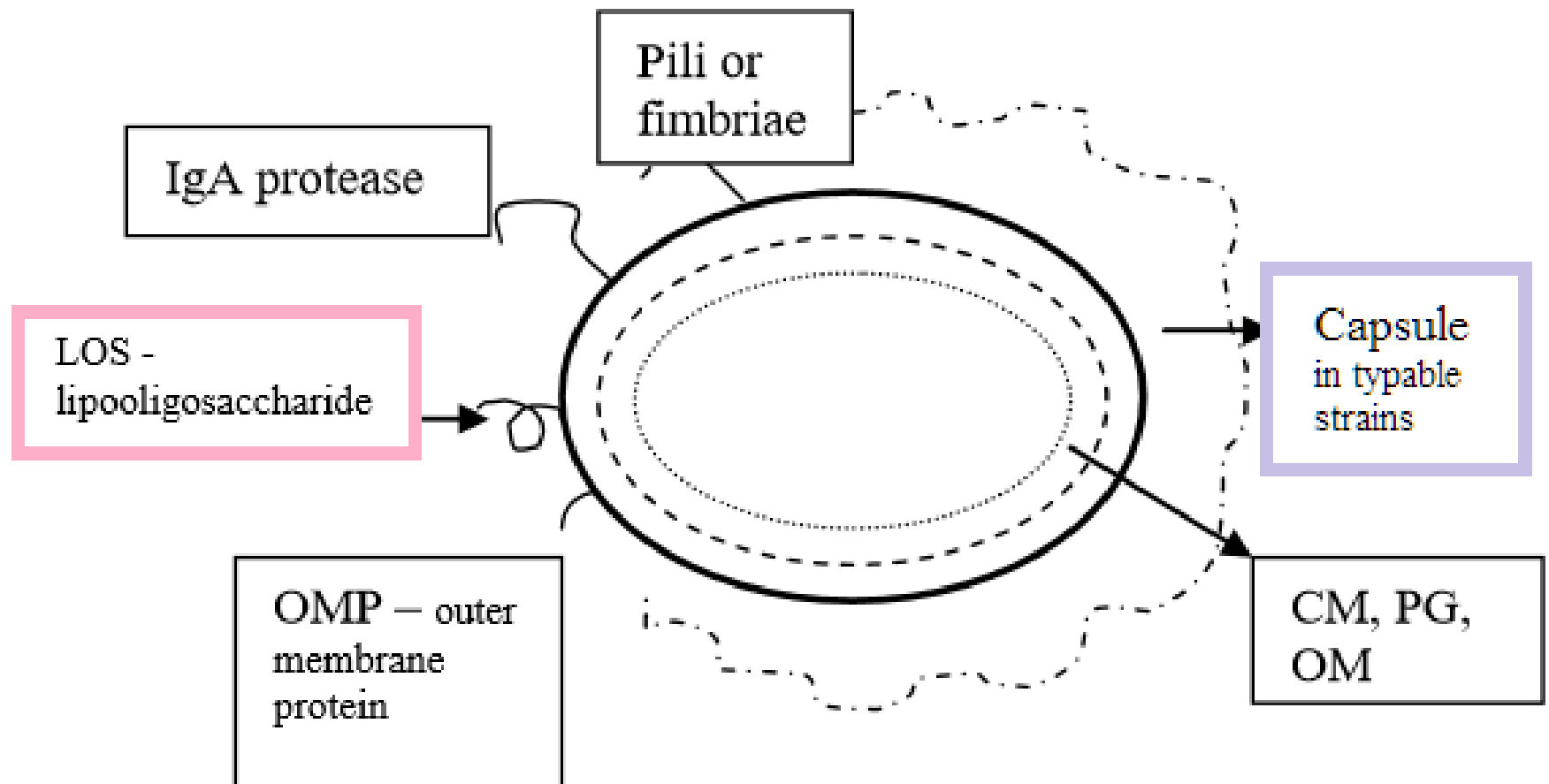
HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Kháng nguyên quan trọng

TÍNH KHÁNG NGUYÊN

- **Kháng nguyên nang:**
polysaccharide
→ chia làm 6 type: a→f
- **Kháng nguyên nội độc tổ vi khuẩn:**
lipopolysaccharide
- **Kháng nguyên thân:**
protein
+Chất P (toàn thân)
+Chất M (bề mặt)





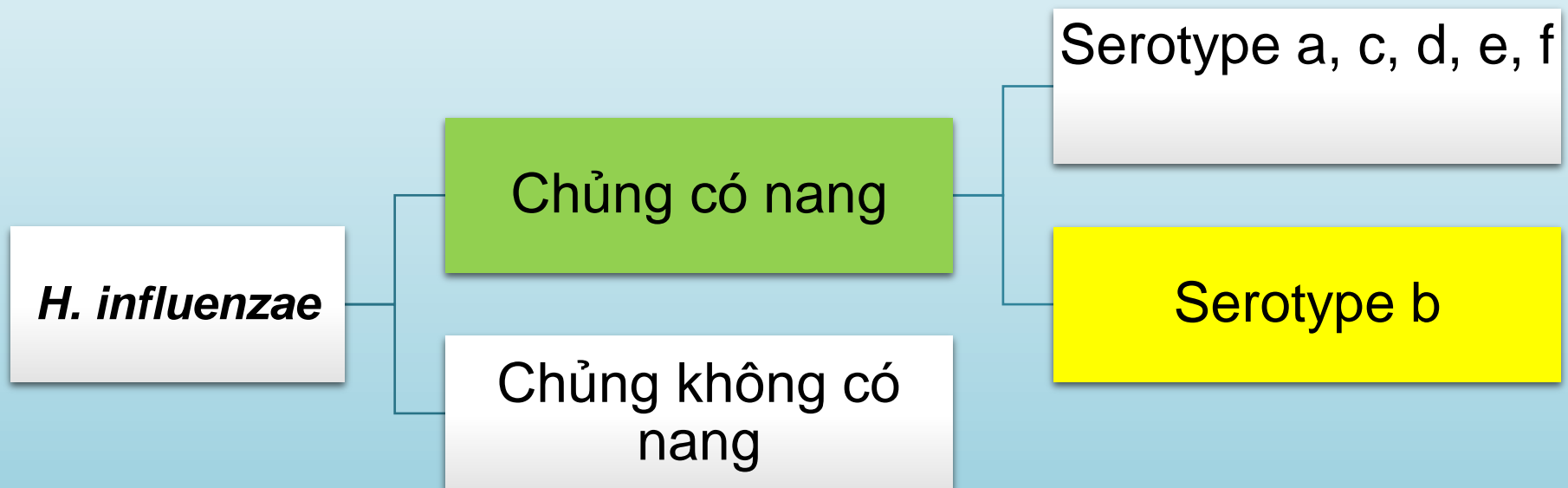
6 serotype

- Kháng nguyên nang của type a, c, d, e, f: hexose
- Kháng nguyên nang của type b: **polyribitol**

ribose phosphate (PRP)

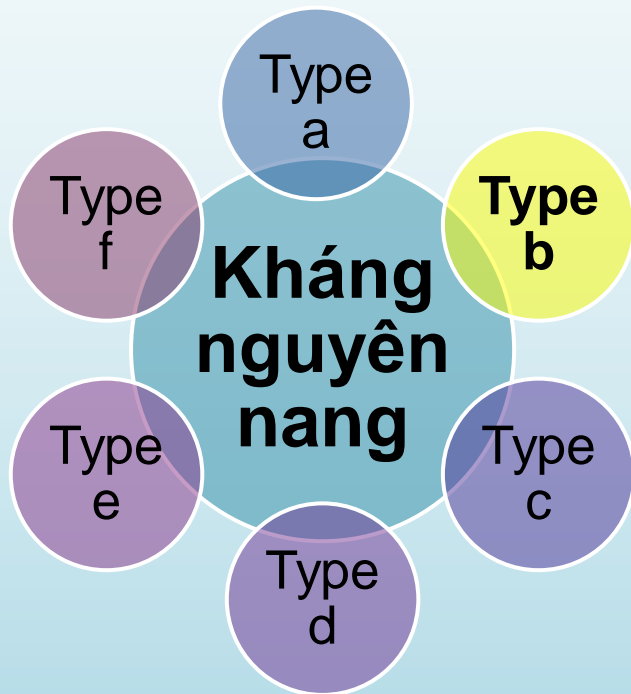
→ Polimer mạch thẳng chứa ribose với cấu trúc hóa học PRP

→ Được tinh chế để tạo vaccine

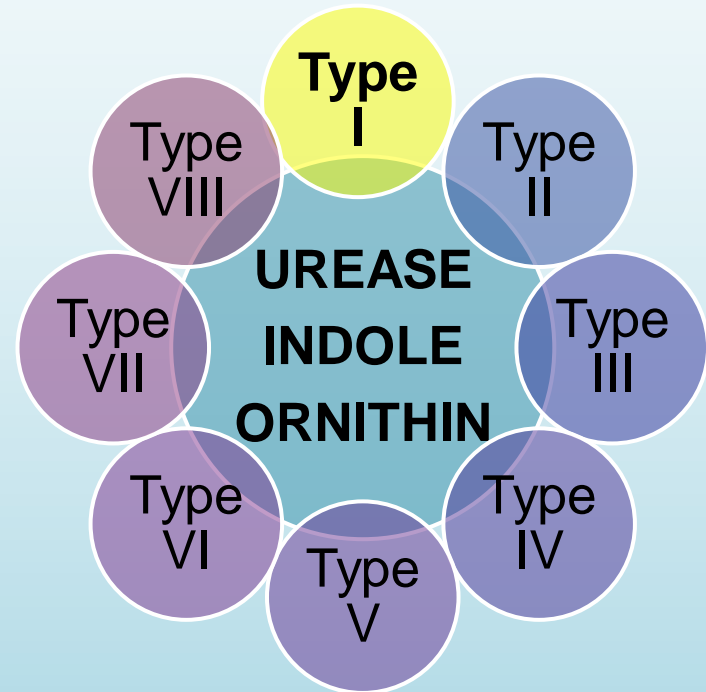


PHÂN LOẠI

- ❖ Phân loại theo cấu trúc kháng nguyên
- ❖ Phân loại theo tính chất sinh hóa học



SEROTYPE



BIOTYPE (BIOVAR)

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Khả năng gây bệnh
***H. influenzae* type b**

SINH BỆNH HỌC

- *H. parainfluenzae*, *H. influenzae*

không nang: thường trú ở đường hô hấp trên trong những tháng đầu ở trẻ ($\geq 50-80\%$ trẻ) → có thể gây bệnh cơ hội (hiếm)

- *H. influenzae* có nang (serotype b [biotype I]):

tính độc lực mạnh nhất, thường gây bệnh ở những trẻ chưa tiêm vaccine

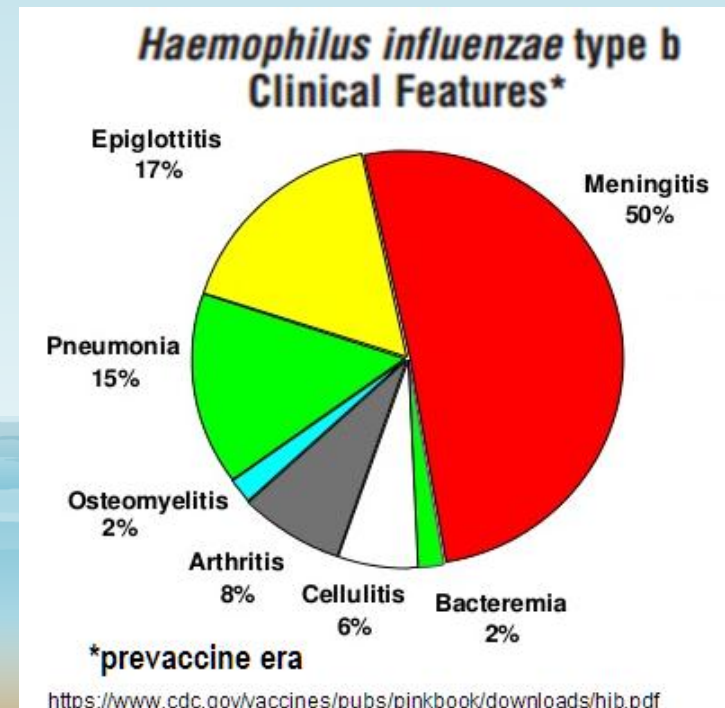
Table 34-1. *Haemophilus* Species Associated with Human Disease

Species	Primary Diseases	Frequency
<i>H. influenzae</i>	Pneumonia, sinusitis, otitis, meningitis, epiglottitis, cellulitis, bacteremia	Common
<i>H. aegyptius</i>	Conjunctivitis	Uncommon
<i>H. ducreyi</i>	Chancroid	Uncommon (in United States)
<i>H. parainfluenzae</i>	Bacteremia, endocarditis, opportunistic infections	Rare
<i>H. haemolyticus</i>	Opportunistic infections	Rare
<i>H. parahaemolyticus</i>	Opportunistic infections	Rare

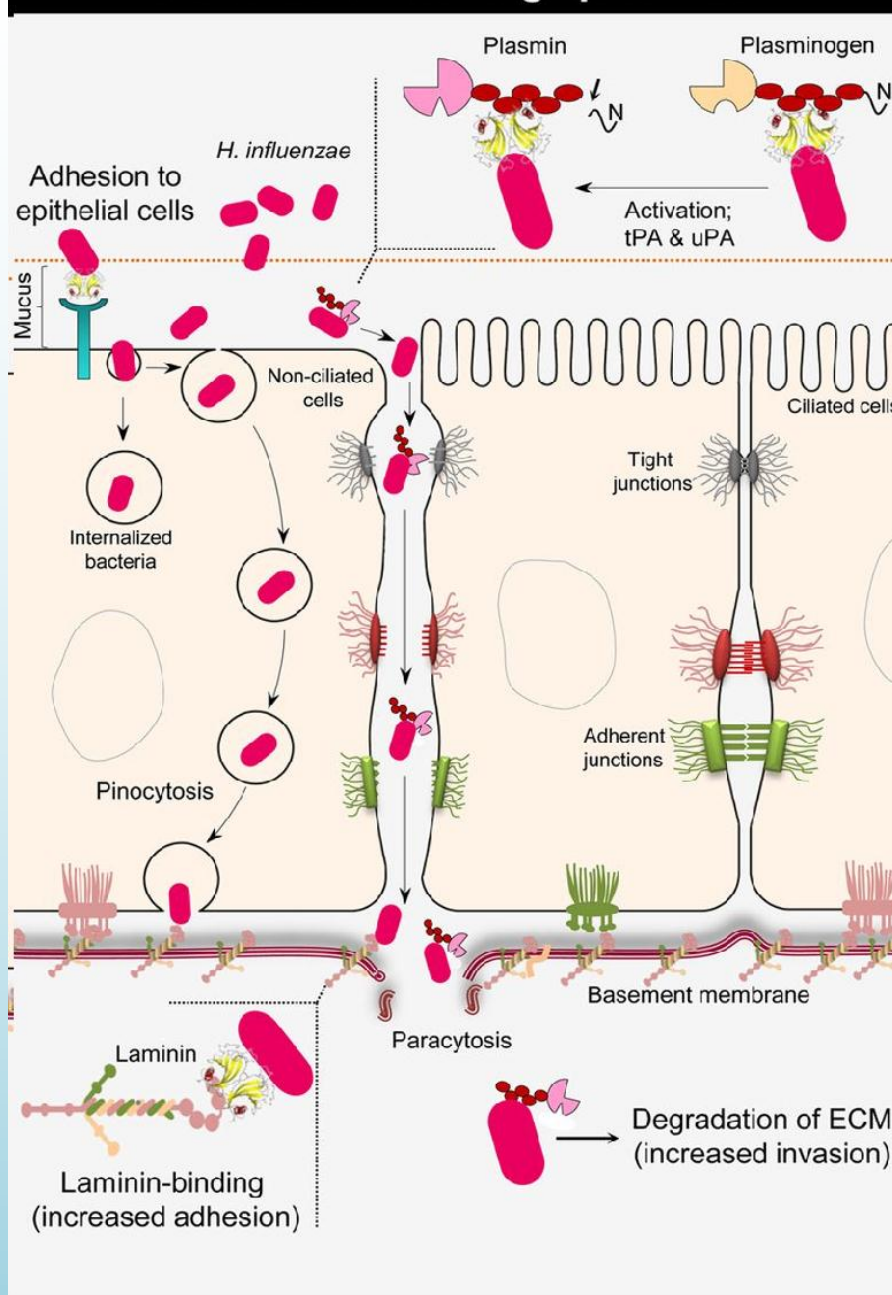
H. Influenzae serotype b [biotype I]

- **Không phổ biến:** tỷ lệ nhiễm ở đường hô hấp trên thấp (giai đoạn trước khi có vaccine: 2-4%; nay: 1%); thường ở trẻ chưa tiêm vaccine.

- **Tính độc lực cao:** nhiễm 1 lượng nhỏ → gây bệnh
VD: viêm màng não, viêm nắp thanh quản [viêm thanh quản], viêm mô tế bào



Interaction with lung epithelium

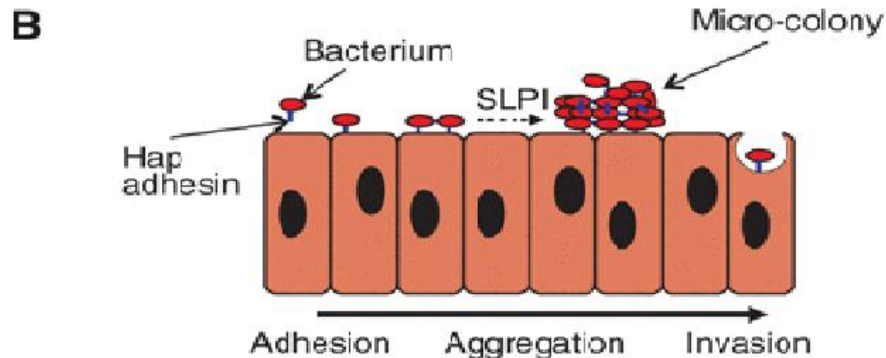
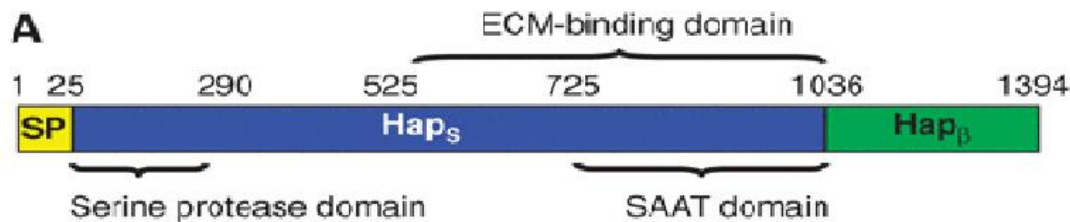


H. influenzae bám vào tế bào biểu mô

➤ *Pinocytosis*

➤ *Paracytosis*

- Pili và yếu tố kết dính khác
→ sự định cư ở hầu họng
- Lipopolysaccharide và phân tử glycopeptide trọng lượng thấp
→ làm suy yếu chức năng và tổn thương tế bào biểu mô hô hấp



Haemophilus influenzae Hap adhesin. (A) Domain arrangement of Hap adhesin. Similar to other autotransporters, Hap contains three general domains: a signal peptide (SP), a passenger domain (Hap_s), and an outer membrane translocator domain (Hap_β). (B) Hap-mediated *Haemophilus influenzae* pathogenesis. Red oval for bacterium and blue stick for Hap adhesin. The SAAT domain in the passenger domain mediates adherence to epithelial cells, invasion of epithelial cells, and bacterial aggregation. The ECM-binding domain mediates adherence to fibronectin, laminin, and collagen IV. A host protein known as secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) inhibits Hap intermolecular autoproteolysis through its N-terminal serine protease domain and results in accumulation of Hap_s on the bacterial surface, resulting in enhanced bacterial adhesive activity and microcolony formation (Hendrixson and St Geme, 1998).

H. influenzae



Microcolony

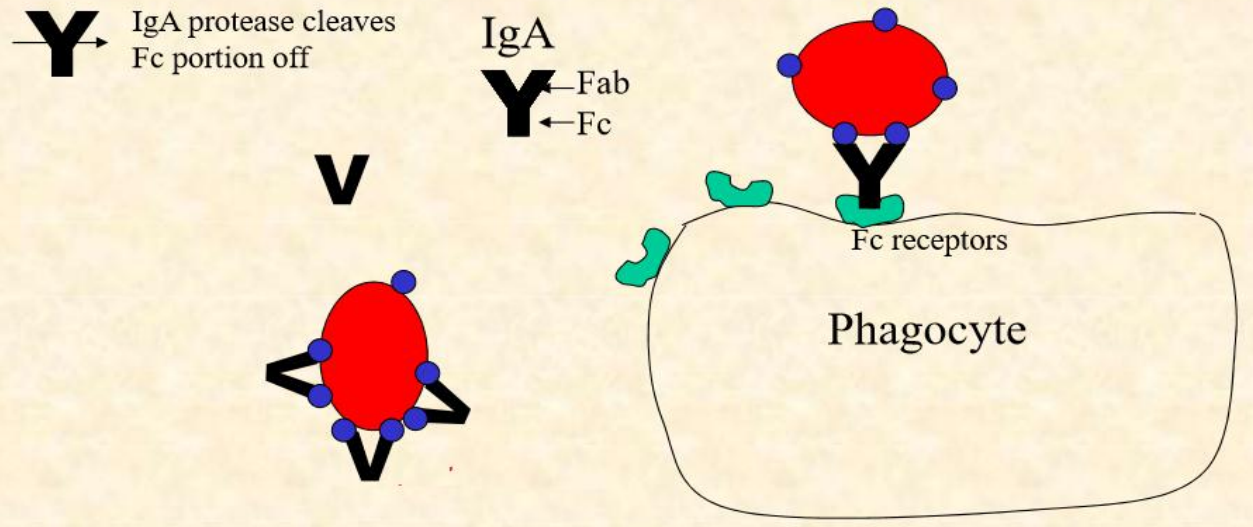


Biofilm



chống lại
yếu tố
miễn dịch
tế bào chủ

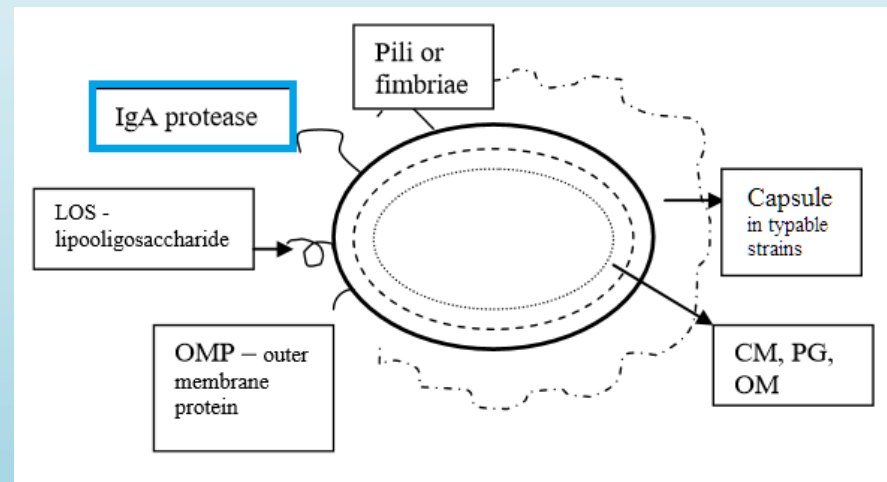
IgA protease



IgA protease được phóng thích từ bề mặt vi khuẩn



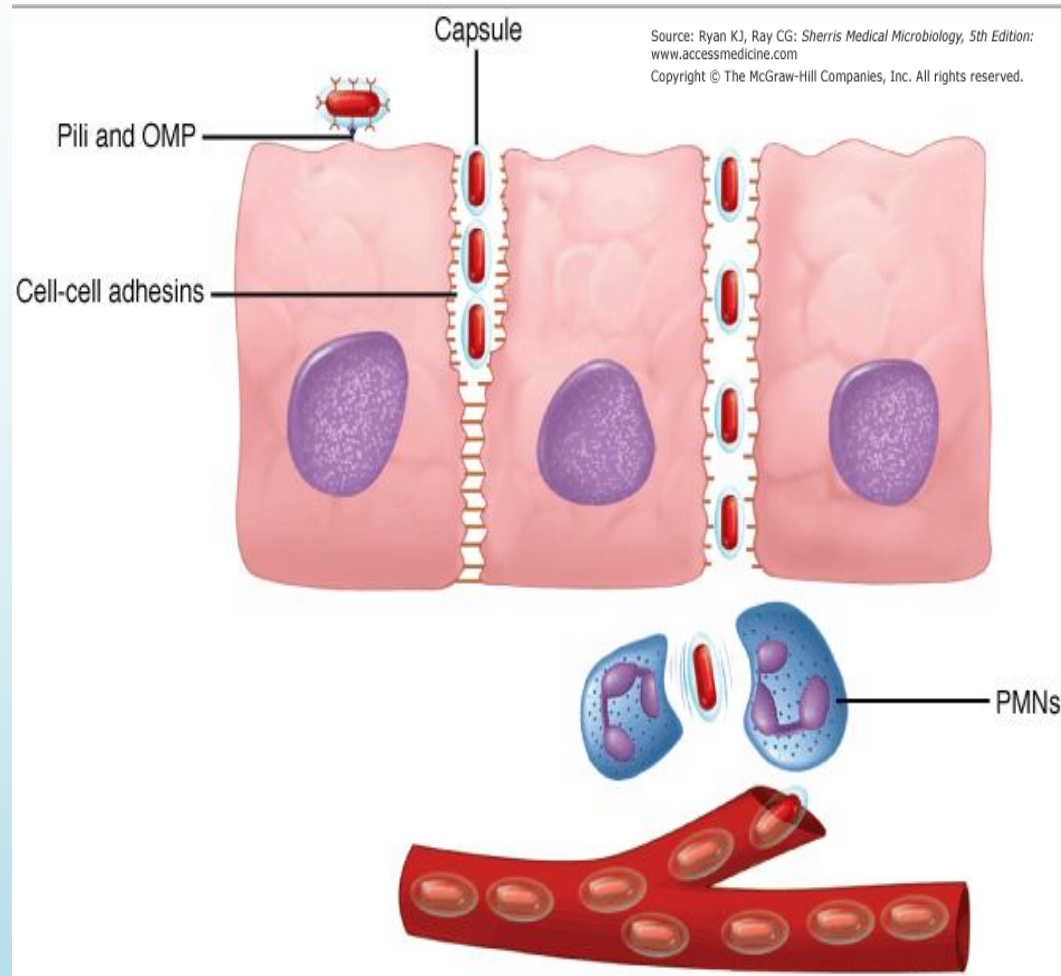
phân cắt IgA (người)



Vi khuẩn có thể vượt qua tế bào biểu mô và tế bào nội mạc vào máu



**nhiễm khuẩn máu
và đến các cơ quan khác**

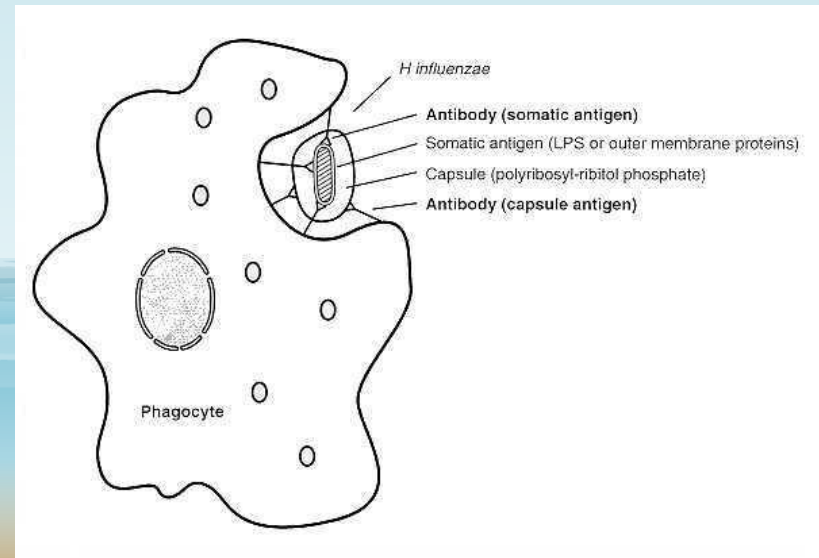
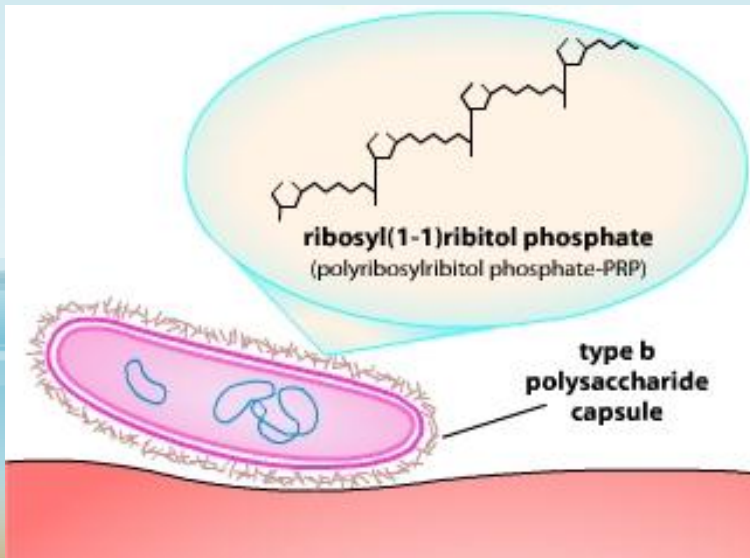


KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

- *H. influenzae* không sản xuất ra ngoại độc tố
- Yếu tố độc lực chính của *H. influenzae* type b là **PRP** (polyribitol phosphate) → chống hiện tượng thực bào



Kháng thể chống trực tiếp kháng nguyên nang
→ hiện tượng thực bào và hoạt động giết vi
khuẩn qua trung gian bổ thể



LÂM SÀNG

- Bệnh do *H. influenzae* thường thứ phát sau sởi, cúm hoặc các bệnh đường hô hấp do virus.
- Vi khuẩn có thể gây bệnh lý tại đường hô hấp trên: viêm mũi hầu, viêm xoang, viêm tai giữa, viêm phế quản, viêm phổi, viêm màng phổi
- Vi khuẩn vào máu và đến các cơ quan khác: viêm màng não mủ, viêm nội tâm mạc và đôi khi gây viêm khớp

Haemophilus influenzae

Encapsulated-Hib

Nonencapsulated

Cellulitis

Otitis media

Epiglottitis

Bronchitis

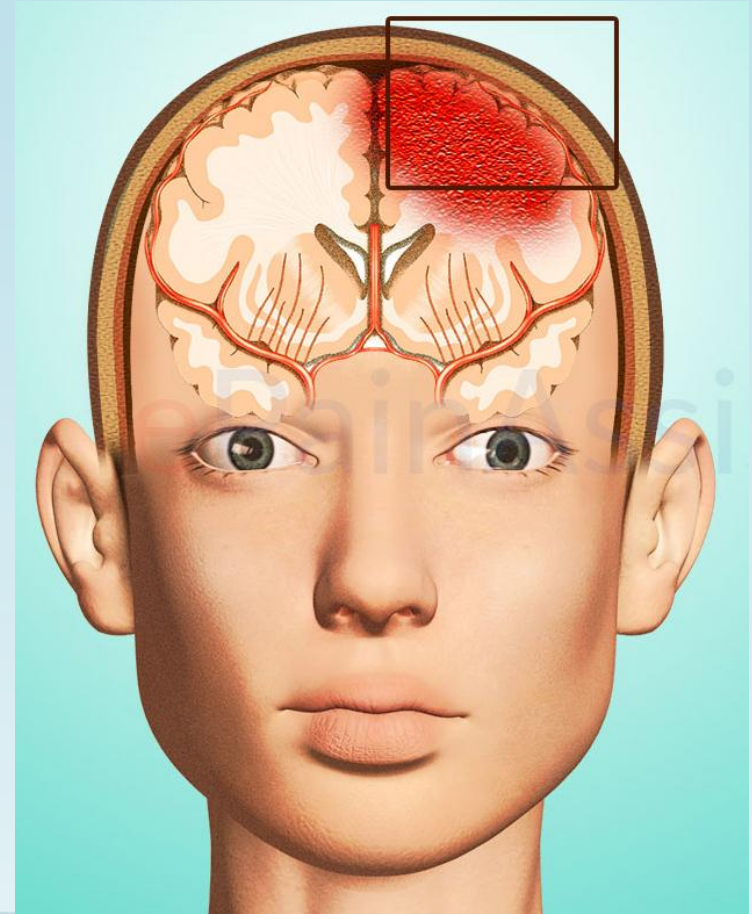
Meningitis



Haemophilus influenzae

Viêm màng não mủ do *H. influenzae*

- Là bệnh nặng, cấp tính
- Trẻ em 6 tháng – 5 tuổi, nhất là trẻ suy dinh dưỡng, suy giảm miễn dịch, hay đang mắc các bệnh nặng khác
- Bệnh lý nguy hiểm, cần chẩn đoán sớm để điều trị kịp thời

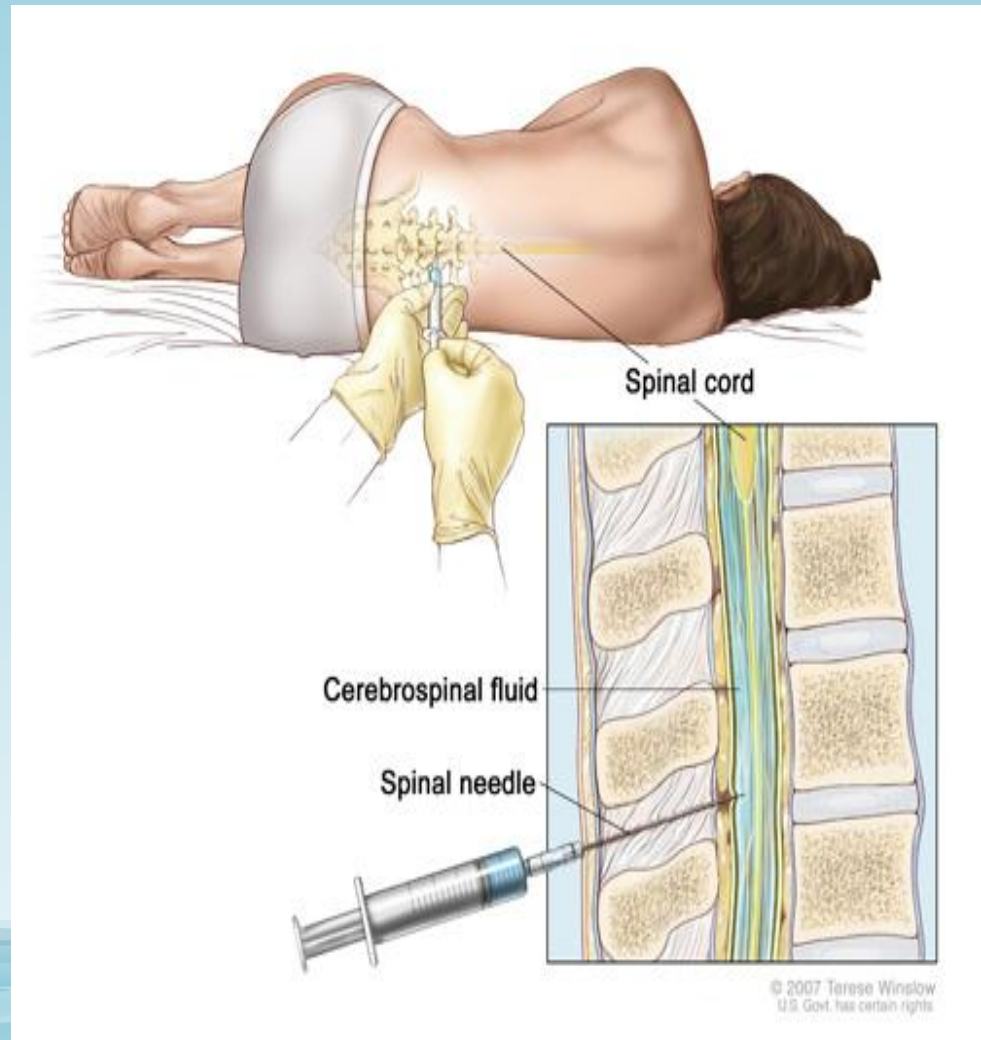


HAEMOPHILUS INFLUENZAE

**Vi sinh lâm sàng
phát hiện *H. influenzae***

BỆNH PHẪM:

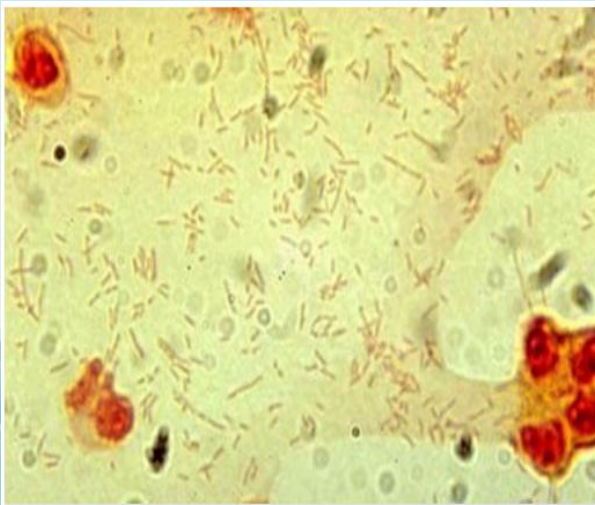
- Đàm
- Phết mũi
- Phết hầu họng
- Chắt hút phế quản
- Dịch màng phổi
- Dịch não tủy
- Mủ
- Máu



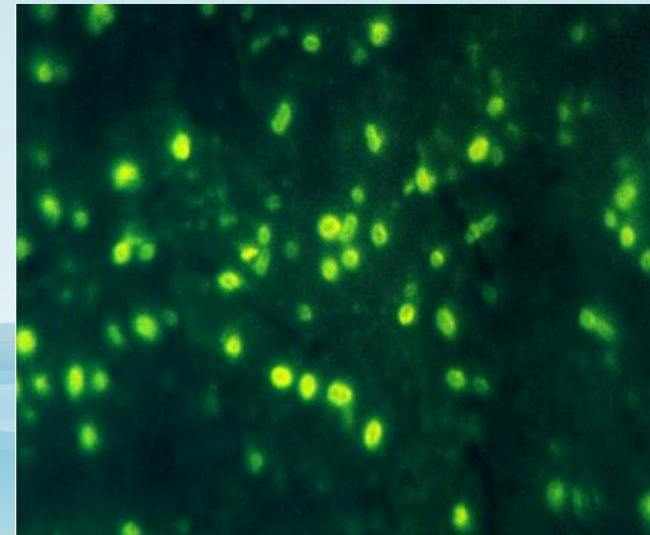
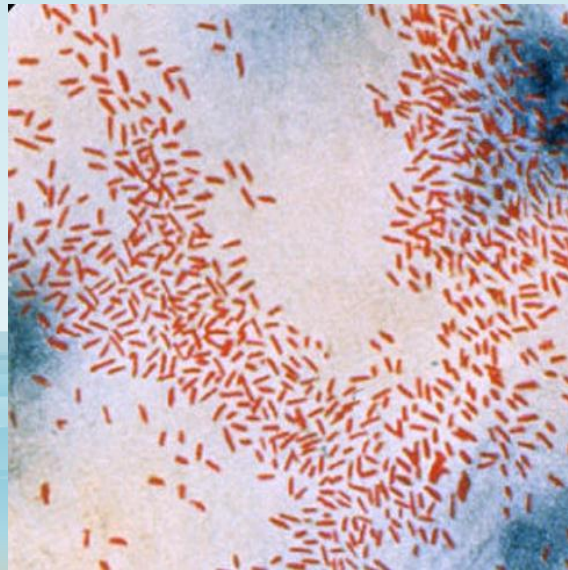
Khảo sát trực tiếp:

- Nhuộm gram
- Nhuộm kháng thể huỳnh quang, hay kháng thể gắn men trực tiếp → phát hiện *H. Influenzae* type b trong bệnh phẩm

<http://www.cdc.gov/hi-disease/about/photos.html>



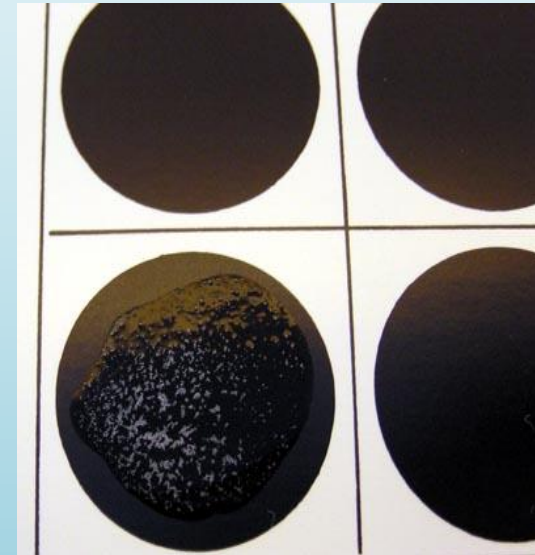
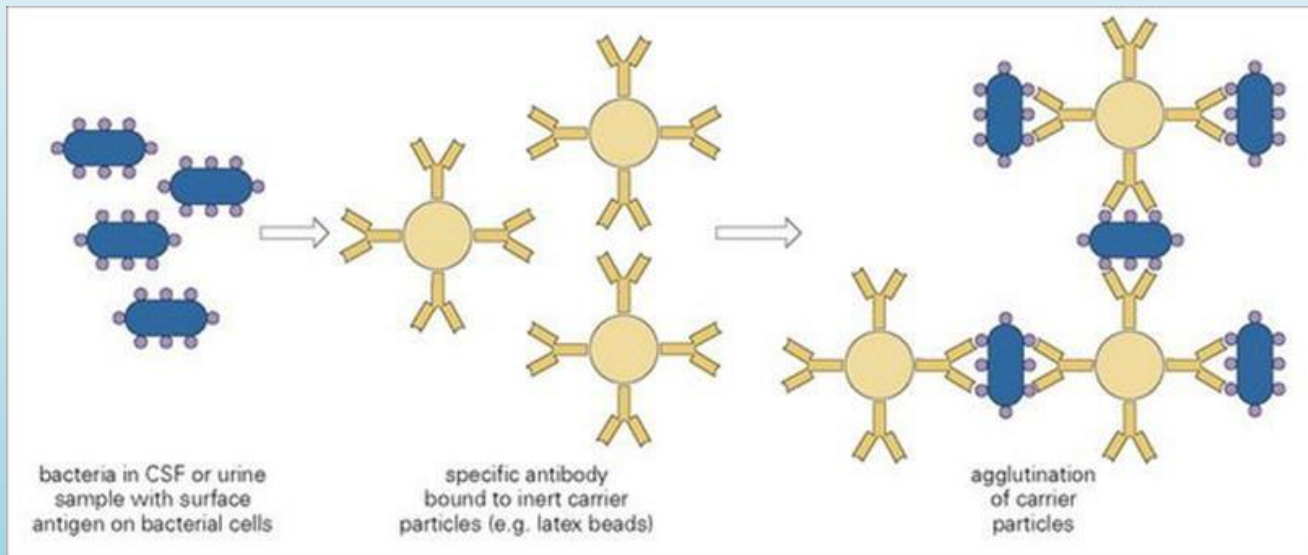
Cerebrospinal fluid culture positive for *Haemophilus influenzae*, type b (Gram stain)



Haemophilus influenzae using immunofluorescence

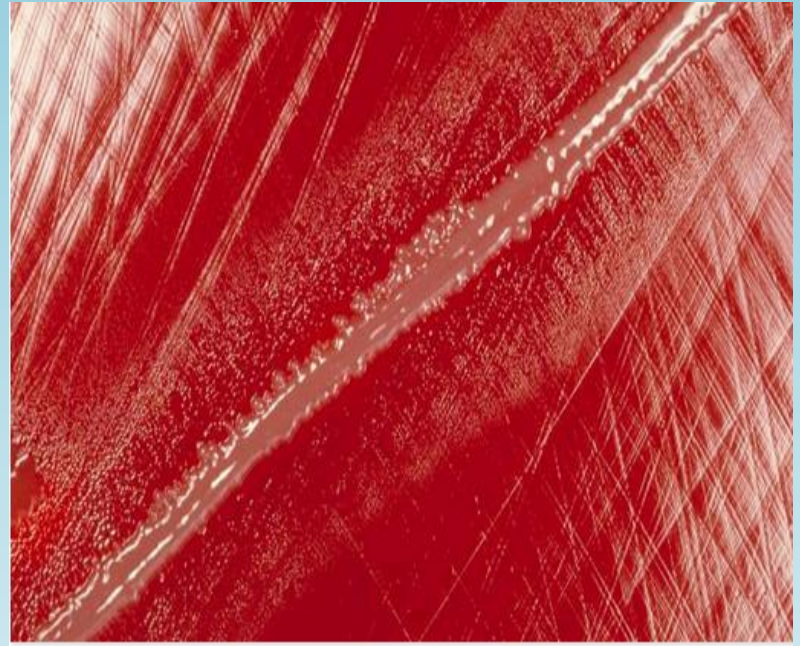
Miễn dịch:

- Kỹ thuật nhuộm kháng thể gắn men gắn huỳnh quang tìm kháng nguyên hòa tan (KN thân) (Meningitex)
- Latex agglutination:



Nuôi cấy

1. Thạch máu vạch thêm các đường cấy *Staphylococci*; hoặc bổ sung đĩa giấy tẩm yếu tố V



Haemophilus influenzae satelliting around *Staphylococcus aureus*

2. Thạch chocolate

-Bacitracin 300 g/ml

-Ủ ở khí trường 5% CO₂/37°C



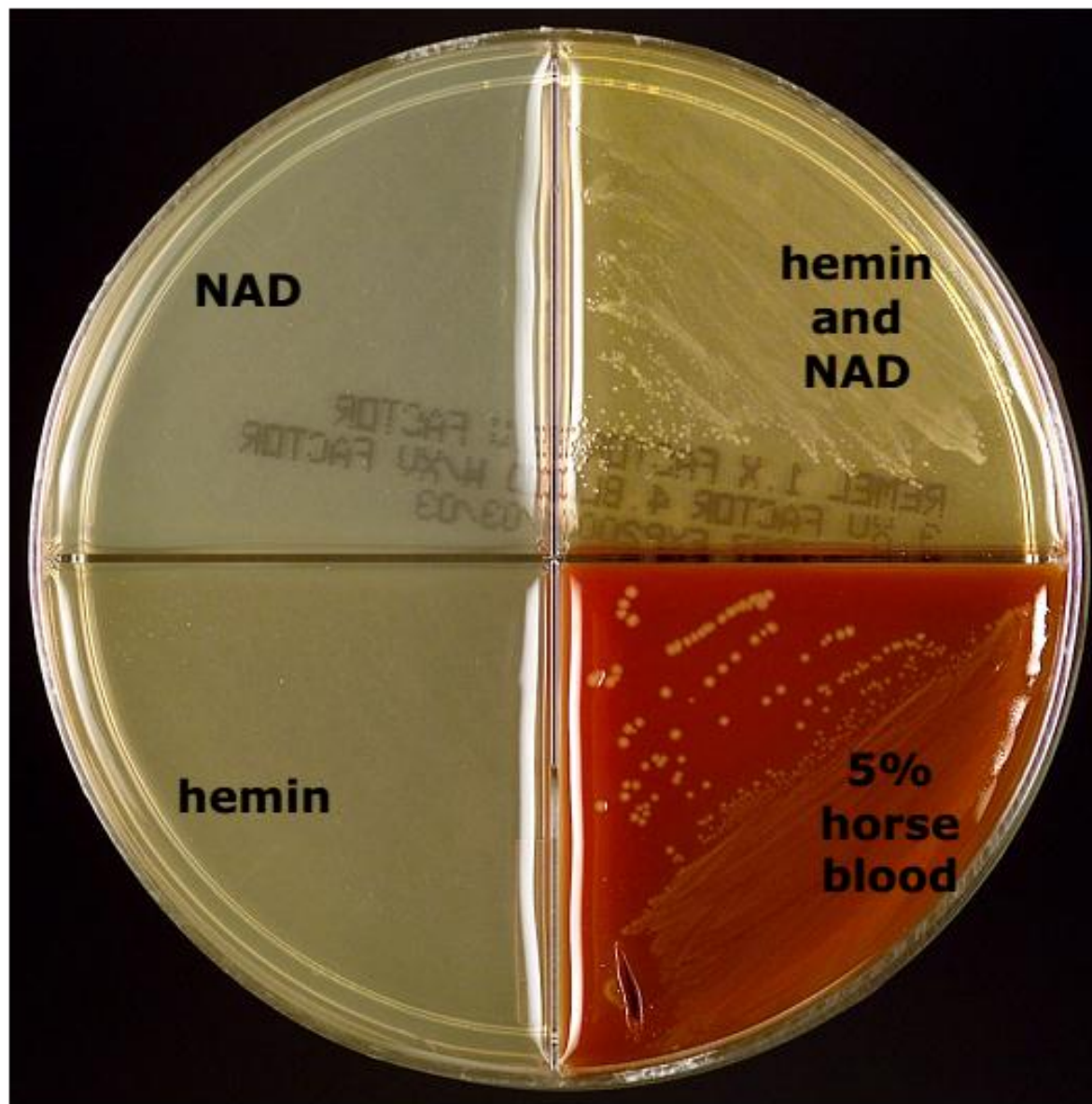


Figure 6. Growth pattern for *H. influenzae* on a *Haemophilus* ID Quad plate

<https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt09-id-characterization-hi.pdf>



Figure 1. *H. influenzae* colonies on a CAP

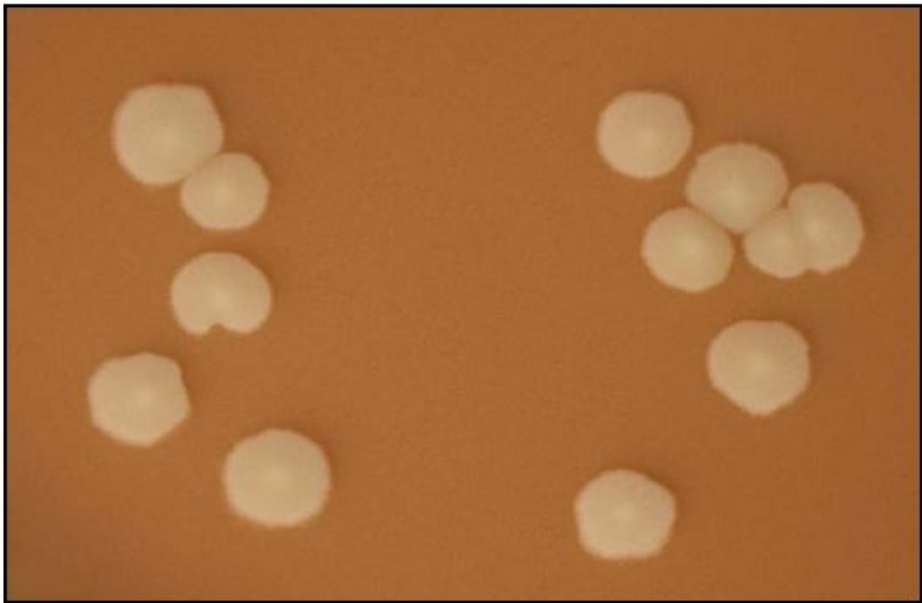


Figure 2. *H. influenzae* colonies on a CAP

Serotyping chủng phân lập *H. influenzae*

- Slide agglutination serotyping (SAST)

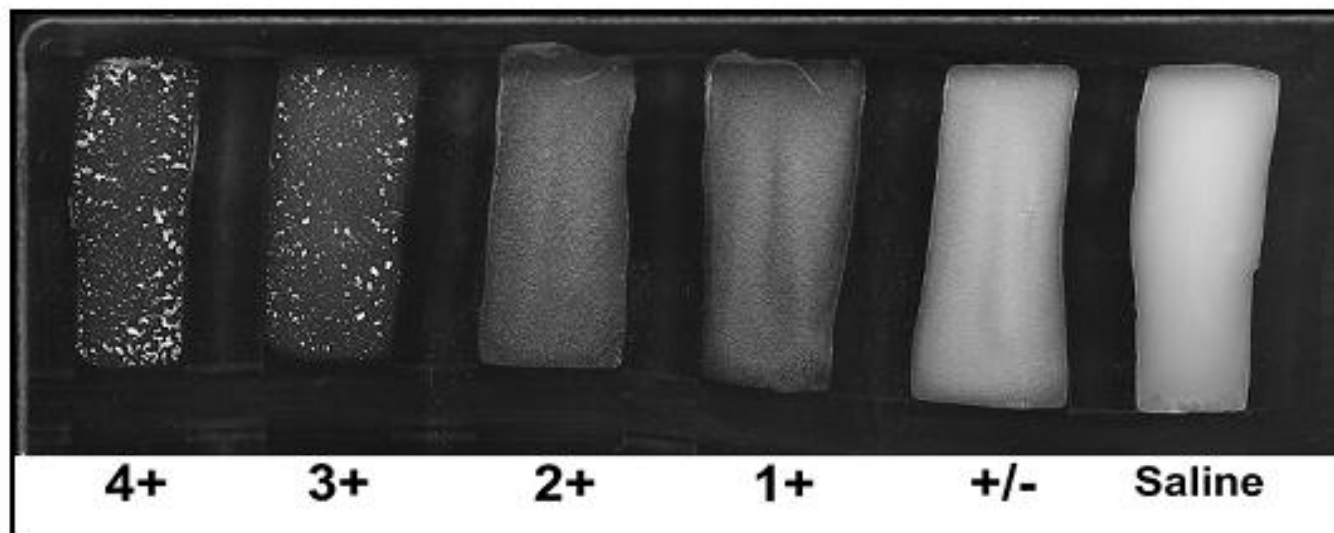


Figure 7. Rating the intensity of the agglutination reaction

<https://www.cdc.gov/meningitis/lab-manual/chpt09-id-characterization-hi.pdf>

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Điều trị và phòng ngừa

ĐIỀU TRỊ KHÁNG SINH

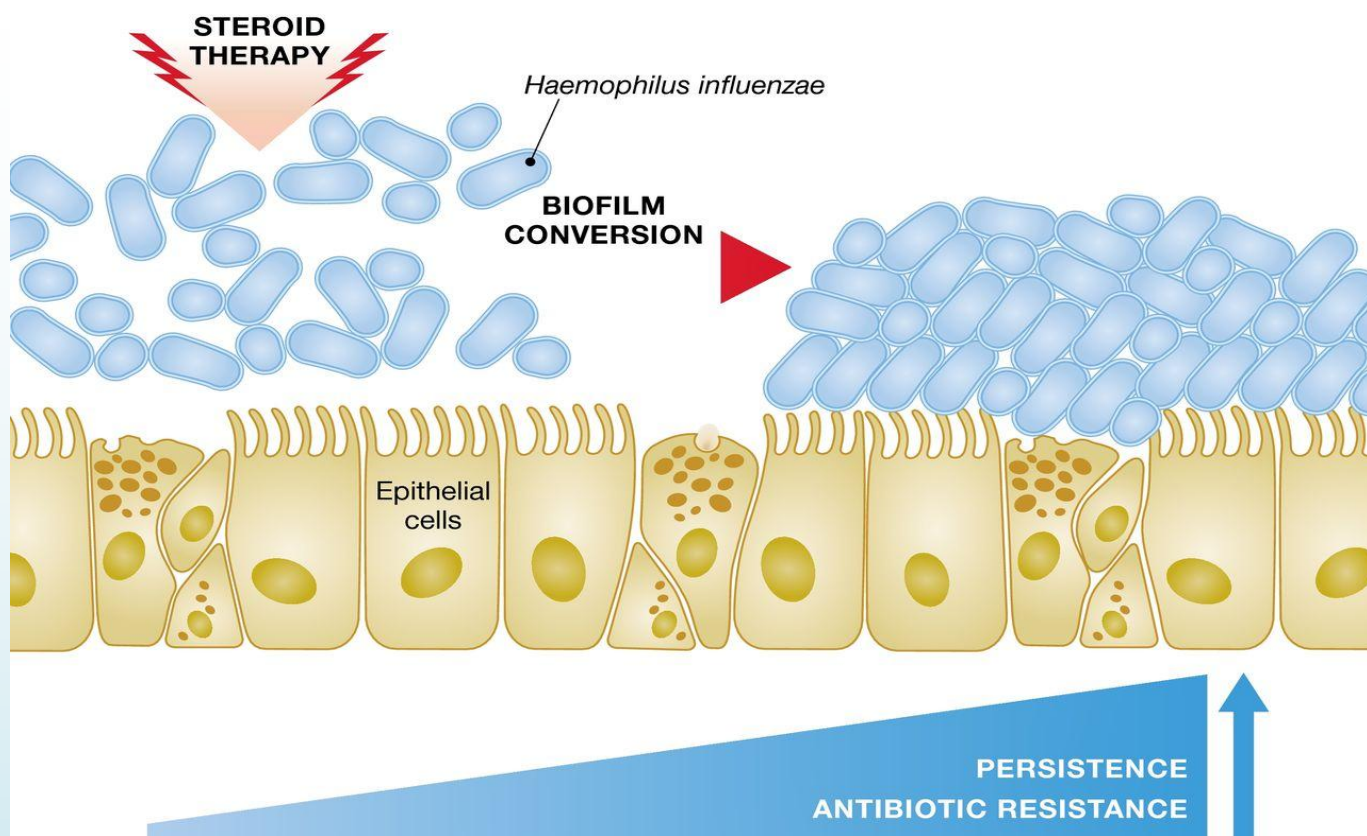
Nhiễm *H.influenzae* toàn thân cần:
điều trị kháng sinh nhanh chóng

Nhiễm khuẩn nặng: cephalosporins phổ rộng thế hệ III
(Cefotaxim, Ceftriaxone)

Dexamethasone therapy (IV, 0.6 mg/kg/ngày, 4 ngày): trẻ sơ sinh dưới 2 tháng tuổi

Nhiễm khuẩn nhẹ hơn (như viêm xoang và viêm tai...)

- Ampicillin (nếu nhạy, khoảng 30% chủng đề kháng-tiết lactamase)
- Amoxicillin-clavulanate
- Fluoroquinolones
- Macrolides (vd: azithromycin, clarithromycin)
- Cephalosporins phổ rộng (vd: cefixime, cefpodoxime, cefaclor, loracarbef, cefuroxime)



Haemophilus influenzae

- Otitis media
- Sinusitis
- Pneumonia
- Bacterial meningitis
- Epiglottitis
- Septic arthritis

Penicillins ¹	1	Ampicillin/clavulanate
	1	Cefotaxime
Cephalosporins ²	1	Ceftriaxone
TETRACYCLINES AMINOGLYCOSIDES MACROLIDES FLUOROQUINOLONES	2	Trimethoprim-sulfamethoxazole

¹Non-life-threatening illness

²Meningitis, epiglottitis, and other life-threatening illness.

PHÒNG BỆNH

Powder and suspension for suspension for injection.

1 dose (0.5 ml) contains:

Diphtheria toxoid¹ not less than 30 International units

Tetanus toxoid¹ not less than 40 International units

Bordetella pertussis antigens

Pertussis toxoid¹ 25 micrograms

Filamentous Haemagglutinin¹ 25 micrograms

Pertactin¹ 8 micrograms

Hepatitis B surface antigen^{2,3} 10 micrograms

Poliovirus (inactivated)

type 1 (Mahoney strain)⁴ 40 D-antigen unit

type 2 (MEF-1 strain)⁴ 8 D-antigen unit

type 3 (Saukett strain)⁴ 32 D-antigen unit

Haemophilus influenzae type b polysaccharide (polyribosylribitol phosphate)³ 10 micrograms

conjugated to tetanus toxoid as carrier protein 20 - 40 micrograms

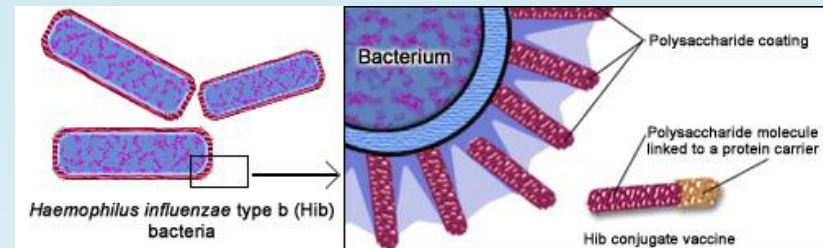
¹adsorbed on aluminium hydroxide, hydrated (Al(OH)₃) 0.5 milligrams Al³⁺

²produced in yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) by recombinant DNA technology

³adsorbed on aluminium phosphate (AlPO₄) 0.32 milligrams Al³⁺

⁴propagated in VERO cells

H. influenzae lây truyền chủ yếu qua đường hô hấp trẻ từ 6 tháng đến 5 tuổi



INFANRIX hexa

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

KẾT LUẬN

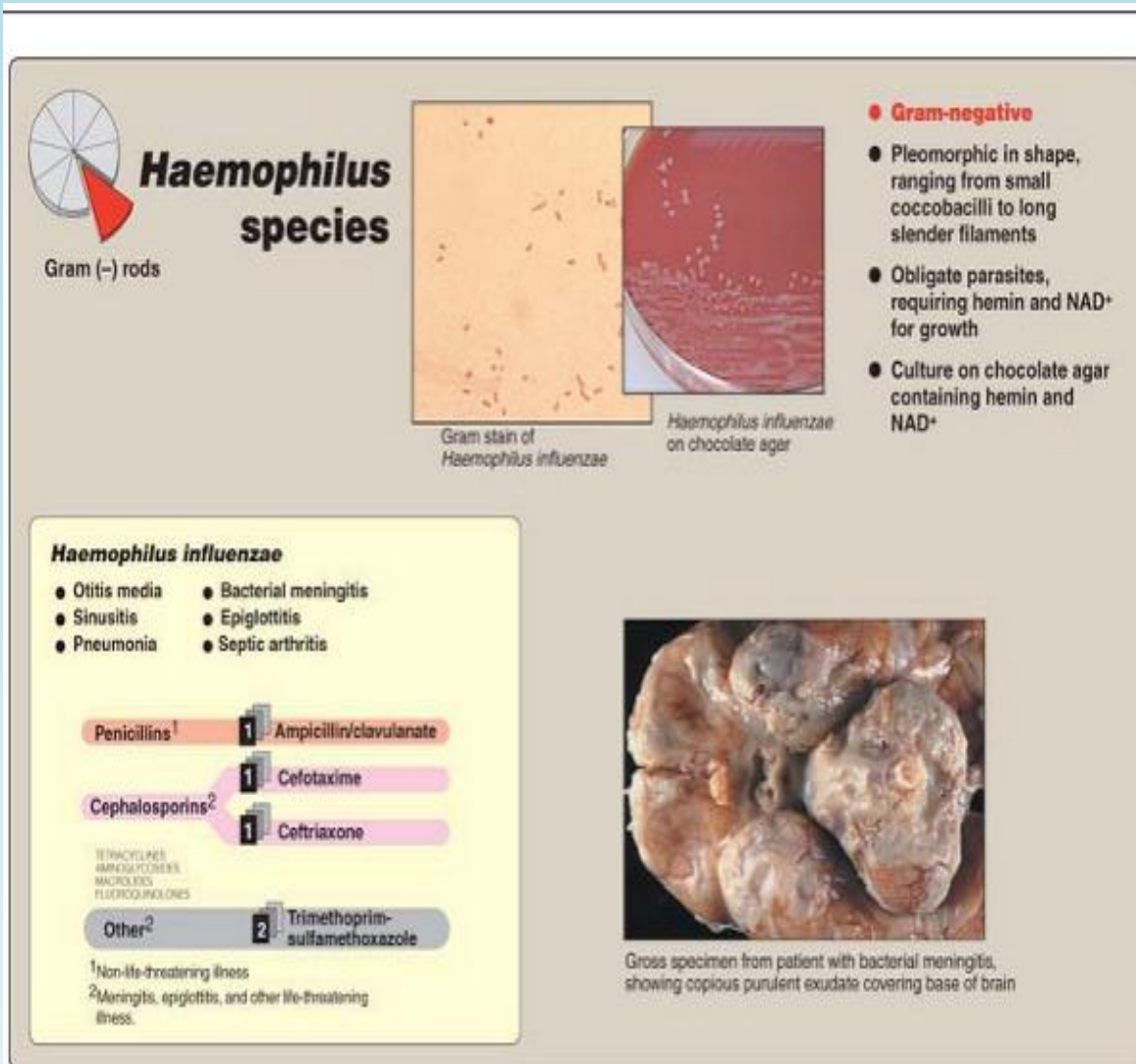


Figure 13.5 Summary of haemophilus isease

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 27th 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 hay
lan.nguyen5000@gmail.com