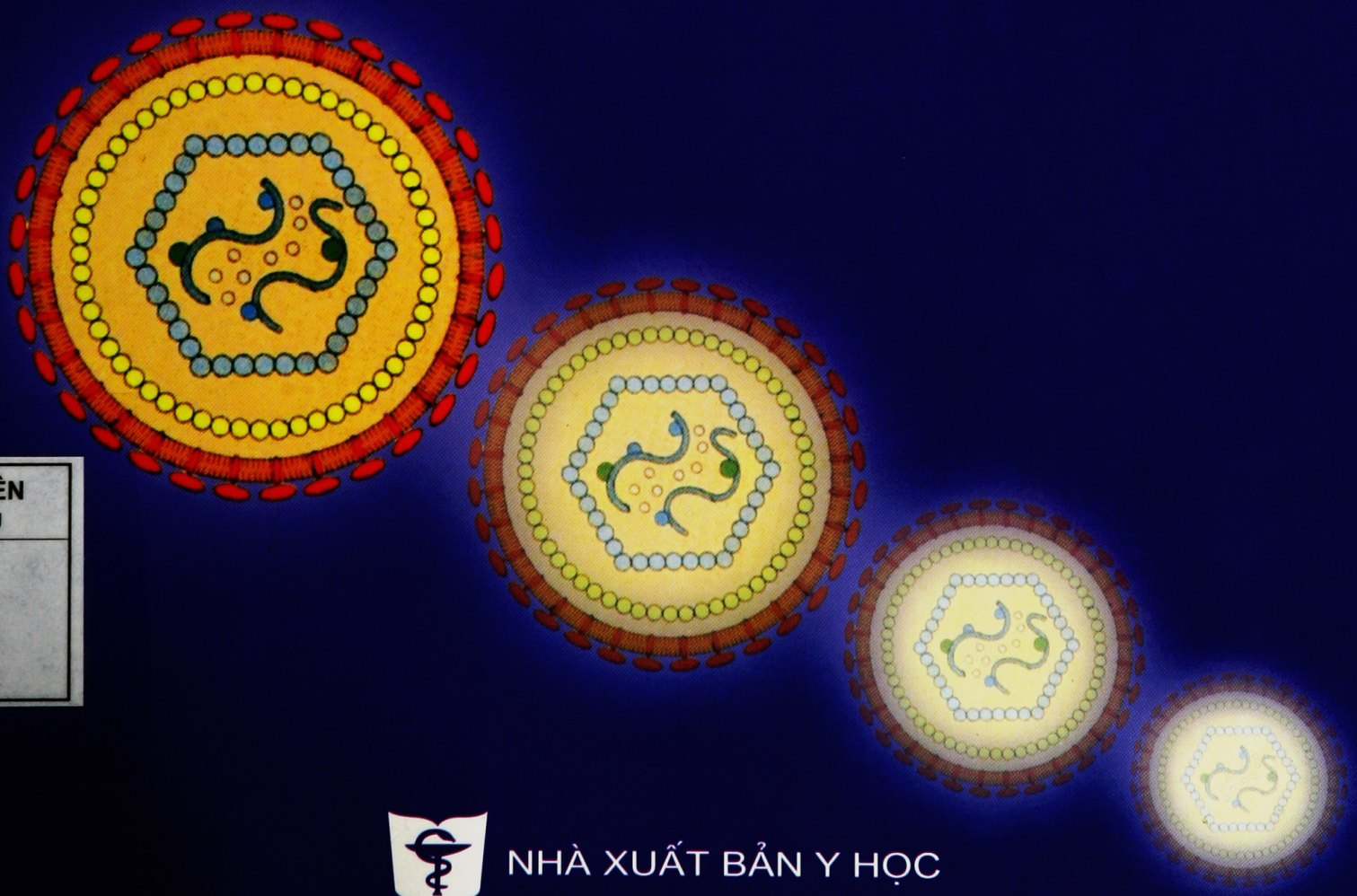
CHIASEYKHOA.COM
Nơi chia sẻ kiến thức y khoa

BỘ Y TẾ

VI SINH VẬT Y HỌC

SÁCH ĐÀO TẠO BÁC SĨ ĐA KHOA

Chủ biên: GS.TS. LÊ HUY CHÍNH



NGUYÊN
ỌC LIỆU

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

CHIASEYKHOA.COM
Nơi chia sẽ kiến thức y khoa

TÀI LIỆU NÀY ĐƯỢC BIÊN TẬP VÀ CHIA SẺ MIỄN PHÍ TẠI HTTP://CHIASEYKHOA.COM NHẰM MỤC ĐÍCH PHỤC VỤ NHU CẦU HỌC TẬP, NGHIÊN CỨU CỦA BẠN ĐỌC. ĐỀ NGHỊ BẠN ĐỌC KHI SAO CHÉP LẠI KHÔNG SỬ DỤNG VÀO CÁC MỤC ĐÍCH KINH TẾ, GHI RÕ NGUỒN GỐC KHI PHÁT HÀNH LẠI CÁC TÀI LIỆU TRÊN WEBSITE. CẢM ƠN!

CHỈ ĐẠO BIÊN SOẠN:

Vụ Khoa học & Đào tạo, Bộ Y tế

CHỦ BIÊN:

GS.TS Lê Huy Chính

NHỮNG NGƯỜI BIÊN SOẠN:

GS.TS. Lê Huy Chính
PGS.TS. Đinh Hữu Dung
PGS.TS. Bùi Khắc Hậu
PGS.TS. Lê Hồng Hinh
PGS.TS. Lê Thị Oanh
PGS.TS. Lê Văn Phủng
PGS.TS. Nguyễn Thị Tuyến
PGS.TS. Nguyễn Thị Vinh
TS. Nguyễn Vũ Trung

THƯ KÝ BIÊN SOẠN:

PGS.TS. Lê Văn Phủng

TỔ CHỨC BẢN THẢO:

ThS. Phí Văn Thâm
BS. Nguyễn Ngọc Thịnh

© Bản quyền thuộc Bộ Y tế (Vụ khoa học và Đào tạo)

LỜI GIỚI THIỆU

Thực hiện một số điều của Luật Giáo dục, Bộ Giáo dục & Đào tạo và Bộ Y tế đã ban hành chương trình khung đào tạo BS đa khoa. Bộ Y tế tổ chức biên soạn tài liệu dạy - học các môn cơ sở, chuyên môn và cơ bản chuyên ngành theo chương trình trên nhằm từng bước xây dựng bộ sách chuẩn trong công tác đào tạo nhân lực y tế.

Sách Vi sinh vật y học được biên soạn dựa trên chương trình giáo dục của Trường Đại học Y Hà Nội trên cơ sở chương trình khung đã được phê duyệt. Sách được các nhà giáo giàu kinh nghiệm và tâm huyết với công tác đào tạo biên soạn theo phương châm: kiến thức cơ bản, hệ thống, nội dung chính xác, khoa học; cập nhật các tiến bộ khoa học, kỹ thuật hiện đại và thực tiễn Việt Nam.

Sách vi sinh vật y học đã được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy - học chuyên ngành bác sĩ đa khoa của Bộ Y tế thẩm định vào năm 2006. Bộ Y tế ban hành là tài liệu dạy - học đạt chuẩn chuyên môn của Ngành Y tế trong giai đoạn 2006 - 2010. Trong quá trình sử dụng sách phải được chỉnh lý, bổ sung và cập nhật.

Bộ Y tế xin chân thành cảm ơn các Nhà giáo, các chuyên gia của trường đã dành nhiều công sức hoàn thành cuốn sách này, cảm ơn PGS.TS. Hoàng Ngọc Hiển, TS. Trần Văn Bình đã đọc, phản biện để cuốn sách được hoàn chỉnh kịp thời phục vụ cho công tác đào tạo nhân lực y tế.

Lần đầu xuất bản, chúng tôi mong nhận được ý kiến đóng góp của đồng nghiệp, các bạn sinh viên và các độc giả để lần xuất bản sau được hoàn thiện hơn.

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

LỜI NÓI ĐẦU

Trường đại học Y Hà Nội đã xây dựng Chương trình đào tạo mới - đào tạo bác sĩ đa khoa theo hướng cộng đồng. Chương trình này đã được Bộ Y tế thông qua. Chúng tôi biên soạn cuốn "Vi sinh vật Y học" nhằm phục vụ cho Chương trình đó. Sách được viết theo mục tiêu, nhằm giúp cho người học nắm bắt những kiến thức cơ bản một cách dễ dàng hơn.

Cùng với những tiến bộ vượt bậc của Vi sinh vật học, trong thời gian gần đây, *Vi sinh Y học* cũng đạt được những thành tựu to lớn; vì vậy, trong cuốn *Bài giảng Vi sinh Y học* xuất bản lần này, chúng tôi đã cố gắng chọn lọc những nội dung cơ bản và mới của Vi sinh Y học hiện đại và thực tế Việt Nam.

Cuốn sách này phục vụ chủ yếu cho sinh viên các trường đại học Y. Tuy vậy, ngoài những kiến thức cơ bản, cần thiết cho một bác sĩ đa khoa; phần chuyên đề các vi sinh vật gây bệnh, những vi sinh vật mới xuất hiện, gây nên những dịch bệnh trầm trọng; thu hút sự quan tâm của cả thế giới (SARS, cúm gia cầm, Ebola...) cũng đã được đưa vào sách xuất bản lần này. Vì vậy, cuốn sách này cũng có thể là tài liệu tham khảo có ích cho các cán bộ y tế và học viên sau đại học. Cuốn sách gồm 3 phần chính:

1. Đại cương Vi sinh Y học.

2. Một số vi khuẩn gây bệnh thường gặp.

3. Một số virus gây bệnh thường gặp.

Tuy vậy, cuốn sách này vẫn không tránh khỏi những thiếu sót. Cuốn sách này đã được trường Đại học Y Hà Nội và Bộ Y tế nghiệm thu, vì thế sách này được dùng cho các Trường đại học Y trong cả nước. Chúng tôi chân thành mong và trân trọng cảm ơn các ý kiến đóng góp xây dựng của các bạn đồng nghiệp và sinh viên.

CHỦ BIÊN

GS. TS. Lê Huy Chính

Chủ nhiệm Bộ môn Vi sinh vật, Trường đại học Y Hà Nội

MỤC LỤC

Lời giới thiệu 3
Lời nói đầu 5
Phần I: Đại cương vi sinh y học 11
Đối tượng nghiên cứu và lịch sử phát triển của vi sinh vật học (Lê Huy Chính) 11
Phân loại vi sinh vật (Lê Huy Chính) 21
Hình thể, cấu trúc và sinh lý của vi khuẩn (Lê Huy Chính) 25
Di truyền vi khuẩn (Nguyễn Thị Vinh) 36
Tiệt trùng, Khử trùng (Nguyễn Thị Vinh) 44
Kháng sinh với vi khuẩn và sự kháng kháng sinh (Nguyễn Thị Vinh) 50
Đại cương virus (Lê Thị Oanh) 58
Bacteriophage (Lê Hồng Hinh) 77
Nhiễm trùng và các yếu tố độc lực của vi sinh vật (Lê Huy Chính) 81
Kháng nguyên vi sinh vật (Lê Huy Chính) 88
Sự đề kháng của cơ thể với Vi sinh vật gây bệnh (Lê Huy Chính) 93
Các phản ứng kháng nguyên-kháng thể sử dụng trong vi sinh y học (Đinh Hữu Dung) 102
Vacxin và huyết thanh miễn dịch (Đinh Hữu Dung) 112
Vacxin 112
Huyết thanh miễn dịch 118
Vi sinh vật trong tự nhiên và ký sinh ở người các đường truyền bệnh (Bùi Khắc Hậu) 122
Nhiễm trùng bệnh viện (Bùi Khắc Hậu) 127
Phần II: Các vi khuẩn gây bệnh thường gặp 133
Tụ cầu (Lê Huy Chính) 133
Liên cầu (Nguyễn Thị Tuyến) 142
Phế cầu (Lê Huy Chính) 148
Não mô cầu (Lê Văn Phủng) 153
Lậu cầu (Lê Thị Oanh) 157
Moraxella catarrhalis (Nguyễn Vũ Trung) 161
Họ vi khuẩn đường ruột (Đinh Hữu Dung) 165

Vibrio (Đinh Hữu Dung) 176
Helicobacter pylori (Bùi Khắc Hậu) 183
Campylobacter (Lê Huy Chính) 188
Trực khuẩn bạch hầu (Lê Huy Chính) 191
Tộc Mycobacterieae (Lê Huy Chính) 196
Trực khuẩn lao 197
Trực khuẩn phong 200
Các Mycobacterium không điển hình 203
Actinomycetes (Lê Huy Chính) 205
Legionella (Lê Huy Chính) 206
Trực khuẩn ho gà (Lê Văn Phủng) 208
Haemophilus (Lê Văn Phủng) 212
Haemophilus influenzae 213
Họ Pseudomonadaceae (Lê Văn Phủng) 218
Pseudomonas aeruginosa 218
Burkholderia pseudomallei 221
Vi khuẩn dịch hạch (Lê Văn Phủng) 225
Trực khuẩn than (Bùi Khắc Hậu) 231
Vi khuẩn Brucella (Bùi Khắc Hậu) 235
Listeria monocytogenes (Lê Huy Chính) 239
Một số vi khuẩn kỵ khí có nha bào gây bệnh (Bùi Khắc Hậu) 241
Trực khuẩn uốn ván 242
Trực khuẩn gây ngộ độc thịt 245
Các vi khuẩn gây hoại thư sinh hơi 248
Các vi khuẩn kỵ khí không sinh nha bào (Lê Huy Chính) 252
Một số xoắn khuẩn gây bệnh 255
Xoắn khuẩn sốt hồi quy 256
Xoắn khuẩn giang mai 257
Leptospira 260
Borrelia burgdorferi 263
Rickettsia, Mycoplasma và Chlamydia (Bùi Khắc Hậu) 265
Rickettsia 266
Một số Rickettsia thường gặp 270
Mycoplasma 273
Chlamydia 275

Phần III: Các virus gây bệnh thường gặp 283
Myxovirus (Lê Thị Oanh) 283
Virus cúm 284
Virus cúm gia cầm (Lê Huy Chính) 288
Paramyxovirus (Lê Thị Oanh) 292
Virus quai bị 294
Virus sởi 297
Virus hợp bào đường hô hấp 299
Virus á cúm 301
Virus Rubella (Nguyễn Vũ Trung) 304
Các virus đường ruột (Nguyễn Thị Tuyến) 308
Virus bại liệt 310
Coxsackie virus 314
ECHO virus 316
Rotavirus 318
Các virus viêm gan (Lê Thị Oanh) 322
Virus viêm gan A 322
Virus viêm gan B 325
Virus gây viêm gan C 329
Virus gây viêm gan D 330
Virus gây viêm gan E 331
Arbovirus (Lê Hồng Hinh) 333
Virus Dengue 335
Virus viêm não Nhật Bản 340
Virus dại (Lê Hồng Hinh) 344
Một số virus gây sốt xuất huyết lây truyền từ động vật có xương sống hoặc chưa rõ nguồn gốc (Lê Huy Chính) 349
Herpesviridae (Lê Huy Chính) 352
Virus gây Hội chứng suy giảm miễn dịch ở người - HIV (Lê Huy Chính) ... 358
Các virus adeno (Lê Huy Chính) 374
Các virus gây ung bướu (Lê Huy Chính) 378
Virus gây hội chứng Viêm đường hô hấp cấp - SARS (Lê Huy Chính) 386
Human Papillomavirus (HPV) 390
Tài liệu tham khảo 395

PHẦN I

ĐẠI CƯƠNG VI SINH Y HỌC

ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT HỌC

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các khái niệm: vi sinh vật, vi sinh vật y học và đối tượng nghiên cứu.*
2. *Giải thích được những vấn đề nổi cộm hiện nay của Vi sinh vật y học.*
3. *Trình bày các đặc điểm của vi sinh vật.*

1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ PHÂN MÔN CỦA VI SINH VẬT HỌC

Ngoài thế giới động vật và thực vật mà loài người đã biết từ khá lâu, còn có những vi sinh vật nhỏ bé chỉ có thể quan sát bằng kính hiển vi - đó là những sinh vật *đơn bào* (protist), bao gồm: *vi khuẩn, động vật nguyên sinh* và *vi nấm* (bacteria, protozoa, fungi). Trước đây vi sinh vật đã được định nghĩa là những sinh vật bé nhỏ chỉ có thể quan sát bằng kính hiển vi và theo định nghĩa này thì các đơn bào đều thuộc về vi sinh vật. Nhưng động vật nguyên sinh và vi nấm là những tế bào có màng nhân (eucaryote) và được giảng dậy trong môn Ký sinh trùng.

Vi khuẩn là những đơn bào không có màng nhân (procaryote) và cùng với virus hợp thành môn *Vi sinh vật học*, tiếng Anh gọi là *Microbiology* (theo tiếng Hy lạp, *mikros* là bé nhỏ và *bios* là sinh vật).

Vi khuẩn có đầy đủ các đặc điểm của một sinh vật, nhưng virus thì không hoàn toàn.

Virus không có cấu trúc tế bào (dưới tế bào), genome chỉ chứa một trong hai loại acid nucleic, ký sinh bắt buộc trong tế bào cảm thụ, sinh sản theo cấp số nhân và di truyền được nòi giống; kích thước rất bé (từ 10 nm đến 300 nm) và chỉ nhìn được dưới kính hiển vi điện tử, vị trí phân loại của virus chưa rõ ràng; chúng được nghiên cứu trong môn *Vi sinh vật học*.

Prion, một loại mầm bệnh mới đơn giản hơn virus (Virus-like agents: Prions). Vào những năm 90 của thế kỷ XX, một tác nhân gây bệnh mới đã được phát hiện là *prion.* Prion là những protein không bình thường, nó đề kháng cao với nhiệt độ và phần lớn các hóa chất sát trùng. Prion xuất hiện trong các con bò điên (BSE) và gây lan truyền sang bò khác và gây bệnh cả cho người. Bệnh Creutzfeldt-Jakob (CJD) ở người cũng có các biểu hiện tương tự như bệnh bò điên. Đến 03-04-2005 trên toàn cầu đã có 154 người bị bệnh này và chỉ còn 5 người sống. Prion khi xuất hiện ở bò hoặc người đã kích thích một gien trong tế bào thần kinh sản xuất một protein gần như prion làm cho não bị xốp và bị phá huỷ, dẫn tới xuất hiện triệu chứng bệnh.

Rickettsia, *Chlamydia* và *Mycoplasma* là những vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc (trước đây xếp loại chúng vào nhóm vi sinh vật trung gian giữa vi khuẩn và virus).

Rickettsia là những vi sinh vật bé hơn vi khuẩn nhưng lớn hơn virus. Chúng cũng ký sinh nội bào bắt buộc như virus, nhưng chúng có nhiều đặc điểm của vi khuẩn hơn (có cấu trúc tế bào, có hai loại acid nucleic, nhưng thiếu một số enzym hô hấp năng lượng), có thể quan sát dưới kính hiển vi quang học (kích thước trung bình 0,25 x 1 μm).

Chlamydia có những đặc điểm như *Rickettsia* nhưng bé hơn (khoảng 150 nm), là một tác nhân gây bệnh quan trọng (mắt hột và nhiễm trùng đường sinh dục tiết niệu).

Mycoplasma chỉ khác *Rickettsia* là không có vách, nên cùng được xếp vào các vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc.

Vi sinh vật học lại bao gồm nhiều phân môn như: vi sinh vật thổ nhưỡng, vi sinh vật thú y, vi sinh vật thực vật, vi sinh vật công nghiệp và vi sinh vật y học.

Vi sinh vật y học (tiếng Anh là *Medical Microbiology*) là môn học chuyên nghiên cứu về các vi sinh vật gây ảnh hưởng tới sức khỏe con người, về cả mặt có lợi và có hại cho sức khỏe. Vi sinh vật y học lại bao gồm các tiểu phân môn, như: *vi khuẩn học* (Bacteriology), *virus học* (Virology), *Miễn dịch chống nhiễm trùng*, *di truyền vi sinh vật, vi sinh vật và môi trường*, *kháng sinh và hóa trị liệu*, *huyết thanh học* (Serology) v.v... Tất cả các nội dung này, sinh viên sẽ được nghiên cứu trong quá trình học tập ở trong và sau đại hoc, với các mức độ khác nhau.

2. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA VI SINH VẬT

Kích thước nhỏ bé:

Vi khuẩn đo bằng micromet (μm, 10^{-3} mm). Các cầu khuẩn có đường kính trung bình là 1 μm và trực khuẩn là 1 μm x 5 μm. Các virus bé hơn nhiều và đo bằng nanomet (nm, 10^{-6} mm). Do kích thước nhỏ bé nên diện tích bề mặt vi sinh vật rất lớn, ví dụ nếu một lượng cầu khuẩn có thể tích bằng 1 cm^3 thì có diện tích bề mặt của chúng bằng 6 m^2.

Chuyển hóa nhanh và hấp thu nhiều:

Ví dụ, vi khuẩn *Lactobacilli* trong một giờ có thể chuyển hóa một lượng đường lactose bằng 1000 lần khối lượng của chính nó. Tính chất này được ứng dụng trong vi sinh vật công nghiệp và xử lý chất thải.

Sinh trưởng nhanh và phát triển mạnh:

Các vi khuẩn thường 20-30 phút phân chia một lần. Từ một vi khuẩn ban đầu, nuôi cấy ở nhiệt độ và môi trường thích hợp, sau 24 giờ có thể thu được từ 10^8 đến 10^9 vi khuẩn. Đặc điểm này được ứng dụng để sản xuất các sinh khối và các chất do vi khuẩn tạo ra, như vacxin, kháng sinh.

Thích ứng mạnh:

Các vi sinh vật có khả năng thích ứng rất nhanh với môi trường. Enzym thích ứng của vi khuẩn chiếm 10% lượng protein của tế bào vi khuẩn. Do vậy khả năng thích ứng của chúng thường rất lớn. Chúng có thể tồn tại và phát triển được trong những khoảng cách nhiệt độ, áp lực và môi trường rất lớn.

Dễ dàng biến dị:

Do bộ gen của vi sinh vật rất ít và nên chúng dễ dàng biễn dị. Đây là một đặc điểm nguy hiểm, vì nhiều vi sinh vật (đặc biệt là virus) biến dị trở thành tác nhân gây bệnh nguy hiểm. Các bệnh nguy hiểm như AIDS, SARS, Ebola, cúm gia cầm xuất hiện gần đây có thể do các virus động vật biến dị trở thành gây bệnh cho người. Tính chất này cũng được ứng dụng trong công nghệ sinh học để tạo ra các biến chủng cần thiết.

Nhiều chủng loại và phân bố rộng:

Thế giới động vật bao gồm 1,5 triệu loài, thực vật có 0,5 triệu loài, các vi sinh vật có khoảng 0,1 triệu loài. Sự phân bố của chúng khắp mọi nơi trên trái đất, dưới biển sâu hàng 1000 m và trên cao 85 km cũng có các vi sinh vật.

3. TÁC DỤNG CỦA VI SINH VẬT

3.1. Tác dụng có lợi của vi sinh vật

Khi nói đến *vi khuẩn* và *virus* (trước đây gọi là vi trùng và siêu vi trùng hay siêu vi) thì nhiều người dễ nghĩ ngay đây là những mầm bệnh nguy hiểm. Nhưng thực sự, điều này chỉ đúng một phần. Vì vi sinh vật nói chung là rất cần thiết cho sự sống. Chúng ta hãy điểm qua một số tác dụng tích cực của vi sinh vật:

Hai chu trình carbon và nitơ có ý nghĩa quyết định cho sự sống của sinh vật trên trái đất. Cả hai chu trình này, vi sinh vật đều đóng vai trò làm thối rữa các động thực vật - "hoàn vũ động thực vật"; và nhờ vậy, các chất hữu cơ của sinh vật được hoàn trả lại cho đất, cung cấp dinh dưỡng cho thực vật và tiếp đó là động vật, để sự sống tiếp diễn không ngừng.

Trong đất còn có một số vi sinh vật có khả năng cố định đạm vô cơ thành đạm hữu cơ và một số vi sinh vật có khả năng quang hợp. Tất cả các khả năng này đều làm giầu dinh dưỡng cho đất.

Trên da và trong các khoang của cơ thể có khá nhiều loại vi sinh vật ký sinh. Chúng tạo nên với cơ thể mối quan hệ sinh thái và có tác dụng chống lại các vi sinh vật gây bệnh "xâm lược". Do các vi sinh vật ký sinh đã chiếm được các receptor trên cơ thể, làm cho các vi sinh vật gây bệnh không có chỗ bám để gây bệnh. Trong số vi sinh vật ký sinh, cũng có một số vi sinh vật gây bệnh cơ hội. *E. coli* sống rất nhiều ở đại tràng có tác dụng phân huỷ thức ăn và sản sinh ra sinh tố cho cơ thể, nhưng càng ngày vi khuẩn này càng được chứng minh là căn nguyên của nhiều loại bệnh trong và ngoài đường tiêu hóa.

Các vi khuẩn đều sinh ra các chất có tác dụng kháng khuẩn để làm vũ khí đấu tranh sinh tồn. Một số những chất này đã được dùng làm thuốc kháng sinh điều trị chống nhiễm khuẩn. Một số nấm và tảo cũng có khả năng này. Ngày nay, bên cạnh các kháng sinh có nguồn gốc từ các vi sinh vật, còn có nhiều kháng sinh tổng hợp và bán tổng hợp.

Các vi sinh vật được dùng làm nguyên liệu để sản xuất vacxin và huyết thanh miễn dịch là những sản phẩm sinh học rất quan trọng được dùng trong phòng và điều trị các bệnh nhiễm vi sinh vật.

Từ cổ xưa, khi con người chưa biết về vi sinh vật, nhưng họ đã biết muối cà, tương, mắm, dưa, rượu, bia, men bánh mì, nem chua... Gần như tất cả các sản phẩm này đều cần có quá trình lên men của vi sinh vật.

Công nghệ sinh học đã và sẽ đưa lại cho con người nhiều lợi ích và là một cuộc cách mạng khoa học kỹ thuật rất lớn được thế giới đặt ra cho thế kỷ XXI. Vi sinh vật là một công cụ được sử dụng nhiều trong công nghệ sinh học.

Vi sinh vật cũng là mô hình để nghiên cứu về di truyền phân tử, về hóa sinh học... Vì vi sinh vật có số lượng gen ít, phát triển nhanh và kích thước rất nhỏ bé, nên dễ dàng cho sự nghiên cứu và thực nghiệm.

3.2. Tác dụng có hại của vi sinh vật

Tuy vi sinh vật nói chung có rất nhiều tác dụng có lợi, nhưng vi vinh vật y học thì mặt được quan tâm nhiều nhất lại là tác dụng có hại. Vi sinh vật là căn nguyên của các bệnh nhiễm trùng, gây ô nhiễm môi trường (đất, nước, không khí), huỷ hoại các thức ăn và các sản phẩm sinh học cần bảo quản. Các nội dung nghiên cứu khác của vi sinh vật y học cũng nhằm mục đích cuối cùng là chống lại các vi sinh vật gây bệnh, nhằm giảm tỷ lệ mắc và tỷ lệ chết do chúng gây ra.

Lợi dụng khả năng gây bệnh của vi sinh vật, một số nước đã nghiên cứu, thậm chí sử dụng chiến tranh vi sinh vật. Nhiều báo chí đã đăng tải những thông tin về vấn đề này. Nhưng nhiều tổ chức quốc tế và nhiều nước đã đề nghị cấm nghiên cứu và sử dụng chiến tranh sinh học.

4. NHỮNG VẤN ĐỀ HIỆN NAY CỦA VI SINH VẬT Y HỌC

4.1. Gây các bệnh nhiễm trùng và gây dịch

Vi sinh vật là căn nguyên của các *bệnh nhiễm trùng*. Vì vậy khi xét về tầm quan trọng hiện nay của vi sinh vật y học, phải đề cập tới tình hình các bệnh nhiễm trùng ở nước ta và trên thế giới.

Bệnh nhiễm trùng đã xuất hiện cùng với loài người từ xa xưa và thực sự loài người đã biết về nó một cách khoa học hơn một thế kỷ. Thế nhưng, hiện nay, bệnh nhiễm trùng vẫn còn là vấn đề lớn trong bệnh tật của thế giới.

Các bệnh nhiễm virus như: cúm, sởi, viêm gan, Dengue xuất huyết ... vẫn là vấn đề toàn cầu. Bởi lẽ cho đến hiện nay chúng ta vẫn chưa có được đầy đủ các thuốc đặc trị chống nhiễm virus. Còn vacxin là biện pháp rất có ý nghĩa quyết định phòng nhiễm virus thì nhiều loại bệnh do virus vẫn chưa có được vacxin hữu hiệu. Ngoài những bệnh nhiễm virus đã có từ lâu, gần đây còn xuất hiện một số bệnh virus mới, như: HIV/AIDS, Ebola, bò điên, cúm gà, Hantavirus... Riêng HIV/AIDS đang gây đại dịch toàn cầu và là vấn đề nổi cộm của toàn thế giới.

Gần đây ở nhiều nước (trong đó có Việt Nam) xuất hiện một loại dịch bệnh viêm phổi cực kỳ nguy hiểm (SARS), do một loại virus mới giống như *Coronaviridae* và gọi là virus SARS-COV. Tuy chưa lây lan ra toàn cầu và số người nhiễm khoảng 8000 người, nhưng tỷ lệ tử vong khá cao (gần 10%) và đã gây ảnh hưởng lớn đến kinh tế và an ninh thế giới.

Hiện nay dịch cúm gia cầm đang lây lan mạnh ở châu Á sang châu Âu và Tổ chức Y tế Thế giới cảnh báo có thể gây thành đại dịch cúm người ?

Các bệnh nhiễm khuẩn, nhờ có thuốc kháng sinh và vacxin, được khống chế ở các nước đã phát triển. Nhưng ở các nước đang phát triển thì nhiễm khuẩn vẫn là vấn đề rất nặng nề. Bởi lẽ ở các nước nghèo điều kiện sinh hoạt còn rất thiếu thốn. Họ không đủ tiền chi cho việc chăm sóc sức khỏe và không ngăn cản được các vi khuẩn gây bệnh lây lan. Họ cũng không đủ vacxin và thuốc kháng sinh. Các bệnh nhiễm khuẩn nổi cộm như: nhiễm khuẩn hô hấp, tiêu hóa, tiết niệu và nhiễm khuẩn huyết. Vi khuẩn lao đã biết từ cuối thế kỷ XIX, nhưng đến hiện nay bệnh lao vẫn là vấn đề nổi cộm của các nước nghèo: tỷ lệ mắc và chết vẫn cao. Các bệnh nhân bị AIDS thì gần như 50% bị lao và vi khuẩn lao kháng thuốc kháng sinh và hóa trị liệu rất cao. Các bệnh dịch tả, dịch hạch, thương hàn vẫn là những vấn đề rất đáng quan tâm.

Bên cạnh các bệnh nhiễm khuẩn cũ, thì gần đây còn nổi lên một số bệnh nhiễm khuẩn mới như do *E. coli* gây tiêu chảy, xuất huyết tiêu hóa và tiết niệu (do nhóm EHEC), hoặc gây viêm loét dạ dày do *Helicobacter pylori*. Vi khuẩn này còn là căn nguyên gây ung thư dạ dày. Một số nước nam Á còn xuất hiện một týp vi khuẩn tả mới là *V. cholerae* O139 khác với týp *V. cholerae* O1 vẫn gây dịch ở nhiều nước trên thế giới.

4.2. Vi khuẩn kháng kháng sinh cũng là một vấn đề nổi cộm của các nước đang và cả một số nước đã phát triển. Các vi khuẩn là căn nguyên thường gặp nhất cũng là những vi khuẩn kháng thuốc mạnh nhất, như: tụ cầu vàng (*S. aureus*), trực khuẩn mủ xanh (*P. aeruginosa*) và các trực khuẩn đường tiêu hóa (*Enterobacteriaceae*). Điều này sẽ vô hiệu hóa việc sử dụng kháng sinh và tăng chi phí cho điều trị, cùng với việc chọn lọc các vi khuẩn kháng thuốc lưu hành trong cộng đồng. Tốc độ vi khuẩn kháng thuốc còn nhanh hơn việc tìm ra các kháng sinh mới.

4.3. Vi sinh vật mà đặc biệt virus gây khối u và gây ung thư cũng là vấn đề mới của vi sinh vật y học. Ung thư vẫn được coi là một trong "tứ chứng nan y". Vì thực sự đến hiện nay, ung thư vẫn rất khó chữa trị và có tỷ lệ chết cao nhất trong các loại bệnh. Các nhà khoa học đã gây được ung thư động vật do virus và có nhiều bằng chứng virus gây ung thư ở người, như bệnh leucose do HTLV-I, ung thư vòm họng do EBV, ung thư gan do HBV, HCV... Vi khuẩn *H. pylori* được Tổ chức Y tế Thế giới coi là nguyên nhân số một gây ung thư dạ dày.

4.4. Sự ô nhiễm môi trường trên toàn cầu, đặc biệt là sự ô nhiễm các nguồn nước và đất cũng gây ra sự ô nhiễm các vi sinh vật gây bệnh. Nhất là các vi sinh vật gây bệnh tiêu chảy và nhiễm độc thức ăn, thường do nước và thực phẩm không vệ sinh gây nên.

4.5. Bên cạnh những mặt có hại của các vi sinh vật mà chúng ta đã điểm trên, sự tiến bộ trong khoa học và công nghệ sinh học cũng giúp loài người có thêm các vũ khí mới chống lại các vi sinh vật gây bệnh.

Một trong những thành tựu đáng kể là việc tạo ra được các loại vacxin thế hệ mới nhờ công nghệ gen, như vacxin phòng các loại bệnh virus viêm gan B, viêm não Nhật Bản B..., hoặc các loại kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody) dùng trong điều trị và chẩn đoán.

Các thành tựu về miễn dịch học và di truyền học cũng giúp làm tăng các khả năng chẩn đoán và điều trị các bệnh nhiễm trùng. Con người đã có thêm thế mạnh để phát hiện và phòng chống lại các bệnh nhiễm vi sinh vật. Tuy vậy không phải mọi vấn đề loài người đã có khả năng giải quyết được và thực sự chúng ta vẫn phải đương đầu với nhiều khó khăn, thử thách trước các vi sinh vật gây bệnh.

5. SƠ LƯỢC LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT Y HỌC

Lịch sử phát triển của *Vi sinh vật học* được bắt đầu nhờ **Antoni van Leeuwenhoek** (1632-1723) người Hà Lan, đã tìm ra kính hiển vi có độ phóng đại quan sát được các đơn bào. Ông đã quan sát được các nguyên sinh động vật năm 1676 và một số cầu, trực và xoắn khuẩn năm 1685.

Sau Leeuwenhoek, nhiều nhà khoa học đã tiếp tục nghiên cứu để có các loại kính hiển vi quang học hoàn thiện hơn và độ phóng đại lớn nhất (hàng vạn lần) là kính hiển vi điện tử.



Hình 1. Antony van Leeuwenhoek (1632-1723)



Hình 2. Louis Pasteur (1822-1895)

– **Louis Pasteur** (1822-1895), nhà bác học lỗi lạc người Pháp. Ông được coi là người sáng lập ngành vi sinh vật học và miễn dịch học.

L. Pasteur là người đã đấu tranh chống lại thuyết "tự sinh" và giáng đòn quyết định đánh đổ lý thuyết này. Cho đến giữa thế kỷ thứ XVII có người cho rằng các sinh vật xuất hiện trên trái đất đều là tự sinh. Những lý thuyết này được các giáo phái tích cực ủng hộ vì phù hợp với cách giải thích "Thượng đế sinh ra muôn loài". Ngay đến thế kỷ XVI còn có nhà khoa học cho rằng có thể tạo ra chuột không phải từ chuột bố mẹ mà từ giẻ rách và lúa mạch! Nhưng những thực nghiệm tiến hành vào giữa thế kỷ XVII chứng minh rằng rồi sinh ra từ trứng rồi chứ không phải tự sinh từ thịt thối. Kết quả này đã làm lay chuyển mạnh thuyết tự sinh.

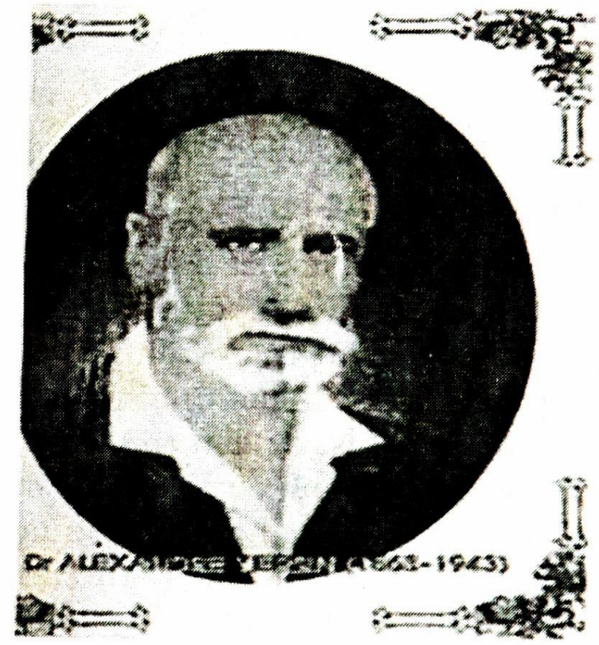
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRUNG TÂM HỌC LIỆU

Sau khi Leeuwenhoek phát hiện ra vi sinh vật, người ta thấy chỉ cần lấy một ít nước chiết lấy từ thực vật hoặc động vật để vào nơi ấm áp, sau một thời gian ngắn xuất hiện nhiều vi sinh vật, thậm chí ngay cả các nước chiết ấy đã được đun sôi. Từ đó một số nhà khoa học cho rằng có thể vi sinh vật đã tự sinh. L. Pasteur đã cho nước chiết trên vào các bình cổ cong hở sau khi đã tiệt trùng, thì dù để bao lâu cũng không có các vi sinh vật xuất hiện. Thí nghiệm này đã chứng minh rằng không có vi sinh vật tự sinh và L. Pasteur đã được nhận giải thưởng của Viện hàn lâm Pháp năm 1862. L. Pasteur còn có nhiều đóng góp khác cho vi sinh y học, như:

Năm 1881, Ông đã tìm ra phương pháp tiêm phòng bệnh than. Năm 1885, Ông đã thành công trong sản xuất vacxin phòng bệnh chó dại.

Với sự say mê khoa học và tính nhân đạo cao cả, L. Pasteur đã dùng nước miếng của chó dại để gây miễn dịch cho thỏ. Sau đó, dùng não và tuỷ sống thỏ đã gây bệnh dại để sản xuất thành thuốc chữa bệnh dại mà ngày nay chúng ta gọi là vacxin phòng dại. Chính nhờ thuốc này mà L. Pasteur đã cứu sống cho một số người bị chó dại cắn, mặc dù lúc đó, người ta chưa phát hiện ra virus. Nhưng bằng thực nghiệm gây bệnh dại cho chó bằng cách cho chó dại cắn chó lành, Ông đã chứng minh được bệnh dại là bệnh lây truyền qua vết cắn của chó điên và trong nước miếng của chó điên có chứa mầm bệnh. Sử sách còn ghi rằng L. Pasteur đã hoàn thành việc nghiên cứu vacxin phòng bệnh dại khi Ông bị liệt nửa người vì nhũn não. Ngày nay, chúng ta có những loại vacxin phòng bệnh dại hoàn thiện hơn, nhưng loài người phải mang ơn L. Pasteur vì Ông đã đưa ra được phương pháp tiêm phòng bệnh với ý tưởng khoa học sáng tạo. Nó liên quan chặt chẽ với cơ chế gây miễn dịch đặc hiệu chủ động mà sau này nó đã phát triển thành môn *Miễn dịch học*, một môn xuất phát từ Vi sinh vật học. Ngày nay nó mở rộng, lồng ghép vào nhiều môn học khác của của y học và đã đưa lại nhiều ứng dụng rất có ý nghĩa. Vì những đóng góp xuất sắc, L. Pasteur được xếp vào danh sách những nhà khoa học vĩ đại của loài người.

- **A.J.E. Yersin** là người Thuỵ Sĩ, Ông là một học trò xuất sắc của L. Pasteur. Đóng góp có ý nghĩa nhất của Ông cho vi sinh y học là việc phát hiện ra vi khuẩn và dây chuyền dịch tễ của bệnh dịch hạch ở Hồng Kông; một bệnh được coi là tối nguy hiểm và đã nhiều lần gây ra đại dịch toàn cầu, cướp đi hàng triệu sinh mạng. Yersin là người hiệu trưởng đầu tiên của Trường đại học Y-Dược Hà Nội. Ông mất ở thành phố Nha Trang nước ta.



Hình 3. Alexandre E'mile Jean Yersin (1863-1943)

- **Robert Koch** (1843-1910) là một bác sĩ thú y người Đức. Ông được coi là một trong những người sáng lập ra Ngành Vi sinh y học.

  Những đóng góp có ý nghĩa của ông là:

  Năm 1876 phát hiện ra vi khuẩn than (*B. anthracis*),

  Năm 1878 phát hiện ra các vi khuẩn gây nhiễm vết thương,

Năm 1882 phân lập được vi khuẩn lao (*M. tuberculosis*),

Năm 1884 phân lập được vi khuẩn tả (*V. cholerae*),

Năm 1890 tìm ra cách sử dụng phản ứng tuberculin và hiện tương dị ứng lao.

Một trong những đóng góp của R. Koch cho vi sinh y học là học thuyết về xác định căn nguyên gây nhiễm trùng, mà ngày nay lý thuyết ấy vẫn được sử dụng như một nguyên tắc để xác định các vi khuẩn gây bệnh.

- **Dimitri Ivanopxki** (1864-1920) là một nhà thực vật học người Nga. Ông là người có công đầu trong việc phát hiện ra virus. Với cách gây nhiễm bằng nước lọc lá thuốc lá bị đốm (qua lọc giữ lại vi khuẩn), cho những lá thuốc lá lành, Ông đã chứng minh được là có một loại mầm bệnh bé hơn vi khuẩn; mà về sau, bằng kính hiển vi điện tử, người ta đã khẳng định đó là virus.
- **Edward Jenner** (1749-1823) là một bác sĩ thú y người Anh. Khi còn là một sinh viên thực tập ở một trang trại chăn nuôi, ông đã phát hiện ra rằng những người phụ nữ chăn nuôi trâu bò không bị bệnh đậu mùa vì họ đã bị bệnh đậu bò. Từ đó ông đã dùng vẩy đậu bò làm thuốc chủng phòng bệnh đậu mùa. Tất nhiên thuốc này đã được cải tiến nhiều và nó trở thành vacxin phòng bệnh đầu tiên của nhân loại. Chữ "*vaccin*" mà ngày nay cả thế giới đều dùng có nguồn gốc từ chữ *vacca* (bò cái), để ghi nhớ công trạng của E. Jenner.

Sau đó L. Pasteur cùng những người học trò của mình đã thu được nhiều thành tựu về vacxin và miễn dịch học, làm cơ sở vững chắc cho tiêm phòng vacxin. Do ý nghĩa thực tế, vacxin là một hướng nghiên cứu ứng dụng rất được quan tâm và thu được nhiều thành tựu, có nhiều đóng góp to lớn vào phòng chống các bệnh nhiễm trùng.



Hình 4. Alexander Fleming (1881-1955)

Còn rất nhiều nhà khoa học có những đóng góp trong lĩnh vực vi sinh vật học, xin liệt kê một số đóng góp lớn:

1657 Kircher đã nhìn thấy tác nhân gây bệnh dịch hạch trong máu của bệnh nhân.

1846 Semmelweis đưa ra phương pháp ngâm tay các thầy thuốc vào thuốc khử trùng.

1849 Pollebder quan sát thấy trực khuẩn than trong máu của bệnh nhân.

1867 Lister đề ra phương pháp khử trùng.

1873 Hansen đã ghi nhận được trực khuẩn phong (*M. leprae*).

1884 Metnikov đã phát hiện sự thực bào.

1885 Fodor phát hiện tác dụng diệt khuẩn của huyết thanh tươi.

1890 Behring và Kitasato tìm ra tác dụng chống ngoại độc tố bạch hầu và uốn ván của huyết thanh bệnh nhân đã bị hai bệnh này (tìm ra kháng thể chống ngoại độc tố hai vi khuẩn này).

1901 Bordet và Gengou đã tìm ra phản ứng kết hợp bổ thể.

1903 Wright tìm ra tác dụng opsonin.

1905 Schaudinn và Hoffmann tìm ra vi khuẩn giang mai (*T. pallidum*).

1909 Lansteiner và Popper có thể lọc virus polio và truyền bệnh cho khỉ.

1917 Lansteiner xác định được bán kháng nguyên tổng hợp.

1929 Fleming tìm ra penicillin và kháng sinh này được sử dụng trong chiến tranh thế giới thứ II.

1933 Domagk tìm ra sulfonamid.

1953 Lwoff tìm ra prophage (lysogen).

1965 Isaacs và Lindeman tìm ra interferon.

1957 Bernnet đề ra lý thuyết lựa chọn clon miễn dịch.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Vi sinh vật y học bao gồm các loại nào, các phân môn và đối tượng nghiên cứu?
2. Giải thích các vấn đề nổi cộm hiện nay của VSV Y học và cho ví dụ?
3. Các đặc điểm của vi sinh vật và ứng dụng?

PHÂN LOẠI VI SINH VẬT

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các đơn vị phân loại trong vi sinh vật và cho ví dụ.

1. CÁC KHÓ KHĂN TRONG PHÂN LOẠI VI SINH VẬT

Thế giới vi sinh vật rất đa dạng và phong phú. Để nắm được các thông tin cần thiết về vi sinh vật và sử dụng vào khoa học cũng như đời sống, việc phân loại và đặt tên cho các vi sinh vật là một việc làm không thể thiếu được.

Mục đích của tất cả các sơ đồ phân loại là xác định các vi sinh vật có các thuộc tính giống nhau để xếp chúng vào cùng loại và phân biệt giữa các nhóm loại với nhau. Với vi sinh vật thì có nhiều khó khăn vì:

Số lượng vi sinh vật quá nhiều mà sự khác biệt giữa chúng lại quá lớn. Ví dụ: các đơn bào có nhiều đặc điểm của động vật, nhưng tảo lại giống thực vật nhiều hơn, còn vi khuẩn thì không thuộc vào động hay thực vật.

Có sự khác biệt khá lớn giữa các sơ đồ phân loại vi sinh vật so với động vật và thực vật. Trong hệ thống phân loại thì loài (species) là đơn vị cơ bản, nhưng khái niệm về loài thì khác nhau giữa vi sinh vật với động-thực vật. Với sinh vật bậc cao thì loài là nhóm giao phối cận thân (gần) được phân bố trên một khu vực địa lý nhất định. Ở các sinh vật bậc cao, hình thái của các loài khá khác biệt nhau. Ngược lại, ở vi sinh vật, đặc điểm hình thái rất giới hạn, các loài khác nhau có hình dạng giống nhau. Ví dụ: *Staphylococcus aureus* (tụ cầu vàng) và *Staphylococcus epidermidis* (tụ cầu da) là hai loài có hình dạng và tính chất bắt màu giống hệt nhau, chỉ khác nhau ở một số enzym và khả năng gây bệnh. Các loài vi khuẩn khác cũng tương tự.

Trong vi khuẩn học, khái niệm *loài* là một quần thể (population) được sinh ra từ một vi khuẩn ban đầu (clone). Các thành viên của một clone này có thể phân biệt với các clone khác ở một số đặc điểm. Do vậy, vấn đề lớn trong phân loại vi khuẩn là xác định được các đặc điểm giống và khác nhau giữa các clone để xếp loại chúng. Những đặc điểm này có thể chia làm hai loại lớn là genotýp và phenotýp (đặc điểm kiểu gen và đặc điểm kiểu hình).

2. CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN LOẠI

2.1. Phân loại theo số lượng các tính chất sinh học

Đây là phương pháp phân loại gián tiếp, dựa trên các đặc điểm sinh học (phenotype) để tìm ra các đặc điểm giống nhau về genotýp. Phải tiến hành hàng loạt các test để xác định sự có hay không của mỗi tính chất, từ đó tính được tỷ lệ dương và âm của mỗi tính chất để phân loại. Kết quả cuối cùng của phương pháp phân loại theo số lượng tính chất là xác định được hệ số tương đồng (similarity coeficient), đó là tỷ lệ phần trăm của số lượng toàn bộ các tính chất được thử nghiệm chung giữa hai vi khuẩn. Nếu tỷ lệ tương đồng này trên 90% giữa hai chủng vi khuẩn thì chúng cùng chung một loài, ngược lại tỷ lệ này thấp hơn thì hai chủng vi khuẩn thuộc các loài thậm chí các tộc khác nhau.

Đây là phương pháp phân loại cổ điển. Sử dụng nó, người ta đã xếp loại được khá nhiều loài vi khuẩn.

2.2. Phân loại theo phương pháp phân tử

Phương pháp này dựa trên sự so sánh các thông tin di truyền chứa đựng trong các ADN của các nhóm vi sinh vật khác nhau. Vì các thông tin di truyền được mã hóa bởi các ADN, mà các cặp base (của purin với pyrimidin) tạo thành các gen và để làm khuôn mẫu tổng hợp nên các polypeptid. Kiểu phân loại này bao gồm nhiều loại kỹ thuật.

2.2.1. Theo tỷ lệ các base của các ADN (hoặc theo sự cấu thành của các ADN)

Cấu trúc phân tử của các ADN bao gồm hai sợi bổ sung cho nhau, theo nguyên tắc số lượng của thymin (T) bằng số lượng adenin (A) và số lượng của cytosin (C) bằng số lượng của guanin (G). Tỷ lệ tương quan của 4 base này thường được biểu hiện bằng tỷ lệ phần trăm của guanin cộng cytosin (G+C). Nó được tính bằng công thức:

$$\frac{G + C}{G + C + A + T}$$ (tính theo phân tử gam)

Tỷ lệ tương quan của các cặp base AT và GC thay đổi rất lớn giữa các vi sinh vật khác nhau. Tỷ lệ này có giá trị trong phân loại vi sinh vật. Ví dụ, *Escherichia coli* ADN có 50% GC, trong khi đó *Bacillus subtilis* có 40% GC. Số lượng này có nghĩa là ADN của hai loài vi khuẩn chứa 50% và 60% cặp base AT riêng biệt.

Tỷ lệ các cặp base của ADN dao động rất lớn từ 22% đến 78% của GC. Tuy vậy các vi sinh vật được coi là liên quan họ hàng bởi các tiêu chuẩn khác, có tỷ lệ các cặp base của ADN tương tự nhau hoặc bằng nhau. Nếu tỷ lệ này chênh nhau từ 10% trở lên thì các vi sinh vật không được coi là liên quan chặt chẽ.

Nhưng ngược lại tỷ lệ các cặp base này tương tự nhau giữa các sinh vật khác nhau không có nghĩa là chúng có liên quan họ hàng. Ví dụ: loài người và *Bacillus subtilis* đều có tỷ lệ GC là 40%, nhưng không thể coi là họ hàng.

2.2.2. Lai ADN (ADN hybridisation)

Nếu hai sợi của phân tử ADN dược tách ra nhờ nhiệt độ, sau đó chúng lại được ủ với nhau trong một thời gian và nhiệt độ nhất định, thì sẽ xảy ra sự tái kết hợp trở lại. Vì phân tử ADN được tạo thành theo nguyên tắc bổ sung của các cặp base (A+T và G+C). Để xem hai chủng vi khuẩn có giống nhau về trình tự của các cặp base không, người ta lấy các chuỗi ADN đơn của hai vi khuẩn, cho tái tổ hợp với nhau. Nếu xảy ra sư tái tổ hợp một cách hoàn toàn, có nghĩa là hai vi khuẩn đó cùng loài.

Có thể thay một sợi ADN bằng một phân tử ARN thông tin. Vì ARN này được tổng hợp trên khuôn mẫu của một sợi ADN. Ta có thể xác định được sợi ADN bổ sung. Hiện nay phương pháp lai ADN này được ứng dụng để phân loại nhiều loại vi khuẩn, nấm và một số động thực vật.

2.2.3. Lai sinh học (biological hybridisation)

Cơ sở của phương pháp này là sự giống nhau của các chuỗi base trong phân tử ADN của vi khuẩn, phải được thể hiện qua sự tích hợp của ADN vi khuẩn cho vào ADN vi khuẩn nhận, nhờ các loại vận chuyển di truyền (biến nạp, tải nạp và tiếp hợp).

Phương pháp lai sinh học còn cho phép phân loại sâu hơn các vi khuẩn, vì để tái tổ hợp được cần có sự giống nhau rất cao giữa hai phân tử ADN. Đây là phương pháp đang được phát triển để dùng trong các labo, vì nó có hai ưu điểm:

- Vi khuẩn cần xác định không cần thiết thuần khiết.
- Số lượng tế bào cho không cần nhiều để có được kết quả dương tính.

Ta đưa một số tế bào vi khuẩn cho vào những tế bào vi khuẩn cần xác định. Sau đó ria cấy chúng trên môi trường thích hợp. Nếu các khuẩn lạc đặc hiệu xuất hiện chứng tỏ có sự tái tổ hợp di truyền (lai sinh học). Như vậy vi khuẩn cần xác định cùng loài với vi khuẩn nhận.

2.2.4. Phân loại dựa trên cấu trúc phân tử protein

Trình tự các acid amin trong một phân tử protein phản ánh trình tự các cặp base trong gen mã hóa tổng hợp nên protein đó. Do vậy, so sánh trình tự cấu trúc các chuỗi acid amin, ta có thể xác định được sự giống hoặc khác nhau giữa các gen đã mã hóa cho hai phân tử protein đó. Từ đó ta có thể phân loại được các vi khuẩn.

Đây là một phương pháp chính xác. Nhưng nhược điểm của phương pháp này là người ta chỉ có thể nghiên cứu được một số lượng hữu hạn các phân tử protein, trong khi đó số lượng gen lại quá nhiều.

3. ĐƠN VỊ PHÂN LOẠI

Đơn vị phân loại của vi sinh vật nằm trong hệ thống phân loại của sinh vật và bao gồm:

1. Giới (*kingdom*): ví dụ giới động vật, giới thực vật. Tên gọi lấy theo đặc điểm chính của giới bằng chữ Hy Lạp hoặc Latin.
2. Ngành (*division* hoặc *phylum*)
   Dưới ngành (*subdivision*)
3. Lớp (*class*), dưới lớp (*subclass*)
4. Bộ (*order*): Tên gọi lấy tên họ chính và tận cùng bằng chữ *-ales*. Ví dụ *Pseudomonadales*.
   Bộ phụ (*suborder*) hay dưới bộ, tận cùng bằng chữ *-ineae*. Ví dụ *Rhobacterineae*.
5. Họ (*family*): Tận cùng bằng chữ *-aceae*. Ví dụ *Enterobacteriaceae*.
   Dưới họ (*subfamily*): tận cùng bằng chữ *-oideae*.
6. Tộc (*tribe*): Tận cùng bằng chữ *-eae*.Ví dụ *Escherichieae*.
   Dưới tộc (*subtribe*) tận cùng bằng chữ *-inae*.
7. Giống (*genus* hoặc *genera*): ví dụ *Staphylococcus*, *Salmonella*...
8. Loài (*species*): đây là đơn vị phân loại cơ bản nhất, tên khoa học của loài thường đặt kép, tên giống trước và tên loài sau. Ví dụ *Staphylococcus aureus*.

Các đơn vị dưới loài:

1. Thứ (*variety*): chỉ một nhóm nhất định trong loài. Ví dụ *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis* - vi khuẩn lao người.
2. Dạng (*type* hoặc *forma*): chỉ nhóm nhỏ dưới thứ. Ví dụ *Streptococcus pneumoniae* týp 14.
3. Chủng (*strain*): chỉ một vi sinh vật của một loài mới được phân lập. Nó mang theo ký hiệu của giống, loài và chủng. Ví dụ *Staphylococcus aureus* ATCC 1259.

Trong vi sinh vật y học chủ yếu người ta dùng các đơn vị phân loại: họ, tộc, giống, loài, týp và chủng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các phương pháp phân loại vi sinh vật và ưu nhược điểm?
2. Kể tên các đơn vị phân loại và ý nghĩa?

HÌNH THỂ, CẤU TRÚC VÀ SINH LÝ CỦA VI KHUẨN

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các loại hình thể, kích thước của vi khuẩn và ý nghĩa.*
2. *Mô tả được cấu trúc tế bào vi khuẩn và sự khác nhau giữa tế bào vi khuẩn và tê bào người.*
3. *Trình bày được chuyển hóa, hô hấp, sinh sản và phát triển của vi khuẩn.*

Vi khuẩn là những sinh vật đơn bào, không có màng nhân (procaryote). Chúng có cấu trúc và hoạt động đơn giản hơn nhiều so với các tế bào có màng nhân (eucaryote). Tuy nhiên, có một vài cơ quan (như vách tế bào) hay chức năng di truyền và sự vận chuyển di truyền phức tạp không kém sinh vật phát triển.

1. HÌNH THỂ VÀ KÍCH THƯỚC CỦA VI KHUẨN

Mỗi loại vi khuẩn có hình dạng và kích thước nhất định. Các hình dạng và kích thước này là do vách của tế bào vi khuẩn quyết định. Bằng các phương pháp nhuộm và soi kính hiển vi, người ta có thể xác định được hình thể và kích thước của các vi khuẩn... Để xác định vi khuẩn, hình thể là một tiêu chuẩn rất quan trọng, mặc dù phải kết hợp với các yếu tố khác (tính chất sinh học, kháng nguyên và khả năng gây bệnh). Trong một số trường hợp nhất định, dựa vào hình thể vi khuẩn kết hợp với dấu hiệu lâm sàng người ta có thể chẩn đoán xác định bệnh, ví dụ như bệnh lậu cấp tính.

Kích thước vi khuẩn được đo bằng micromet (1 μm = 10^{-3} mm). Kích thước của các loại vi khuẩn khác nhau thì không giống nhau và kích thước của một loại vi khuẩn cũng phụ thuộc vào điều kiện tồn tại của chúng.

Về hình thể, người ta chia vi khuẩn làm 3 loại lớn:

1.1. Các cầu khuẩn (Cocci): là những vi khuẩn có hình cầu, mặt cắt của chúng có thể là những hình tròn, nhưng cũng có thể là hình bầu dục hoặc ngọn nến. Đường kính trung bình khoảng 1 μm. Cầu khuẩn lại được chia làm nhiều loại như: đơn cầu, song cầu, tứ cầu, tụ cầu và liên cầu.

1.2. Trực khuẩn (Bacillus): là những vi khuẩn hình que, đầu tròn hay vuông, kích thước của các vi khuẩn gây bệnh thường gặp là bề rộng 1 μm, chiều dài 2 - 5 μm.

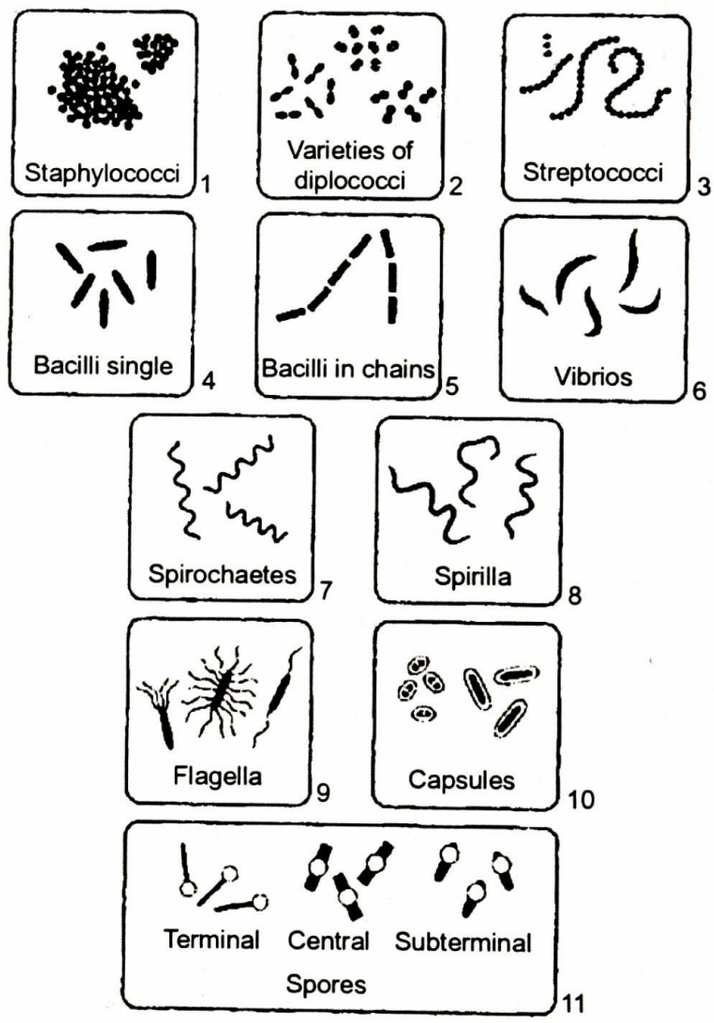
Các trực khuẩn không gây bệnh thường có kích thước lớn hơn. Một số loại trực khuẩn gây bệnh thường gặp như các vi khuẩn lao, thương hàn, lỵ, *E. coli*...

1.3. Xoắn khuẩn (Spirochaet): là những vi khuẩn có hình sợi lượn sóng và di động. Chiều dài của các vi khuẩn loại này có thể tới 30 μm. Trong loại này có 3 giống vi khuẩn gây bệnh quan trọng là *Treponema* (ví dụ, xoắn khuẩn giang mai - *Treponema pallidum*), *Leptospira* và *Borrelia*.

Ngoài những vi khuẩn có hình dạng điển hình trên còn có những loại vi khuẩn có hình thể trung gian:

Trung gian giữa cầu khuẩn và trực khuẩn là cầu-trực khuẩn, như vi khuẩn dịch hạch; trung gian giữa trực khuẩn và xoắn khuẩn là phẩy khuẩn mà điển hình là phẩy khuẩn tả (*Vibrio cholerae*).

Cách sắp xếp của các loại vi khuẩn cũng khác nhau: đứng từng con, từng chuỗi, từng chùm hoặc hình chữ V, N... là do các trục phân bào khác nhau của chúng.



Hình 5. Hình dạng các loại vi khuẩn

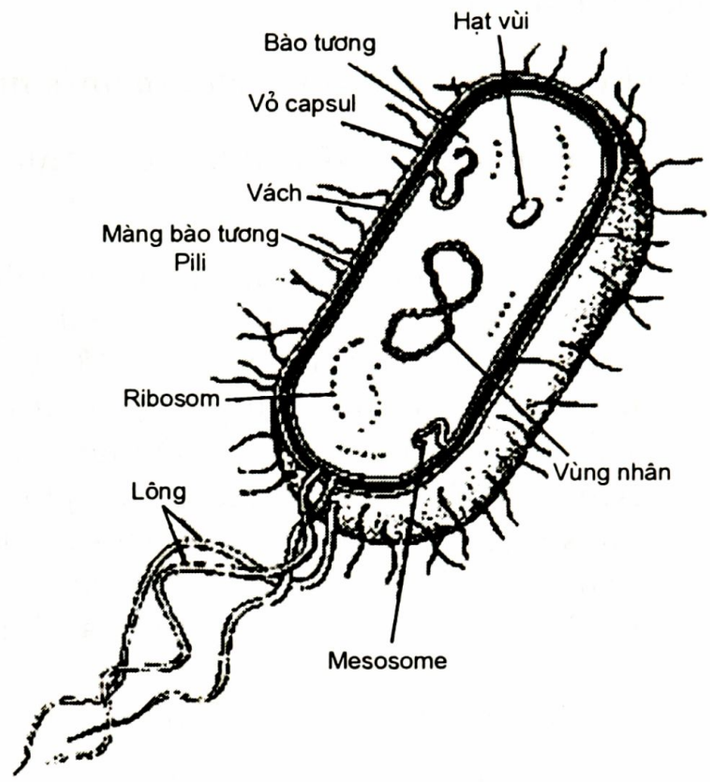
1. Tụ cầu khuẩn; 2. Các dạng song cầu; 3. Liên cầu; 4. Trực khuẩn dạng đơn; 5. Trực khuẩn dạng chuỗi; 6. Phẩy khuẩn; 7 và 8. Xoắn khuẩn; 9. Lông vi khuẩn; 10. Vỏ vi khuẩn; 11. Các dạng nha bào

2. CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA TẾ BÀO VI KHUẨN

Chúng ta nghiên cứu cấu trúc tế bào vi khuẩn từ trong ra:

2.1. Nhân của tế bào vi khuẩn (hay thể nhân: *nucleid*)

Vi khuẩn thuộc loại không có nhân điển hình, vì không có màng nhân, nên gọi là *procaryote*. Nhưng chúng có cơ quan chứa thông tin di truyền, đó là một nhiễm sắc thể (chromosome) độc nhất tồn tại trong chất nguyên sinh. Nó là một phân tử ADN dài khoảng 1 mm (gấp 1000 lần chiều dài của tế bào vi khuẩn đường tiêu hóa), khép kín; phân tử ADN có trọng lượng 2 tỷ dalton, chứa được 3000 gen, được bao bọc bởi protein kiềm. Lớp protein này không tồn tại khi vách tế bào vi khuẩn bị phá huỷ. Nó được sao chép theo kiểu bán bảo tồn (của Watson và Crick) dẫn đến sự phân bào. Ngoài nhiễm sắc thể, một số vi khuẩn còn có di truyền ngoài nhiễm sắc thể đó là các loại plasmid và transposon.



Hình 6. Cấu trúc tế bào vi khuẩn

2.2.Tế bào chất (*cytoplasm*)

- Tế bào chất của vi khuẩn chứa đựng tới 80% nước, dưới dạng gel. Bao gồm các thành phần hòa tan như protein, peptid, acid amin, vitamin, ARN, ribosom, các muối khoáng (Ca, Na, P...) và cả một số nguyên tố hiếm.
- Protein chiếm tới 50% trọng lượng khô của vi khuẩn và khoảng 90% năng lượng của vi khuẩn để tổng hợp protein. Các enzym nội bào được tổng hợp đặc hiệu với từng loại vi khuẩn.
- Ribosom có nhiều trong chất nguyên sinh. Mỗi Ribosom của vi khuẩn bao gồm 2 loại (50S và 30S); mỗi loại này lại bao gồm 2 thành phần đại phân tử: protein và ARN - được gọi là protein và ARN ribosom. Khi tổng hợp protein, các ribosom gắn với ARN thông tin và được gọi là polyribosom. Ribosom của vi khuẩn là loại 70S. Ribosom cũng là nơi tác động của một số loại kháng sinh, làm sai lạc sự tổng hợp protein của vi khuẩn, như aminozid, chloramphenicol...

Ngoài các thành phần hòa tan, chất nguyên sinh còn chứa các hạt vùi. Đây là những không bào chứa lipid, glycogen và một số không bào chứa các chất có tính đặc trưng cao với một số loại vi khuẩn.

Nếu so sánh với tế bào của sinh vật có nhân điển hình (eucaryote) ta thấy chất nguyên sinh của vi khuẩn không có: ty thể, lạp thể, lưới nội bào và cơ quan phân bào.

2.3. Màng nguyên sinh (*cytoplasmic membrane*)

- Vị trí: màng nguyên sinh bao quanh chất nguyên sinh và nằm trong vách tế bào vi khuẩn.

- Cấu trúc: là một lớp màng mỏng, tinh vi và chun giãn. Màng nguyên sinh chất của vi khuẩn bao gồm 60% protein, 40% lipid mà đa phần là phospholipid. Chúng gồm hai lớp tối (2 lớp phospho) bị tách biệt giữa 1 lớp sáng (lớp lipid), sự giống nhau này dẫn tới khái niệm *đơn vị màng*. Tất cả các màng như thế này hoàn toàn giống nhau về cấu trúc phân tử. Nhiều thuộc tính của màng này phụ thuộc vào sự tồn tại và cấu trúc của phospholipid. Các phân tử phospholipid này có cực ở một đầu (đầu chứa phospho) và không cực ở đầu còn lại. Đầu có mạng điện tích ở phía mặt ngoài và trong của màng, còn đầu không mang điện tích nằm giữa. Dung dịch nước tồn tại ở cả 2 mặt của màng sinh chất. Trong thực tế các màng này đóng nhiều vai trò sinh lý khác nhau.

- Chức năng: màng nguyên sinh thực hiện một số chức năng quyết định sự tồn tại của tế bào vi khuẩn. Nó là cơ quan hấp thụ và đào thải chọn lọc các chất, nhờ 2 cơ chế khuếch tán bị động và vận chuyển chủ động. Với cơ chế bị động, các chất được hấp thu và đào thải nhờ áp lực thẩm thấu. Chỉ những chất có phân tử lượng bé hơn vài trăm dalton và có thể hòa tan trong nước mới có thể vận chuyển qua màng. Nhưng thường áp lực thẩm thấu trong tế bào vi khuẩn lớn hơn bên ngoài nhiều lần (có những chất lớn hơn khoảng 1000 lần). Do vậy, cách khuếch tán bị động không thể thực hiện được mà phải nhờ tới cách vận chuyển chủ động. Phương pháp này cần tới enzym và năng lượng. Đó là các permease đặc hiệu với từng chất hoặc nhóm chất và ATP.

  + Màng nguyên sinh chất là nơi tổng hợp các enzym ngoại bào.

  + Màng sinh chất cũng là nơi tổng hợp các thành phần của vách tế bào.

  + Màng sinh chất cũng là nơi tồn tại của hệ thống enzym hô hấp tế bào, nơi thực hiện các quá trình năng lượng chủ yếu của tế bào thay cho chức năng của ty lạp thể.

  + Màng sinh chất tham gia vào quá trình phân bào nhờ các mạc thể (mesosome). Mạc thể là phần cuộn vào chất nguyên sinh của màng sinh chất, thường gặp ở vi khuẩn Gram dương. Khi tế bào phân chia, mạc thể tiến sâu vào chất nguyên sinh.

2.4. Vách (cell wall)

Có ở mọi vi khuẩn trừ *Mycoplasma*. Vách vi khuẩn được quan tâm vì cấu trúc đặc biệt và chức năng của nó.

Cấu trúc: vách tế bào là bộ khung vững chắc bao bên ngoài màng sinh chất. Vách được cấu tạo bởi đại phân tử glycopeptid (peptidoglycan, mucopeptid, murein), nối với nhau tạo thành mạng lưới phức tạp bao bên ngoài màng nguyên sinh. Nó được tổng hợp liên tục. Thành phần cấu tạo bao gồm: đường amin (amino-sugar) và acid amin. Đường-amin gồm 2 loại acid N - axetyl muramic và N - axetyl glucozamin. Hai loại này trùng hợp xen kẽ nhau tạo thành những sợi dài của mỗi lớp. Acid amin cũng chỉ bao gồm một số loại như: D-alanin, D-glutamic, L-alanin và L-lysin. Các acid amin này thay đổi theo loại vi khuẩn. Các acid amin tạo thành các tetrapeptid làm cầu nối giữa các sợi cùng và khác lớp. Vách tế bào của các vi khuẩn Gram dương và Gram âm có những khác nhau:

- Vách vi khuẩn Gram dương: bao gồm nhiều lớp peptidoglycan. Ngoài lớp peptidoglycan, ở đa số vi khuẩn Gram dương còn có acid teichoic là thành phần phụ thêm. Tuỳ loại vi khuẩn mà bao bên ngoài lớp peptidoglycan có thể là polysaccharid hoặc polypeptid. Các lớp ngoài cùng thường đóng vai trò kháng nguyên thân đặc hiệu.
- Vách của các vi khuẩn Gram âm: chỉ bao gồm một lớp peptidoglycan, nên vách này mỏng hơn vách vi khuẩn Gram dương; do vậy, chúng dễ bị phá vỡ bởi các lực cơ học hơn. Bên ngoài lớp peptidoglycan, vách vi khuẩn Gram âm còn có các lớp: protein, lipid A và polysaccharid. Người ta rất quan tâm đến các lớp này, vì chúng chính là nội độc tố của các vi khuẩn gây bệnh. Đồng thời nó cũng là kháng nguyên thân của các vi khuẩn Gram âm. Trong đó, lớp polysaccharid ngoài cùng quyết định tính đặc hiệu kháng nguyên, còn lớp protein quyết định tính miễn dịch. Lớp lipid đóng vai trò chủ yếu của độc tính nội độc tố.

Chức năng của vách:

- Chức năng quan trọng nhất của vách là duy trì hình dạng vi khuẩn, áp lực thẩm thấu bên trong vi khuẩn thường cao hơn môi trường mà vi khuẩn tồn tại khá nhiều. Chính vách tế bào vi khuẩn đã giữ để màng sinh chất không bị căng phồng ra, rồi tan vỡ.

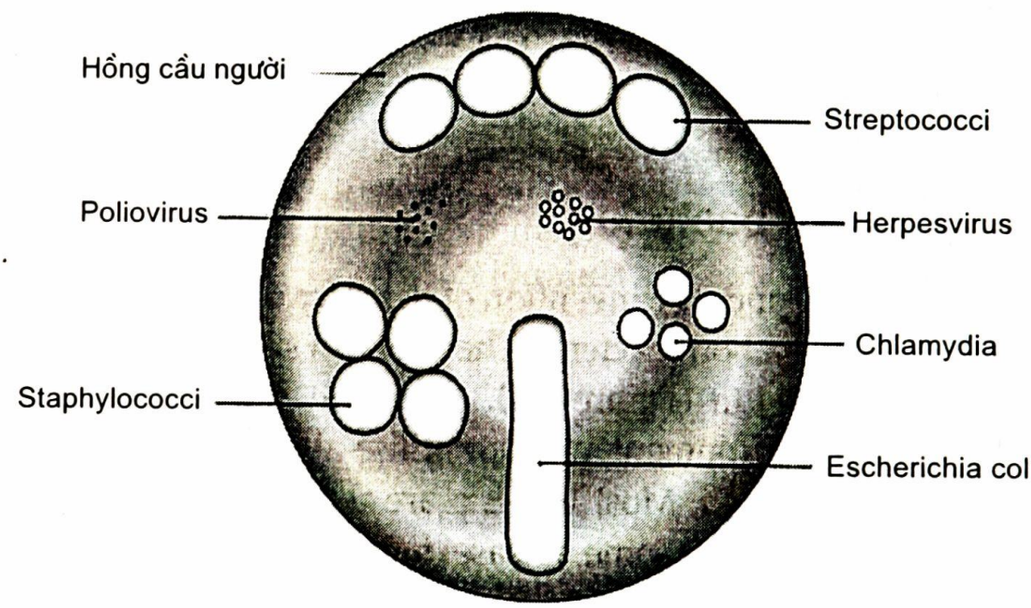
Trong tự nhiên cũng như trong phòng thí nghiệm, ta có thể gặp những vi khuẩn không có vách tế bào. Chúng được gọi là "L-form" (dạng L). Tên này được Viện Vi sinh vật Lister Luôn Đôn đặt sau khi họ phát hiện ra dạng vi khuẩn này.

Các vi khuẩn "L-form" có thể mất hoàn toàn hay không mất khả năng tổng hợp peptidoglycan. Các vi khuẩn "L-form" Gram âm, nếu như không thể tổng hợp được peptidoglycan nhưng vẫn có thể tổng hợp được các lớp bên ngoài của vách tế bào. Tất cả vi khuẩn "L-form" đều có khả năng đề kháng với nhóm kháng sinh tác động trên vách (nhóm β-lactam).

Một loài vi khuẩn khác không có vách tế bào, đó là *Mycoplasma*. Loại vi khuẩn này thường phát triển chậm và cần có huyết thanh (khoảng 20%). Một số *Mycoplasma* cần có sterol trong môi trường, hình như sterol trong môi trường đã gắn vào màng sinh chất của *Mycoplasma* và làm cho lớp màng này thêm vững chắc.

Ngoài chức năng duy trì hình dạng của vi khuẩn, vách tế bào còn có một số ý nghĩa khác:

- Vách tế bào quy định tính chất nhuộm Gram.
- Vách vi khuẩn Gram âm chứa đựng nội độc tố, quyết định độc lực và khả năng gây bệnh của các vi khuẩn gây bệnh bằng nội độc tố.
- Vách vi khuẩn quyết định tính chất kháng nguyên thân của vi khuẩn. Đây là loại kháng nguyên quan trọng nhất để xác định và phân loại vi khuẩn.
- Vách tế bào vi khuẩn là nơi tác động của nhóm kháng sinh khá quan trọng (nhóm beta lactam), đồng thời là nơi tác động của lysozym.
- Vách tế bào vi khuẩn cũng là nơi mang các điểm tiếp nhận (receptor) đặc hiệu cho thực khuẩn thể (bacteriophage). Vấn đề này có ý nghĩa trong việc phân loại vi khuẩn, cũng như phage và các nghiên cứu cơ bản khác.



Hình 7. Tương quan kích thước của các vi sinh vật

Tế bào hồng cầu người 7-10 μm, *Staphylococci* 1 μm, *E. coli* 1x5 μm, Poliovirus 30 nm Herpesvius 100 nm

2.5. Vỏ của vi khuẩn (capsul)

Vỏ của vi khuẩn hay là một lớp nhầy lỏng lẻo, sền sệt, không rõ rệt bao quanh vi khuẩn. Người ta quan sát nó bằng phương pháp nhuộm mực nho. Vỏ là vùng sáng chống lại nền tối, khuẩn lạc của những vi khuẩn có vỏ thường nhầy, ướt và sáng. Chỉ một số vi khuẩn và trong những điều kiện nhất định vỏ mới hình thành.

Bản chất hóa học của vỏ: vỏ của các vi khuẩn khác nhau có thành phần hóa học không giống nhau. Vỏ của nhiều vi khuẩn là polysaccharid, như vỏ của *E. coli, Klebsiella*, phế cầu... Nhưng vỏ của một số vi khuẩn khác là polypeptid như vi khuẩn dịch hạch, trực khuẩn than, do một vài acid amin tạo nên. Những acid amin này thường là dạng D, dạng ít gặp trong tự nhiên.

Chức năng: vỏ vi khuẩn đóng vai trò bảo vệ cho một loại vi khuẩn dưới những điều kiện nhất định. Chúng có tác dụng chống thực bào.

2.6. Lông (flagella)

– Cấu trúc và vị trí: lông là những sợi protein dài và xoắn tạo thành từ các acid amin dạng D. Nó là cơ quan vận động và không phải có ở mọi loại vi khuẩn.



Hình 8. Lông và pili của vi khuẩn

Vị trí lông của các vi khuẩn có những khác nhau: một số chỉ có lông ở một đầu (phẩy khuẩn tả), nhiều vi khuẩn lại có lông quanh thân (*Salmonella, E. coli*), một vài vi khuẩn lại có một chùm lông ở đầu (trực khuẩn Whitmore).

– Cơ chế của sự chuyển động: lông là cơ quan di động; mất lông vi khuẩn không di động được. Nuôi trong môi trường thích hợp, lông hình thành và vi khuẩn lại di động. Lông quay quanh trục dài của nó giúp cho vi khuẩn di động.

Vi khuẩn vận động đến nơi có lợi và đi xa nơi bất lợi cho nó. Nhưng do cơ chế nào thì hiện nay người ta chưa rõ. Có thể các phân tử tiếp nhận (receptor) trên màng sinh chất đã đóng vai trò này.

2.7. Pili

Pili cũng là cơ quan phụ của vi khuẩn như lông. Nó có thể mất đi mà không ảnh hưởng tới sự tồn tại của vi khuẩn. Pili có ở nhiều vi khuẩn Gram âm nhưng đến nay người ta mới biết có ở một số loại vi khuẩn Gram dương.

Cấu trúc: Pili có cấu trúc như lông nhưng ngắn và mỏng hơn.

Chức năng: dựa vào chức năng, người ta chia pili làm 2 loại:

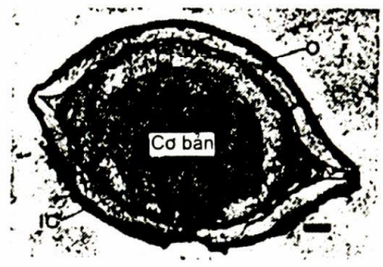
- Pili giới tính hay pili F (fertility) chỉ có ở các vi khuẩn đực, dùng để vận chuyển chất liệu di truyền sang vi khuẩn cái. Mỗi vi khuẩn đực chỉ có một pili này.
- Pili chung: là những pili dùng để bám. Vì thế người ta còn gọi pili là cơ quan để bám của vi khuẩn. Mỗi tế bào vi khuẩn có thể có tới hàng trăm pili này.

Nhờ pili này vi khuẩn có thể bám lên bề mặt môi trường lỏng hoặc tế bào. Khả năng gây bệnh của vi khuẩn lậu cũng liên quan với sự có mặt của pili. Các vi khuẩn có pili dễ dàng bám vào các tế bào có màng nhân.

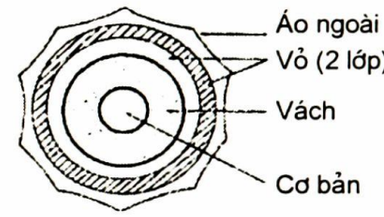
2.8. Nha bào (spore hay endospore)

Nhiều loại vi khuẩn có khả năng tạo nha bào khi điều kiện sống không thuận lợi. Mỗi vi khuẩn chỉ tạo được một nha bào. Khi điều kiện sống thuận lợi, nha bào vi khuẩn lại nảy mầm để đưa vi khuẩn trở lại dạng sinh sản. Cấu trúc nha bào:

- ADN và các thành phần khác của nguyên sinh chất nằm trong thể nguyên sinh (thể cơ bản) với tỷ lệ nước thấp.
- Màng nha bào bao bên ngoài thể nguyên sinh.
- Vách bao ngoài màng.
- Lớp vỏ (trong và ngoài) bao bên ngoài màng nha bào.
- Hai lớp áo ngoài và trong bao hai lớp vách.



Hình 9. Thiết đồ nha bào Bacillus megatherium
C: Vách; IC: vỏ trong;
O: Vỏ ngoài.



Sơ đồ cấu trúc nội nha bào (endospore)

Sự đề kháng với các yếu tố lý hóa của nha bào là do một số thay đổi về thành phần hóa học của nha bào quy định: acid dipicolinic chiếm 20% nha bào, ion Ca^{2+}, cystein, tỷ lệ nước thấp (10-20%), sự tổng hợp ADN dừng lại và sự phiên mã cũng bị ức chế. Sự tồn tại lâu (có thể 150.000 năm) liên quan đến sự mất nước và không thấm nước nên không chuyển hóa của nha bào.

3. SINH LÝ CỦA VI KHUẨN

Vi khuẩn cũng là một sinh vật, nên chúng cũng có khả năng dinh dưỡng, hô hấp, chuyển hóa và sinh sản như các sinh vật khác.

3.1. Dinh dưỡng của vi khuẩn

3.1.1. Nhu cầu dinh dưỡng

Trong quá trình sinh sản và phát triển, vi khuẩn đòi hỏi phải có nhiều thức ăn với tỷ lệ tương đối cao so với trọng lượng của cơ thể. Người chỉ cần một lượng thức ăn bằng 1% trọng lượng của cơ thể, còn vi khuẩn cần một lượng thức ăn bằng trọng lượng cơ thể nó, vì vi khuẩn sinh sản phát triển rất nhanh, chúng cần những thức ăn để tạo ra năng lượng và những thức ăn để tổng hợp. Những thức ăn này bao gồm các nitơ hóa hợp (acid amin hoặc muối amoni), carbon hóa hợp thường là các ose, nước và các muối khoáng ở dạng ion như PO_4H^-, Cl^-, SO^-, K^+, Ca^{++}, Na^+ và một số ion kim loại hiếm ở nồng độ rất thấp (Mn^{++}, Fe^{++}, Co^{++}).

Rất nhiều vi khuẩn phân lập trong tự nhiên có thể tổng hợp được mọi enzym từ một hợp chất carbon độc nhất để hình thành những chất chuyển hóa cần thiết tham gia trong quá trình chuyển hóa.

3.1.2. Cơ chế dinh dưỡng của vi khuẩn: nhờ sự hấp thu và đào thải các chất qua màng. Vi khuẩn có một số enzym ngoại bào, chúng có tác dụng phân cắt các đại phân tử hữu cơ thành các phân tử nhỏ để dễ dàng vận chuyển qua màng.

3.2. Hô hấp của vi khuẩn

Hô hấp là quá trình trao đổi chất, để tạo ra năng lượng cần thiết để tổng hợp nên các chất mới của tế bào. Các loại hô hấp của vi khuẩn:

3.2.1. Hô hấp hiếu khí hay là oxy hóa: nhiều loại vi khuẩn dùng oxy của khí trời để oxy hóa lại coenzym khử.

3.2.2. Hô hấp kỵ khí: một số vi khuẩn không thể sử dụng oxy tự do làm chất nhận điện tử cuối cùng. Chúng không thể phát triển được hoặc phát triển rất kém khi môi trường có oxy tự do vì oxy độc đối với chúng. Những vi khuẩn này được gọi là vi khuẩn kỵ khí tuyệt đối, chúng không có cytocrom oxidase và không có toàn bộ hay một phần của chuỗi cytocrom.

3.2.3. Hô hấp hiếu kỵ khí tuỳ ngộ: một số vi khuẩn hiếu khí có thể hô hấp theo kiểu lên men ta gọi chúng là hiếu kỵ khí tuỳ ngộ.

3.3. Chuyển hóa của vi khuẩn

Vi khuẩn rất nhỏ bé nhưng sinh sản phát triển rất nhanh chóng, do chúng có hệ thống enzym phức tạp. Mỗi loại vi khuẩn có một hệ thống enzym riêng, nhờ có hệ thống enzym này mà vi khuẩn có thể dinh dưỡng, hô hấp và chuyển hóa để sinh sản và phát triển.

- Chuyển hóa đường: đường là một chất vừa cung cấp năng lượng vừa cung cấp nguyên liệu để cấu tạo. Chuyển hóa đường tuân theo một quá trình phức tạp, từ polyozid đến ozid qua glucose rồi đến pyruvat: lactose -> glucose -> esteglucose-6-phosphoric -> pyruvat. Pyruvat đóng vai trò trung tâm trong quá trình chuyển hóa các chất đường.
- Chuyển hóa các chất đạm: các chất đạm cũng được chuyển hóa theo một quá trình phức tạp từ albumin đến acid amin:

  Albumin -> protein -> pepton -> polypeptid -> acid amin.
- Các chất được hợp thành: ngoài những sản phẩm chuyển hóa trong quá trình đồng hóa trên và ngoài các chất là thành phần của bản thân vi khuẩn, còn có một số chất được hình thành:
  + Độc tố: phần lớn các vi khuẩn gây bệnh trong quá trình sinh sản và phát triển đã tổng hợp nên độc tố.
  + Kháng sinh: một số vi khuẩn tổng hợp được chất kháng sinh, chất này có tác dụng ức chế hoặc tiêu diệt các vi khuẩn khác loại.
  + Chất gây sốt: một số vi khuẩn có khả năng sản sinh ra một chất tan vào nước, khi tiêm cho người hay súc vật gây nên phản ứng sốt.
  + Sắc tố: một số vi khuẩn có khả năng sinh ra các sắc tố như màu vàng của tụ cầu, màu xanh của trực khuẩn mủ xanh...
  + Vitamin: một số vi khuẩn đặc biệt (đặc biệt là *E. coli*) của người và súc vật có khả năng tổng hợp được vitamin (C, K...).

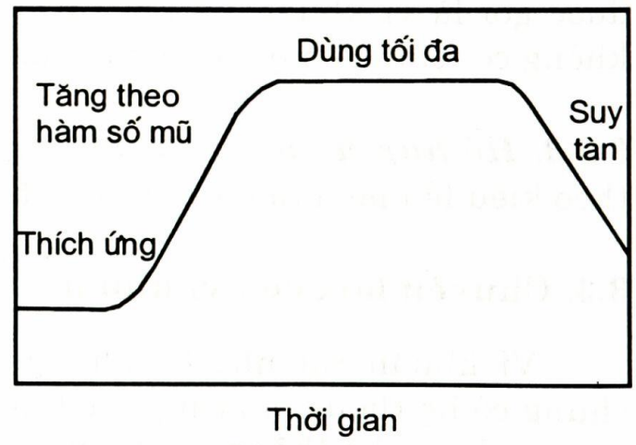
3.4. Phát triển của vi khuẩn

Vi khuẩn muốn phát triển đòi hỏi phải có môi trường và những điều kiện thích hợp. Một tế bào vi khuẩn riêng rẽ thì rất nhỏ, nhưng vi khuẩn sinh sản phát triển rất nhanh. Tính chất phát triển này cho phép ta nghiên cứu cả một quần thể vi khuẩn chứ không phải từng vi khuẩn riêng lẻ.

3.4.1. Sự phát triển của vi khuẩn trong môi trường lỏng

Trong vi sinh vật y học, môi trường lỏng chỉ có giá trị khi nó chứa một chủng vi khuẩn (nghĩa là chỉ có một clon), và như vậy ta có được một *canh khuẩn thuần khiết* để nghiên cứu.

Nếu kẻ đường biểu diễn sự phát triển theo phương trình, ta có một đường biểu diễn với trục tung nửa logarit giúp ta dễ dàng phân tích hơn.



Hình 10. Các giai đoạn phát triển của vi khuẩn trong môi trường lỏng

Trên đường biểu diễn của hình dạng điển hình của sự phát triển có thể chia thành 4 giai đoạn liên tục là: (1) thích ứng, (2) tăng theo hàm số mũ, (3) dừng tối đa và (4) suy tàn (xem sơ đồ).

3.4.2. Sự phát triển của vi khuẩn trong môi trường đặc

Cấu tạo hóa học của môi trường đặc giống như môi trường lỏng, chỉ khác là có thêm chất để cho rắn lại (thường dùng là thạch). Nếu ria cấy vi khuẩn trên môi trường đặc để vi khuẩn nọ đủ cách xa vi khuẩn kia, thì mỗi vi khuẩn sẽ hình thành một *khuẩn lạc* riêng rẽ. Mỗi khuẩn lạc là một clon thuần khiết, gồm những tế bào từ *một* tế bào mẹ sinh ra.

Các loại vi khuẩn khác nhau thì có khuẩn lạc khác nhau về kích thước, độ đục và nhất là về hình dạng. Có ba dạng khuẩn lạc chính:

- *Dạng S* (từ tiếng Anh: smooth – nhẵn nhụi): khuẩn lạc xám nhạt hoặc trong, bờ đều, mặt lồi đều và bóng.
- *Dạng M* (từ tiếng Anh: mucus = nhầy): khuẩn lạc đục, tròn lồi hơn khuẩn lạc S, quánh hoặc dính.
- *Dạng R* (từ tiếng Anh: rough = xù xì): khuẩn lạc thường dẹt, bờ đều hoặc nhăn nheo, mặt xù xì, khô (dễ tách thành mảng hay cả khối).

3.5. Sinh sản

Vi khuẩn sinh sản theo kiểu song phân, từ một tế bào mẹ tách thành hai tế bào con. Sự phân chia bắt đầu từ nhiễm sắc thể của vi khuẩn; sau đó màng sinh chất và vách tiến sâu vào, phân chia tế bào làm hai phần, hình thành hai tế bào con. Thời gian phân bào của các vi khuẩn thường là 20 phút đến 30 phút, riêng vi khuẩn lao khoảng 30 giờ là một thế hệ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Vẽ các loại hình thể và giải thích ý nghĩa của hình thể vi khuẩn?
2. Vẽ sơ đồ cấu trúc tế bào vi khuẩn và trình bày chức năng của các thành phần đó?
3. So sánh sự giống và khác nhau giữa tế bào vi khuẩn và tế bào người?
4. Trình bày các loại hô hấp, chuyển hóa, sinh sản và phát triển của vi khuẩn?
5. Giải thích ý nghĩa của các loại hô hấp, chuyển hóa, sinh sản và phát triển triển của vi khuẩn (đối với vi khuẩn và ứng dụng thực tế)?

DI TRUYỀN VI KHUẨN

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được định nghĩa đột biến ở vi khuẩn, 4 tính chất của đột biến và ứng dụng hiểu biết này trong việc sử dụng kháng sinh.*
2. *Trình bày được sự tái tổ hợp chất liệu di truyền trên nhiễm sắc thể của vi khuẩn do 3 hình thức vận chuyển di truyền: biến nạp, tiếp hợp và tải nạp (định nghĩa, điều kiện xảy ra và kết quả).*
3. *Trình bày được định nghĩa plasmid và transposon; đặc điểm cấu tạo và vai trò của chúng đối với sự lan truyền gen đề kháng ở vi khuẩn.*

1. DI TRUYỀN

Di truyền là sự bảo tồn đặc tính (đặc tính ổn định) qua nhiều thế hệ. Cơ sở của sự bảo tồn đặc tính là sự sao chép chất liệu di truyền (ADN) dựa trên nguyên tắc bán bảo tồn.

Nhiễm sắc thể của vi khuẩn là một phân tử ADN (xoắn, kép) dạng vòng tròn khép kín; có độ lớn từ 0,6-13.10^6 bp (base pair, cặp base), ví dụ nhiễm sắc thể của *E. coli* là 4,6. 10^6 bp.

Khi ria cấy vi khuẩn trên môi trường đặc, ta có thể có các khuẩn lạc (colony), đó là quần thể vi khuẩn xuất phát từ một tế bào ban đầu. Như vậy, mỗi khuẩn lạc là một dòng tế bào (clone) thuần khiết, gồm những tế bào có chất liệu di truyền như nhau và cùng có những đặc tính như nhau. Trong quá trình phát triển của vi khuẩn, chất liệu di truyền không phải luôn luôn được giữ nguyên mà có sự thay đổi, dẫn đến hình thành những đặc tính mới và các cá thể mới.

2. SỰ THAY ĐỔI CHẤT LIỆU DI TRUYỀN

Trước hết cần phân biệt với những biến dị kiểu hình (modification); đó là những biến đổi bề ngoài do sự thích ứng của một quần thể có cùng kiểu gen trong những điều kiện ngoại cảnh khác nhau, ví dụ các vi khuẩn duy trì (persistent) trong các ổ áp xe. Biến dị kiểu hình không bền và không di truyền.

2.1. Do đột biến (những biến đổi kiểu gen)

Định nghĩa: đột biến (mutation) là sự thay đổi đột ngột một tính chất của cá thể trong quần thể đồng nhất. Đột biến di truyền được, do đó có một clon mới được hình thành từ cá thể đặc biệt này và điều đó nghĩa là sẽ xuất hiện một biến chủng (mutant) từ chủng hoang dại (wildtype) ban đầu.

Một số đột biến có ý nghĩa quan trọng đối với vi sinh y học là những đột biến kháng kháng sinh, kháng phage; đột biến thay đổi cấu trúc kháng nguyên; mất tính di động hoặc sản xuất dư thừa sản phẩm chuyển hóa.

Các tính chất của đột biến

- *Hiếm:* tất cả các đột biến đều hiếm thấy và xảy ra không đều. Số biến chủng trong một quần thể gọi là tần số biến chủng (mutants frequency). Tần số biến chủng cho mỗi đặc tính ở mỗi cá thể là khác nhau, có thể từ 10^{-5}-10^{-11}. Xác suất xuất hiện một đột biến trên một tế bào trong một thế hệ gọi là suất đột biến (mutation rate). Suất đột biến ngẫu nhiên cho một gen nhất định khoảng 10^{-5} và cho một cặp nucleotid nhất định khoảng 10^{-8}.
- *Vững bền:* đặc tính đột biến di truyền cho thế hệ sau, mặc dù chất chọn lọc không còn nữa. Biến đảo là đột biến của biến chủng, kết quả biến chủng mới sẽ gần giống hoặc giống hệt chủng hoang dại ban đầu.
- *Ngẫu nhiên:*

Đột biến có sẵn trước khi có nhân tố chọn lọc tác động. Điển hình là kiểu đột biến một bước (one-step mutation - hoặc kiểu streptomycin), ở đây mức độ đề kháng không phụ thuộc vào nồng độ kháng sinh được tiếp xúc, ví dụ đột biến kháng streptomycin, rifampicin, acid nalidixic, erythromycin.

Đột biến nhiều bước (multi-step mutation - hoặc kiểu penicillin) xảy ra chậm và từng bước một; ở đây mức độ đề kháng có phụ thuộc vào nồng độ kháng sinh được tiếp xúc, ví dụ đột biến kháng penicillin, cephalosporin, tetracyclin, chloramphenicol.

Nếu lượng kháng sinh thấp, không đủ để tiêu diệt được vi khuẩn thì có thể chính nó lại là yếu tố kích thích đột biến, tạo ra đột biến cảm ứng và lúc này suất đột biến sẽ cao hơn đột biến ngẫu nhiên; hoặc chính nó trở thành yếu tố chọn lọc ra những dòng vi khuẩn đề kháng cho những đột biến tiếp theo với mức độ đề kháng cao hơn. Vì vậy, ứng dụng hiểu biết này trong điều trị bệnh nhiễm khuẩn: kháng sinh phải được dùng đủ liều lượng.

- *Độc lập và đặc hiệu:* nói chung đột biến một tính chất này không ảnh hưởng đến đột biến tính chất khác. Xác suất một đột biến kép (đột biến hai tính chất) bằng tích số xác suất hai đột biến đơn tương ứng. Ví dụ: Hai tính chất A và B; suất đột biến A → a là 10^{-5} và B → b là 10^{-7}, thì suất đột biến AB → ab là 10^{-12}. Một ứng dụng điển hình là việc phối hợp kháng sinh trong điều trị bệnh lao.

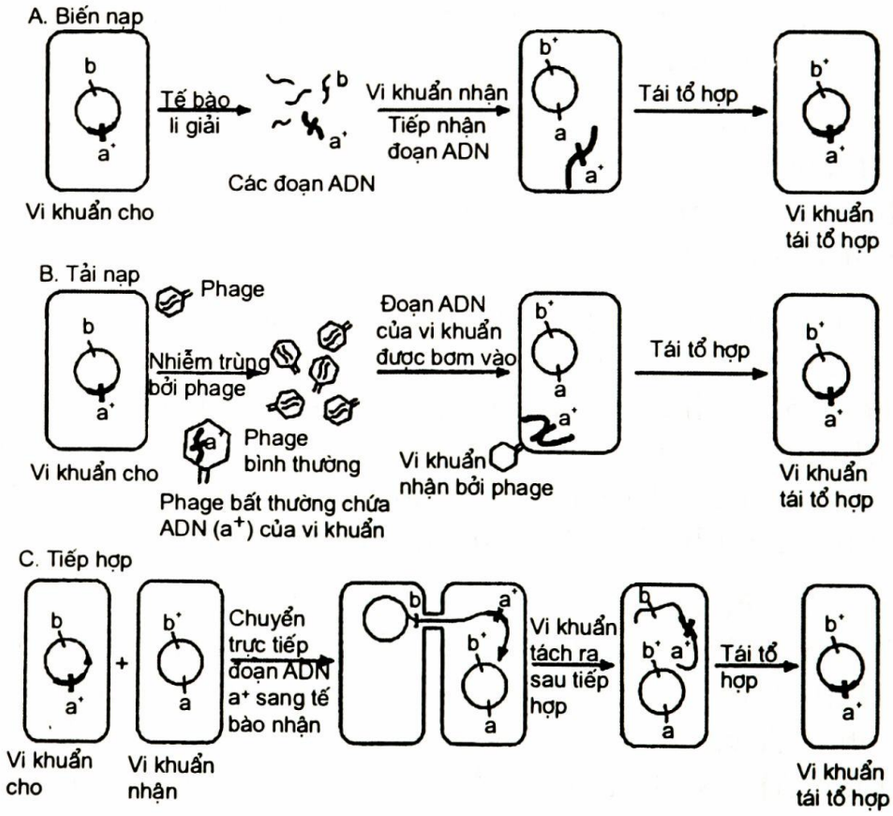
2.2. Do tái tổ hợp kinh điển (classical recombination) chất liệu di truyền trên nhiễm sắc thể

Biến nạp (Transformation)

- Định nghĩa: là sự vận chuyển một đoạn ADN của vi khuẩn cho nạp vào vi khuẩn nhận (xem hình ...).
- Điều kiện:
  + Vi khuẩn cho phải bị phá vỡ (ly giải).
  + Nhiễm sắc thể của nó được giải phóng và bị cắt thành những đoạn ADN nhỏ.
  + Vi khuẩn nhận phải ở trạng thái sinh lý đặc biệt (competent, khả biến) cho phép những mảnh ADN xâm nhập vào tế bào.
- Hai giai đoạn xảy ra trong quá trình biến nạp:
  + Nhận mảnh ADN và
  + Tích hợp mảnh ADN đã nhận vào nhiễm sắc thể qua tái tổ hợp kinh điển.

Ví dụ: biến nạp đặc tính hình thành vỏ của *Streptococcus pneumoniae* (thực nghiệm in vivo của Griffith năm 1928 và in vitro của Avery, Macleod và McCarty năm 1944). Hiện tượng biến nạp còn được quan sát thấy ở *Haemophilus*, não mô cầu, liên cầu...

Kỹ thuật biến nạp được áp dụng trong công nghệ sinh học là biến nạp gen tổng hợp insulin vào tế bào *E. coli* hoặc nấm men để sản xuất insulin.



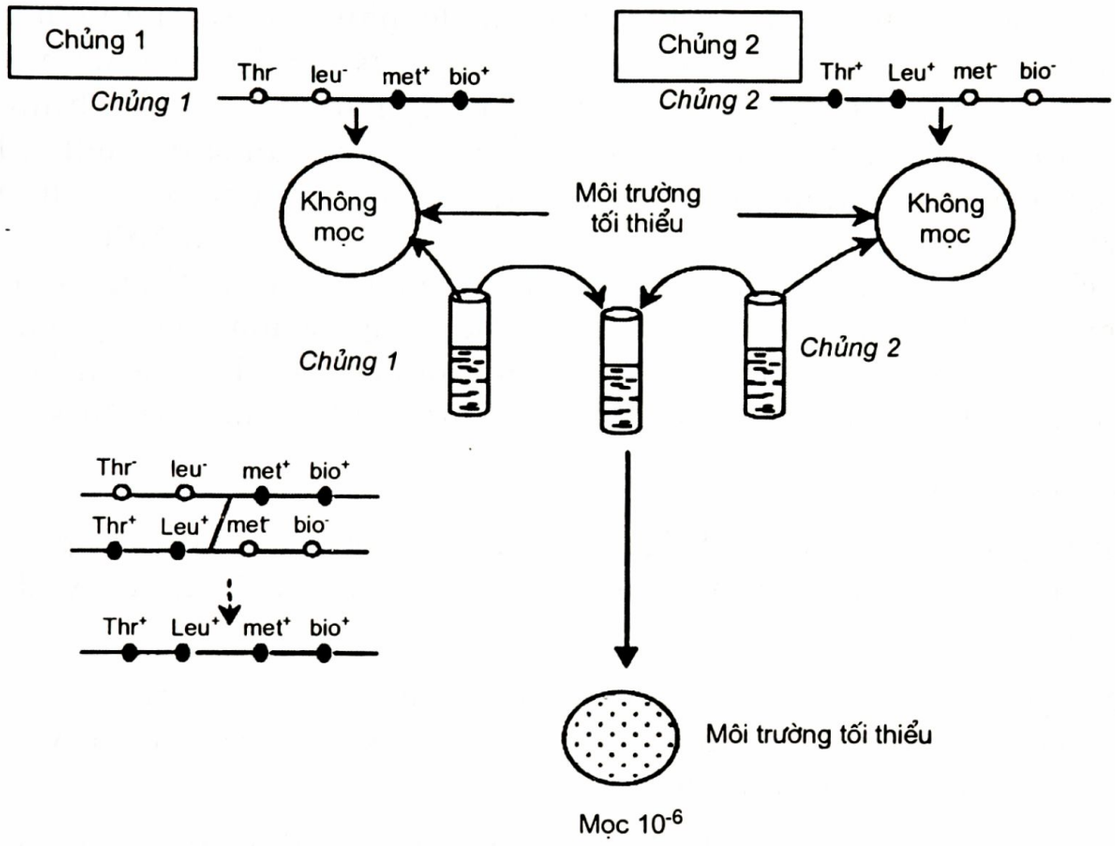
Hình 11. Ba hình thức vận chuyển chất liệu di truyền

2.2.2. *Tiếp hợp* (Conjugation)

Định nghĩa: là sự vận chuyển chất liệu di truyền từ vi khuẩn đực sang vi khuẩn cái khi hai vi khuẩn tiếp xúc với nhau (xem hình 12).

Ba giai đoạn xảy ra trong quá trình tiếp hợp:

- Tiếp hợp hai tế bào qua cầu giao phối (pili giới tính).
- Chuyển gen.
- Tích hợp đoạn gen chuyển vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn nhận qua tái tổ hợp kinh điển.



Hình 12. Sơ đồ biểu diễn sự tiếp hợp của hai biến chủng 1 ($thr^- leu^- met^+ bio^+$) và 2 ($thr^+ leu^+ met^- bio^-$) hình thành vi khuẩn tái tổ hợp ($thr^+ leu^+ met^+ bio^+$)

Chú thích: chủng 1 là biến chủng không tự tổng hợp được *thr⁻ leu⁻*; chủng 2 là biến chủng không tự tổng hợp được *met⁻ bio⁻*. Vi khuẩn tái tổ hợp tự tổng hợp được toàn bộ acid amin nên mọc được trên môi trường tối thiểu (không có chất hữu cơ, chỉ có NH_4Cl là nguồn cung cấp nitơ).

Điều kiện xảy ra tiếp hợp: một vi khuẩn phải có yếu tố giới tính F (Fertility factor), tức là có pili giới tính làm cầu giao phối; những vi khuẩn có yếu tố F gọi là vi khuẩn đực F^+, vi khuẩn không có yếu tố F gọi là vi khuẩn cái F^-. Yếu tố F có thể tồn tại ở 3 trạng thái: F^+, Hfr hoặc F'.

- F^+: yếu tố F nằm trong nguyên tương
- Hfr: yếu tố F tích hợp vào nhiễm sắc thể

– F': sau khi yếu tố F tích hợp vào nhiễm sắc thể, lại rời ra, nằm tự do trong nguyên tương nhưng có mang theo một đoạn ADN của nhiễm sắc thể

Tiếp hợp thường xảy ra giữa những vi khuẩn cùng loại nhưng cũng có thể xảy ra giữa những vi khuẩn khác loại như *E. coli* với *Salmonella* hoặc *Shigella* nhưng tần số tái tổ hợp thấp.

2.2.3. Tải nạp (Transduction)

Định nghĩa: là sự vận chuyển chất liệu di truyền từ vi khuẩn cho nạp vào vi khuẩn nhận nhờ phage.

Thí nghiệm của Zinder và Lederberg 1952: hai biến chủng salmonella try^+his^- và salmonella try^-his^+ được tạo ra để phục vụ thí nghiệm này ; vì không tự tổng hợp được acid amin hoặc *try* hoặc *his*, hai biến chủng này không mọc được trên môi trường tối thiểu. Họ sử dụng một ống nghiệm hình chữ U, giữa 2 nhánh là một màng ngăn có khe hở 0,5μ (vi khuẩn salmonella không đi qua được). Cho mỗi chủng Salmonella vào một nhánh của ống nghiệm hình chữ U và cho phage ; ủ ấm. Sau đó lấy một số mẫu ở mỗi nhánh ra nuôi cấy; kết quả cho thấy có vi khuẩn phát triển trên môi trường tối thiểu với tần suất 10^{-4}. Điều này chứng tỏ : nhờ phage qua được màng lọc mà alen try^+ của chủng try^+his^- được tải sang và nạp vào vi khuẩn nhận try^-his^+ hoặc alen his^+ của vi khuẩn try^-his^+ được tải nạp vào vi khuẩn try^+his^- và trở thành try^+his^+.

Các loại tải nạp:

– Tải nạp hạn chế và đặc hiệu: một phage nhất định chỉ mang được một gen nhất định từ vi khuẩn cho sang nạp vào vi khuẩn nhận, ví dụ phage λ chỉ mang gen *gal*.

– Tải nạp chung: Phage có thể mang bất kỳ một đoạn gen nào của vi khuẩn cho sang nạp vào vi khuẩn nhận, ví dụ phage P22 có thể chuyển những gen khác nhau của s*almonella*.

Tải nạp chung hoàn chỉnh: đoạn gen mang sang được tích hợp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn nhận qua tái tổ hợp, do đó được nhân lên cùng nhiễm sắc thể và có mặt ở các thế hệ sau.

Tải nạp chung không hoàn chỉnh: đoạn gen mang sang không được nạp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn nhận, do đó không cùng được nhân lên và chỉ nằm lại ở một tế bào con khi vi khuẩn phân chia. Đặc tính của gen được mang sang vẫn được biểu hiện ra kiểu hình song chỉ ở một tế bào duy nhất. Hiện tượng này hay gặp hơn tải nạp hoàn chỉnh.

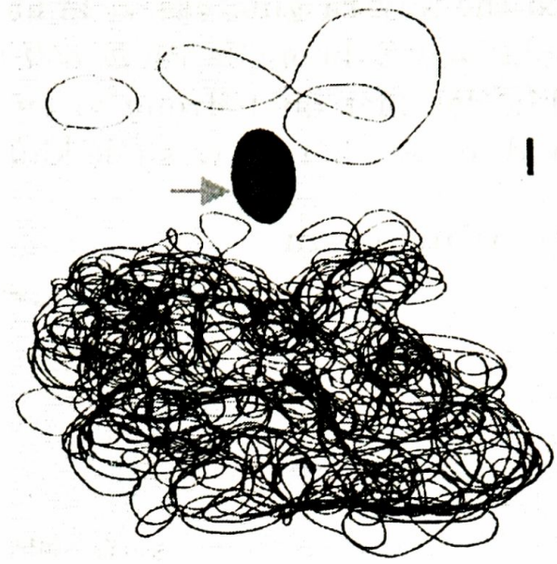
2.3. Do plasmid

Định nghĩa: plasmid là những phân tử ADN dạng vòng tròn nằm ngoài nhiễm sắc thể và có khả năng tự nhân lên.

Sự nhân lên của plasmid phối hợp nhịp nhàng với sự nhân lên của nhiễm sắc thể, nhờ đó mà số lượng plasmid/nhiễm sắc thể ở tế bào con luôn ổn định và giống tế bào mẹ.

Độ lớn của plasmid: nhỏ hơn nhiễm sắc thể, lớn nhất cũng nhỏ hơn 10^{-1} và nhỏ nhất cũng lớn hơn 10^{-4} độ lớn của nhiễm sắc thể, thường là khoảng 10^{-3}-10^{-2}, tức là khoảng từ 2-120 Kb (kilobase).

Số lượng các bản sao (copy number) của plasmid trong một tế bào có khác nhau; plasmid với trọng lượng phân tử lớn thì có ít bản sao, ví dụ plasmid R1 có trọng lượng 58 MD (megadalton) chỉ có 3-4 bản sao; plasmid với trọng lượng phân tử nhỏ thì có thể có nhiều bản sao hơn, ví dụ pBR322 nặng 3 MD có 10 -15 bản sao.



Hình 13. Mô hình so sánh độ lớn của vi khuẩn với nhiễm sắc thể và plasmid

Vi khuẩn - đầu mũi tên, nếu dài 2 cm thì ADN nhiễm sắc thể (dưới cùng) dài 13 m; Hai plasmid có độ lớn khác nhau (trên cùng)

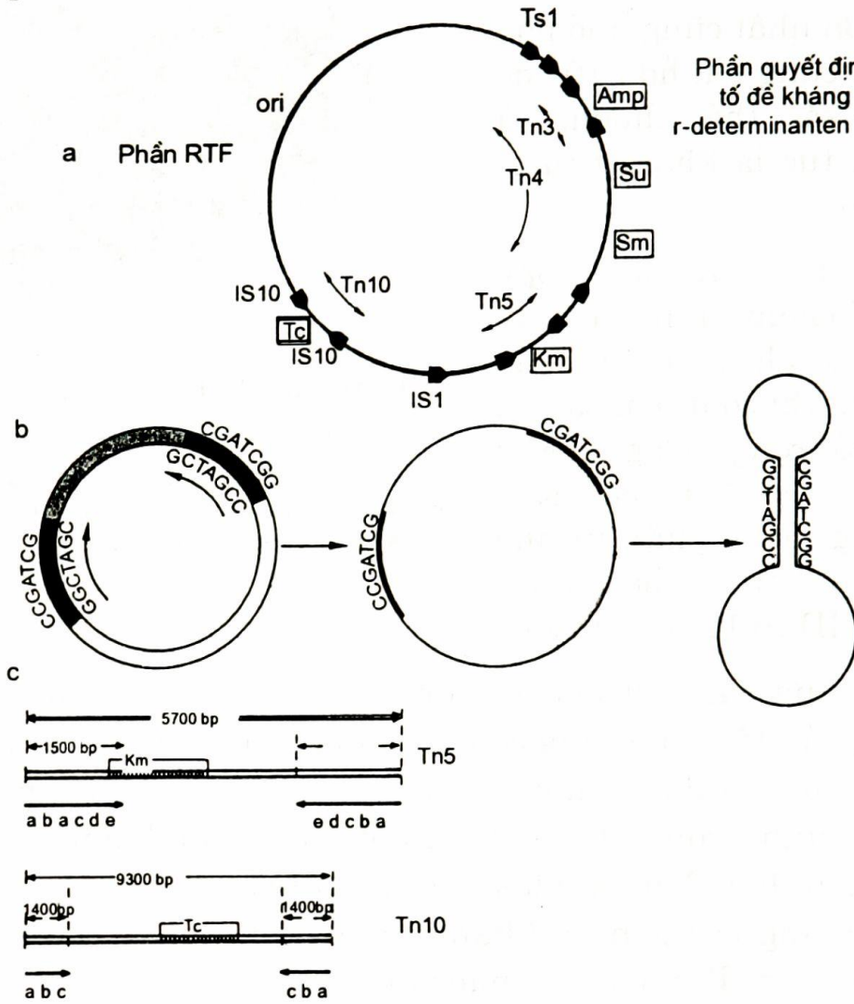
Plasmid chứa các gen mã hóa nhiều đặc tính khác nhau không thiết yếu cho sự sống của tế bào nhưng có thể giúp cho tế bào chủ tồn tại được dưới áp lực của chọn lọc. Ví dụ, vi khuẩn có R-plasmid sẽ tồn tại được trong môi trường có kháng sinh, trong khi các vi khuẩn nhậy cảm không có R-plasmid sẽ bị kháng sinh tiêu diệt. Một số plasmid có vai trò quan trọng trong vi sinh y học là plasmid mang các gen đề kháng kháng sinh và kim loại nặng (gọi là Resistance-plasmid = R-plasmid), plasmid sinh độc tố (enterotoxin, colicin, haemolysin), plasmid chứa yếu tố độc lực (khả năng bám dính, xâm nhập tế bào) hoặc yếu tố F (Fertility factor).

Một số plasmid lớn có thể mang bộ gen *tra* (transfer) hoặc RTF (Resistance Transfer Factor) sẽ có khả năng tiếp hợp được với vi khuẩn khác và tự truyền chất liệu di truyền sang vi khuẩn nhận, gọi là những plasmid tra^+ (hình ...a). Một số plasmid nhỏ không có bộ gen *tra* nhưng có thể có gen *mob* (mobilization) sẽ gắn được vào một plasmid tra^+ nào đó và cùng được dẫn truyền (mobilization) sang vi khuẩn nhận. Các gen nằm trên plasmid cũng có thể được truyền sang vi khuẩn khác khi vi khuẩn bị li giải, giải phóng plasmid-ADN (biến nạp) hoặc nhờ phage (tải nạp).

Như vậy chất liệu di truyền trên plasmid không những được truyền (dọc) qua các thế hệ mà còn có thể được lan truyền (ngang) từ vi khuẩn nọ sang vi khuẩn kia qua các hình thức tiếp hợp, biến nạp hoặc tải nạp. Hiện tượng tiếp

hợp có thể xảy ra giữa các vi khuẩn cùng loại và khác loại như *E. coli* với Shigella hoặc Salmonella với *E. coli* hoặc *E. coli* với Enterobacter. Điều này có ý nghĩa đặc biệt quan trọng vì sự lan truyền các gen đề kháng nằm trên plasmid sẽ có cơ hội tạo ra sự đề kháng kháng sinh rất đa dạng và phức tạp.

2.4. Do transposon



Hình 14. Sơ đồ cấu tạo R- Plasmid và transposon

a. Cấu trúc một R-plasmid. Bên trái là phần RTF gồm một bộ gen tra tạo nên cầu giao phối và gen ori khởi đầu sao chép plasmid-ADN. Bên phải là phần các quyết định tố đề kháng ampicillin (Ap), sulfamid (Su), streptomycin (Sm), kanamycin (Km) và tetracyclin (Tc). Phần tô đậm với chiều mũi tên là những đoạn lặp lại ngược chiều nhau IR (inverted repeats), một số IR là những chuỗi gắn IS (insertion sequence) như IS1 hoặc IS10.

b. Sơ đồ thí nghiệm minh họa các đoạn lặp lại ngược chiều nhau: sợi ADN biến tính thành sợi đơn và hai chuỗi nucleotid của đoạn IR bổ sung nhau sẽ liên kết với nhau qua cầu hydro tạo thành những "nơ" ADN.

c. Cấu trúc phân tử transposon Tn5 và Tn10 (bp: cặp base)

Transposon (transposable elements - gen nhảy) là những đoạn ADN chứa một hay nhiều gen, có hai đầu tận cùng là những chuỗi nucleotid lặp lại ngược chiều nhau (inverted repeats), có thể chuyển vị trí (transposition) từ phân tử ADN này sang phân tử ADN khác; ví dụ từ plasmid vào nhiễm sắc thể và ngược lại hoặc từ plasmid này sang plasmid khác (Hình 17b).

Đặc biệt quan trọng đối với vi sinh y học là những transposon mang các gen đề kháng, như Tn3 mang gen kháng ampicillin, Tn5 có gen kháng kanamycin, Tn10 chứa gen kháng tetracyclin (Hình 17c) hoặc Tn4 mang 3 gen kháng ampicillin, streptomycin và sulfamid (Hình 17a).

Do khả năng lan truyền đặc biệt này của transposon mà sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn càng có nguy cơ phức tạp và nguy hiểm hơn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Đột biến là gì? ứng dụng sự hiểu biết về các tính chất của đột biến nhằm sử dụng kháng sinh hợp lý là gì?
2. Bằng những cách nào chất liệu di truyền của vi khuẩn có thể bị thay đổi?
3. Phân tích vai trò của plasmid và transposon đối với sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn?
4. So sánh transposon mang gen đề kháng và R-plasmid?

TIỆT TRÙNG, KHỬ TRÙNG

MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa và các biện pháp kỹ thuật tiệt trùng và khử trùng.

Năm 1870, Pasteur đã dùng sức nóng để ngăn chặn quá trình lên men lại rượu bia. Đến cuối thế kỷ XIX, nhờ sử dụng các phương pháp vật lý và hóa học, các dụng cụ phẫu thuật, bông băng và chỉ khâu đã được làm cho không có "vi trùng"; một số thuốc cũng được làm vô trùng để tiêm. Nhờ đó đã làm giảm các nhiễm trùng sau mổ và tạo ra được những vùng cơ thể không có vi khuẩn, cần cho chẩn đoán và điều trị. Điển hình là việc dùng clorua vôi để rửa tay khi đỡ đẻ năm 1847 của Semmelweis và năm 1867 Lister dùng phenol làm chất sát khuẩn trong ngoại khoa cho da, dụng cụ và không khí.

1. TIỆT TRÙNG

1.1. Định nghĩa

Tiệt trùng (sterilization) là tiêu diệt tất cả các vi sinh vật (kể cả nha bào) và bất hoạt virus hoặc tách bỏ chúng hoàn toàn ra khỏi vật cần tiệt trùng.

Tất cả các vật liệu đưa vào trong cơ thể người bệnh đều phải đảm bảo là đã được tiệt trùng, ví dụ bơm kim tiêm, thuốc tiêm, chỉ khâu vết mổ, catheter, dịch truyền, mảnh ghép.

1.2. Biện pháp kỹ thuật

Để tiêu diệt tất cả vi sinh vật thì khó khăn nhất là tiêu diệt được nha bào.

Biện pháp được áp dụng nhiều nhất để tiệt trùng là dùng nhiệt độ, các tia bức xạ giầu năng lượng và ethylenoxid. Tất cả các biện pháp đều phải đảm bảo hoạt tính tiêu diệt vi sinh vật ở cả bên trong và bên ngoài vật cần tiệt trùng.

1.2.1. Khí nóng khô

Không khí được sấy nóng để tiệt trùng, bằng cách dùng tủ sấy (sterilizer, drying oven) duy trì ở nhiệt độ 170-180°C trong 1 giờ. Mọi vi sinh vật, kể cả nha bào đều bị tiêu diệt vì các thành phần hữu cơ bị huỷ hoại; song bông và giấy sẽ bị chuyển màu nâu.

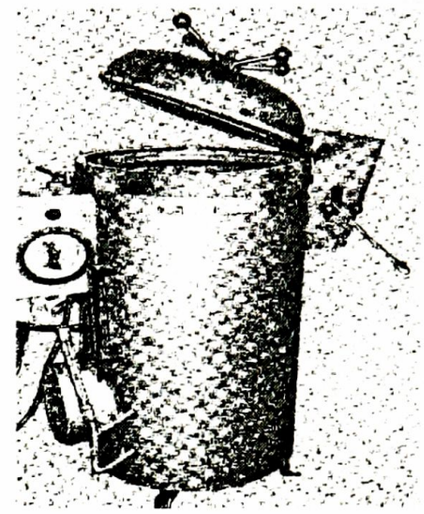
Không khí là môi trường dẫn nhiệt kém nên nếu xếp dụng cụ đầy, chặt hoặc quá nhiều và tủ sấy không có bộ phận tạo luồng khí chuyển động (quay vòng) thì ở khoảng giữa không đạt được nhiệt độ như yêu cầu, do vậy cần duy trì nhiệt độ cao hơn và thời gian lâu hơn.

Luôn luôn phải kiểm tra chất lượng tiệt trùng bằng các chỉ điểm chuyên biệt, thường xuyên bằng chỉ điểm hóa học và định kỳ bằng chỉ điểm sinh học.

Khí nóng khô thường được áp dụng để tiệt trùng các vật dùng chịu nhiệt như kim loại, đồ gốm, thuỷ tinh.

1.2.2. Hơi nước ở áp suất cao

Tiệt trùng bằng cách sử dụng lò hấp (autoclave). Tác dụng diệt vi sinh vật là nhờ hơi nước căng và bão hoà ở nhiệt độ trên 100°C; nhờ hơi nước mà tác dụng diệt vi sinh vật tăng lên (*căng:* hơi nước ở áp suất cao tương ứng với nhiệt độ đạt được; *bão hoà:* pha hơi cân bằng với pha lỏng của nước).



Hình 15. Lò hấp

Thông thường để tiệt trùng các đồ vật nhiễm vi sinh vật cần phải duy trì ở 120°C (1,0 at) trong 30 phút; nếu 134°C chỉ cần 15 phút.

Kiểm tra độ tiệt trùng thường xuyên bằng chỉ điểm hóa học và định kỳ bằng chỉ điểm sinh học chuyên biệt (nha bào của một chủng vi khuẩn). Tiệt trùng bằng lò hấp thường được áp dụng cho các dụng cụ kim loại, đồ vải, cao su, một số chất dẻo và dung dịch lỏng.

Vận hành lò hấp là làm việc với thiết bị tạo áp suất cao nên phải nghiêm chỉnh chấp hành quy định bảo đảm an toàn lao động.

1.2.3. Tia gama

Bức xạ ion hóa giầu năng lượng có thể giết chết vi sinh vật. Tia gama được áp dụng để tiệt trùng chỉ katgút và các vật dụng nhậy cảm với ethylenoxid hay nhiệt độ như catheter và các mảnh ghép. Ngoài ra còn dùng để tiệt trùng các dụng cụ và bông băng trong những túi đóng sẵn.

1.2.4. Ethylenoxid và formaldehyd

Ethylenoxid là một chất độc, gây dị ứng, kích thích niêm mạc mạnh và dễ cháy, ngoài ra nó còn là chất gây ung thư. Vì vậy, khi sử dụng phải hết sức thận trọng và đề phòng nổ.

1.2.5. Lọc vô trùng (Sterile filtration)

Những chất khí và lỏng phải lọc vô trùng nếu như không thể dùng nhiệt độ được, ví dụ như vacxin, sản phẩm huyết thanh, các dung dịch nhậy cảm nhiệt độ, không khí và các chất khác; trong một chừng mực nhất định, cả nước uống.

So với các biện pháp vật lý để tiệt trùng thì lọc vô trùng có nhiều yếu tố không chắc chắn, nên chỉ dùng cho không khí hoặc những sản phẩm sinh học không thể áp dụng được các biện pháp tiệt trùng khác.

2. KHỬ TRÙNG

2.1. Định nghĩa

Khử trùng (disinfection) là làm cho vật được khử trùng không còn khả năng gây nhiễm trùng (chỉ tiêu diệt mầm bệnh mà không phải tất cả các vi sinh vật).

Khử trùng phải đạt yêu cầu bất hoạt không hồi phục lại (irreversible inactivating) các mầm bệnh; do vậy tác dụng chế khuẩn (bacteriostatic, ví dụ kháng sinh) không đáp ứng yêu cầu này.

Khử trùng có vai trò quan trọng khi các tác nhân gây bệnh có thể tồn tại ở nhiều nơi mà việc tiệt trùng vì nhiều lý do kinh tế và thực tế không thể áp dụng rộng rãi được.

Có cả hai biện pháp vật lý và hóa học để khử trùng. Nhiều loại chất hóa học được sử dụng và thường được pha thành các dung dịch lỏng làm chất sát khuẩn (disinfectants). Những hóa chất diệt vi sinh vật trên da và niêm mạc nhầy còn gọi là chất chống nhiễm trùng (antiseptics).

2.2. Biện pháp vật lý

2.2.1. Hơi nước nóng

Luồng hơi nước nóng 80-100°C thường được dùng nhất vì nó giết được các tế bào sinh trưởng ở trạng thái tự do trong vài phút.

Áp dụng:

- Khử trùng quần áo, chăn màn, các dụng cụ đã dùng của người bệnh.
- Pasteur hóa sữa 72°C/15 giây hoặc Pasteur hóa đồ uống khác 62°C/30 phút.

2.2.2. Tia cực tím (Ultraviolet - UV)

Sóng điện từ với bước sóng 13,6- 400 nm (gọi là tia cực tím - UV), nhất là 257 nm, có tác dụng khử trùng. Liều sử dụng 100-500 Wsec/cm^2 diệt được 90% hầu hết các loài vi khuẩn, nhưng không diệt được nha bào và bào tử nấm.

Tác dụng của tia cực tím dựa trên cơ chế: cấu trúc của các phân tử của vi sinh vật như acid nucleic bị biến đổi khi hấp thụ bức xạ này, dẫn đến đột biến làm hỏng chất liệu di truyền và chết.

Tia UV chỉ dùng để khử trùng không khí hay nước sạch; nó có thể gây viêm kết mạc và giác mạc. Các bóng đèn UV chỉ có tuổi thọ 1- 2 năm. Cường độ chiếu xạ ($Wsec/cm^2$) cần được theo dõi để kiểm tra hiệu lực và ngăn ngừa ảnh hưởng đến con người.

Trong đời sống hàng ngày, việc phơi nắng các dụng cụ (như chăn, màn) là một cách sử dụng tia UV trong ánh sáng mặt trời. Các phòng ở của người bệnh nên có nhiều ánh sáng tự nhiên, nhất là người bệnh lao.

2.3. Biện pháp hóa học

2.3.1. Cồn

Thường được dùng là dung dịch ethanol 80%, isopropanol 70% và n-propanol 60%. Những dung dịch đặc hơn do hút nước trong tế bào ra mạnh nên hiệu quả kém hơn. Cồn có tác dụng làm biến tính protein và phá huỷ cấu trúc màng tế bào. Cồn không diệt được nha bào. Tác dụng diệt virus có nhiều ý kiến khác nhau.

Áp dụng: khử trùng da, nhất là khử trùng bàn tay trong phẫu thuật và vệ sinh phòng bệnh. Ưu điểm là thời gian tác dụng ngắn, có khả năng thấm vào da kể cả lỗ chân lông và tuyến mồ hôi, nhưng nhược điểm là bay hơi và dễ cháy.

2.3.2. Phenol và dẫn xuất của nó

Thường sử dụng dung dịch 0,5 - 4%; không diệt được nha bào và virus nhưng vững bền hơn so với các chất sát khuẩn khác. Phenol có tác dụng phá huỷ màng sinh chất, bất hoạt enzym và biến tính protein. Phenol có thể "ăn" da, niêm mạc và còn có thể gây độc thần kinh.

Người ta dùng chỉ số phenol để đánh giá tác dụng sát khuẩn của một hóa chất. Chỉ số phenol là tỷ số giữa nồng độ phenol thấp nhất và nồng độ chất sát khuẩn thấp nhất cùng có tác dụng như nhau lên một loài vi khuẩn trong một thời gian nhất định.

2.3.3. Nhóm halogen

Tác dụng sát khuẩn do phản ứng oxy hóa và halogen hóa các chất hữu cơ. Phản ứng oxy hóa xảy ra nhanh và không quay trở lại được, còn halogen hóa thì chậm hơn và không mạnh bằng; chúng làm cho màng tế bào bị phá huỷ và enzym của vi khuẩn bị bất hoạt. Những phản ứng này cũng xảy ra với nhiều chất hữu cơ khác nhau, do đó sẽ làm giảm hoạt tính sát khuẩn trong những dung dịch có nhiều chất bẩn hữu cơ hay các chất oxy hóa và halogen hóa khác, nhất là amoniac. Halogen có phổ tác dụng rộng và thời gian tác dụng ngắn.

- Clo: được sử dụng nhiều ở cả dạng khí nguyên chất và dạng hợp chất hữu cơ hay vô cơ. Clo dùng để thanh khuẩn nước ăn (nồng độ 0,1 - 0,3 mg/l), nước bể bơi (0,5 mg/L).

$$Cl_2 + H_2O \rightleftharpoons HCl + HClO$$

$$2HClO \rightleftharpoons 2HCl + O_2$$

(HClO có hoạt tính giải phóng oxy, nhưng không giết được các vi khuẩn lao và virus đường ruột).

Chlorua vôi thường được sử dụng nhất để khử trùng chất nôn, chất thải và dụng cụ thô (pha 1/15 với nước) hoặc rắc hố xí. Chloramin tinh khiết pha loãng 1% có khả năng khử trùng bàn tay trong 5 phút tác dụng; để khử trùng cho dụng cụ phải ngâm 20 phút. Khử trùng đồ vải và tẩy uế, dùng dung dịch 1,5 - 2,5% trong thời gian 2 - 12 giờ. Chloramin thô được dùng để tẩy uế như chlorua vôi.

- Iốt: dung dịch iốt và dung dịch cồn iốt (gồm 7% I, 3% KI, 90% cồn) được sử dụng nhiều để sát trùng da. Hiện nay các sản phẩm phối hợp của iốt với phân tử hữu cơ (iodophor) hoặc với polymer (như polyvinylpyrrolidone) được sử dụng nhiều để sát khuẩn da trước mổ. Các iodophor kích ứng da ít hơn iốt và không giữ màu trên da.

Nhược điểm của halogen là phản ứng không đặc hiệu xảy ra rất nhanh với nhiều chất hữu cơ khác nhau và khí clo còn có tính độc, có thể có dị ứng với iốt.

2.3.4. Muối kim loại nặng

Hoạt tính kháng khuẩn theo thứ tự Hg, Ag, Cu, Zn. Các ion kim loại nặng có thể phản ứng với gốc sulfhydryl (-SH) của protein và làm bất hoạt chúng. Chủ yếu có tác dụng chế khuẩn, không diệt được nha bào, virus và khả năng diệt các vi khuẩn kháng acid yếu. Trong y học, các hợp chất hữu cơ của Hg (ví dụ phenol-borat-thuỷ ngân) được dùng để sát trùng vết thương, da và niêm mạc hoặc dùng trong lưu trữ sinh phẩm (vacxin, kháng huyết thanh) ; hợp chất hữu cơ của thuỷ ngân có tác dụng ức chế vi khuẩn (bacteriostatic) nên hiệu quả điều trị thấp. Nitrat bạc được pha chế làm dung dịch nhỏ mắt cho trẻ sơ sinh; bạc kết hợp với protein và phá huỷ cấu trúc màng tế bào. Sulfat kẽm hoặc kem/ mỡ oxid kẽm thường được dùng để điều trị bệnh ngoài da do nhiễm vi khuẩn hoặc nấm .

2.3.5. Aldehyd

Quan trọng nhất là formaldehyd. Dung dịch 0,5-5,0% và khí 5 gam/cm^3 thường được dùng và có tác dụng tiêu diệt được cả vi khuẩn, nấm và virus; nếu đủ thời gian và ở nhiệt độ cao còn diệt được cả nha bào.

Áp dụng: dung dịch nước để lau chùi sàn nhà và đồ dùng; khí dùng để khử trùng không khí và máy móc lớn.

Formaldehyd kích thích da và viêm mạc, có thể dẫn tới dị ứng và nghi ngờ có thể gây ung thư. Do làm tủa protein nên không dùng để khử trùng chất thải. Để trung hoà formaldehyd, dùng amoniac, sulfit hoặc histidin.

2.3.6. Các chất oxy hóa (H_2O_2, $KMnO_4$) ***và thuốc nhuộm*** (ví dụ xanh methylen, tím tinh thể): được pha thành dung dịch lỏng dùng làm chất sát khuẩn; có tác dụng ức chế hoặc giết chết (bacteriocid) vi khuẩn.

2.3.7. Acid và bazơ: acid và bazơ có tác dụng diệt khuẩn vì tính điện phân thành H^+ và OH^- mạnh.

Tóm lại, chất sát khuẩn là những chất hóa học khác nhau, phá huỷ vi khuẩn nhanh chậm khác nhau, bằng cách tác động trực tiếp lên toàn bộ cấu trúc tế bào vi khuẩn, thông qua quá trình lý học hay lý hóa làm cho vi khuẩn vỡ ra hay bào tương ngưng tụ lại hoặc enzym bị bất hoạt. Nồng độ chất sát khuẩn được sử dụng rất gần với liều độc cho cơ thể con người, vì vậy chỉ dùng thuốc sát khuẩn để điều trị tại chỗ.

2.4. Các yếu tố ảnh hưởng tác dụng của chất sát khuẩn

Nguồn gốc những sai sót ảnh hưởng đến hiệu quả khử trùng gồm nhiều yếu tố nhưng quan trọng nhất là:

- Nồng độ hóa chất
- Thời gian tác dụng

Ngoài ra, cần chú ý tới một số yếu tố khác là:

- Mật độ vi sinh vật tại nơi khử trùng.
- Nhiệt độ (có liên quan tới thời gian tác dụng).
- Môi trường xung quanh có thể cản trở thuốc ngấm tới vi sinh vật hoặc làm bất hoạt thuốc (ví dụ: vi khuẩn lao trong đờm).
- Khả năng đề kháng của vi sinh vật (ví dụ: virus có lớp vỏ lipid sẽ nhậy cảm với chất hoà tan như cồn, phenol hơn là những virus không có vỏ).

Vì vậy, để phát huy hiệu quả của các chất sát khuẩn cần sử dụng đúng loại thuốc, đủ nồng độ và thời gian cần thiết tuỳ theo từng loại dụng cụ hoặc vật cần khử trùng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. So sánh tiệt trùng và khử trùng?
2. So sánh chất sát khuẩn (disinfectants) và thuốc kháng khuẩn (antibacterial agents)?

KHÁNG SINH VỚI VI KHUẨN VÀ SỰ KHÁNG KHÁNG SINH

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được định nghĩa, xếp loại và cơ chế tác động của thuốc kháng sinh.*
2. *Trình bày được nguồn gốc sự đề kháng kháng sinh, khả năng lan truyền và vai trò lâm sàng của sự đề kháng*
3. *Trình bày được nguyên tắc phối hợp kháng sinh và các biện pháp ngăn ngừa sự gia tăng vi khuẩn đề kháng.*

Năm 1928, ở Bệnh viện Saint Marie, Fleming đã phát hiện ra sự kiện, nấm Pencillium có khả năng diệt được *Staphylococcus aureus*. Năm 1940, nhóm nghiên cứu ở Oxford (Flory, Chain và Hartley) đã tinh chế được penicillin và mở ra kỷ nguyên dùng kháng sinh để điều trị bệnh nhiễm trùng.

Kháng sinh (antibiotics), thoạt đầu là do các tế bào sống (phần nhiều là vi sinh vật, đặc biệt là nấm *Streptomycetes*) tiết ra nên chúng được coi là yếu tố sinh học ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn.

Đến nay kháng sinh còn là những dẫn xuất thu được sau những biến đổi hóa học (gọi là kháng sinh bán tổng hợp) hay bằng đường sinh tổng hợp trong phòng thí nghiệm (ví dụ sulfamid). Vì vậy, định nghĩa về chất kháng sinh đã được mở rộng, không phải duy nhất chỉ do vi sinh vật sinh ra.

Một số kháng sinh ức chế đặc hiệu quá trình trao đổi chất của vi khuẩn, do đó dùng để chữa các bệnh nhiễm khuẩn như penicillin, streptomycin.v.v. Một số kháng sinh ức chế quá trình trao đổi chất của cả tế bào tiền nhân (Procaryote) và tế bào nhân thật (Eucaryote) như mitomycin C, thì dùng để nghiên cứu thực nghiệm và một số có thể dùng cho điều trị ung thư (actinomycin D).

Chất kháng vi sinh vật (antimicrobial agents) là khái niệm để chỉ những chất có tác dụng chống lại sự phát triển của vi sinh vật nói chung, nó bao gồm kháng sinh chống vi khuẩn (antibacterial), chống nấm (antifungal), chống động vật nguyên sinh (antiprotozoal) và chống virus (antiviral). Trong bài này chỉ giới thiệu về kháng sinh chống vi khuẩn (thuốc kháng khuẩn, antibacterial agents).

1. ĐỊNH NGHĨA

Kháng sinh (antibiotics, chemotherapeutics) là những chất ngay ở nồng độ thấp đã có khả năng ức chế hoặc tiêu diệt vi khuẩn một cách đặc hiệu, bằng cách gây rối loạn phản ứng sinh học ở tầm phân tử (nồng độ thấp: nồng độ sử dụng để điều trị nhỏ hơn nhiều lần so với liều độc đối với cơ thể người; đặc hiệu: mỗi kháng sinh chỉ có tác dụng trên một loại vi khuẩn hay một nhóm vi khuẩn).

2. XẾP LOẠI

Có nhiều kiểu xếp loại kháng sinh, theo tính chất hóa học hoặc theo nguồn gốc, theo phổ tác dụng hay theo cách tác dụng. Đối với vi sinh y học thì cách sắp xếp theo phổ tác dụng - khả năng chống vi khuẩn, có giá trị thực tế hơn.

2.1. Thuốc kháng sinh có hoạt phổ rộng

Hoạt phổ rộng nghĩa là một kháng sinh có thể tác dụng trên nhiều loại vi khuẩn (cả Gram-dương và Gram-âm), bao gồm:

- Nhóm aminoglycosid (aminozit): gồm có streptomycin, kanamycin, gentamicin, amikacin, ...
- Nhóm tetracyclin: tetracyclin, doxycyclin, ...
- Nhóm chloramphenicol
- Nhóm sulfamid và trimethoprim
- Nhóm quinilon mới (flouroquinolon): gồm có ciprofloxacin, norfloxacin,...

2.2. Thuốc kháng sinh có hoạt phổ chọn lọc

Hoạt phổ chọn lọc nghĩa là một kháng sinh chỉ có tác dụng trên một hoặc một số loại vi khuẩn nhất định.

- Các dẫn xuất của acid isonicotinic, như INH chỉ dùng để chữa lao.
- Nhóm macrolid như erythromycin, spiramycin có tác dụng lên vi khuẩn Gram dương và một số vi khuẩn Gram âm.
- Nhóm polymyxin chỉ có tác dụng trên trực khuẩn Gram âm.

2.3. Thuốc kháng sinh nhóm beta-lactam

Đây là nhóm kháng sinh gồm nhiều dẫn xuất khác nhau nên phổ tác dụng cũng khác nhau, trong đó:

- Có hoạt phổ chọn lọc, tác dụng chủ yếu trên vi khuẩn Gram dương: gồm
  + Penicillin (penicillin G, penicilin V): bị penicillinase phân huỷ.
  + Methicillin, oxacillin, cloxacillin: không bị phân huỷ bởi penicillinase.

- Có hoạt phổ rộng: gồm,
  + Ampicillin, amoxicillin: bị penicillinase phân huỷ.
  + Piperacillin, ticarcillin : bị phân huỷ bởi beta-lactamase.
  + Imipenem: phổ rất rộng, không bị phân huỷ bởi beta-lactamase.
  + Cephalosporin gồm các thế hệ I, II, III và IV [ví dụ cephalexin (I) cefuroxim (II), cefotaxim (III), cefepim (IV)]; các cephalosporin không bị phân huỷ bởi penicillinase.

Theo cách tác dụng, kháng sinh được xếp thành 2 typ: diệt khuẩn (bactericid) và chế khuẩn (bacteriostatic). Diệt khuẩn là sự phá huỷ không hồi phục các chức năng của tế bào vi khuẩn dẫn tới chết. Các kháng sinh diệt khuẩn gồm polymyxin, aminoglycosid, beta-lactam, rifampicin, vancomycin... Duy nhất polymyxin có tác dụng diệt khuẩn tuyệt đối (absolute bactericid) - diệt được cả tế bào ở trạng thái nghỉ; nhóm beta-lactam và các kháng sinh còn lại chỉ diệt được vi khuẩn đang nhân lên (degenerative bactericid). Chế khuẩn là ức chế sự nhân lên của tế bào vi khuẩn. Các kháng sinh có tác dụng chế khuẩn bao gồm chloramphenicol, clindamycin, erythromycin, sulfamid, tetracyclin, trimethoprim. Trong thực tế, diệt khuẩn và chế khuẩn thường không có phân tách rõ ràng; thuốc có tác dụng chế khuẩn (trừ sulfamid và trimethoprim) nhưng ở nồng độ cao lại có tác dụng diệt khuẩn, điều này phụ thuộc vào nhiều yếu tố, ví dụ số lượng và chủng loại vi khuẩn, liều lượng tại ổ nhiễm khuẩn... Và nồng độ cao là bao nhiêu thì kháng sinh phát huy tác dụng và cơ thể con người còn chịu đựng được (liều độc) thì tuỳ theo từng loại thuốc (khả năng khuếch tán đến ổ nhiễm khuẩn - các thông số dược động học) và cơ địa từng người bệnh cụ thể. Vì vậy, việc sử dụng kháng sinh phải được bác sĩ kê đơn và theo dõi cẩn thận.

3. CƠ CHẾ TÁC ĐỘNG CỦA THUỐC KHÁNG SINH

3.1. Ức chế sinh tổng hợp vách

Kháng sinh ức chế quá trình sinh tổng hợp bộ khung peptidoglycan (murein) làm cho vi khuẩn sinh ra sẽ không có vách và do đó dễ bị tiêu diệt, ví dụ kháng sinh nhóm beta-lactam, vancomycin.

3.2. Gây rối loạn chức năng màng nguyên tương

Chức năng quan trọng nhất của màng sinh chất đối với tế bào là thẩm thấu chọn lọc; khi kháng sinh tác động vào màng sinh chất sẽ làm cho các thành phần trong bào tương của vi khuẩn bị thoát ra ngoài và nước từ bên ngoài ào ạt vào trong, dẫn đến chết; ví dụ polymyxin, colistin.

3.3. Ức chế sinh tổng hợp protein

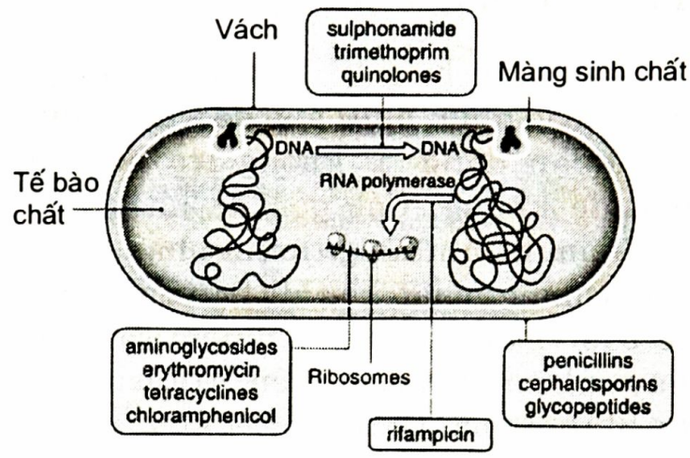
Nơi tác động là riboxom 70S trên polyxom của vi khuẩn. Kháng sinh gắn vào tiểu phần 30S (như streptomycin) sẽ ngăn cản hoạt động của ARN thông tin

hoặc ức chế chức năng của ARN vận chuyển (như tetracyclin). Kháng sinh gắn vào tiểu phần 50S như erythromycin, chloramphenicol, làm cản trở sự liên kết, hình thành các chuỗi acid amin tạo phân tử protein cần thiết cho tế bào sống.

3.4. Ức chế sinh tổng hợp acid nucleic

Kháng sinh có thể ngăn cản sự sao chép của ADN mẹ tạo ADN con như nhóm quinolon hoặc gắn ARN-polymerase ngăn cản sinh tổng hợp ARN như rifampicin hoặc bằng cách ức chế sinh tổng hợp các chất chuyển hóa cần thiết để ngăn cản hình thành nên các nucleotid như sulfamid và trimethorpim.

Như vậy, mỗi kháng sinh chỉ tác động lên một điểm nhất định trong thành phần cấu tạo, ảnh hưởng đến một khâu nhất định trong các phản ứng sinh học khác nhau của tế bào vi khuẩn, dẫn đến ngừng trệ sự sinh trưởng và phát triển của tế bào. Nếu vi khuẩn không bị ly giải hoặc bị nắm bắt (thực bào) tiêu diệt, thì khi không còn tác động của kháng sinh (ngừng thuốc) vi khuẩn sẽ có thể hồi phục trở lại (reversible).



Hình 16. Sơ đồ vị trí tác động của kháng sinh trên tế bào vi khuẩn

4. SỰ ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH

Với cơ chế tác dụng như trên, kháng sinh ức chế được sự phát triển của vi khuẩn, nhưng một khi trong môi trường có kháng sinh mà vi khuẩn vẫn phát triển thì được coi là sự đề kháng kháng sinh. Trước hết cần phân biệt đề kháng thật với đề kháng giả.

4.1. Đề kháng giả

Đề kháng giả nghĩa là chỉ có biểu hiện bên ngoài mà bản chất không phải là sự đề kháng, tức là không do nguồn gốc di truyền quyết định. Ví dụ biểu hiện đề kháng của vi khuẩn:

Khi vi khuẩn gây bệnh nằm trong các ổ áp xe nung mủ lớn hoặc có tổ chức hoại tử bao bọc; người bệnh có dùng kháng sinh nhưng, do bị các tổ chức viêm, tế bào hoại tử ngăn cản, kháng sinh không thấm tới được ổ viêm và tới vi khuẩn gây bệnh nên không phát huy được tác dụng. Hoặc khi vi khuẩn ở trạng thái nghỉ (không có chuyển hóa và nhân lên) thì không chịu tác dụng của những thuốc ức chế quá trình sinh tổng hợp chất, ví dụ khi vi khuẩn lao nằm trong hang lao.

Vì thế, trong những trường hợp này, nếu giải phóng các tổ chức viêm hay tế bào hoại tử (ví dụ bằng tiểu phẫu), kháng sinh thấm tới được ổ vi khuẩn thì

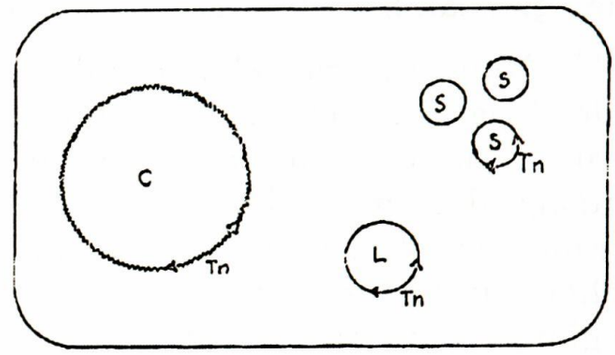
sẽ phát huy tác dụng. Hoặc khi vi khuẩn lao trở lại trạng thái hoạt động (có chuyển hóa, sinh sản) thì sẽ lại chịu tác dụng của kháng sinh.

4.2. Đề kháng tự nhiên

Một số vi khuẩn không chịu tác động của một số kháng sinh nhất định, ví dụ tụ cầu không chịu tác dụng của colistin hoặc *Pseudomonas* không chịu tác dụng của penicillin. Các vi khuẩn không có vách như *Mycoplasma* sẽ không chịu tác dụng của kháng sinh ức chế sinh tổng hợp vách như beta-lactam.

4.3. Đề kháng thu được

Do một biến cố di truyền là đột biến hoặc nhận được gen đề kháng mà vi khuẩn đang từ không trở nên có gen đề kháng. Các gen đề kháng có thể nằm trên những thành phần khác nhau mang chất liệu di truyền trong tế bào vi khuẩn, đó là nhiễm sắc thể hay plasmid hoặc trên transposon (xem thêm bài *Di truyền vi khuẩn*).



Hình 17. Sơ đồ tế bào vi khuẩn với các thành phần mang gen đề kháng
C= nhiễm sắc thể; L= plasmid lớn; S= plasmid nhỏ; Tn= transposon

Các gen đề kháng có thể lan truyền được từ vi khuẩn nọ sang vi khuẩn kia thông qua các hình thức vận chuyển di truyền khác nhau như biến nạp (khi vi khuẩn đề kháng bị ly giải), tải nạp (nhờ phage), tiếp hợp (khi vi khuẩn đề kháng tiếp xúc với vi khuẩn nhậy cảm) hoặc chuyển vị trí ("nhảy" nhờ transposon).

Điều đáng quan tâm là vai trò chọn lọc của kháng sinh: khi kháng sinh được dùng rộng rãi và nhất là không đủ liều lượng thì chính kháng sinh lại là yếu tố chọn lọc, loại trừ (tiêu diệt) các vi khuẩn nhậy cảm và giữ lại những vi khuẩn đề kháng kháng sinh. Những cá thể (tế bào) đề kháng sẽ phát triển thành những dòng vi khuẩn đề kháng trong quần thể vi sinh vật.

Khi kháng sinh được dùng rộng rãi và nhất là không đủ liều lượng thì chính kháng sinh cũng lại là yếu tố kích thích vi khuẩn, gây ra những thay đổi (đột biến cảm ứng) để thích ứng với môi trường. Điều này có thể lý giải: vì sao vi khuẩn gây bệnh phân lập được trong bệnh viện có khả năng đề kháng kháng sinh cao hơn vi khuẩn phân lập được ở ngoài cộng đồng.

Phối hợp giữa sự xuất hiện cùng nhiều khả năng lan truyền gen đề kháng và chọn lọc vi khuẩn đề kháng như đã nêu ở trên, số lượng và mức độ vi khuẩn kháng kháng sinh trong cộng đồng ngày càng gia tăng.

4.4. Cơ chế đề kháng

Gen đề kháng tạo ra sự đề kháng bằng cách:

- Làm giảm tính thấm của màng nguyên tương, ví dụ kháng tetracyclin, oxacillin; gen đề kháng tạo ra một protein đưa ra màng, ngăn cản kháng sinh thấm vào tế bào; hoặc làm mất khả năng vận chuyển qua màng do cản trở protein mang (carrier protein) và kháng sinh không được đưa vào trong tế bào.
- Làm thay đổi đích tác động: do một protein cấu trúc hoặc do một nucleotid trên tiểu phần 30S hoặc 50S của ribosom bị thay đổi nên kháng sinh không bám được vào đích (ví dụ, streptomycin, erythromycin) và vì vậy không phát huy được tác dụng.
- Tạo ra các isoenzym không có ái lực với kháng sinh nữa nên bỏ qua (không chịu) tác động của kháng sinh, ví dụ kháng sulfamid và trimethoprim.
- Tạo ra enzym: các enzym do gen đề kháng tạo ra có thể:

Biến đổi cấu trúc hóa học của phân tử kháng sinh làm kháng sinh mất tác dụng ví dụ acetyl hóa hoặc phospho hóa hay adenyl hóa các aminozid hoặc chloramphenicol.

Phá huỷ cấu trúc hóa học của phân tử kháng sinh, ví dụ beta-lactamase làm cho các kháng sinh nhóm beta-lactam mất tác dụng.

Một vi khuẩn kháng kháng sinh thường là do phối hợp các cơ chế riêng rẽ kể trên, ví dụ trực khuẩn Gram âm kháng beta lactam là do beta lactamase cộng với giảm khả năng gắn PBPs (penicillin binding protein = protein gắn penicillin) và giảm tính thấm của màng sinh chất.

4.5. Cơ chế lan truyền gen đề kháng và vi khuẩn đề kháng

Một vi khuẩn có gen đề kháng, gen đó sẽ được truyền dọc (vertical) qua các thế hệ trong quá trình nhân lên (phân chia) của tế bào (ví dụ đời ông sang cha, cha sang đời con, con sang đời cháu); ngoài ra, thông qua các hình thức vận chuyển di truyền, gen đề kháng có thể được truyền ngang (horizontal) từ vi khuẩn này sang vi khuẩn khác.

Xét về mặt dịch tễ học, gen đề kháng và vi khuẩn đề kháng có thể được lan truyền trên bốn phương diện khác nhau, đó là:

- Trong tế bào (intracellular)

Thông qua biến cố tái tổ hợp hoặc chuyển vị trí của transposon gen đề kháng có thể truyền từ phân tử ADN này sang phân tử ADN khác ngay trong một tế bào.

- Giữa các tế bào (intercellular)

Thông qua các hình thức vận chuyển di truyền như tiếp hợp, biến nạp, tải nạp, dẫn truyền mà gen đề kháng có thể được truyền từ tế bào này sang tế bào kia, thậm chí giữa hai vi khuẩn khác loài. Những biến cố này rất hiếm xảy ra; nhưng một khi đã xảy ra thì hết sức nguy hiểm vì sự phát triển nhanh chóng của vi khuẩn.

– Trong quần thể vi sinh vật (microbiotop)

Thông qua sự chọn lọc dưới tác dụng của kháng sinh, các dòng vi khuẩn đề kháng được giữ lại, phát triển và thay thế các dòng vi khuẩn nhạy cảm đã bị kháng sinh tiêu diệt.

– Trong quần thể đại sinh vật (macrobiotop)

Thông qua sự truyền nhiễm (qua không khí, bụi, thức ăn, nước, dụng cụ) vi khuẩn đề kháng truyền từ người này sang người khác hoặc từ súc vật sang người.

Trong cuộc chạy đua giữa những nỗ lực phát minh ra kháng sinh mới của con người và sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn thì cho đến nay vi khuẩn vẫn luôn giành phần thắng. Vì vậy, để giữ gìn sức mạnh của kháng sinh và ngăn ngừa sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn, chúng ta phải thực hiện chiến lược sử dụng kháng sinh an toàn, hợp lý.

4.6. Vai trò lâm sàng của sự đề kháng

Kinh nghiệm cho thấy, nhìn chung sự xuất hiện của những chủng vi khuẩn đề kháng một số kháng sinh nhất định có liên quan trực tiếp đến tần suất sử dụng kháng sinh đó hoặc những kháng sinh có cấu tạo gần giống kháng sinh đó. Vì thế, sự tồn tại của vi khuẩn đề kháng ở các vùng miền khác nhau là khác nhau; ở thành phố nhiều hơn ở các vùng nông thôn, miền núi; ở người được điều trị bằng kháng sinh trong bệnh viện tỷ lệ phần trăm vi khuẩn đề kháng cao hơn người không được điều trị hoặc ở cộng đồng.

Trong khi có một số chủng vi khuẩn không thấy có sự phát triển đề kháng, ví dụ trực khuẩn bạch hầu, xoắn khuẩn giang mai hoặc *Streptococcus pyogenes* lại có nhiều chủng vi khuẩn sự đề kháng đã gia tăng nhanh chóng và trở thành đa đề kháng (đề kháng đồng thời nhiều kháng sinh); ví dụ tụ cầu vàng, trực khuẩn mủ xanh và nhiều trực khuẩn đường ruột. Đây là điều rất nguy hiểm vì những vi khuẩn này thường là tác nhân gây nhiễm khuẩn bệnh viện. Nếu các biện pháp tiệt trùng, khử trùng và các nguyên tắc vô trùng trong chăm sóc người bệnh không được thực hiện đầy đủ, vi khuẩn đề kháng có thể lây lan trong bệnh viện và thậm chí có thể gây thành dịch trong bệnh viện.

4.7. Biện pháp hạn chế gia tăng vi khuẩn kháng kháng sinh

- Chỉ dùng kháng sinh để điều trị những bệnh nhiễm khuẩn (những kháng sinh kháng khuẩn không có tác dụng trên virus).
- Chọn kháng sinh theo kết quả kháng sinh đồ; nên ưu tiên kháng sinh có hoạt phổ hẹp, tác dụng đặc hiệu trên vi khuẩn gây bệnh và khuếch tán tốt nhất đến ổ vi khuẩn.
- Dùng kháng sinh đủ liều lượng và thời gian (cho một đợt điều trị).
- Đề cao các biện pháp khử trùng và tiệt trùng, ngăn ngừa sự lan truyền vi khuẩn đề kháng.
- Liên tục giám sát sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn để có chiến lược sử dụng kháng sinh hợp lý.

4.8. Phối hợp kháng sinh

Trong một số trường hợp nhất định thầy thuốc phải phối hợp kháng sinh để điều trị một bệnh nhiễm khuẩn. Việc phối hợp kháng sinh dựa trên cơ sở lý thuyết sau đây:

- Nhằm điều trị nhiễm khuẩn do nhiều loại vi khuẩn gây ra, cả vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí; ví dụ viêm phúc mạc, ápxe não, viêm phổi, ...
- Nhằm làm tăng khả năng diệt khuẩn, thường áp dụng cho những người bệnh nặng hoặc suy giảm sức đề kháng; ví dụ phối hợp một beta lactam với một aminoglycosid, sulfamid với trimethoprim, ...
- Nhằm làm giảm khả năng xuất hiện một biến chủng đề kháng nhiều kháng sinh; ví dụ trong điều trị bệnh lao.

4.9. Kháng sinh đồ

Muốn chọn được kháng sinh thích hợp nhất cho từng người bệnh cụ thể, ta cần phải thực hiện kỹ thuật kháng sinh đồ.

- Định nghĩa: kháng sinh đồ là kỹ thuật xác định độ nhậy cảm với kháng sinh của vi khuẩn. Mục đích của kháng sinh đồ nhằm giúp thầy thuốc chọn được kháng sinh và liều lượng thích hợp dùng trong điều trị.
- Có hai kỹ thuật kháng sinh đồ là: kỹ thuật kháng sinh khuếch tán và kháng sinh pha loãng trong môi trường. Phổ biến nhất là kỹ thuật khoanh giấy kháng sinh khuếch tán.

Khi có kết quả kháng sinh đồ, thầy thuốc sẽ chọn những kháng sinh cho kết quả "*nhậy cảm* = S" để điều trị (tuỳ theo tình trạng của bệnh, cơ địa người bệnh và các thông số dược động học của từng kháng sinh mà chọn ra thuốc thích hợp nhất). Ngoài ra, cũng có thể sử dụng đến kháng sinh cho kết quả "*trung gian*= I" nhưng phải nâng liều điều trị; tuy vậy, không được quá liều độc với cơ thể. Không dùng những kháng sinh cho kết quả "*đề kháng* = R" để điều trị (xem thêm sách "*Thực tập Vi sinh y học*").

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Phân tích vì sao điều trị một bệnh nhiễm khuẩn bằng kháng sinh (kháng khuẩn) có thể bị thất bại?
2. Phân tích vì sao nên chọn kháng sinh theo kết quả kháng sinh đồ và ưu tiên kháng sinh phổ hẹp có tác dụng đặc hiệu trên vi khuẩn gây bệnh?
3. Khi nào phối hợp kháng sinh là đúng?

ĐẠI CƯƠNG VIRUS

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được 2 thành phần cấu trúc cơ bản của virus và các chức năng chính của các thành phần cấu trúc đó.*
2. *Nêu được 2 cấu trúc không bắt buộc gặp ở một số virus và các chức năng của các thành phần cấu trúc đó.*
3. *Trình bày hai phương pháp phân loại virus và nêu được nguyên tắc lấy bệnh phẩm và phương pháp chẩn đoán virus.*
4. *Trình bày 6 bước cơ bản quá trình nhân lên của virus. Nêu cơ chế chính của từng bước thực hiện quá trình đó.*
5. *Giải thích được 7 hậu quả tương tác khi có sự xâm nhập của virus vào tế bào. Nêu được ứng dụng thực tế của từng hậu quả đó.*

LỊCH SỬ NGHIÊN CỨU, KHÁI NIỆM VIRUS

Thuật ngữ *virus* (còn gọi là *siêu vi trùng*, *siêu vi khuẩn* hay *siêu vi*) trong một thời gian dài được coi là đồng nghĩa với một tác nhân gây nhiễm trùng nhỏ hơn vi khuẩn, và chúng không sống được bên ngoài tế bào vật chủ. Với khái niệm như vậy virus lại trùng hợp với một số vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc như *Rickettsia*, *Chlamydia*. Ngày nay, virus được định nghĩa trong một giới hạn chặt chẽ về đặc điểm cấu trúc và kiểu sao chép chúng trong tế bào vật chủ.

Virus đầu tiên được công nhận có thể qua được màng lọc vi khuẩn là virus thực vật gây bệnh cho cây thuốc lá được đặt tên là Mosaic virus do Ivanovski tìm được năm 1892 ở Nga. Năm 1898, Loeffler và Frosch đã tìm ra một tác nhân gây bệnh lở mồm long móng trên mèo qua được màng lọc tế bào. Virus bệnh sốt vàng (Yellow fever) được Walter và Reed, người Mỹ, tìm ra năm 1900. Năm 1908, Ellerman và Bang đã tìm được virus gây ung thư máu ở gà, chim (Fowleukos). *Bacteriophage* được Twort ở Anh và D'Herelle ở Pháp tìm ra năm 1917. Đây là một bước tiến lớn trong nghiên cứu về virus. Nhiều công trình nghiên cứu tiếp theo về nuôi cấy tế bào và virus đã cho những hiểu biết toàn diện hơn về virus.

1. NHỮNG ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC QUAN TRỌNG

1.1. Định nghĩa: virus là một đơn vị sinh học nhỏ bé (kích thước từ 20 - 300 nm), có khả năng biểu hiện những tính chất cơ bản của sự sống:

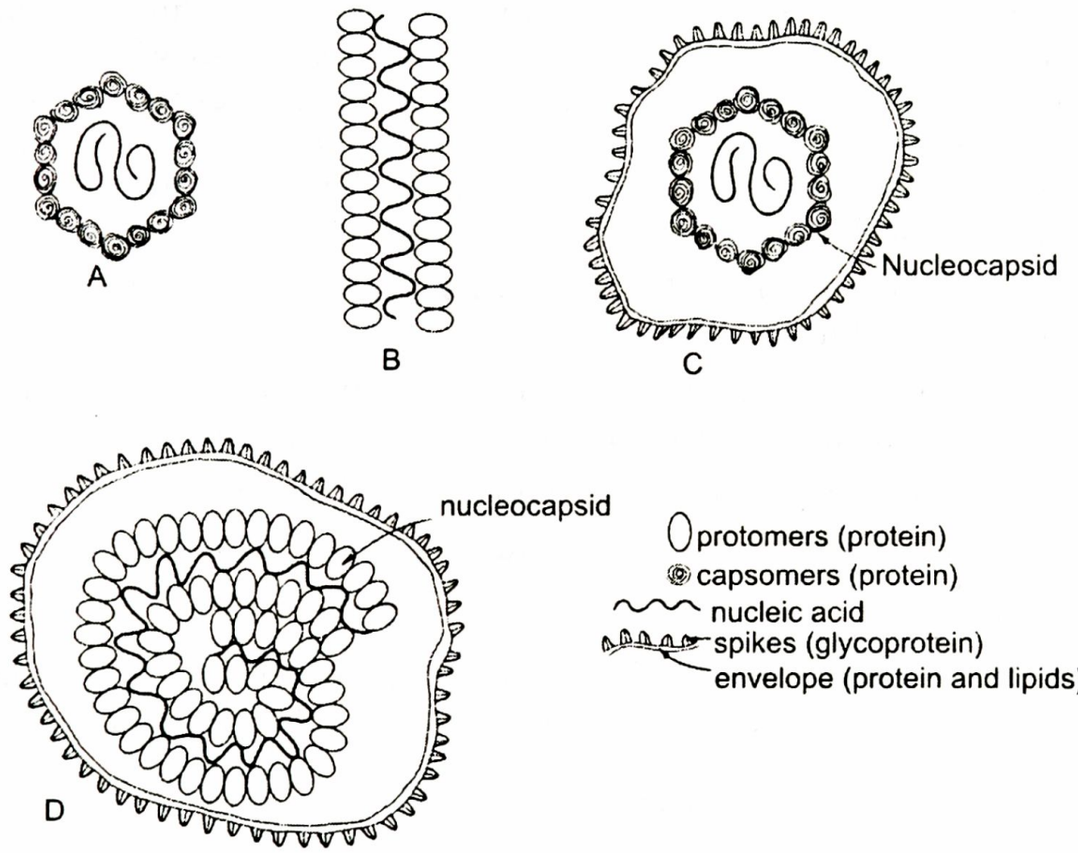
- Gây nhiễm cho tế bào.
- Duy trì được nòi giống qua các thế hệ mà vẫn giữ tính ổn định về mọi đặc điểm sinh học của nó trong tế bào cảm thụ thích hợp.

1.2. Đặc điểm cơ bản nhất để phân biệt virus với vi khuẩn là

- Virus chỉ chứa một trong hai loại acid nucleic (ADN hoặc ARN).
- Virus sinh sản tăng lên theo cấp số nhân, còn vi khuẩn sinh sản theo kiểu phân đôi.

2. NHỮNG ĐẶC ĐIỂM CẤU TRÚC CƠ BẢN

Virus có cấu trúc rất đơn giản, không có enzym hô hấp và enzym chuyển hóa, vì vậy virus bắt buộc phải ký sinh trong tế bào cảm thụ.



Hình 18. Cấu trúc của virus

A. Đối xứng khối trần, B. Đối xứng xoáy trần,
C. Đối xứng khối có envelope, D. Đối xứng xoáy có envelope

2.1. Cấu trúc cơ bản

Cấu trúc cơ bản còn được gọi là cấu trúc chung của virus. Cấu trúc cơ bản bao gồm hai thành phần chính mà mỗi virus đều phải có:

2.1.1. Acid nucleic (AN)

Mỗi loại virus đều phải có một trong hai acid nucleic: Hoặc ARN (acid ribonucleic) hoặc ADN (acid deoxyribonucleic). Những virus có cấu trúc ADN phần lớn đều mang ADN sợi kép. Ngược lại, virus mang ARN thì chủ yếu ở dạng sợi đơn.

Các acid nucleic (AN) của virus chỉ chiếm từ 1 tới 2% trọng lượng của hạt virus nhưng có chức năng đặc biệt quan trọng:

- AN mang mọi mật mã di truyền đặc trưng cho từng virus.
- AN quyết định khả năng gây nhiễm trùng của virus trong tế bào cảm thụ.
- AN quyết định chu kỳ nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ.
- AN mang tính bán kháng nguyên đặc hiệu của virus.

2.1.2. Thành phần capsid

Capsid là cấu trúc bao quanh acid nucleic. Bản chất hóa học của capsid là protein. Capsid được tạo bởi nhiều đơn vị capsid bao gồm các phân tử protein có sắp xếp đặc trưng cho từng virus. Các đơn vị capsid đó được gọi là các capsomer. Cùng với phần "lõi" AN của virus, phần "vỏ" capsid của virus có thể sắp xếp đối xứng xoắn, đối xứng khối hoặc đối xứng phức hợp. Cấu trúc capsid của virus có chức năng quan trọng:

- Bao quanh AN của virus để bảo vệ không cho enzym nuclease và các yếu tố phá hủy AN khác.
- Protein capsid tham gia vào sự bám của virus vào những vị trí đặc hiệu của tế bào cảm thụ (với các virus không có bao envelop).
- Protein capsid mang tính kháng nguyên đặc hiệu của virus.

Capsid giữ cho hình thái và kích thước của virus luôn được ổn định.

2.2. Cấu trúc riêng

Cấu trúc riêng còn được gọi là cấu trúc đặc biệt, chỉ có ở một số loài virus nhất định để thực hiện những chức năng đặc trưng cho virus đó.

2.2.1. Cấu trúc bao ngoài (envelop)

- Một số virus bên ngoài lớp capsid còn bao phủ một lớp bao ngoài, được gọi là envelop.
- Bản chất hóa học của envelop là một phức hợp: protein, lipid, carbohydrat, nói chung là lipoprotein hoặc glycoprotein. Nếu chỉ có màng thì đó là lớp dilipid. Nếu có thêm gai nhú (spike) thì đó là glycoprotein.

– Trên bao ngoài của một số virus có những núm lồi lên, mang những chức năng riêng biệt.

– Chức năng riêng của envelop:

Tham gia vào sự bám của virus trên các vị trí thích hợp của tế bào cảm thụ. Ví dụ: gp120 của HIV hoặc hemagglutinin của virus cúm.

Tham gia vào giai đoạn lắp ráp và giải phóng virus ra khỏi tế bào sau chu kỳ nhân lên.

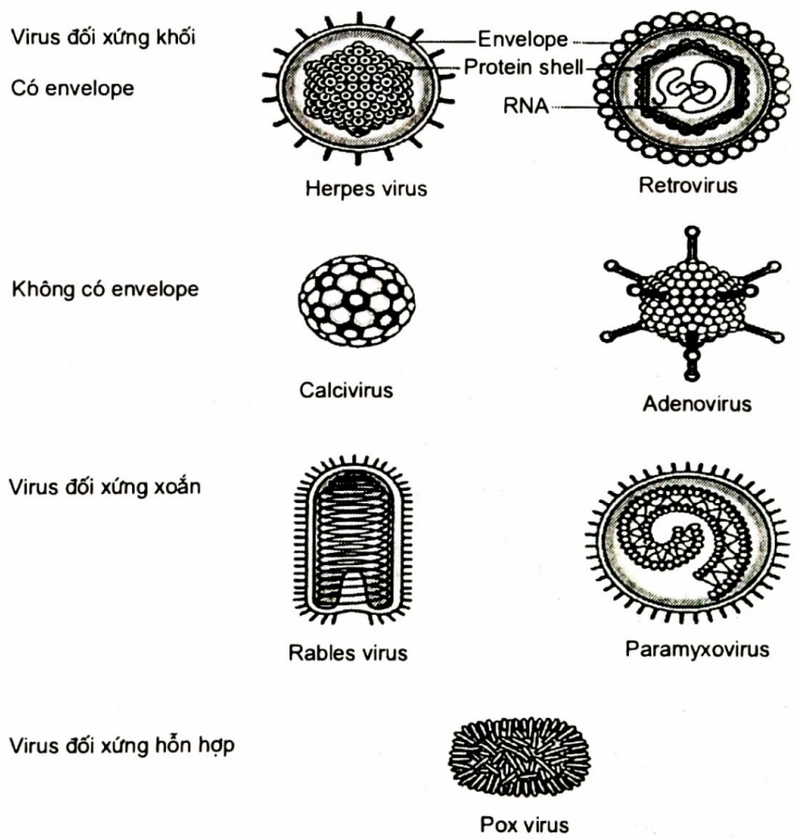
Envelop tham gia vào hình thành tính ổn định kích thước và hình thái của virus.

Tạo nên các kháng nguyên đặc hiệu trên bề mặt virus. Một số kháng nguyên này có khả năng thay đổi cấu trúc.

2.2.2. Enzym

Trong thành phần cấu trúc của virus có một số enzym, đó là những enzym cấu trúc, chúng gắn với cấu trúc của hạt virus hoàn chỉnh. Các enzym cấu trúc có thể gặp: Neuraminidase, ADN hoặc ARN polymerase, men sao chép ngược (Reverse transcriptase). Mỗi enzym cấu trúc có những chức năng riêng trong chu kỳ nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ và chúng cũng mang tính kháng nguyên riêng, đặc hiệu ở mỗi virus.

3. ĐẶC ĐIỂM HÌNH THỂ CỦA VIRUS



Hình 19. Các loại đối xứng và cấu trúc của virus

Virus có nhiều hình thể khác nhau: hình cầu, hình khối, hình sợi, hình que, hình chùy, hình khối phức tạp. Hình thể mỗi loại virus rất khác nhau nhưng luôn ổn định đối với từng loại virus. Tùy theo cách sắp xếp của acid nucleic và capsid mà virus được chia làm hai loại đối xứng:

- Đối xứng hình xoắn ốc: acid nucleic của virus và các capsomer được sắp xếp dọc theo hình lò xo đều hay không đều.
- Đối xứng hình khối: khi các capsomer của virus được sắp xếp thành các hình khối cầu đa diện.
- Một số virus có thể sắp xếp đối xứng khối và đối xứng xoắn trên từng phần của virus. Cách đối xứng này là đối xứng phức tạp.

4. MỘT VÀI KHÁI NIỆM THUẬT NGỮ QUAN TRỌNG

4.1. Virion: là một hạt virus hoàn chỉnh có cấu trúc cơ bản, một số có thêm những cấu trúc riêng.

4.2. Virus thiếu hụt (Defective virus)

Là những hạt virus khiếm khuyết một vài thành phần cấu trúc trong quá trình sao chép. Những hạt virus thiếu hụt này có thể giao thoa với các hạt virus bình thường (virion) để tạo những hạt virus hoàn chỉnh.

4.3. Giả virus (Pseudovirion)

Trong quá trình trùng hợp các capsid của virus, đôi khi lại bao bọc acid nucleic của tế bào chủ thay vì bao quanh AN của virus. Những hạt giả virus này khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử chúng giống hệt các virion bình thường, nhưng chúng không có khả năng trùng hợp lại các hạt virus mới có acid nucleic "nhầm lẫn" trên.

5. PHÂN LOẠI VIRUS

Có nhiều cách để phân loại. Theo hình thể, theo tầm quan trọng hoặc triệu chứng lâm sàng. Hiện nay có hai cách phân loại còn được sử dụng:

5.1. Phân loại theo triệu chứng học

Cách phân loại cổ điển theo khả năng gây bệnh của virus, nó thuận lợi cho lâm sàng nhưng thường không chính xác, bởi vì một virus có thể gây ra nhiều bệnh cảnh lâm sàng, ngược lại một bệnh cảnh lâm sàng cũng có thể do nhiều loại virus gây nên.

5.1.1. Virus gây bệnh phổ biến: virus đi qua đường máu gây phát ban ngoài da: bệnh đậu mùa, đậu bò, bệnh sởi, rubella, sốt vàng, sốt xuất huyết, bệnh do virus đường ruột.

5.1.2. Bệnh hệ thống thần kinh: bệnh bại liệt, bệnh do Coxsackie, ECHO, dại, viêm não, Herpes simplex, sởi, đậu, nhiễm trùng chậm.

5.1.3. Bệnh ở đường hô hấp: cúm, á cúm, virus hợp bào, adenovirus.

5.1.4. Virus gây bệnh khu trú ở da, cơ, niêm mạc: Herpes simplex týp 1 gây bệnh quanh niêm mạc miệng, týp 2 gây bệnh ở niêm mạc đường sinh dục, Herpangina, zona.

5.1.5. Virus gây bệnh ở mắt: adenovirus, Newcastle virus, Herpes virus, đau mắt đỏ thành dịch do Enterovirus týp 70.

5.1.6. Virus gây bệnh ở gan: virus gây viêm gan A, B, C, D, E; Herpes virus, Rubella virus.

5.1.7. Virus gây viêm dạ dày, ruột: Rotavirus, Norwalkvirus.

5.1.8. Virus lây lan qua đường tình dục: HIV, Cytomegalovirus, Papillioma virus, Herpes virus, HBV. Cách phân loại này dễ nhớ và bước đầu chỉ được đường lây truyền của virus nên có thể phòng bệnh và xử lý chất thải hợp lý. Tuy vậy một virus có thể gây nhiều bệnh cảnh lâm sàng, một bệnh cảnh lâm sàng có thể do nhiều virus gây ra, do vậy cách phân loại này là không chính xác.

5.2. Phân loại theo cấu trúc và các đặc điểm hóa sinh học (xem trang sau)

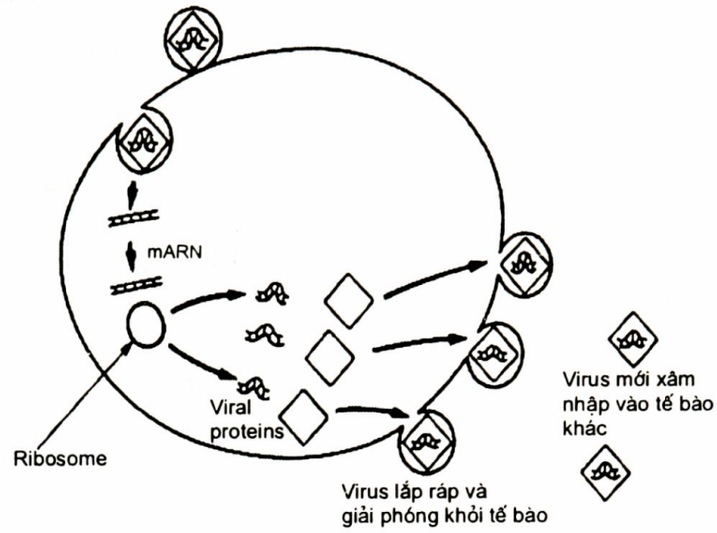
Bảng phân loại virus theo cấu trúc và đặc điểm sinh hóa

AN	Sợi		Vỏ bao	Kích thước (nm)	Đối xứng	Số lượng gen	Số lượng Capsomer	Phản ứng với ether	Họ virus gây bệnh
	Đơn	Kép							
ARN	+		0	21 – 30	Khối	4 – 6	32	Đề kháng	Picornaviridae
	+		+	45	Khối	10	32	+	Togaviridae
	+		+	80 – 120	Xoắn	> 8		+	Orthomyxoviridae
	+		+	125 – 300	Xoắn	> 10		+	Paramyxoviridae
	+		+	70 – 300	Xoắn	> 5		+	Rhabdoviridae
	+		+	80 – 160	Xoắn	30		+	Coronaviridae
	+		+	110 – 130	Xoắn	10		+	Arenaviridae
	+		+	90 – 110	Xoắn	> 3		+	Bunyfaviridae
	+		+	100	Xoắn	> 4		+	Retroviridae
	+		+	45	Không rõ	> 3		+	Flaviviridae
		+	0	75- 80	Khối	10 – 12		+	Reoviridae
ADN	+		0	70 – 90	Khối	30		Đề kháng	Adenoviridae
	+		0	45 – 55	Khối	5 – 8	252	Đề kháng	Papovaviridae
	+		+	120 – 200	Khối	160	72	+	Herpesviridae
	+		+	200 – 250	Phức tạp	300	162	+	Poxviridae
	+		+	45	Phức tạp			+	Hepadnaviridae
	+		?	18 - 22	Khối	3 - 4	32	Đề kháng	Parvoviridae

Cách phân loại này rất chính xác nhưng khó nhớ và chỉ cho thấy các họ virus mà không biết được "thủ phạm" gây các bệnh cụ thể.

6. SỰ NHÂN LÊN CỦA VIRUS TRONG CÁC TẾ BÀO CẢM THỤ

Virus chỉ có thể nhân lên trong tế bào cảm thụ. Nhờ hoạt động của tế bào mà virus tổng hợp được các thành phần cấu trúc và tạo ra các hạt virus mới. Quá trình nhân lên của virus trong tế bào có thể chia thành 5 giai đoạn:



Hình 20. Sự nhân lên của virus trong tế bào

Virus xâm nhập vào tế bào. Genome của nó chuyển tới ribosome nơi xẩy ra quá trình tổng hợp protein. Protein vỏ và genome được lắp ráp thành virus và sau đó, virus được giải phóng khỏi tế bào

6.1. Sự hấp phụ của virus trên bề mặt tế bào

Sự hấp phụ được thực hiện nhờ sự vận chuyển của virus trong các dịch gian bào giúp virus tìm tới tế bào cảm thụ. Các thụ thể (receptor) đặc hiệu trên bề mặt tế bào cảm thụ sẽ cho các vị trí cấu trúc đặc hiệu trên bề mặt hạt virus gắn vào thụ thể. Ví dụ: gp120 của HIV hấp phụ vào CD4 của các tế bào cảm thụ.

6.2. Sự xâm nhập của virus vào trong tế bào

Sự xâm nhập thành phần quan trọng nhất là acid nucleic theo các cơ chế sau:

- Nhờ enzym cởi vỏ của tế bào giúp virus cởi vỏ, giải phóng acid nucleic nhờ enzym decapsidase.
- Virus qua màng tế bào qua cơ chế ẩm bào hoặc nhờ phần vỏ capsid co bóp, bơm acid nucleic qua vách tế bào, xâm nhập vào trong tế bào cảm thụ.

6.3. Sự giải phóng lõi của virus

Sau khi xâm nhập, acid nucleic của virus và có thể cả một số enzym (nếu có) được giải phóng ra khỏi vỏ capsid nhờ các enzym phân huỷ của tế bào. Bước này còn được gọi là "giai đoạn cởi áo".

6.4. Sự tổng hợp các thành phần cấu trúc của virus

Đây là giai đoạn phức tạp nhất của quá trình nhân lên của virus và nó phụ thuộc loại AN của virus. Nhưng kết quả cuối cùng là để tổng hợp được AN và các thành phần cấu trúc khác của virus. Dưới đây là ví dụ về ba loại virus có hai loại AN khác nhau:

6.4.1. Virus có AN là ADN hai sợi

- Từ khuôn mẫu ADN của virus tổng hợp nên mARN, phục vụ cho tổng hợp nên ADN polymerase và ADN mới.
- Từ ADN mới được tổng hợp, mARN được tổng hợp để tạo thành protein capsid và các thành phần cấu trúc khác của virus.

6.4.2. Virus có AN là ARN một sợi dương

ARN của virus đồng thời là mARN để tổng hợp nên ARN polymerase và ARN mới của virus, mARN này cũng được dùng để tổng hợp nên capsid của virus.

6.4.3. Virus có ARN một sợi âm

Virus loại này tổng hợp nên sợi bổ sung (sợi dương) làm mARN để tổng hợp nên các thành phần cấu trúc của virus.

6.4.4. Virus có AN là ARN nhưng có enzym sao chép ngược

Enzym sao chép ngược là ADN polymerase phụ thuộc vào ARN, hay còn gọi là reverse transcriptase viết tắt là RT (ví dụ virus HIV). Từ ARN, virus tổng hợp nên ADN trung gian. ADN này tích hợp vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ. ADN trung gian là khuôn mẫu để tổng hợp nên ARN virus và đây cũng là mARN để tổng hợp nên các thành phần cấu trúc khác của virus. Nhưng ADN tích hợp cũng có thể nằm im ở dạng provirus và dẫn đến các hậu quả khác (xem mục 7.5).

6.5. Sự lắp ráp (assembly)

Nhờ enzym cấu trúc của virus hoặc enzym của tế bào cảm thụ giúp cho các thành phần cấu trúc của virus được lắp ráp theo khuôn mẫu của virus gây bệnh tạo thành những hạt virus mới.

6.6. Sự giải phóng các hạt virus ra khỏi tế bào

Virus có thể phá vỡ vách tế bào sau vài giờ tới vài ngày tuỳ chu kỳ nhân lên của từng virus để giải phóng hàng loạt virus ra khỏi tế bào để tiếp tục một chu kỳ nhân lên mới trong tế bào cảm thụ. Virus cũng có thể được giải phóng theo cách nẩy chồi từng hạt virus ra khỏi tế bào sau chu kỳ nhân lên.

7. HẬU QUẢ CỦA SỰ TƯƠNG TÁC VIRUS VÀ TẾ BÀO

7.1. Huỷ hoại tế bào chủ

Sau khi virus xâm nhập và nhân lên trong tế bào thì hầu hết các tế bào bị phá hủy. Người ta có thể đánh giá sự phá hủy tế bào bằng hiệu quả gây bệnh cho tế bào (cytopathic effect = CPE) hoặc các ổ tế bào bị hoại tử. Mỗi ổ tế

bào bị hoại tử đó được gọi là một đơn vị plaque (Plaque forming unit: PFU). Có những tế bào bị nhiễm virus chưa đến mức bị chết, nhưng chức năng của tế bào này đã bị thay đổi.

Biểu hiện của sự nhiễm virus thành các bệnh nhiễm trùng cấp hoặc mạn tính là do sự huỷ hoại tế bào của virus.

7.2. Sự sai lạc nhiễm sắc thể của tế bào

Sau khi virus nhân lên bên trong tế bào, nhiễm sắc thể của tế bào có thể bị gẫy, bị phân mảnh hoặc có sự sắp xếp lại và gây ra các hậu quả như:

7.2.1. Dị tật bẩm sinh, thai chết lưu

Sự sai lạc nhiễm sắc thể thường gây những tai biến đặc biệt ở phụ nữ có thai trong những tháng đầu, chu kỳ gây bệnh của virus trên phụ nữ có thai có thể biểu hiện bởi dị tật thai, hoặc thai chết lưu.

7.2.2. Sinh khối u và ung thư

Người ta gây khối u thực nghiệm do virus trên động vật. Cơ chế gây khối u có thể do virus làm thay đổi kháng nguyên bề mặt của tế bào, làm mất khả năng ức chế do tiếp xúc khi tế bào sinh sản hoặc kích hoạt gen ung thư.

7.3. Tạo hạt virus không hoàn chỉnh (DIP: Defective interfering particle)

Đó là những hạt virus không có hoặc có không hoàn chỉnh acid nucleic. Do vậy, các hạt DIP không có khả năng gây nhiễm trùng cho tế bào. Những hạt DIP có thể giao thoa (interference) chiếm AN của virus tương ứng để trở nên gây bệnh. Các hạt DIP vẫn mang tính kháng nguyên đặc trưng cho virus.

7.4. Tạo ra tiểu thể

Các tế bào nhiễm virus có thể xuất hiện các hạt nhỏ trong nhân hoặc trong bào tương của tế bào. Bản chất các tiểu thể có thể do các hạt virus không giải phóng khỏi tế bào, có thể do các thành phần cấu trúc của virus chưa được lắp ráp thành hạt virus mới, cũng có thể là các hạt phản ứng của tế bào khi nhiễm virus. Các tiểu thể này có thể nhuộm soi thấy dưới kính hiển vi quang học và dựa vào đó có thể chẩn đoán gián tiếp sự nhiễm virus trong tế bào. Hình thái tiểu thể nội bào được áp dụng trong chẩn đoán bệnh do virus dại đối với tế bào thần kinh.

7.5. Các hậu quả của sự tích hợp genom virus vào ADN tế bào chủ

ADN của virus hoặc ADN trung gian virus tích hợp vào ADN tế bào có thể dẫn tới các hậu quả khác nhau:

- Chuyển thể tế bào (transformation) và gây nên các khối u hoặc ung thư. Nhiều virus có thể gây nên khối u và ung thư ở người hoặc động vật, đều do sự tích hợp genom của chúng vào ADN tế bào, gây ra sự sinh sản thái quá của tế bào. Các loại virus này mang theo gen ung thư hoặc kích hoạt gen ung thư của tế bào hoạt động.
- Làm thay đổi kháng nguyên bề mặt của tế bào. Trên bề mặt tế bào bị ung thư do virus cũng có hiện tượng này.
- Làm thay đổi một số tính chất của tế bào. Do genom của virus tích hợp vào genom của tế bào, làm tế bào thể hiện các tính trạng mới. Thí dụ: Phage E15 tích hợp vào genom của *Salmonella* làm *Salmonella* trở thành vi khuẩn có khả năng lên men đường lactose.
- Một số vi khuẩn gây bệnh bằng ngoại độc tố là do chúng tích hợp genom của prophage. Ví dụ vi khuẩn bạch hầu hay *Clostridium botulinum* khi mang prophage sẽ trở nên sinh nhiều ngoại độc tố hơn bình thường.
- Tế bào trở thành tế bào tiềm tan.

Các virus ôn hòa xâm nhập vào tế bào, genom của virus sẽ tích hợp vào nhiễm sắc thể của tế bào rồi phân chia với tế bào. Các tế bào mang gen virus ôn hòa đó, khi gặp những kích thích của các tác nhân sinh học, hóa học và lý học thì các genom của virus ôn hòa trở thành virus độc lực có thể gây ly giải tế bào. Vậy những tế bào tiềm tan có khả năng bị ly giải, người ta còn gọi chúng là tế bào mang provirus (tiền virus).

7.6. Sản xuất interferon

Interferon bản chất là protein do tế bào sản xuất ra khi cảm thụ với virus. Interferon có thể ức chế sự hoạt động của ARNm, do vậy nó được sử dụng như một thuốc điều trị không đặc hiệu cho mọi nhiễm trùng do virus.

8. VIRUS VÀ BỆNH HỌC

Virus có khả năng gây bệnh cho người, động vật và cả vi khuẩn. Hiện nay đã tìm thấy trên 500 virus có khả năng gây bệnh cho người. Ngày càng nhiều virus mới được phát hiện, gây những vụ dịch đáng lo ngại. Các bệnh nhiễm trùng do virus có thể là cấp tính, mạn tính, tiềm tàng hoặc nhiễm trùng chậm và cũng có thể gây ung thư. Các hậu quả của sự tương tác virus tế bào đã được trình bày ở mục trên, trong đó các bệnh nhiễm virus cấp hay mạn tính là hậu quả thường gặp nhất.

Để chẩn đoán được bệnh do virus gây ra, ngoài triệu chứng lâm sàng thì việc chẩn đoán phòng thí nghiệm có giá trị chắc chắn. Dưới đây là các phương pháp chẩn đoán virus trong phòng thí nghiệm:

8.1. Chẩn đoán trực tiếp

8.1.1. Bệnh phẩm để chẩn đoán trực tiếp

Để chẩn đoán trực tiếp nghĩa là để phân lập virus hay gây bệnh thực nghiệm trên súc vật, cần hiểu rõ thời gian nhiễm virus, cơ quan mà virus có thể gây bệnh. Nếu là tử thi thì bệnh cảnh lâm sàng gây tử vong. Bệnh phẩm có thể là dịch họng mũi, máu, nước não tủy hay là đoạn ruột, mảnh não, mảnh tủy sống...

Tất cả mọi bệnh phẩm dùng trong chẩn đoán trực tiếp đều phải bảo quản cẩn thận, tránh làm lây lan, giữ trong dây chuyền lạnh và gửi trong thời gian ngắn nhất: từ một đến vài giờ.

8.1.2. Phân lập virus

Các bệnh phẩm không có khả năng bội nhiễm vi khuẩn (máu, nước não tủy, mảnh tổ chức sinh thiết...) thì không cần xử lý kháng sinh - ngược lại, nếu bệnh phẩm có thể bội nhiễm vi khuẩn (nước họng mũi, nước tiểu, phân....) cần xử lý diệt khuẩn và nấm bằng các kháng sinh ở nồng độ thích hợp không ảnh hưởng tới virus. Bệnh phẩm có thể phân lập trên hai loại tế bào:

- *Tế bào nguyên phát một lớp:* là những tế bào có nguồn gốc từ mô động vật, thực vật, hay côn trùng... được nuôi cấy thành một lớp tế bào trong phòng thí nghiệm để nuôi cấy phân lập virus. Các tế bào nguyên phát chỉ sử dụng một lần, không chuyển từ thế hệ này sang thế hệ khác được. Các tế bào nguyên phát thường dùng là: tế bào thận khỉ, thận bào thai chó, thận bào thai lợn, tế bào xơ bào thai gà, tế bào bào thai người. Tùy chu kỳ nhân lên của virus mà theo dõi thời gian dài hay ngắn để phát hiện tế bào bị tổn thương hay các ổ hoại tử. Để định týp virus người ta dùng kháng thể mẫu để làm phản ứng trung hòa, hay ức chế ngưng kết hồng cầu.
- *Tế bào thường trực*, cũng có nguồn gốc từ mô động vật hay thực vật, côn trùng được cấy truyền qua nhiều thế hệ trong phòng thí nghiệm mà không gây thay đổi mọi đặc điểm di truyền cũng như tính cảm thụ với virus. Các tế bào thường trực hiện hay dùng: Vero, Hep 2, C6/36, Hela...

8.1.3. Gây bệnh thực nghiệm trên động vật

Có thể gây bệnh cho chuột nhắt mới sinh, cho khỉ, cho bào thai gà, cho muỗi... Để xác định tên virus, người ta cũng dùng kháng thể mẫu để làm các phản ứng đặc hiệu xác định kháng nguyên.

8.1.4. Xác định virus

Sau khi đã nuôi cấy virus trên các tế bào hoặc trong động vật thí nghiệm, các virus nghi ngờ được xác định bằng các kỹ thuật miễn dịch thích hợp.

8.2. Chẩn đoán gián tiếp (phương pháp huyết thanh học - serology)

8.2.1. Lấy bệnh phẩm

Để tìm kháng thể có trong huyết thanh bệnh nhân, cần phải lấy máu bệnh nhân hai lần, không có chất chống đông. Máu được để đông cho huyết thanh tiết ra rồi chắt lấy để làm phản ứng. Thời gian lấy máu: lần thứ nhất sau 3, 4 ngày từ khi bệnh khởi phát; lần thứ 2 cách lần đầu 10 ngày tới 2 tuần. Huyết thanh 2 lần được bảo quản ở -20°C để làm phản ứng trong cùng thời gian.

8.2.2. Các phản ứng huyết thanh tìm kháng thể

- Phản ứng ELISA tìm IgM để chẩn đoán nhanh. Hiện nay thường được sử dụng để chẩn đoán nhiễm trùng giai đoạn sớm.
- Phản ứng ELISA tìm IgG.
- Phản ứng trung hòa.
- Phản ứng kết hợp bổ thể.
- Phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu.
- Phản ứng Western blot.

8.2.3. Nhận định kết quả

- Các phản ứng ELISA và Western blot được đánh giá là dương tính (+) theo quy định của các kít mẫu thử.
- Các phản ứng định lượng khác, hiệu giá huyết thanh trong mẫu lần 2 phải tăng gấp 4 lần so với mẫu máu lần 1 mới kết luận là bệnh nhân mắc bệnh.

8.3. Các phương pháp phát hiện virus khác

- Vì các kỹ thuật phân lập và huyết thanh học tốn kém thời gian hoặc kinh phí, nên hiện nay các phương pháp phát hiện virus trực tiếp từ bệnh phẩm bằng các kỹ thuật miễn dịch (huỳnh quang trực tiếp, ELISA, ngưng kết gián tiếp), hoặc di truyền (PCR) được sử dụng rất có hiệu quả.
- Cắt cúp để tìm mô bệnh học đặc hiệu, cũng có thể phát hiện sự có mặt của virus.
- Người ta có thể thấy cấu trúc đặc hiệu của virus khi bệnh phẩm được quan sát dưới kính hiển vi điện tử.

9. PHÒNG BỆNH

9.1. Phòng không đặc hiệu

Các biện pháp cách ly bệnh nhân, khử trùng tiệt trùng dụng cụ và môi trường, diệt côn trùng truyền bệnh được áp dụng thích hợp trong từng bệnh, từng vụ dịch.

9.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Mỗi lứa tuổi, các nghề nghiệp khác nhau có thể sử dụng các loại vacxin thích hợp.

Các vacxin hiện dùng:

- Vacxin sống giảm độc: vacxin phòng bại liệt, sởi, dại, đậu mùa.
- Vacxin tái tổ hợp: vacxin viêm gan.
- Vacxin chết: dại, viêm não.

10. ĐIỀU TRỊ BỆNH

10.1. Một số bệnh cấp tính: có thể nguy hại đến tính mạng bệnh nhân, có thể dùng γ- globulin để điều trị.

10.2. Hóa dược trị liệu

Hóa dược và kháng sinh điều trị bệnh do virus phải đạt tiêu chuẩn không gây hại cho tế bào chủ. Hiện nay đang sử dụng một số hóa dược sau:

- Aciclovir: dùng cho điều trị virus Herpes và Varicella - Zoster virus.
- Amantadin: dùng điều trị cúm, á cúm, sốt phát ban. Dẫn chất của Amantadin là Rimantadin điều trị hiệu quả hơn và ít tác dụng phụ.
- Azidothymidin (AZT) dùng để điều trị các bệnh do virus có enzym sao chép ngược như họ Retrovirus, Hepadnavirus.

10.3. Interferon: có các loại interferon α, β, γ - trong đó interferon α được dùng điều trị có hiệu quả cao trong các bệnh do virus, trong thời kỳ đầu nhiễm virus vì tác dụng chủ yếu của interferon ở giai đoạn sao chép mật mã di truyền của virus. Để có hiệu quả điều trị, liều interferon dùng để điều trị phải cao, nên cần theo dõi cẩn thận, tránh tác hại của tác dụng phụ.

11. GIỚI THIỆU MỘT SỐ VIRUS GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

11.1. Poxviridae

Họ virus Pox tương đối lớn: 230 - 300 nm, đôi khi có thể nhìn được dưới kính hiển vi thường. Họ virus Pox chứa ADN hai sợi, có vỏ bao lipoprotein ngoài lớp vỏ capsid. Poxviridae có cấu trúc hình khối. Các thành viên chính của poxviridae là: đậu mùa (pockenvirus), ngưu đậu (vacxiniavirus), đậu khỉ (affenpockenvirus).

11.2. Herpesviridae

Họ virus herpes bao gồm nhiều virus gây bệnh.

- Đặc điểm chung:
  + Chứa ADN sợi kép
  + Capsid đối xứng khối
  + Có vỏ bao ngoài cấu tạo bởi lipid
  + Nhậy cảm với ether
  + Kích thước từ 150 - 160 nm.
- Các thành viên chính gây bệnh thường gặp:
  + Herpes - Simplex týp 1, Herpes - Simplex týp 2, gây nhiễm trùng tiềm tàng.
  + Varicella - Zoster virus
  + Cytomegalovirus (CMV)
  + Epstein-Barr virus (EBV), có quan hệ với các bệnh gây khối u trên người.

11.3. Hepadnaviridae

Họ virus này là virus chứa ADN gây viêm gan.

- Đặc điểm chính:
  + Chứa ADN sợi kép.
  + Protein capsid được bao quanh bởi bao ngoài.
  + Virus hình tròn, kích thước 42 - 45 nm.
- Thành viên gây bệnh chủ yếu:
  + Virus gây viêm gan B (Hepatitis B virus)
  + Virus liên quan là virus viêm gan denta (Hepatitis delta virus) hay còn gọi là viêm gan D.

11.4. Adenoviridae

Adenoviridae có nhiều týp huyết thanh gây bệnh cho người.

- Đặc điểm sinh học chính:
  + Chứa ADN sợi kép.
  + Capsid đối xứng khối.
  + Có 252 capsomers.
  + Kích thước 70 - 90 nm.
- Thành viên gây bệnh chủ yếu: Adeno virus týp 1, 8, 14, 21 gây nhiều hội chứng lâm sàng khác nhau.

11.5. Papovaviridae

Nhóm virus chủ yếu gây khối u trên người và động vật.

- Đặc điểm chủ yếu:
  + Chứa ADN 2 sợi
  + Capsid đối xứng khối 20 mặt
  + Không có vỏ bao ngoài
  + Kích thước 45 - 55 nm.
- Thành viên chính: Papilloma (gần đây virus này được coi là căn nguyên chính gây ra ung thư cổ tử cung), Polioma, Vacuolating virus

11.6. Parvoviridae

Đây là họ virus chứa ADN sợi đơn, có capsid đối xứng khối hình thành từ 32 capsomers, là virus cỡ nhỏ với đường kính từ 18 - 28 nm. Virus họ Parvoviridae chưa được nghiên cứu nhiều, chúng là căn nguyên gây sốt phát ban đỏ ở trẻ em.

11.7. Reoviridae

- Thành viên chủ yếu gây bệnh của họ Reoviridae là Rotavirus với 4 týp huyết thanh (serotype) khác nhau. Ngoài ra còn có Orbivirus gây bệnh cho người, động vật và cây cỏ.
- Vỏ capsid hai lớp, virus hình tròn, kích thước khoảng 65 nm, gây bệnh ỉa chảy chủ yếu ở trẻ em, nhất là trẻ sơ sinh. Thành viên chủ yếu: Rotavirus.

11.8. Togaviridae

Họ Togaviridae có 3 nhóm chính: Alphavirus, Rubivirus và Pestvirus. Đặc điểm chính:

- Chứa ARN sợi đơn, capsid đối xứng xoắn, có bao ngoài, đường kính từ 50 - 70 nm.
- Thành viên gây bệnh chính cho người với nhiều tai biến là: Rubella virus.

11.9. Flaviviridae

Là nhóm virus gây bệnh lây lan qua côn trùng tiết túc.

- Đặc điểm chung: chứa ARN sợi đơn, capsid được bao bọc bởi bao ngoài, đường kính khoảng 45 nm.
- Thành viên gây bệnh chính: virus sốt xuất huyết Dengue, virus gây viêm não.

11.10. Paramyxoviridae

Họ virus này giống Myxoviridae về hình thể.

- Đặc điểm sinh học chính: chứa ARN sợi đơn. Capsid đối xứng xoắn, có vỏ bao ngoài, kích thước 120 - 300 nm.
- Thành viên chính: á cúm, sởi, quai bị, hợp bào (RSV = Respiratory Syncitial virus), Rindepest, Newcastle.

11.11. Orthomyxoviridae

- Hình thái giống Paramyxoviridae, chứa ARN một sợi âm, capsid được bao bởi lớp envelop. Kích thước từ 80 - 120 nm.
- Thành viên gây bệnh chính: cúm A, B, C (influenza virus) gây bệnh cho người và động vật.

11.12. Rhabdoviridae

- Là virus chứa ARN một sợi, hình dài: đường kính khoảng 70 nm, chiều dài khoảng 210 nm, vỏ capsid đối xứng xoắn, có vỏ bao ngoài chứa 10 sợi (spikes).
- Thành viên gây bệnh chủ yếu là virus gây bệnh dại, có thể tạo tiểu thể nội bào.

11.13. Bunyaviridae

Họ virus Bunyaviridae có khoảng 150 týp huyết thanh.

- Đặc điểm chung: chứa ARN sợi đơn. Capsid đối xứng xoắn. Có vỏ bao ngoài tạo virus hình tròn kích thước 80 - 120 nm. Có khoảng 70 týp có liên quan đến Bunyaviridae.
- Thành viên chủ yếu: Hantan virus gây sốt xuất huyết không do côn trùng đốt và gây bệnh thận.

11.14. Filoviridae (nhóm virus này chưa được xếp loại)

Đây là họ virus đa hình thái, chứa ARN một sợi âm. Kích thước thay đổi hàng trăm nm. Có vỏ bao ngoài. Thành viên gây bệnh chủ yếu:

- Marburgvirus hình sợi, dài.
- Ebolavirus: hình sợi thay đổi.

11.15. Retroviridae

Họ Retroviridae có rất nhiều virus gây bệnh, trong đó chú ý là virus gây ung thư và HIV. Đặc điểm chung: chứa ARN một sợi, hình cầu, đường kính từ

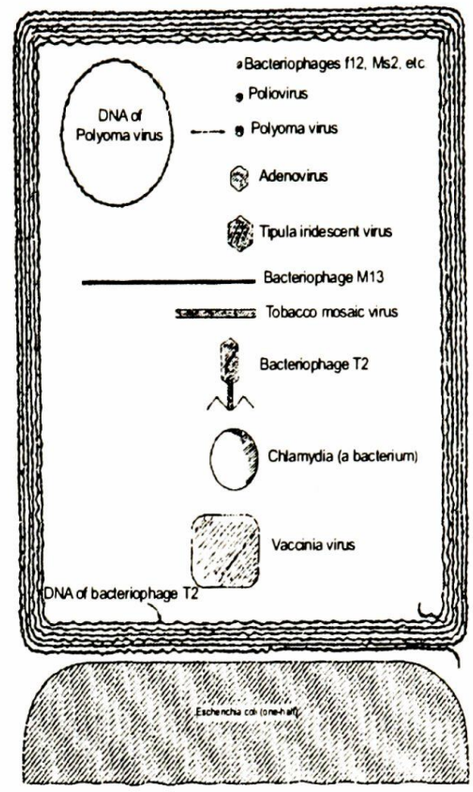
100 - 140 nm, có vỏ bao, có enzym sao chép ngược. Gây bệnh trên nhiều loại tế bào của cơ thể.

11.17. Arenaviridae

Đây là virus hình tròn hoặc đa hình, kích thước từ 60 - 280 nm.

11.16. Picornaviridae

- Là nhóm virus cỡ nhỏ, chứa ARN sợi đơn, không có vỏ ngoài. Gây bệnh chủ yếu ở đường tiêu hóa. Kích thước 20 - 30 nm. Đề kháng với ether.
- Thành viên chính: Polyovirus, Coxsackievirus, ECHO virus, viêm gan A và Rhinovirus. Ngoài ra có khoảng 100 thành viên khác thuộc nhóm này.
- Họ virus này là virus chứa ARN sợi đơn và có vỏ bao ngoài.



Hình 21. So sánh kích thước virus, acid nucleic của nó và vi khuẩn

- Virus gây bệnh thuộc họ này chủ yếu gặp ở Nam và Trung Mỹ, gây sốt xuất huyết và viêm màng não vô trùng (Lymphocytosis choriomeningitis virus = LMC). Ngoài ra, virus họ này còn gây sốt Lassa (Lassa fever). Dưới kính hiển vi điện tử, virus họ này thấy nhiều hạt bên trong lớp capsid.

11.18. Coronaviridae

Virus chứa ARN sợi đơn, có vỏ bao ngoài. Kích thước từ 80 - 160 nm. Nucleocapsid đối xứng xoắn. Khả năng gây bệnh trên người là nhiễm trùng đường hô hấp cấp. Một số có thể gây nhiễm trùng tiềm tàng trên động vật.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Kể được hai thành phần cấu trúc cơ bản của virus.
2. Kể hai thành phần cấu trúc riêng của virus.
3. Trình bày 4 chức năng cơ bản của acidnucleic virus.
4. Trình bày 4 chức năng chính của capsid virus.
5. Ghi nhớ 4 chức năng cơ bản của bao ngoài (envelope) của virus.

6. Kể tên 2 enzym cấu trúc thường gặp trong vius và các chức năng của chúng.
7. Trình bày 2 cách phân loại của VR và cho ví dụ về mỗi cách?
8. Nêu tên của 2 loại tế bào sử dụng trong phòng thí nghiệm để phân lập VR?
9. So sánh sự khác biệt cơ bản của tế bào nguyên phát và tế bào thường trực.
10. Mô tả khái quát 5 bước chính của sự nhân lên của VR trong tế bào cảm thụ?
11. Kể được 6 hậu quả của sự nhân lên của VR trong tế bào và ứng dụng của từng hậu quả đó trong chẩn đoán VR?
12. Để chẩn đoán trực tiếp VR, phải lấy những bệnh phẩm nào và các cách phát hiện VR?
13. Kể tên các phản ứng huyết thanh học được dùng trong chẩn đoán gián tiếp bệnh do VR gây ra. Những điều cần lưu ý khi đánh giá phản ứng huyết thanh chẩn đoán VR?

BACTERIOPHAGE

MỤC TIÊU

1. *Định nghĩa và trình bầy được những đặc điểm của phage.*
2. *Trình bày được 2 loại phage.*
3. *Giải thích được 4 ứng dụng của phage.*

Bacteriophage được Twort phát hiện năm 1915.

1. ĐỊNH NGHĨA

Bacteriophage là virus mà tế bào cảm thụ là vi khuẩn, nghĩa là nó có khả năng gây bệnh cho vi khuẩn, do đó người ta còn gọi bacteriophage là virus của vi khuẩn và thường gọi tắt là phage.

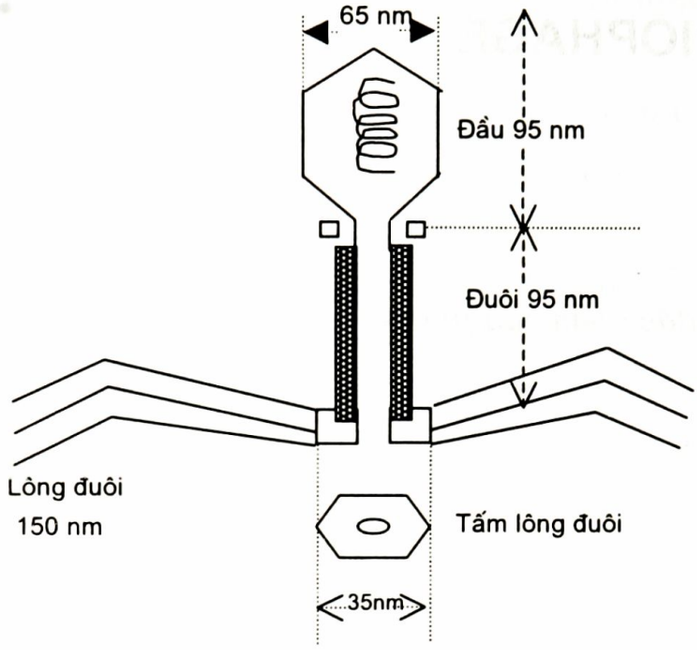
2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA PHAGE

2.1. Cấu trúc

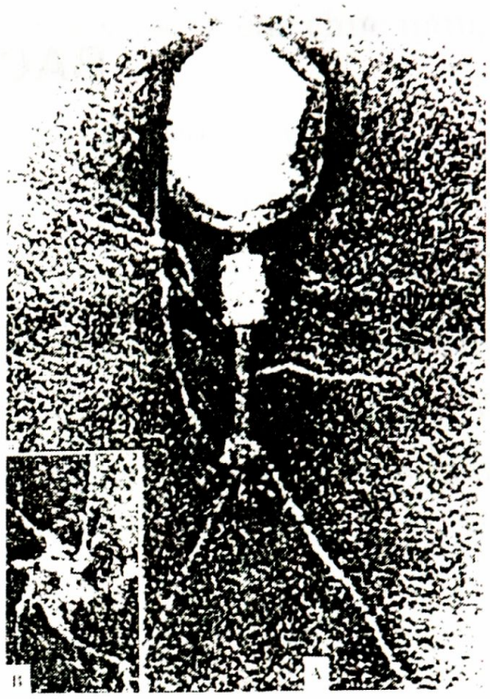
Phage là loại virus có cấu trúc hỗn hợp, nó vừa có cấu trúc hình khối (đầu), vừa có cấu trúc hình xoắn (đuôi). Phage có 3 phần (Hình 29, 30).

2.1.1. Đầu

Đầu phage có cấu trúc hình khối, hình thái như cái hộp lục lăng được hợp bởi nhiều capsomer, bên trong chứa acid nucleic, hầu hết các phage chứa ADN còn lại rất ít phage chứa ARN. Acid nucleic ở đầu phage là một sợi rất dài được sắp xếp rất gọn và tối ưu nhất. Acid nucleic chiếm tới 40% toàn bộ trọng lượng của phage. Đầu phage có đường kính 65 nm và chiều dài khoảng 95 nm.



Hình 22. Sơ đồ cấu trúc của phage



Hình 23. Phage T2

A. Chụp dưới kính hiển vi điện tử;
B. Tấm lông đuôi

2.1.2. Đuôi

Đuôi có cấu trúc dạng hình xoắn, có độ dài 95 nm nối liền với một đỉnh của đầu. Đuôi này được hợp bởi 2 ống hình trụ lồng vào nhau: ống bên trong cứng có đường kính 8 nm thông với khoang đầu, ống bên ngoài hình xoắn có đường kính 20 nm co giãn được theo chiều dọc như cái lò xo. Phía cuối đuôi là một tấm lông đuôi 6 cạnh đều nhau có đường kính khoảng 35 nm.

2.1.3. Lông đuôi

Phage có 6 lông đuôi, mỗi lông đuôi có độ dài 150 nm được gắn vào mỗi đỉnh của tấm cuối đuôi. Lông đuôi giúp cho phage bám vào được tế bào vi khuẩn.

2.2. Sự nhân lên của phage

Phage là virus do đó nó cũng nhân lên theo quy luật chung của virus. Trong một hoàn cảnh nhất định nào đấy, phage cố định vào receptor của vách tế bào bằng những sợi lông đuôi của nó. Mỗi loại phage chỉ có thể cố định vào được một loại vi khuẩn vì phage có tính chất đặc hiệu týp đối với vi khuẩn.

Sau khi bám vào được tế bào vi khuẩn, phage đã dùng lysozym có ở cuối đuôi phá hủy màng tế bào tạo thành lỗ thủng. Ống cứng bên trong của đuôi được xuyên vào bào tương của vi khuẩn nhờ sự co lại của ống bên ngoài đuôi. Ngay sau đó, acid nucleic ở đầu phage được bơm vào bên trong tế bào vi khuẩn. Vỏ của phage ở lại bên ngoài rồi tự tiêu hủy.

3. PHÂN LOẠI PHAGE

Phage được chia thành 2 loại: Phage độc lực và phage ôn hòa.

3.1. Phage độc lực

Phage độc lực là loại phage khi xâm nhập vào tế bào vi khuẩn thì chúng có khả năng nhân lên và phá hủy tế bào vi khuẩn đó.

3.2. Phage ôn hoà

Phage ôn hòa còn được gọi là tiền phage hay prophage, loại phage này khi xâm nhập vào vi khuẩn thì acid nucleic của nó gắn vào genom của vi khuẩn, tồn tại và phân chia cùng genom của vi khuẩn qua nhiều thế hệ. Khi gặp điều kiện thích hợp thì acid nucleic của phage được hoạt hóa, chỉ huy toàn bộ quá trình nhân lên, tạo ra các phage mới và gây tổn hại cho tế bào vi khuẩn như phage độc lực. Những vi khuẩn mang phage ôn hoà gọi là vi khuẩn tiềm tan hay tế bào sinh dung giải. Gen của prophage có thể tạo ra một số thay đổi đặc tính của vi khuẩn như tạo ra ngoại độc tố (vi khuẩn bạch hầu, liên cầu).

4. ỨNG DỤNG CỦA PHAGE

4.1. Chẩn đoán và phân loại vi khuẩn

Mỗi loại vi khuẩn có một loại phage tương ứng gây bệnh hay nói cách khác phage có tính đặc hiệu đối với vi khuẩn. Trong chẩn đoán và phân loại một số vi khuẩn như vi khuẩn dịch hạch, tụ cầu... người ta dùng phage đã biết tên trước cho tiếp xúc với vi khuẩn đang cần xác định, nếu đặc hiệu (cùng tên) thì tế bào vi khuẩn sẽ bị phage gây bệnh làm phá hủy tế bào vi khuẩn đó. Đây là cách chẩn đoán, phân loại nhanh và đặc hiệu cao.

4.2. Làm mẫu để nghiên cứu về sinh học phân tử

Trong sinh học phân tử, đặc biệt là trong di truyền vi khuẩn, người ta đã dùng phage ôn hòa để nghiên cứu về sự tải nạp (transduction) của vi khuẩn. Tải nạp là quá trình vận chuyển chất liệu di truyền từ vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận thông qua phage. Đây cũng là kỹ thuật được sử dụng nhiều trong công nghệ sinh học.

4.3. Phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn

Trong một số bệnh do vi khuẩn gây ra, ví dụ như bệnh lỵ, người ta đã cho bệnh nhân uống phage đặc hiệu của vi khuẩn có nguy cơ gây bệnh hoặc đang gây bệnh để phòng và điều trị. Phương pháp này có hiệu quả cao nhưng khó thực hiện và tốn kém.

4.4. Phát hiện phóng xạ

Những tế bào vi khuẩn tiềm tan thường bị ly giải khi có tác dụng của chất phóng xạ, bởi vậy người ta dùng những tế bào tiềm tan đó cho tiếp xúc với môi trường hoặc những chất nghi bị nhiễm phóng xạ, nếu tế bào vi khuẩn bị ly giải có nghĩa là môi trường hoặc những chất đó đã bị nhiễm phóng xạ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Bacteriophage là gì?
2. Mô tả đặc điểm các thành phần cấu trúc của phage?
3. Trình bày hai loại phage?
4. Nêu và giải thích 4 ứng dụng của phage?

NHIỄM TRÙNG VÀ CÁC YẾU TỐ ĐỘC LỰC CỦA VI SINH VẬT

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các khái niệm: nhiễm trùng và các hình thái của nhiễm trùng.*
2. *Trình bày khái niệm độc lực và các đơn vị đo độc lực.*
3. *Mô tả được các yếu tố độc lực của vi sinh vật.*
4. *Trình bày được sự né tránh hệ thống phòng ngự của vi sinh vật.*

Hiện nay bệnh nhiễm trùng đang là vấn đề nổi cộm của y tế thế giới, nhất là ở các nước đang phát triển. Bên cạnh những bệnh nhiễm trùng có từ trước đây như các bệnh dịch tả, dịch hạch thương hàn, lỵ, sốt xuất huyết, sốt rét, viêm gan... gần đây còn xuất hiện thêm một số bệnh nhiễm trùng mới như HIV/AIDS, Ebola, SARS.

Ở Việt Nam, hàng năm, 1/3 tổng số bệnh nhân vào bệnh viện là do bị nhiễm trùng. Đây là nguyên nhân gây tử vong cho nhiều trẻ em và người già. Có nhiều loại bệnh nhiễm trùng, nhưng thường gặp nhất là các bệnh viêm nhiễm đường hô hấp, tiêu chảy, viêm đường tiết niệu và nhiễm khuẩn máu...Hiểu được các yếu tố gây nhiễm trùng của các vi sinh vật là cần thiết để có thể phòng chống các bệnh nhiễm vi sinh vật có hiệu quả.

1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM

1.1. Định nghĩa về nhiễm trùng

Nhiễm trùng là sự xâm nhập và sinh sản trong mô của các VSV gây bệnh dẫn tới sự xuất hiện hoặc không xuất hiện bệnh nhiễm trùng.

Khái niệm trên khẳng định chỉ có sự xâm nhập và sinh sản của vi sinh vật ở trong các mô của cơ thể mới được coi là bị nhiễm trùng. Khái niệm này đã phân biệt được sự nhiễm trùng và ký sinh của vi sinh vật ở cơ thể.

Những vi sinh vật ký sinh trong cơ thể nhưng không xâm nhập vào mô thì không gọi là nhiễm trùng. Trong số những vi sinh vật ký sinh này, phần lớn là không gây bệnh, nhưng khi gặp điều kiện sống thuận lợi (như sự đề kháng của cơ thể suy giảm ví dụ trong bệnh AIDS) chúng có thể gây bệnh.

Chúng được gọi là vi sinh vật *gây bệnh cơ hội*. Nhiễm trùng cơ hội gặp không ít trong bệnh viện, với các bệnh nhân và nhân viên y tế, nhưng chủ yếu với bệnh nhân, vì khả năng đề kháng của họ suy yếu. Một số vi sinh vật ký sinh này cần thiết cho cơ thể, người ta gọi chúng là các VSV *cộng sinh*.

1.2. Các hình thái nhiễm trùng

Tuỳ vào mức độ nhiễm trùng, người ta thành các hình thái sau đây:

1.2.1. Bệnh nhiễm trùng: vi sinh vật gây ra các rối loạn cơ chế điều hòa của cơ thể, dẫn đến xuất hiện các dấu hiệu nhiễm trùng rõ rệt (như sốt, đau) và tìm thấy các vi sinh vật gây bệnh trong các bệnh phẩm.

Bệnh nhiễm trùng lại chia thành 2 loại:

- Bệnh nhiễm trùng cấp tính: triệu chứng bệnh rõ rệt và thường bệnh tồn tại trong một thời gian ngắn, sau đó bệnh nhân khỏi hoặc tử vong.
- Bệnh nhiễm trùng mạn tính: bệnh kéo dài, triệu chứng không dữ dội. Loại nhiễm trùng này do các vi sinh vật ký sinh bên trong tế bào (như bệnh lao, phong, giang mai...).

1.2.2. Nhiễm trùng thể ẩn: người bị nhiễm trùng không có dấu hiệu lâm sàng. Người ta thường không tìm thấy vi sinh vật gây bệnh trong bệnh phẩm, nhưng có thể có những thay đổi về công thức máu. Nhiễm trùng thể ẩn gặp nhiều hơn các bệnh nhiễm trùng. Hình thái nhiễm trùng này không nguy hiểm cho bệnh nhân, nhưng nó có thể là nguồn lây bệnh.

1.2.3. Nhiễm trùng tiềm tàng: VSV gây bệnh tồn tại ở một số cơ quan nào đó của cơ thể. Một ví dụ khá điển hình là trong thời niên thiếu, gần 100% trẻ em bị thuỷ đậu do virus Herpes. Tuy thuỷ đậu đã khỏi nhưng virus này vẫn cư trú ở hạch thần kinh giao cảm, khi bị suy giảm miễn dịch (như bị HIV/AIDS...) thuỷ đậu-Zona lại xuất hiện.

1.2.4. Nhiễm trùng chậm: loại nhiễm trùng này là do một số virus. Thời gian ủ bệnh của chúng thường rất dài. Điển hình là nhóm Lentivirus mà thành viên tiêu biểu là HIV, thời gian ủ bệnh kéo dài 7-10 năm.

Các mức độ của sự nhiễm trùng trên phụ thuộc vào sự tương quan giữa khả năng gây bệnh, số lượng của vi sinh vật và đường xâm nhập của chúng vào cơ thể, đối lại với khả năng đề kháng của cơ thể.

2. ĐỘC LỰC CỦA VI SINH VẬT VÀ ĐƠN VỊ ĐO ĐỘC LỰC

Độc lực (virulence) là mức độ của khả năng gây bệnh của vi sinh vật.

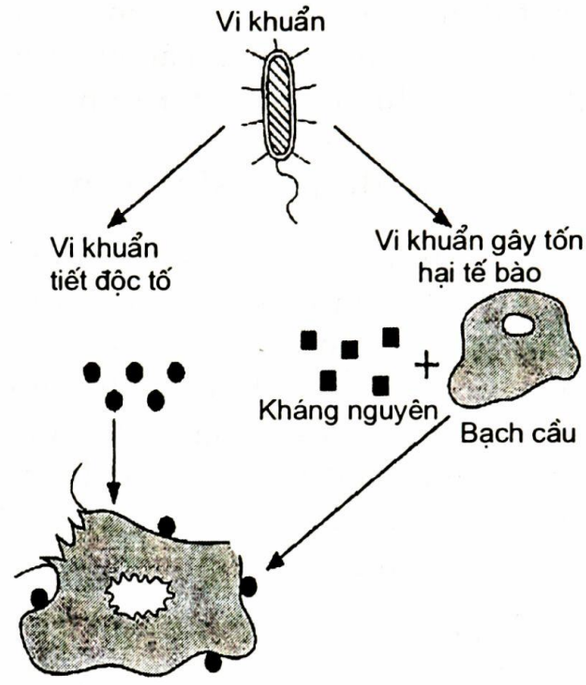
Khi nói tới độc lực của VSV phải đề cập tới đối tượng cụ thể mà vi sinh vật đó gây bệnh. Nhiều vi sinh vật chỉ gây bệnh cho một loại động, thực vật

nào đó. Đa số các vi sinh vật gây bệnh cho người không gây bệnh cho động vật và ngược lại. Tuy nhiên, cũng có một vài vi sinh vật gây bệnh cho cả hai (ví dụ như các vi khuẩn: dịch hạch, than, *Brucella*...) nhưng mức độ nặng nhẹ không giống nhau.

Để đo độc lực người ta thường dùng một số đơn vị, như MLD (minimal lethal dose-liều chết tối thiểu) và LD50 (50 percent lethal dose - liều chết 50%). Hai loại đơn vị này được định nghĩa cụ thể cho từng loại vi sinh vật hoặc độc tố của chúng.

3. CÁC YẾU TỐ ĐỘC LỰC CỦA VSV

3.1. Sự bám (adherence) vào tế bào: bám vào tế bào là điều kiện đầu tiên để VSV có thể xâm nhập vào mô và gây nhiễm trùng. Sự bám (hay là sự hấp phụ) trên bề mặt tế bào cảm thụ đặc hiệu của virus đã được biết đến từ rất lâu và đây là bước đầu tiên của sự nhân lên virus trong tế bào. Ngược lại vi khuẩn được phát hiện trước virus hơn một thế kỷ, nhưng sự bám của chúng mới được nghiên cứu vài thập kỷ vừa qua.



Hình 24. Cách gây bệnh nói chung của vi khuẩn

Một ví dụ rất điển hình của sự bám đặc hiệu vi khuẩn vào tế bào là ở Streptococcus salivarius, nó định cư chủ yếu ở lưỡi và rất ít ở bề mặt răng; còn Streptococcus pyogenes thì định cư chủ yếu ở họng miệng và là tác nhân chính gây viêm họng. Các thành phần bề mặt của vi khuẩn tham gia bám đặc hiệu là:

- Pili: thường có ở các vi khuẩn Gram âm, nó là các sợi lông bé và ngắn. Một số trong loại này có chức năng bám, nhờ vào các chuỗi amino acid đặc hiệu bám trên bề mặt các tế bào eucaryote, procaryote, ví dụ vi khuẩn lậu và nhiều vi khuẩn đường tiêu hóa.
- Fimbriae: loại này có hình dạng như pili, nhưng bé hơn. Thường có ở vi khuẩn Gram dương (như *S.pyogenes*) và có thể ở một số VK Gram âm. Chúng tham gia vào việc bám vào bề mặt tế bào.
- Polysaccharid bề mặt: ở một số chủng vi khuẩn đường ruột nhất định, đặc biệt là *S. mutant* chất glucan không hòa tan trong nước, bám xung quanh tế bào và bám dính vào bề mặt răng, gây nên sâu răng.

Các phân tử (cấu trúc) bám khác: ở một số loại vi khuẩn, đặc biệt là ở mycoplasma và một số xoắn khuẩn, hình như để bám vào tế bào biểu mô bởi

phần cuối của vùng màng đặc biệt. Mycoplasma không có vách tế bào, nó đã bám bởi protein bề mặt của màng vi khuẩn vào acid sialic của receptor tế bào chủ.

Yếu tố bám và độc lực:

Rõ ràng rằng sự bám là một yếu tố tạo nên khả năng của vi sinh vật gây nhiễm trùng tế bào chủ và là một yếu tố độc lực. Tuy nhiên không hoàn toàn như vậy, vì một số vi khuẩn không có độc lực vẫn có khả năng bám và ngược lại một số vi khuẩn độc lực, yếu tố bám không tương quan với độc lực. Người ta không ngạc nhiên, bởi vì độc lực là tập hợp của nhiều yếu tố và yếu tố bám chỉ là một điều kiện đầu tiên cho cả vi sinh vật gây bệnh và vi sinh vật ký sinh. Và do có vấn đề này nên các vi sinh vật ký sinh đã góp phần cạnh tranh với vi sinh vật độc lực về receptor tế bào, góp phần bảo vệ cơ thể.

3.2. Sự xâm nhập và sinh sản của vi sinh vật

Xâm nhập và sinh sản là các yếu tố quyết định của sự nhiễm trùng. Vì không có sự xâm nhập và sinh sản thì không có nhiễm trùng. Virus và các vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc thì chỉ gây bệnh được khi sinh sản bên trong tế bào. Còn nhiều vi khuẩn, dù không ký sinh nội bào bắt buộc, nhưng để gây nhiễm trùng chúng cũng phải xâm nhập vào mô. *Salmonella* bắt đầu sự xâm nhập bằng cách dính chặt vào diềm bàn chải ruột và các vi nhung mao bắt đầu thoái hóa. Khi vi khuẩn này xâm nhập vào tế bào, sự thoái hóa xẩy ra nhiều hơn và tạo thành những không bào chứa đựng một hoặc nhiều vi khuẩn.

Ngược lại với sự chui vào trong tế bào chủ của các vi khuẩn đã nêu trên, các vi khuẩn gây bệnh bằng ngoại độc tố như vi khuẩn tả, vi khuẩn ho gà, ETEC (Enterotoxigenic *E. coli*) đã không xâm nhập vào tế bào. Chúng làm tổn hại màng tế bào, sinh sản trên màng nhầy niêm mạc, sản xuất và tiết ra ngoại độc tố, các ngoại độc tố này thấm vào các tế bào và gây ra những tác dụng đặc hiệu nghiêm trọng cho cơ thể.

Khả năng sinh sản trong tế bào góp phần tạo nên độc lực cho vi sinh vật. Hình như là khả năng sinh sản này được xác định bởi nhu cầu dinh dưỡng và sự thích ứng với môi trường của vi khuẩn để phục vụ cho dinh dưỡng. Ví dụ *Chlamydia psittaci* ký sinh nội bào bắt buộc đã cạnh tranh với tế bào chủ về isoleucin ở trong tế bào, khi acid amino này quá ít, vi khuẩn không thể sinh sản. Cũng tương tự, các vi sinh vật yêu cầu ion kim loại cho sự thay đổi của các hoạt động sinh lý, nhu cầu ion kim loại là đặc biệt quan trọng.

3.3. Độc tố

Độc tố là những chất độc của vi sinh vật để gây bệnh. Nó gồm 2 loại là nội và ngoại độc tố.

* *Nội độc tố* là những chất độc gắn ở vách vi khuẩn Gram âm, bản chất hóa học là lipopolysaccharid (LPS), thường có ở các vi khuẩn Gram âm như

Salmonella, *Shigella*... Nội độc tố chịu được nhiệt độ sôi và không bị phân huỷ bởi protease; tính kháng nguyên yếu và không sản xuất được thành vacxin.

* *Ngoại độc tố* là những chất độc do vi khuẩn tiết ra môi trường; bản chất hóa học là protein nên không chịu được nhiệt độ sôi và protease; tính kháng nguyên tốt và có thể sản xuất thành vacxin; có độc lực rất cao (cao hơn nội độc tố). Ngoại độc tố có thể do cả vi khuẩn Gram dương (bạch hầu, uốn ván, hoại thư) và vi khuẩn Gram âm (ho gà, tả, ETEC của *E. coli*) tạo ra.

3.4. Một số enzym ngoại bào

Vi khuẩn có hai loại enzym ngoại bào. Một loại dùng cho phân cắt các phân tử có trọng lượng lớn để giúp cho vi khuẩn có thể hấp thu được. Loại khác là những enzym ngoại bào có vai trò độc lực và có liên quan đến khả năng gây bệnh. Nhưng bản thân chúng rất ít độc tính. Vai trò gây bệnh được biết rõ với hyaluronidase, còn các loại khác chưa được chứng minh đầy đủ.

- Hyaluronidase: enzym này được coi là yếu tố xâm nhập. Nó phân hủy acid hyaluronic của tổ chức liên kết để cho vi khuẩn xâm nhập sâu hơn vào mô. Nhiều vi khuẩn Gram dương sản xuất enzym này. Với vi khuẩn hoại thư (*C. perfringens*) khi dùng kháng thể chống enzym này thì nó không thể lan rộng được.
- Coagulase: enzym này có ở tụ cầu vàng và một số vi khuẩn khác. Nó hoạt hóa plasma của máu biến thành fibrin lắng đọng xung quanh vi khuẩn và những nơi tổn thương do vi khuẩn gây ra. Nhờ vậy đã ngăn cản được thực bào và tác dụng của kháng thể và kháng sinh.

  Coagulase dương tính để phân biệt tụ cầu vàng và tụ cầu da
- Fibrinolysin (còn gọi streptokinase): tụ cầu vàng và liên cầu có sản xuất enzym này. Nó hoạt hóa plasminogen thành plasmin dẫn tới làm tan tơ huyết. Do vậy đã làm tăng sự lan tràn của vi khuẩn.
- Hemolysin: nhiều vi khuẩn Gram dương và âm có enzym này. Ở vi khuẩn Gram âm, plasmid mang thông tin di truyền cho enzym này. Nó có ý nghĩa trong chẩn đoán vi sinh vật. Streptolysin của vi khuẩn liên cầu thuộc loại này. Hiệu giá kháng thể kháng streptolyzin O (được xác định bằng phản ứng ASLO) là một tiêu chuẩn dùng để chẩn đoán thấp và viêm cầu thận bán cấp.

3.5. Một số kháng nguyên bề mặt có tác dụng chống thực bào

- Kháng nguyên vỏ: vỏ của một số vi khuẩn (như phế cầu, *Hemophilus influenzae*, liên cầu, dịch hạch...) có tác dụng chống lại sự thực bào bằng cách bão hòa sự opsonin hóa nên đã giúp cho vi khuẩn tồn tại và gây bệnh. Nhưng vỏ của một số vi khuẩn đường ruột như *Klebsiella* và *E. coli* đã không có tác dụng này. Vi khuẩn dịch hạch có hai protein bề mặt là V và W đã đóng vai trò gây bệnh quan trọng. Hai kháng nguyên này gần như là vỏ của vi khuẩn.

- Kháng nguyên bề mặt: vi khuẩn thương hàn có kháng nguyên Vi (viết tắt chữ virulence) là yếu tố chống thực bào, giúp cho vi khuẩn thương hàn phát triển bên trong tế bào bạch cầu. Vi khuẩn lao có cấu trúc lớp vách đặc biệt (bao gồm nhiều yếu tố sợi và sáp), tạo nên sự đề kháng cao với thực bào. Do vậy vi khuẩn lao có thể sinh sản trong các tế bào thực bào và gây bệnh.

3.6. Các phản ứng quá mẫn (hypersensitivity)

Quá mẫn là những phản ứng miễn dịch có hại cho cơ thể. Trước đây người ta cho rằng miễn dịch chống nhiễm trùng là những phản ứng bảo vệ cơ thể. Nhưng gần đây, người ta khẳng định rằng phản ứng quá mẫn là cơ chế bệnh sinh của một số bệnh nhiễm trùng. Các vi khuẩn đường ruột gây bệnh bằng nội độc tố theo cơ chế Arthus. Virus sốt xuất huyết gây xuất huyết bằng phức hợp miễn dịch... Ngày nay, quá mẫn trong nhiễm trùng được cho là do một số lymphokin (TNF, IL6...) gây nên shock nhiễm trùng, điển hình là shock do nội độc tố.

3.7. Độc lực của virus

Độc lực của virus là tập hợp của nhiều yếu tố giúp cho vius nhân lên nhanh và gây tổn hại tế bào. Cũng giống như với vi khuẩn, độc lực của virus bao gồm các yếu tố bám, xâm nhập và nhân lên gây huỷ hoại tế bào dẫn đến biểu hiện của các bệnh nhiễm virus. Ngoài ra, virus gây bệnh là do tổn hại tế bào do virus bám và trong quá trình nhân lên của nó, nên độc lực của VR còn bao gồm các yếu tố sau:

- Virus bám trên màng tế bào cảm thụ, làm ảnh hưởng đến chức năng của màng này và đã gây ra sự suy thoái chức năng tế bào. Tuy tế bào chưa thoái hóa, nhưng chức năng không còn như cũ. Vấn đề này đã được chứng minh ở các tế bào TCD4 bị nhiễm HIV.
- Virus ngăn cản sự sinh tổng hợp các đại phân tử của tế bào để phục vụ cho sự nhân lên của nó.
- Virus làm thay đổi tính thấm của lysosom tế bào và có thể dẫn tới sự giải phóng các enzym.
- Các tiểu thể của virus trong tế bào đã phá hủy cấu trúc và chức năng tế bào, gây chết tế bào.
- Virus gây ra biến dạng nhiễm sắc thể.
- Virus gây ung bướu, gây ra chuyển dạng tế bào, gây loạn sản tế bào do mất sự kiểm soát kháng nguyên bề mặt.

3.8. Sự né tránh đáp ứng miễn dịch

Sự phát triển có tính chất biến hóa của vi sinh vật đã xuất hiện các vi sinh vật chống lại hệ thống bảo vệ của cơ thể, nói đúng hơn là cơ thể đã để lọt

lưới các biến chủng vi sinh vật né tránh được hệ thống phòng ngự của cơ thể. Và do vậy chúng tồn tại để gây bệnh.

- Sự ẩn dật của vi sinh vật: vi sinh vật chui vào tế bào để tránh tác dụng của kháng thể và kháng sinh. Vi khuẩn lao, hủi ký sinh bên trong tế bào, một số virus chui vào tế bào và gắn ADN của chúng vào nhiễm sắc thể.
- Vi khuẩn tiết ra các yếu tố ngăn cản hệ thống bảo vệ của cơ thể. Tụ cầu vàng tiết ra protein A bao xung quanh tế bào vi khuẩn, ngăn cản tác dụng của kháng thể IgG. Do protein A gắn với phần Fc của IgG. Phế cầu và não mô cầu tiết ra protease thủy phân IgA, một kháng thể quan trọng trong cơ chế ngăn cản vi sinh vật xâm nhập vào niêm mạc.
- Sự thay đổi kháng nguyên của vi sinh vật, điển hình như virus cúm và HIV đã hạn chế tác dụng của miễn dịch đặc hiệu.
- Các vi sinh vật đã tấn công hệ thống miễn dịch. Ví dụ các virus sởi và HIV đã đánh vào các tế bào hệ miễn dịch dẫn tới suy giảm miễn dịch. Điển hình là HIV xâm nhập và phá huỷ các tế bào lympho TCD4 và đại thực bào.

Nhiều virus, trước đây chỉ gây bệnh cho động vật, đã biến dị, trở nên gây bệnh cả cho người, một số đã gây thành dịch nguy hiểm như: HIV, SARS, cúm gia cầm...

Tóm lại: độc lực của vi sinh vật bao gồm nhiều yếu tố. Mỗi vi sinh vật có một số yếu tố độc lực quyết định. Cơ chế gây bệnh của vi sinh vật là phụ thuộc vào yếu tố độc lực. Vì vậy, nắm được các yếu tố độc lực của mỗi vi sinh vật sẽ giúp ta hiểu được các biện pháp phòng chống vi sinh vật.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Nhiễm trùng là gì và phân biệt giữa vi sinh vật gây nhiễm trùng và ký sinh?
2. Trình bày các hình thái nhiễm trùng và cho ví dụ?
3. Trình bày khái niệm độc lực và các đơn vị đo độc lực
4. Liệt kê các yếu tố độc lực của vi khuẩn và virus
5. Để gây được nhiễm trùng vi sinh vật cần có các điều kiện gì?
6. Vi sinh vật né tránh miễn dịch do các yếu tố nào?
7. Vì sao các vi sinh vật mới xuất hiện lại gây ra các bệnh dịch rất đáng quản ngại?

KHÁNG NGUYÊN VI SINH VẬT

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các thành phần kháng nguyên của vi khuẩn và ý nghĩa.*
2. *Trình bày được các thành phần kháng nguyên của virus và ý nghĩa.*

Trước khi nghiên cứu các thành phần kháng nguyên vi sinh vật, chúng ta hãy xem lại một số khái niệm cơ bản về kháng nguyên.

1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM CƠ BẢN VỀ KHÁNG NGUYÊN

1.1. Định nghĩa kháng nguyên

Kháng nguyên là những chất khi xuất hiện trong cơ thể thì tạo ra kích thích đáp ứng miễn dịch và kết hợp đặc hiệu với những sản phẩm của sự kích thích đó (kháng thể và/hoặc lympho T).

1.2. Hai tính chất cơ bản của kháng nguyên

- Tính sinh miễn dịch (immunogenicity) là khả năng kích thích cơ thể tạo ra đáp ứng miễn dịch.
- Tính đặc hiệu (specificity) là khả năng kết hợp đặc hiệu của kháng nguyên với kháng thể mà nó đã kích thích tạo ra.

1.3. Kháng nguyên hoàn toàn và bán kháng nguyên

- Kháng nguyên hoàn toàn (complete antigen) là những kháng nguyên có khả kích thích đáp ứng miễn dịch và kết hợp đặc hiệu với kháng thể. Kháng nguyên này thường là polypeptid hoặc các phức hợp protid. Ví dụ như enzym hoặc ngoại độc tố.
- Bán kháng nguyên (hapten) là những kháng nguyên không có khả năng kích thích tạo ra kháng thể, nhưng kết hợp đặc hiệu với kháng thể. Bản chất hóa học của hapten thường là acid nucleic hoặc lipid, hay chuỗi ngắn polysaccharid; ví dụ như vỏ polysaccharid của nhiều vi khuẩn hoặc ADN của các vi sinh vật.

2. KHÁNG NGUYÊN VI KHUẨN

Vi khuẩn là những tế bào và bao gồm nhiều thành phần cấu tạo. Vì vậy nó bao gồm nhiều loại kháng nguyên. Dưới đây là những loại kháng nguyên chính và thường được sử dụng trong phân loại và xác định vi khuẩn:

2.1. Ngoại độc tố

Một số vi khuẩn có ngoại độc tố (tả, *Shigella shiga*, uốn ván, hoại thư, bạch hầu). Đây là những chất độc có độc lực cao, do các vi khuẩn tiết ra bên ngoài tế bào.

Về bản chất hóa học, ngoại độc tố là những protein hoặc polypeptid, nên chúng đều là những kháng nguyên tốt. Tuy nhiên một số ngoại độc tố là những chuỗi ngắn polypeptid và có thêm một số đường đơn hoặc lipid, nên tính kháng nguyên của chúng yếu và tính chịu nhiệt của chúng cao hơn. Ví dụ độc tố ruột của tụ cầu vàng hoặc ST (stable toxin) của *E. coli*.

Hầu hết các ngoại độc tố có thể xử lý với formalin (0,5%) ở 37°C (1 đến 2 tháng) để khử đi tính độc gọi là giải độc tố (anatoxin) nhưng vẫn còn tính kháng nguyên. Thực sự là kháng nguyên của giải độc tố có bị thay đổi đi một số nhóm bề mặt. Vì thế độc tính bị mất đi, nhưng nhiều quyết định kháng nguyên (epitop) vẫn không thay đổi, nên vẫn giữ được tính đặc hiệu kháng nguyên của ngoại độc tố. Kháng thể chống lại giải độc tố cũng chống lại ngoại độc tố, làm mất khả năng gây bệnh của ngoại độc tố, bằng cơ chế trung hoà. Hiện nay vacxin bạch hầu, ho gà và uốn ván được bào chế từ ngoại độc tố của ba vi khuẩn này. Kháng nguyên ngoại độc tố do có tính đặc hiệu cao nên cũng được sử dụng phân loại với một số vi khuẩn. Tuy nhiên, ở một số vi khuẩn, các týp (biotype hoặc serotype) khác nhau nhưng tính đặc hiệu kháng nguyên ngoại độc tố giống nhau (ví dụ như ở vi khuẩn bạch hầu), và vì thế không thể phân loại các vi khuẩn này theo tính kháng nguyên của ngoại độc tố.

2.2. Kháng nguyên enzym

Ngoài enzym nội bào, một số vi khuẩn còn có enzym ngoại bào. Loại enzym này gồm hai loại: enzym chuyển hóa và enzym độc lực. Enzym chuyển hóa có chức năng phân huỷ các phân tử chất dinh dưỡng thành những đoạn ngắn hơn để có thể vận chuyển được qua màng tế bào. Trong bài này, chúng ta không quan tâm đến loại enzym chuyển hóa, mà quan tâm tới enzym độc lực.

Ở một số vi khuẩn có các enzym độc lực như hyalurokinase, leucocidin, hemolysin, coagulase... Các enzym này có tính kháng nguyên tốt và kích thích tạo thành các kháng thể đặc hiệu. Các kháng thể này có thể sử dụng để trung hoà tác dụng gây bệnh của enzym, như người ta đã dùng kháng thể chống hyaluronidase, để ngăn cản sự lan tràn của *Clostridium perfringens* gây bệnh hoại thư.

Một số kháng nguyên enzym cũng được sử dụng trong chẩn đoán. Ví dụ người ta đã sử dụng streptolysin O của liên cầu nhóm A để chẩn đoán bệnh thấp, bằng phản ứng ASLO.

2.3. Kháng nguyên vách tế bào (kháng nguyên thân O)

Trừ *Mycoplasma*, còn mọi vi khuẩn đều có vách. Vách vi khuẩn có thành phần hóa học cơ bản là peptidoglycan. Ngoài thành phần này ra, vách còn bao gồm một số lớp khác, tuỳ theo loại vi khuẩn và tính chất bắt màu Gram của chúng:

– Vi khuẩn Gram dương:

Ngoài lớp peptidoglycan, ở nhiều vi khuẩn Gram dương còn có thêm lớp acid teichoic bám bên ngoài. Acid này và/hoặc lớp polysaccharid tạo nên tính đặc hiệu kháng nguyên O.

Một số vi khuẩn còn có một số kháng nguyên khác bao ngoài lớp acid teichoic và polysaccharid, như protein M (của liên cầu hoặc phế cầu), protein A (của tụ cầu vàng), hoặc lớp sáp (của *Mycobacterium*).

Tuỳ mỗi loại vi khuẩn mà một trong các lớp trên quyết định tính đặc hiệu kháng nguyên thân của chúng.

– Vi khuẩn Gram âm:

Cấu trúc kháng nguyên của vách vi khuẩn Gram âm phức tạp hơn các vi khuẩn Gram dương nhưng giữa các vi khuẩn Gram âm có các lớp kháng nguyên vách gần như nhau. Tính đặc hiệu được quyết định bởi lớp polysaccharid ngoài cùng.

Lớp cơ bản nhất của vách vi khuẩn Gram âm vẫn là peptidoglycan. Bao bên ngoài lớp này là các lớp phospholipid A và B (lớp này quyết định tính độc của nội độc tố), sau đó là hai lớp polysaccharid. Lớp polysaccharid không mang tính đặc hiệu. Kháng nguyên của nội độc tố có bản chất hóa học là lipopolysaccharid, nên thường được viết tắt là LPS. Tính đặc hiệu của kháng nguyên O và của LPS là một. Nhưng tính miễn dịch thì có khác nhau: kháng nguyên O ngoài LPS còn bao gồm cả lớp peptidoglycan, nên tính sinh miễn dịch của nó mạnh hơn LPS.

LPS của các vi khuẩn Gram âm, tuy có tính đặc hiệu riêng, nhưng cấu trúc của chúng được lặp lại nhiều lần các đoạn giống nhau (có các quyết định kháng nguyên như nhau). Trong quá trình kích thích tạo ra đáp ứng miễn dịch, LPS chủ yếu kích thích các dòng lympho B để sản xuất các kháng thể. Các kháng thể này mang tính đa đặc hiệu vì chúng được sản xuất từ nhiều clone lympho B. LPS được coi là tác nhân hoạt hóa đa dòng. Vì những lý do trên LPS không được sử dụng để sản xuất thành vacxin.

Ở một số vi khuẩn Gram âm, như lậu cầu, bao bên ngoài lớp polysaccharid còn có một vài lớp protein. Nhưng não mô cầu có các thành phần kháng nguyên

thân như các trực khuẩn đường ruột (hoàn toàn giống với các lớp đã mô tả trên) và giữa chúng có các kháng nguyên chéo.

2.4. Kháng nguyên vỏ (kháng nguyên K - kapsule)

Một số vi khuẩn có vỏ bao bên ngoài vách tế bào, như: phế cầu, *H.influenzae*, dịch hạch, não mô cầu, than và một số vi khuẩn đường ruột. Bản chất hóa học của vỏ vi khuẩn có hai loại:

- Polypeptid, như vỏ của các vi khuẩn than, dịch hạch. Các polypeptid này được tổng hợp từ các acid amin dạng D.
- Polysaccharid là vỏ của các vi khuẩn còn lại, nhưng rất khác nhau trong thành phần cấu tạo và cấu trúc. Chúng thường là heteropolysaccharid được tổng hợp từ acid uronic với các đường khác (D glucose, D galactose, D mantose...). Chúng có thể có nhánh hoặc không nhánh. Vỏ của vi khuẩn được tổng hợp từ bào tương tế bào.

Do bản chất hóa học trên nên vỏ của vi khuẩn gây miễn dịch không mạnh, nhưng khi gắn với tế bào vi khuẩn, thì vỏ vẫn gây được miễn dịch. Kháng nguyên vỏ được dùng trong phân loại một số vi khuẩn, như định týp phế cầu, phân loại não mô cầu hoặc *Salmonella*.

Khi vỏ bị kết hợp bởi các kháng thể đặc hiệu thì sẽ hình thành phản ứng phình vỏ (Quellung) và người ta có thể quan sát bằng phương pháp nhuộm mực tầu. Đây là phương pháp quan sát vỏ.

2.5. Kháng nguyên lông (kháng nguyên H)

Nhiều trực khuẩn có lông, như các trực khuẩn đường ruột (trừ *Shigella, Klebsiella*), phẩy khuẩn tả, *Helobacter pylori*, trực khuẩn mủ xanh.

Lông mọc từ nguyên sinh chất, chui qua vách tế bào bằng thể cơ bản, sau đó chui qua móc. Sợi lông (filament) dài 15-25 nm và đường kính khoảng 5 nm. Sợi lông được tạo thành bởi các protein sợi (flagellin). Các flagellin được tổng hợp từ các acid amin dạng D (dạng ít gặp trong tự nhiên). Do đó việc xử lý kháng nguyên của các tế bào miễn dịch không thuận lợi và đáp ứng kháng thể không mạnh.

Khi các sợi lông bị kết hợp bởi các kháng thể đặc hiệu, lông sẽ bị bất động, vi khuẩn không thể di chuyển được. Kháng nguyên lông cũng được dùng để phân loại một số vi khuẩn, như *Salmonella*.

3. CÁC THÀNH PHẦN KHÁNG NGUYÊN CỦA VIRUS

Ngoài kháng nguyên của hạt virus, một số loại virus cũng có kháng nguyên hòa tan (là các enzym cấu trúc hoặc các thành phần cấu tạo được tổng hợp thừa) nhưng ít có vai trò trong chẩn đoán và phân loại virus. Vì vậy trong bài này chỉ đề cập tới kháng nguyên cấu trúc của virus.

3.1. Kháng nguyên nucleoprotein

Acid nucleic đóng vai trò là hapten, nhưng nucleoprotein (acid nucleic cộng với capsid) là kháng nguyên hoàn toàn. Nhóm Pox chiếm 50% trọng lượng virus và ở virus cúm, ribonucleoprotein là kháng nguyên đặc hiệu týp. Đây là thành phần kháng nguyên duy nhất của các virus không có envelop.

3.2. Kháng nguyên capsid

Đây là những kháng nguyên quan trọng, và là kháng nguyên nucleoprotein khi loại bỏ acid nucleic). Kháng nguyên này được dùng trong phân loại và vacxin của nhiều virus, ví dụ các *Picornavirus*.

3.3. Kháng nguyên envelop

Vỏ envelop thường là glycoprotein của gai nhú cắm trên màng dilipid. Gai nhú là những kháng nguyên rất quan trọng để xác định các virus có vỏ . Gai nhú cũng là phân tử bám và xâm nhập của nhiều virus nên nó là thành phần quan trọng của vacxin, như HIV, các Myxovirus...

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Kể tên các loại kháng nguyên của vi khuẩn và ý nghĩa?
2. Các thành phần kháng nguyên hoà tan của vi khuẩn và ý nghĩa?
3. Các loại kháng nguyên tế bào của vi khuẩn: bản chất hóa học và ý nghĩa?
4. Các loại kháng nguyên của virus và ý nghĩa?

SỰ ĐỀ KHÁNG CỦA CƠ THỂ VỚI VI SINH VẬT GÂY BỆNH

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các khái niệm về hai hệ thống phòng ngự của cơ thể.*
2. *Mô tả được các hàng rào của hệ thống phòng ngự không đặc hiệu.*
3. *Trình bày được vai trò của kháng thể và lympho T trong chống nhiễm trùng.*

Dù các vi sinh vật có đủ các điều kiện gây bệnh (độc lực, số lượng cần thiết và đường xâm nhập thích hợp), nhưng bệnh nhiễm trùng có xảy ra hay không còn phụ thuộc vào sự đề kháng của cơ thể (còn gọi là miễn dịch của cơ thể). Sự đề kháng của cơ thể là tập hợp của nhiều hệ thống và yếu tố, chúng hỗ trợ nhau để tạo nên sự bảo vệ. Người ta thường chia chúng thành 2 hệ thống lớn.

1. HỆ THỐNG PHÒNG NGỰ TỰ NHIÊN (miễn dịch tự nhiên, miễn dịch không đặc hiệu)

Hệ thống này gồm nhiều hàng rào vốn có của cơ thể. Nó chống đối với sự xâm nhập của VSV, mà không cần có sự tiếp xúc trước với vi sinh vật. Nên người ta gọi nó là miễn dịch tự nhiên hay miễn dịch không đặc hiệu.

1.1. Hàng rào da và niêm mạc

Đây là hàng rào đầu tiên chống lại sự xâm nhập của các VSV bằng các cơ chế sau:

1.1.1. Cơ chế vật lý

Với lớp da gồm nhiều lớp tế bào và lớp niêm mạc được phủ bởi lớp màng nhầy đã ngăn cản sự xâm nhập của nhiều VSV. Sự bài tiết các chất như mồ hôi, nước mắt và các dịch trên niêm mạc, đã tăng cường khả năng bảo vệ của lớp áo này.

1.1.2. Cơ chế hóa học

- pH: pH của dạ dày (là 2) là hàng rào lớn nhất trên đường tiêu hóa. Phần lớn các VSV theo thức ăn và nước uống bị diệt tại đây. pH của da và âm

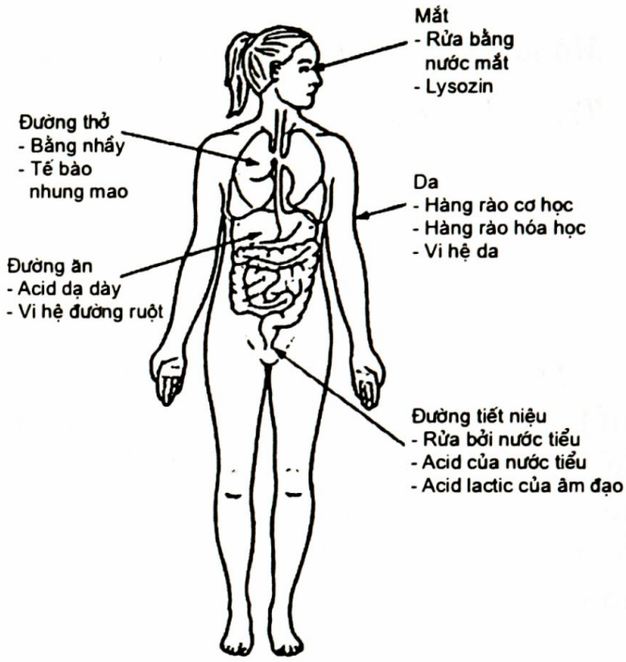
đạo khoảng 4, là pH không thích hợp cho phần lớn các VSV gây bệnh phát triển. Lysozym là một enzym thủy phân liên kết vách vi khuẩn. Enzym này được bài tiết nhiều từ các tuyến của niêm mạc, nước mắt và nước miếng.

- Spermin có trong tinh dịch nó cũng có tác dụng diệt khuẩn.
- Trên da còn có một số acid béo không bão hòa, chúng có tác dụng chống lại một số vi sinh vật gây bệnh.

1.1.3. Cơ chế cạnh tranh

Trên da và niêm mạc có nhiều vi sinh vật cư trú và chúng tạo thành các hệ sinh thái. Các hệ sinh thái này có sự khác nhau giữa các vùng da và các khoang của cơ thể, do sự phân bố của các vi sinh vật khác nhau giữa các vùng. Khi các vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào da và niêm mạc, chúng sẽ bị sự cạnh tranh chỗ bám (receptor) của các vi sinh vật tại chỗ và chính điều này tạo nên sự bảo vệ cho cơ thể.

Da và niêm mạc là hàng rào bảo vệ đầu tiên, nếu hàng rào này bị tổn thương thì nhiều vi sinh vật có thể xuyên qua để đi sâu vào cơ thể và tất nhiên chúng sẽ gặp hàng rào tế bào.



Hình 25. Các yếu tố bảo vệ của da và niêm mạc

1.2. Hàng rào tế bào

Hàng rào này bao gồm các tế bào thực bào (đơn nhân, đại thực bào và bạch cầu trung tính) và tế bào diệt tự nhiên:

1.2.1. Bạch cầu có nhân đa hình (bạch cầu đa nhân trung tính còn gọi là tiểu thực bào)

Chúng là đội quân cơ động có trong máu và hệ bạch huyết. Nhiệm vụ của nó là bắt và tiêu hóa các vi sinh vật. Còn sự tiêu hóa của các vi sinh vật là nhờ các enzym có trong các lysosom và còn có thể do một số anion được sinh ra do quá trình hô hấp tế bào. Nó chỉ bắt và tiêu hóa được các vật lạ có kích thước bé nên gọi là tiểu thực bào.

1.2.2. Các tế bào đơn nhân thực bào và đại thực bào

Loại tế bào này khi ở trong máu thì gọi là tế bào đơn nhân (monocyte), nhưng chúng ở trong các tổ chức thì gọi là đại thực bào (macrophage) với các

tên khác nhau tuỳ theo tổ chức mà nó cư trú (ở gan gọi là tế bào Kuffer, ở hạch lympho gọi là đại thực bào tự do và cố định...). Sở dĩ gọi là đại thực bào vì nó có thể bắt được các dị vật lớn như bụi than. Đại thực bào có các vai trò sau:

- Bắt và tiêu hóa các vi sinh vật (giống ở bạch cầu trung tính)
- Trình diện kháng nguyên cho các tế bào miễn dịch gây ra phản ứng miễn dịch.
- Tham gia vào miễn dịch tế bào bởi cơ chế không đặc hiệu.
- Bài tiết các yếu tố bảo vệ: bổ thể, interferon, lysozym và một số yếu tố kích thích phân bào khác.

1.2.3. Tế bào diệt tự nhiên (Natural killer - NK):

Loại tế bào này tìm thấy ở máu ngoại vi của đa số người. Chúng khác với tế bào lympho B, T, đại thực bào và bạch cầu trung tính. Các tế bào đích có thể là tế bào bị nhiễm virus hoặc tế bào ung thư và trình diện kháng nguyên lên bề mặt tế bào. Tác dụng diệt tế bào đích rất rõ với NK khi tế bào đích nhiễm các virus có vỏ envelope. Nó tiêu diệt tế bào đích và các virus có trong tế bào này. Hoạt tính này tăng lên khi NK bị kích thích bởi interferon. NK còn có khả năng tiêu diệt vi sinh vật theo kiểu ADCC (xem thêm phần "Kháng thể").

1.3. Hàng rào thể dịch

Các yếu tố bảo vệ sẵn có trong máu và các dịch của cơ thể là bổ thể (BT), propecdin, interferon và các kháng thể tự nhiên.

1.3.1. Bổ thể (BT, complememt)

1.3.1.1. Tính chất

BT là một hệ thống protein bao gồm 11 thành phần (hiện nay, người ta cho rằng, nó có 40 thành phần), sẵn có trong huyết thanh, thường bị hoạt hóa bởi phức hợp miễn dịch (một số trường hợp có thể bị hoạt hóa theo con đường tắt, không cần phức hợp miễn dịch).

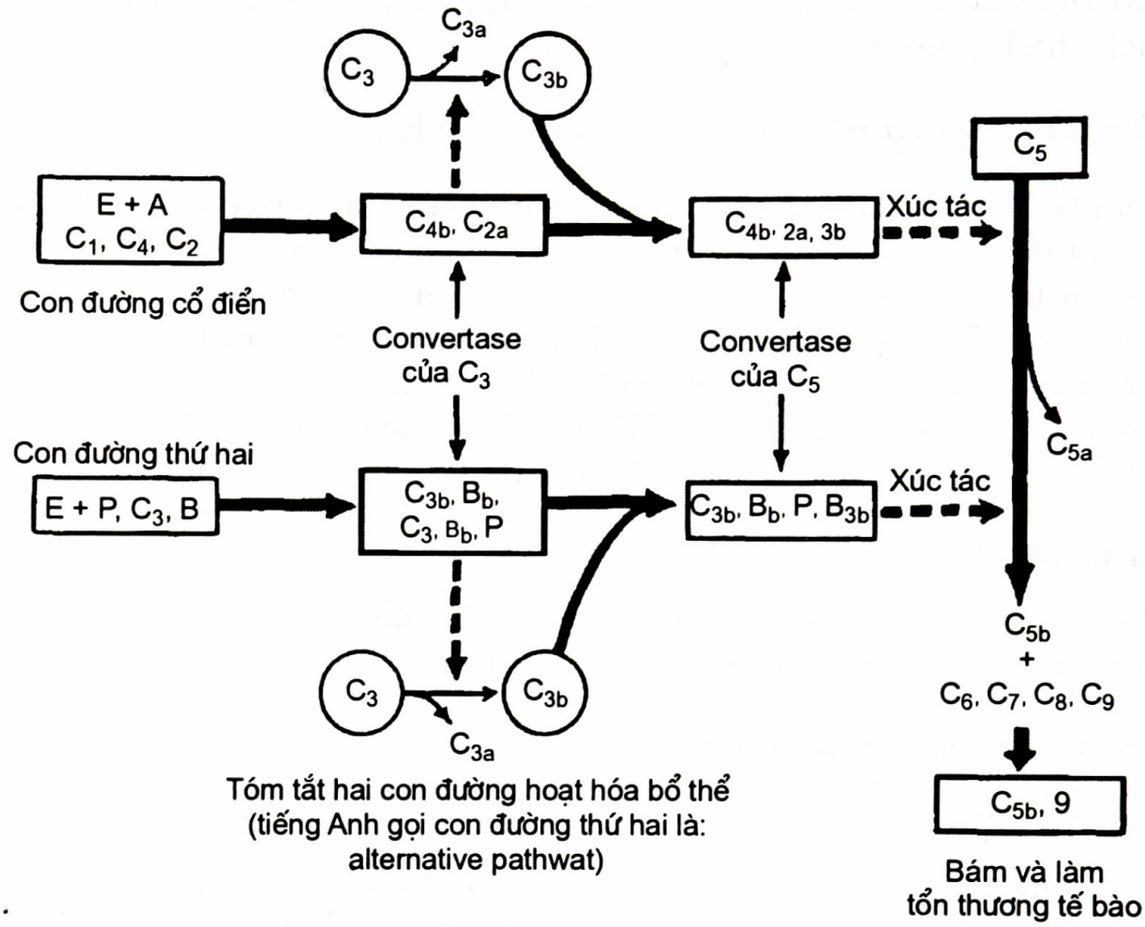
1.3.1.2. Tác dụng sinh học

- Bổ thể khi được hoạt hóa bởi kháng thể và kháng nguyên có thể làm tan các VK Gram âm, VR, *Rickettsia* và tiêu diệt các VK Gram dương. Bản thân BT khi chưa hoạt hóa cũng có thể làm tan các VR.
- BT làm tăng sự kết dính miễn dịch và sự thực bào vì bổ thể có receptor (c3b) trên các tế bào thực bào.
- BT có hoạt tính phản vệ do giãn mạch (c3a, c5a).
- BT có tác dụng thu hút bạch cầu.

1.3.2. Propecdin

Propecdin là một hệ thống protein có trong huyết thanh. Propecdin có các tác dụng sau:

- Kết hợp với zymozan (là một loại polysacarit có trên bề mặt một số VSV) khi có xúc tác của ion Mg^{2+}, như một kháng thể tự nhiên.
- Hoạt hóa bổ thể theo con đường tắt.



Hình 26. Hai con đường hoạt hóa bổ thể

A. Kháng nguyên; E. Tế bào hoặc vi sinh vật; C. Bổ thể

1.3.3. Interferon (IFN)

1.3.3.1. Tính chất

- IFN là những polypeptid có trọng lượng phân tử thấp (20.000 – 30.000 dalton) không bị phân hủy bởi pH từ 2 đến 10.
- Nó không có tác dụng đặc hiệu kháng nguyên, nhưng lại có tính đặc hiệu loài (IFN của loài động vật nào sản xuất ra chỉ có tác dụng với loài đó), IFN tạo ra do virus có tác dụng trên virus khác trong cùng mà IFN đã tạo ra.

- IFN xuất hiện rất nhanh (1 giờ sau khi tiêm chất kích thích).
- Trong cơ thể, IFN của tế bào này tiết ra có tác dụng với các tế bào xung quanh và qua đường máu tác dụng với các tế bào xa hơn.
- Có thể dùng IFN nội sinh (do kích thích cơ thể sản xuất bằng interferonogen) và IFN ngoại sinh (sản xuất in vitro) để phòng và chữa một số bệnh do virus.

1.3.3.2. Các loại IFN, nguồn gốc và tác dụng

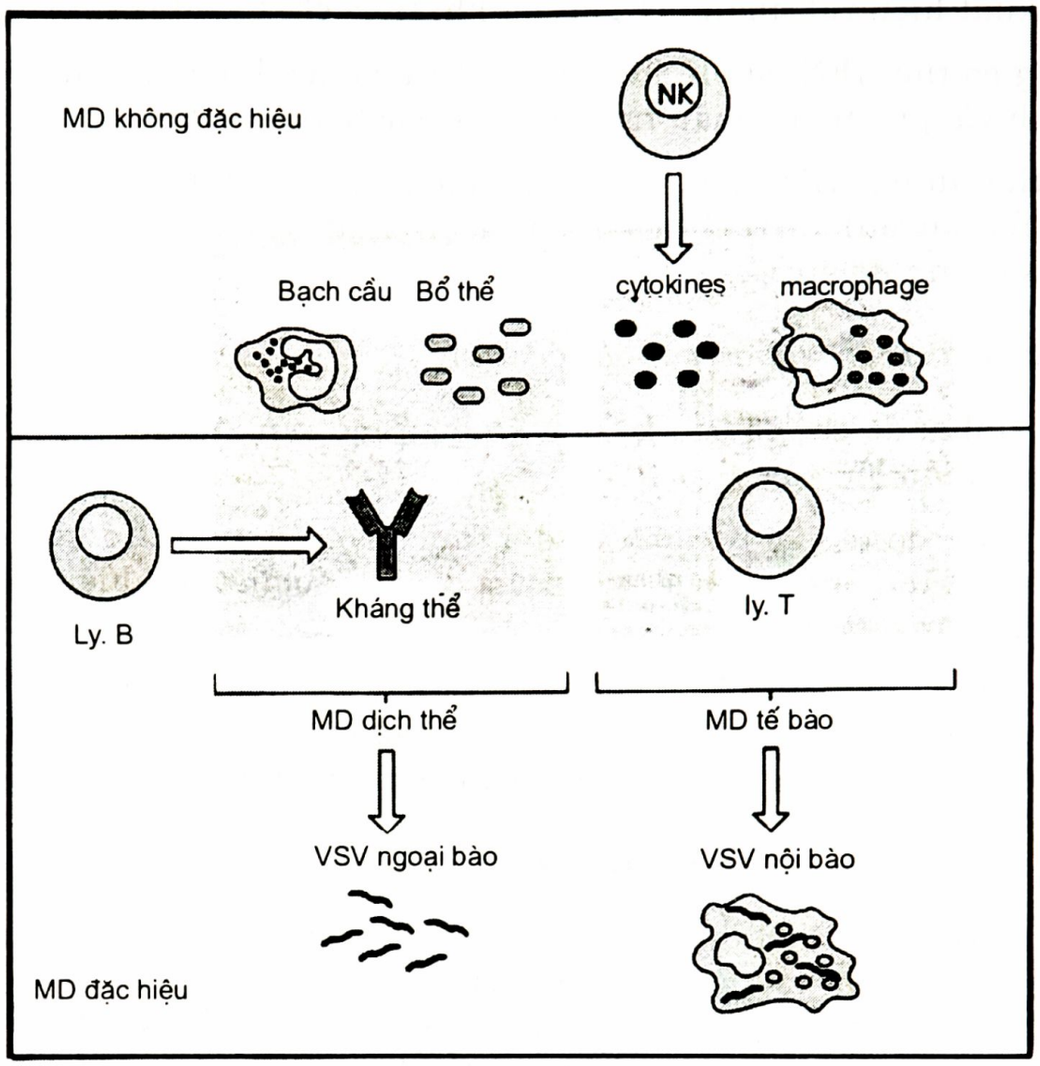
- IFN alpha: do các tế bào xơ non và biểu mô sản xuất, có tác dụng ngăn cản sự nhân lên của virus.
- IFN beta: do tế bào lympho và đại thực bào sản xuất. Có tác dụng ngăn cản sự nhân lên của virus. Hoạt hóa các tế bào diệt tự nhiên (NK), chống nhiễm trùng và ung thư.
- IFN gama, còn gọi là IFN miễn dịch. Do tế bào lympho T_{CD4} sản xuất, tác dụng như một lymphokin, có tác dụng điều hòa miễn dịch. Hoạt hóa các tế bào diệt tự nhiên và đại thực bào, chống nhiễm trùng và chống ung thư.

1.3.4. Kháng thể tự nhiên (natural antibody)

Kháng thể tự nhiên là những kháng thể có sẵn trong máu, mà không rõ đã có sự tiếp xúc với kháng nguyên tương ứng. Tuy với một số lượng rất ít, nhưng kháng thể này đã làm tăng sự đề kháng đáng kể với kháng nguyên tương ứng hoặc kháng nguyên chéo. Vì vậy kháng thể này sẵn có và nó làm tăng khả năng miễn dịch. Trẻ em một năm tuổi, tỷ lệ kháng thể chống phế cầu và *E. coli* cao hơn nhiều tỷ lệ nhiễm các vi khuẩn này.

1.4. Miễn dịch chủng loại

Các loài động vật khác nhau có khả năng đề kháng không giống nhau với các vi sinh vật. Ngay trong cùng một loài động vật, sự đề kháng cũng có sự khác biệt. Người ta đã nghiên cứu và thấy 70% người Mỹ da đen có sự đề kháng với ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium vivax*, ngược lại những người Mỹ da trắng hoàn toàn nhạy cảm với ký sinh trùng này. Sự khác biệt này là do ở bề mặt hồng cầu người Mỹ da đen thiếu các phân tử tiếp nhận cho *P. vivax*, còn ở người Mỹ da trắng thì không có hiện tượng này. Thực chất miễn dịch chủng loại là phụ thuộc vào di truyền chủng loại động vật.

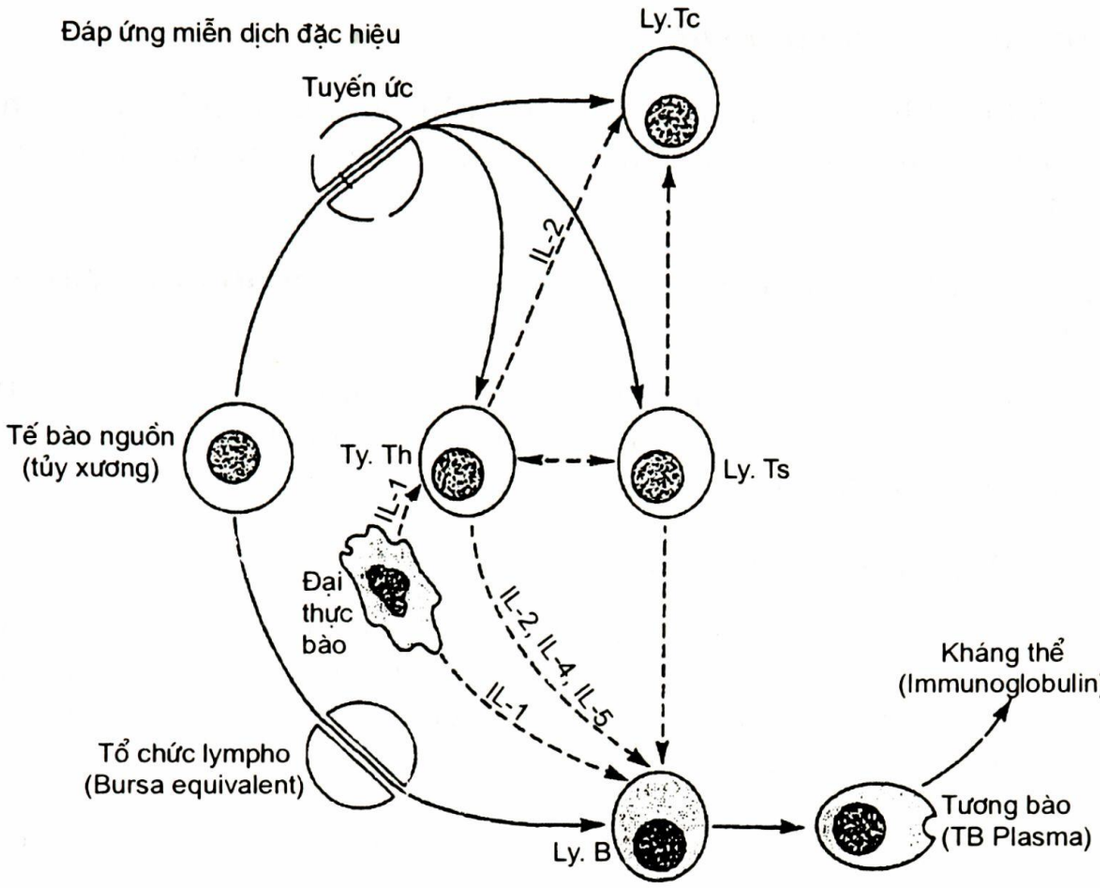


Hình 27. Kết hợp miễn dịch đặc hiệu và không đặc hiệu bảo vệ cơ thể

2. HỆ THỐNG PHÒNG NGỰ ĐẶC HIỆU (còn gọi là miễn dịch đặc hiệu, miễn dịch thu được)

Hệ thống phòng ngự tự nhiên rất quan trọng, vì nó chống đối tức thì với các vi sinh vật gây bệnh. Nhưng với các vi sinh vật có độc lực cao, cơ thể cần có hệ thống phòng ngự đặc hiệu. Hệ thống này sẽ loại trừ các vi sinh vật gây bệnh nguy hiểm hơn ra khỏi cơ thể, giúp cho cơ thể hồi phục và duy trì miễn dịch.

Hệ thống phòng ngự đặc hiệu có được khi cơ thể đã tiếp xúc với một vi sinh vật gây bệnh nào đó (do nhiễm trùng hoặc do dùng vacxin), sau đó có được sự đề kháng với vi sinh vật đó. Vậy sự tiếp xúc của cơ thể với vi sinh vật hay nói đúng hơn là với các kháng nguyên của vi sinh vật sẽ dẫn tới có được miễn dịch chống lại vi sinh vật đó. Vì lẽ này mà người ta gọi chúng là miễn dịch thu được hay miễn dịch đặc hiệu. Miễn dịch đặc hiệu có 2 loại là *miễn dịch dịch thể* (kháng thể) và *miễn dịch tế bào* (lympho T). Chúng ta sẽ lần lượt đề cập tới 2 loại này.



Hình 28. Sơ đồ đáp ứng miễn dịch đặc hiệu

Từ tế bào nguồn (tuỷ xương) cho các tế bào lympho đi về tuyến ức (thymus) và biệt hoá trở thành lympho T (LT) và tế bào lympho đi về Bursa equivalent (tổ chức lympho) biệt hoá thành lympho B (LB). Các tế bào này được hoạt hoá bởi kháng nguyên do đại thực bào và trở thành các tế bào LT và LB có thẩm quyến miễn dịch với kháng nguyên. LT thành các tế bào Th (T-helper, T_{CD4}) sản xuất ra các interleukin (IL) điều hoà hệ thống miễn dịch, Tc (cytotoxic cell) tế bào diệt, Ts (tế bào ức chế miễn dịch). LB trở thành tế bào plasma sản xuất kháng thể miễn dịch.

2.1. Các cơ chế bảo vệ của kháng thể trong chống nhiễm trùng

Tất cả các cơ chế của kháng thể trong chống nhiễm trùng đều xuất phát từ chức năng cơ bản của kháng thể là kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên của các vi sinh vật. Sự kết hợp đặc hiệu này sẽ biểu hiện thành các cơ chế chống nhiễm trùng khác nhau:

2.1.1. Ngăn cản sự bám của các vi sinh vật vào các niêm mạc

IgA tiết (IgAs) thường gắn trên niêm mạc đường hô hấp và tiêu hóa. Kháng thể này có thể kết hợp đặc hiệu với các kháng nguyên vi sinh vật và ngăn cản vi sinh vật bám vào niêm mạc.

2.1.2. Trung hòa độc lực của virus, Rickettsia, ngoại độc tố và enzym

Các IgG, IgA và IgM khi kết hợp đặc hiệu với các kháng nguyên trên, đã làm cho các virus, Rickettsia, ngoại độc tố và enzym mất khả năng gây bệnh vì các vi sinh vật này không thể bám vào được vào các tế bào cảm thụ.

2.1.3. Làm tan các vi sinh vật

IgG và IgM khi kết hợp với kháng nguyên (là các vi sinh vật) đã hoạt hóa bổ thể dẫn tới làm tan các vi khuẩn Gram dương, virus và tiêu diệt các vi khuẩn Gram âm.

2.1.4. Ngưng kết các vi sinh vật, kết tủa các sản phẩm hòa tan của các vi sinh vật

Các IgG, IgA và IgM khi kết hợp với các vi sinh vật đã gây nên sự ngưng kết các vi sinh vật này. Các loại kháng thể trên khi kết hợp với các sản phẩm hòa tan của các vi sinh vật cũng gây nên sự kết tủa các sản phẩm này.

2.1.5. Làm tăng sự thực bào do sự opsonin hóa

Các IgG và IgM khi đã kết hợp với vi sinh vật và sản phẩm của chúng có thể hoạt hóa BT. Phức hợp miễn dịch này làm dễ dàng cho các tế bào thực bào bắt (opsonin hóa) và tiêu hóa các kháng nguyên. Sở dĩ có hiện tượng này là do các tế bào thực bào có các phân tử tiếp nhận với Fc của IgG và C3b của BT.

2.1.6. Độc sát tế bào phụ thuộc vào kháng thể (ADCC: antibody-dependent cytotoxic cell)

Các tế bào null (một dạng tế bào lympho, nhưng không phải lympho B và T) có đặc tính gắn được Fc của IgG trên bề mặt của nó và phần Fab của kháng thể này vẫn có thể kết hợp đặc hiệu với các tế bào đích. Tế bào đích có thể là tế bào ung thư hoặc tế bào bị nhiễm virus với sự xuất hiện kháng nguyên đặc hiệu trên mặt tế bào. Hiện nay, tế bào NK được coi là tế bào null. Sự kết hợp này đã làm tan tế bào đích.

2.2. Các cơ chế của miễn dịch tế bào trong chống nhiễm trùng

2.2.1. Vai trò của miễn dịch tế bào trong chống nhiễm trùng

Kháng thể có vai trò rất quyết định trong chống nhiễm trùng. Với các vi sinh vật ký sinh ngoài tế bào thì kháng thể, BT và các tế bào thực bào đã có thể hoàn toàn làm mất độc lực của vi sinh vật và loại trừ chúng ra khỏi cơ thể. Nhưng với các vi sinh vật ký sinh bên trong tế bào (mầm bệnh nội tế bào), kháng thể chỉ có tác dụng ở giai đoạn vi sinh vật chưa chui vào tế bào. Khi các vi sinh vật đã ở trong tế bào, cơ thể cần có miễn dịch tế bào mới chống lại được chúng. Vì kháng thể không thể chui vào trong tế bào để kết hợp với các vi sinh vật. Các mầm bệnh nội tế bào được chia làm 2 loại:

* Ký sinh nội bào bắt buộc như các virus, *Rickettsia*, *Chlamydia*.

* Ký sinh nội bào không bắt buộc (có thể sinh sản được cả trong và ngoài tế bào) như vi khuẩn lao, phong, *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*; nấm *Candida albicans*.

Cơ chế đặc hiệu của miễn dịch tế bào trong chống nhiễm trùng: cơ chế này do lympho T (Ly T) quyết định. Có hai loại Ly T tham gia vào miễn dịch tế bào.

2.2.2. Ly Tc (T_{CD8}, T độc sát tế bào, cytotoxic cell)

Ly Tc có khả năng tiêu diệt các tế bào đích, khi nó tiếp xúc trực tiếp các tế bào đích. Các tế bào đích có thể là tế bào ung thư hoặc tế bào bị nhiễm virus, với sự xuất hiện của kháng nguyên đặc hiệu trên bề mặt tế bào đích gắn với MHC1. Các tế bào đích phải có cùng kháng nguyên hòa hợp tổ chức lớp 1 (MHC1) với Ly Tc nhưng không cần có sự có mặt của kháng thể đặc hiệu. Tế bào đích và các virus chứa bên trong nó bị tiêu diệt.

2.2.3. T_{CD4} (trước đây gọi là T_{TDH}, T helper)

Phản ứng quá mẫn muộn để chống lại các mầm bệnh nội tế bào, nhờ tác dụng của các lymphokin do tế bào T_{CD4} sản xuất (IL2, gama interferon...).

Tóm lại: cơ thể có bị bệnh nhiễm trùng hay không là phụ thuộc vào sự tương quan giữa vi sinh vật gây bệnh và sự đề kháng của cơ thể. Sự đề kháng của cơ thể gồm hai hệ thống đặc hiệu và không đặc hiệu (tự nhiên và thu được). Hai hệ thống này bổ sung, hỗ trợ nhau và không thể tách rời nhau. Nhưng sự đề kháng đặc hiệu đóng vai trò quyết định hơn. Sự đề kháng của cơ thể còn phụ thuộc vào tình trạng sinh lý (chủ yếu là tuổi tác), vào điều kiện sống và làm việc. Một số bệnh, nhất là những bệnh làm suy giảm miễn dịch (bệnh của cơ quan miễn dịch và một số bệnh nhiễm trùng) đã làm tăng sự nhiễm trùng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Phân biệt giữa miễn dịch không đặc hiệu và miễn dịch đặc hiệu, miễn dịch chủ động và miễn dịch bị động, miễn dịch tự nhiên và miễn dịch nhân tạo? Cho ví dụ?
2. Trình bày các hàng rào phòng ngự tự nhiên và các cách chống nhiễm trùng của chúng?
3. Trình bày các yếu tố tham gia miễn dịch đặc hiệu và cơ chế chống nhiễm trùng của chúng?
4. Trình bày các mối quan hệ phối hợp giữa các yếu tố miễn dịch trong chống nhiễm trùng?

CÁC PHẢN ỨNG KHÁNG NGUYÊN - KHÁNG THỂ SỬ DỤNG TRONG VI SINH Y HỌC

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được mục đích sử dụng các phản ứng (PƯ) kết hợp kháng nguyên (KN) kháng thể (KT) trong vi sinh y học.*
2. *Trình bày được nguyên lý, vẽ và giải thích được sơ đồ của các PƯ kết hợp KN-KT thường được sử dụng trong vi sinh y học.*
3. *Trình bày được định nghĩa hiệu giá KT, động lực KT và lý giải được ý nghĩa của chúng trong chẩn đoán bệnh nhiễm trùng.*

1. MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG CÁC PHẢN ỨNG KN-KT

1.1. Chẩn đoán các bệnh nhiễm trùng

1.1.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Xác định tên vi sinh vật bằng kháng huyết thanh mẫu (huyết thanh có loại KT đã biết).
- Phát hiện trực tiếp KN của vi sinh vật có trong bệnh phẩm.

1.1.2. Chẩn đoán gián tiếp: dùng KN mẫu (đã biết tên) để phát hiện KT đặc hiệu trong các dịch cơ thể, thường là trong huyết thanh (HT), vì vậy còn được gọi là phản ứng HT học.

1.2. Nghiên cứu dịch tễ học của các bệnh nhiễm trùng

Điều tra tình tình nhiễm một loại vi sinh vật nào đó thông qua việc điều tra KT trong HT của mẫu nghiên cứu. Tuy nhiên đây chỉ là một trong nhiều nội dung nghiên cứu dịch tễ học.

1.3. Định loại vi sinh vật

Dùng kháng HT mẫu chống lại các nhóm hoặc các týp vi sinh vật để định nhóm, định týp. Phương pháp này cho phép hiểu biết về cấu trúc KN của vi sinh vật, có thể xếp chúng thành các týp HT.

1.4. Nghiên cứu sự đáp ứng của cơ thể đối với KN vi sinh vật

Một trong những nghiên cứu thuộc loại này là đánh giá hiệu lực đáp ứng miễn dịch của một vacxin. Đây là việc nhất thiết phải làm trước khi thử nghiệm hiệu lực bảo vệ của vacxin.

2. CÁC PHẢN ỨNG KẾT HỢP KN-KT

Có rất nhiều phản ứng kết hợp KN-KT được dùng trong vi sinh vật, căn cứ vào cách quan sát nhận định kết quả, có thể xếp thành 3 nhóm.

2.1. Các phản ứng tạo thành hạt

Là các phản ứng mà phức hợp KN-KT hình thành dưới dạng những "hạt" có thể quan sát được bằng mắt thường hoặc nhờ sự trợ giúp của kính lúp.

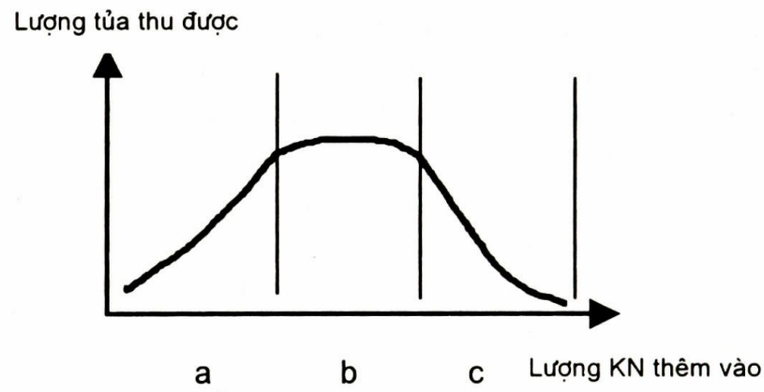
2.1.1. Phản ứng kết tủa

2.1.1.1. Nguyên lý

Phản ứng kết tủa là sự kết hợp giữa KN hoà tan (KN ở tầm phân tử) với KT tương ứng, tạo thành các hạt có thể quan sát trực tiếp bằng mắt thường hoặc nhờ sự trợ giúp của kính lúp.

2.1.1.2. Phản ứng kết tủa trong môi trường lỏng

Khi dung dịch KN và dung dịch KT được trộn với nhau theo một tỷ lệ thích hợp, phức hợp KN-KT sẽ hình thành dưới dạng những hạt kết tủa.



Hình 29. Đường biểu diễn các vùng tương tác giữa KN và KT

a. quá ít KN; b. KN và KT tương đương; c. thừa KN

Lượng tủa hình thành không chỉ phụ thuộc vào số lượng tuyệt đối của KN và KT, mà còn phụ thuộc vào mối tương quan về lượng giữa KN và KT. Với một lượng kháng HT (KT) hằng định, nếu cho tăng dần lượng KN thì ban đầu lượng tủa tăng dần, nhưng đến một lúc nào đó lượng tủa không tăng nữa mặc dù lượng KN vẫn tiếp tục tăng. Khi KN quá nhiều, lượng tủa hình thành lại tỷ lệ nghịch với lượng KN (Hình 29).

2.1.1.3. Phản ứng kết tủa trong gel thạch

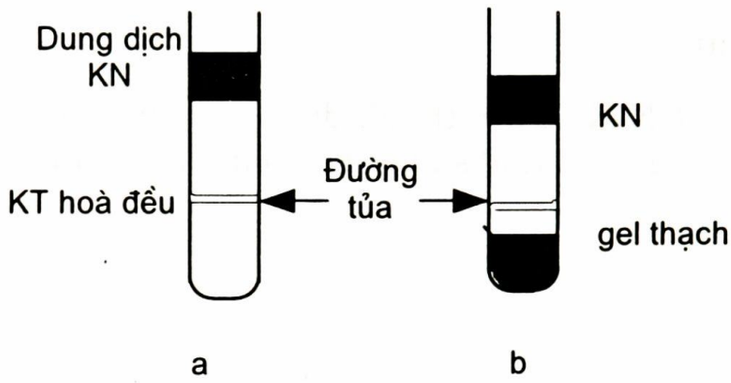
Có nhiều kỹ thuật kết tủa trong gel thạch, dưới đây là một số kỹ thuật thường được sử dụng:

Kỹ thuật khuếch tán trong ống nghiệm (kỹ thuật Oudin):

Kỹ thuật khuếch tán đơn (hình 30a):

Cho thạch đã hoà đều KT vào đoạn dưới ống nghiệm, rồi cho dung dịch KN lên trên. KN sẽ khuếch tán xuống thạch, càng xuống sâu nồng độ KN càng thấp. Tại vùng KN và KT tương đương sẽ xuất hiện đường tủa.

Kỹ thuật khuếch tán kép (hình 30b): Giữa KT và KN có một lớp gel thạch, cả KN và KT đều khuếch tán vào lớp gel thạch này. Tại vùng KN và KT tương đương sẽ xuất hiện đường tủa.



Hình 30. Kỹ thuật khuếch tán trong ống nghiệm:

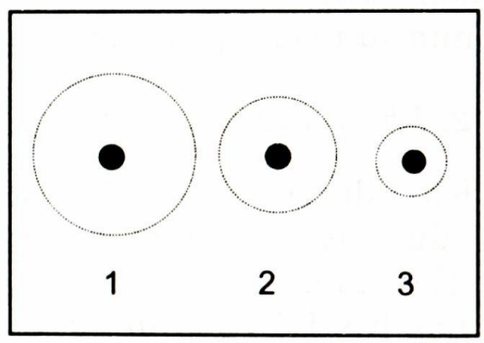
a. khuếch tán đơn

b. khuếch tán kép

Kỹ thuật khuếch tán trên phiến kính hoặc đĩa Petri:

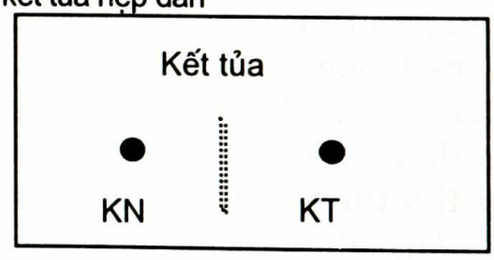
Kỹ thuật khuếch tán đơn (Mancini):

Kháng HT được hoà đều trong gel thạch nóng chảy rồi phủ một lớp mỏng đều lên phiến kính. Sau khi thạch đã đông, tạo các lỗ rồi cho vào các lỗ đó dung dịch của một loại KN nhưng có nồng độ khác nhau. Quanh các lỗ sẽ xuất hiện vòng kết tủa, lỗ nào có nồng độ KN càng cao thì vòng kết tủa càng rộng (Hình 31).



Hình 31. Kỹ thuật khuếch tán đơn trên phiến kính:
Theo thứ tự 1, 2, 3 là các lỗ chứa dung dịch KN với nồng độ giảm dần, tương ứng là các vòng kết tủa hẹp dần

Kỹ thuật khuếch tán kép (Ouchterlony): phủ một lớp mỏng đều gel thạch nóng chảy lên phiến kính. Sau khi thạch đã đông, tạo 2 lỗ; một lỗ cho KN, lỗ còn lại cho KT. KN và KT đều khuếch tán ra xung quanh. Nơi KT và KN gặp nhau với nồng độ tương đương sẽ tạo thành đường kết tủa (Hình 32).



Hình 32. Kỹ thuật khuếch tán kép trong gel thạch

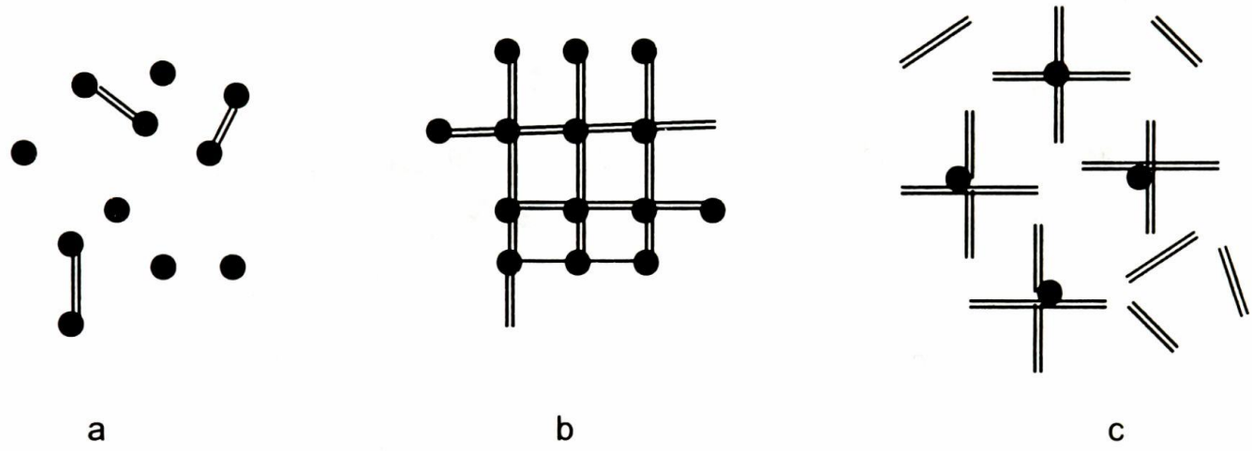
2.1.2. Phản ứng ngưng kết

2.1.2.1. Nguyên lý: là sự kết hợp giữa KN hữu hình (tế bào hoặc tầm tế bào) với KT, tạo thành phức hợp KN-KT dưới dạng những hạt ngưng kết có thể được quan sát bằng mắt thường.

2.1.2.2. Điều kiện để hình thành hạt ngưng kết

Các hạt ngưng kết thực chất là mạng lưới KN-KT. Để có thể hình thành mạng lưới này, ngoài tính đặc hiệu của KN và KT, phải có thêm hai điều kiện cơ bản:

- KN và KT phải đa giá (có nhiều vị trí kết hợp).
- KN và KT phải có nồng độ tương đương.

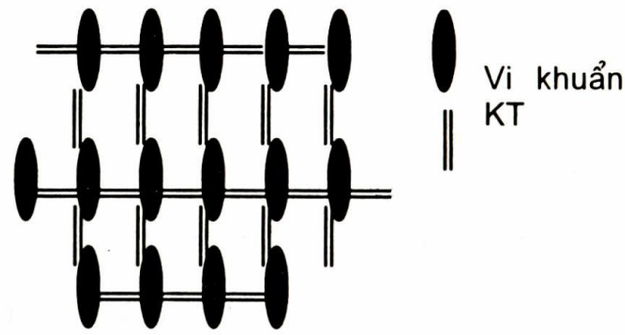


Hình 33. Mạng lưới ngưng kết chỉ hình thành khi KN (●) và KT (═) tương đương

a. KN quá nhiều so với KT; b. KN và KT tương đương; c. KT quá nhiều so với KN.

2.1.2.3. Phản ứng ngưng kết trực tiếp (ngưng kết chủ động)

Trong phản ứng ngưng kết trực tiếp, thành phần KN trên tế bào vi khuẩn (hoặc tế bào khác), kết hợp với KT đặc hiệu tạo thành mạng lưới ngưng kết. Các tế bào góp một phần lớn tạo lên kích thước của hạt ngưng kết (Hình 34).

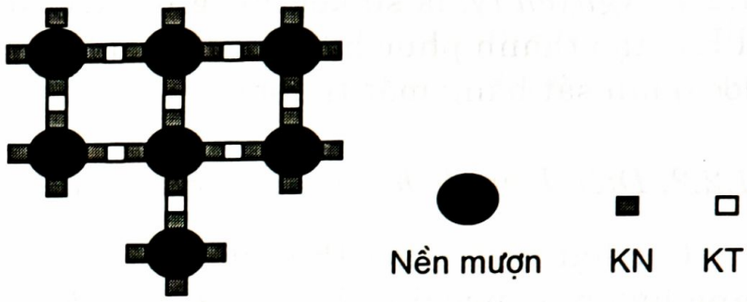


Hình 34. PƯ ngưng kết trực tiếp giữa vi khuẩn và KT đặc hiệu

2.1.2.4. Phản ứng ngưng kết gián tiếp (ngưng kết thụ động)

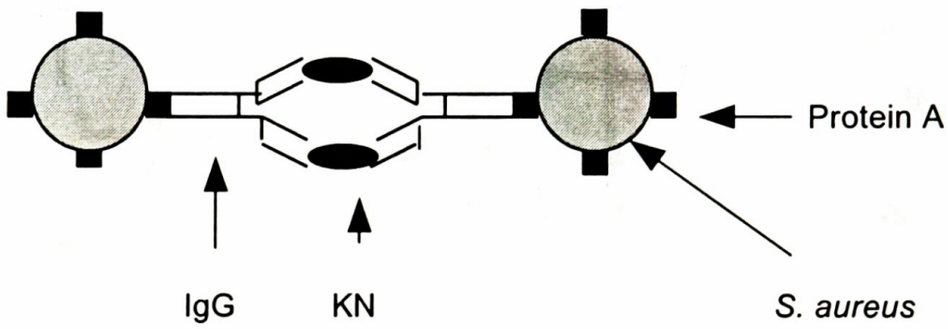
Trong phản ứng ngưng kết gián tiếp, KN ở dạng hoà tan được gắn lên nền mượn hữu hình (thường là hồng cầu hoặc hạt latex). Khi KN gặp KT đặc

hiệu, hiện tượng ngưng kết sẽ xảy ra do nền mượn tụ tập lại một cách "thụ động" (Hình 35).



Hình 35. PƯ ngưng kết gián tiếp

Để phát hiện KN, người ta lại gắn KT lên nền mượn. Khi KT gặp KN đặc hiệu, hiện tượng ngưng kết cũng sẽ xuất hiện. Loại này được gọi là phản ứng "ngưng kết thụ động ngược". Có một phản ứng cũng theo nguyên lý ngưng kết thụ động ngược có tên là "đồng ngưng kết protein A". Phản ứng này dựa trên hiểu biết rằng, protein A trên bề mặt của *S. aureus* là thụ thể cho phần Fc của phân tử IgG (Hình 36).



Hình 36. Phản ứng đồng ngưng kết protein A của S. aureus

2.2. Các phản ứng dựa vào hoạt động sinh học cuả KT

2.2.1. Phản ứng trung hoà

2.2.1.1. Nguyên lý

KT đặc hiệu có khả năng trung hoà độc tố, độc lực của vi sinh vật, hoặc làm mất đi một tính chất nào đó của vi sinh vật hoặc sản phẩm của nó.

2.2.1.2. Phản ứng trung hoà in vitro

Bao gồm những phản ứng trung hoà được tiến hành trên dụng cụ thí nghiệm.

Ví dụ phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu để chẩn đoán virus:

Nguyên lý:

Virus + Hồng cầu ⟶ Hồng cầu bị ngưng kết

(Virus + KT đặc hiệu) + Hồng cầu ⟶ Hồng cầu không bị ngưng kết

2.2.1.3. Phản ứng trung hoà in vivo

Bao gồm những phản ứng trung hoà được tiến hành trên cơ thể sống.

Ví dụ PƯ trung hoà trên chuột lang để xác định một chủng vi khuẩn nào đó là vi khuẩn bạch hầu hay giả bạch hầu.

Nguyên lý:

Chuột A + Kháng độc tố BH + VK? ⟶ Chuột sống
Chuột B + NaCl 0,9% + VK? ⟶ Chuột chết
} VK bạch hầu

2.2.2. Các phản ứng gây ly giải tế bào

2.2.2.1. Nguyên lý

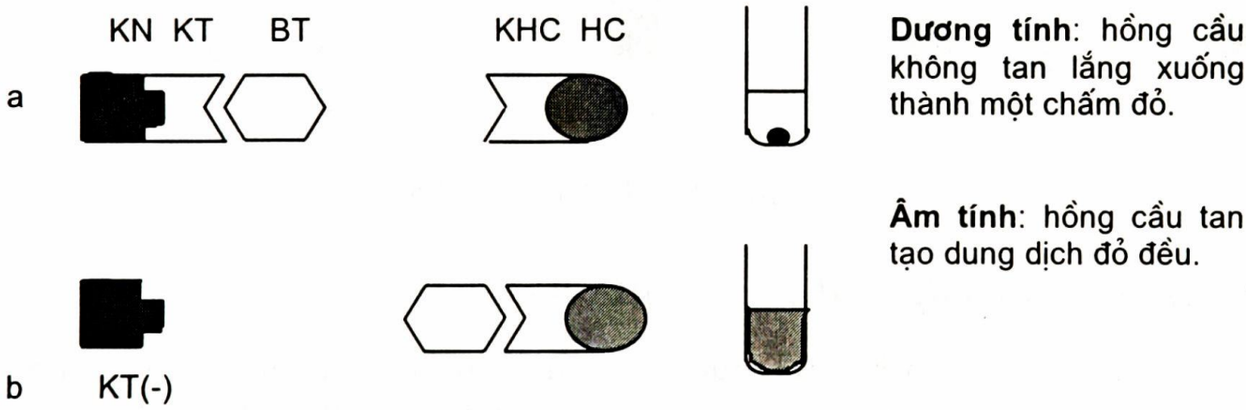
KT đặc hiệu với sự tham gia của bổ thể sẽ gây ly giải tế bào. Trong các phản ứng gây ly giải tế bào, phản ứng kết hợp bổ thể được sử dụng nhiều hơn cả.

2.2.2.2. Các bước tiến hành PƯ kết hợp bổ thể

1) Cho KN, HT cần xét nghiệm và bổ thể, ủ ở 37°C/30 phút hoặc 6°C/16 giờ.

2) Cho thêm hồng cầu cừu đã trộn với KT tương ứng, để ở 37°C trong 15 - 30 phút.

Đọc kết quả: nếu hồng cầu cừu không tan là dương tính. Nếu hồng cầu bị tan là âm tính (Hình 37).



Hình 37. PƯ kết hợp bổ thể
a. trong HT có KT, b. trong HT không có KT

2.3. Các phản ứng dùng KT hoặc KN đánh dấu

Nguyên lý chung: KN hoặc KT được xác định nhờ chất đánh dấu được gắn với KT hoặc KN.

Điều kiện cần thiết là chất đánh dấu không được làm thay đổi hoạt tính miễn dịch của KN và KT.

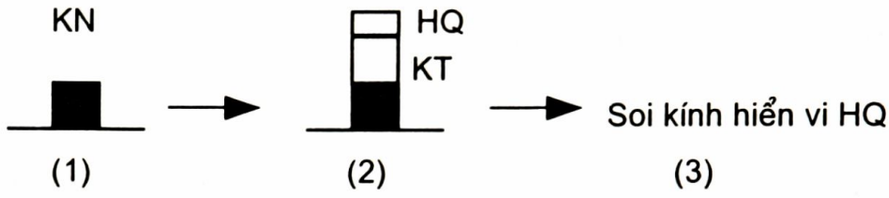
2.3.1. Miễn dịch huỳnh quang (MDHQ)

Trong MDHQ, chất đánh dấu là chất màu huỳnh quang, kết quả được đọc nhờ kính hiển vi huỳnh quang.

2.3.1.1. MDHQ trực tiếp

Nguyên lý: KN được phát hiện nhờ KT mẫu gắn huỳnh quang.

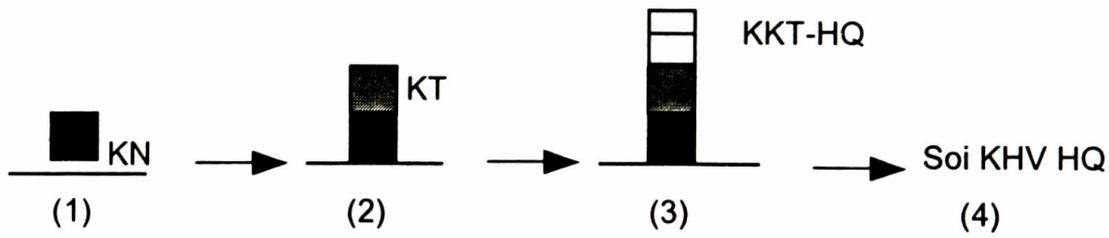
Các bước tiến hành như sau (Hình 38):



Hình 38. Phương pháp MDHQ trực tiếp

2.3.1.2. Phương pháp MDHQ gián tiếp

Nguyên lý: KT được phát hiện nhờ KN mẫu và kháng KT (KKT) mẫu gắn huỳnh quang. Các bước tiến hành như sau (Hình 39):



Hình 39. Phương pháp MDHQ gián tiếp

2.3.2. Phản ứng miễn dịch phóng xạ (RIA-Radioimmunoassay)

Nguyên lý: Phức hợp KN-KT được phát hiện nhờ KT hoặc KN gắn chất đồng vị phát xạ. Có thể phát hiện nơi phát xạ (nơi xảy ra PƯ kết hợp KN-KT) hoặc đo cường độ phát xạ (mức độ hình thành phức hợp KN-KT).

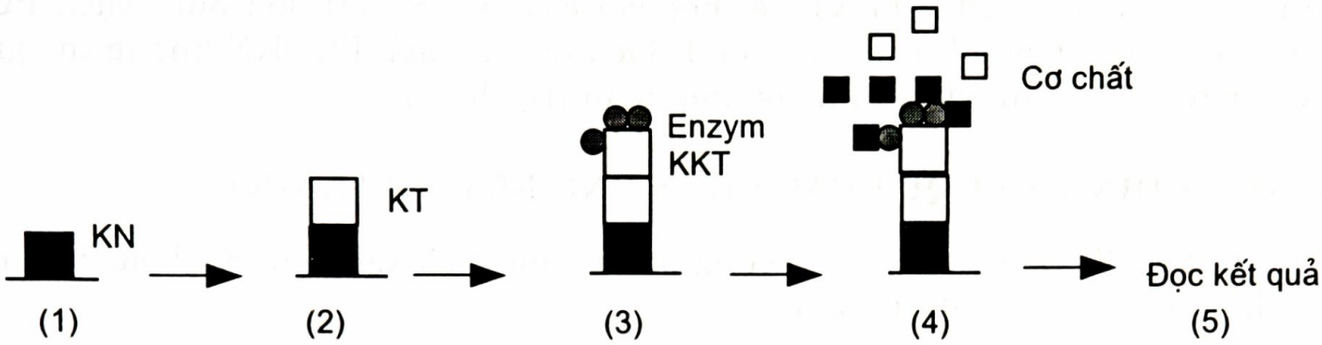
2.3.3. Phản ứng miễn dịch enzym ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Nguyên lý: Phức hợp KN-KT được phát hiện nhờ enzym gắn với KT hoặc KKT tác động lên cơ chất đặc hiệu.

Có nhiều kỹ thuật ELISA. Sau đây chỉ giới thiệu 2 kỹ thuật, một để phát hiện KT và một để phát hiện KN:

2.3.3.1. Kỹ thuật dùng KKT gắn enzym để phát hiện KT

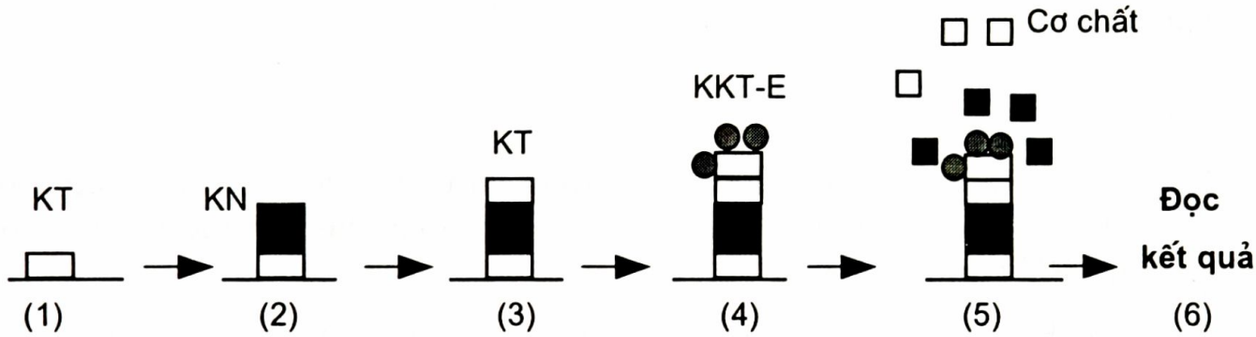
Phản ứng này sử dụng KN mẫu và KKT mẫu gắn enzym. Các bước tiến hành (Hình 40):



Hình 40. ELISA: Kỹ thuật dùng KKT gắn enzym để phát hiện KT

2.3.3.2. Kỹ thuật dùng KKT gắn enzym để phát hiện KN

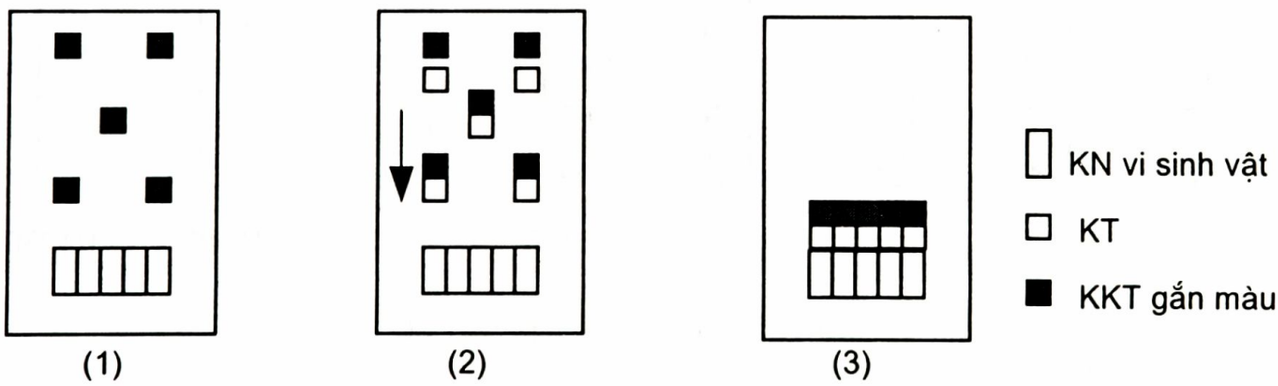
Phản ứng này sử dụng KT mẫu và KKT mẫu gắn enzym. Các bước tiến hành (Hình 41):



Hình 41. ELISA: Kỹ thuật dùng KKT gắn enzym để phát hiện KN

2.3.4. Sắc ký miễn dịch

Nguyên tắc kỹ thuật có thể tóm tắt như sau:



Hình 42. Sơ đồ minh họa nguyên lý của kỹ thuật sắc ký miễn dịch

1. Bản sắc ký với KN được cố định và KKT gắn màu phân bố đều; 2. KT trong HT kết hợp với KKT gắn màu và di chuyển; 3. Phức hợp KT-KKT gắn màu kết hợp với KN tạo vạch màu

Phức hợp kháng KT (KKT) gắn chất màu được phân bố đều trên bản sắc ký. KN đặc thù của vi sinh vật được gắn cố định tại "vạch PƯ". Khi nhỏ HT cần xác định KT lên bản sắc ký, KT đặc hiệu (nếu có) trong HT sẽ kết hợp với KKT gắn màu, phức hợp KT-KKT gắn màu này di chuyển trên giấy sắc ký sẽ bị giữ lại tại "vạch PƯ" do KT kết hợp với KN vi sinh vật, kết quả "vạch PƯ" hiện màu. Nếu trong HT không có KT đặc hiệu, ở "vạch PƯ" KN không thể giữ được KKT gắn màu, vì vậy không hiện màu (Hình 47).

3. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ CÁC PHẢN ỨNG KẾT HỢP KN-KT

Bất kỳ PƯ kết KN-KT nào cũng nhằm mục đích xác định KT hoặc KN, có thể là định tính hoặc định lượng.

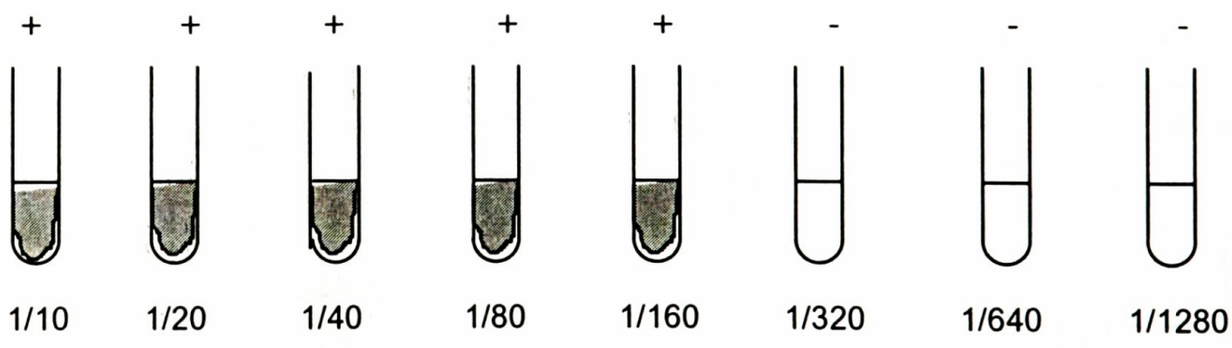
3.1. Định tính

Kết quả định tính chỉ cho biết trong mẫu xét nghiệm có hay không có KT hoặc KN. Có những trường hợp chỉ cần định tính đã có giá trị chẩn đoán. Đó là các trường hợp xác định những KN hoặc KT mà bình thường không có trong những mẫu xét nghiệm lấy từ người khỏe mạnh. Ngược lại đối với những loại KN hoặc KT có thể tìm thấy cả ở người bình thường thì chỉ định lượng mới có giá trị chẩn đoán.

3.2. Định lượng

Trong mục này chỉ trình bày việc nhận định kết quả định lượng trong chẩn đoán HT (phương pháp chẩn đoán gián tiếp các bệnh nhiễm trùng qua việc xác định KT trong HT).

Hiệu giá KT: hiệu giá KT phản ánh nồng độ KT trong HT. Hiệu giá KT là độ pha loãng HT lớn nhất mà PƯ còn dương tính (Hình 43). Trong một số trường hợp, hiệu giá KT còn được tính bằng đơn vị KT có trong một đơn vị thể tích HT.



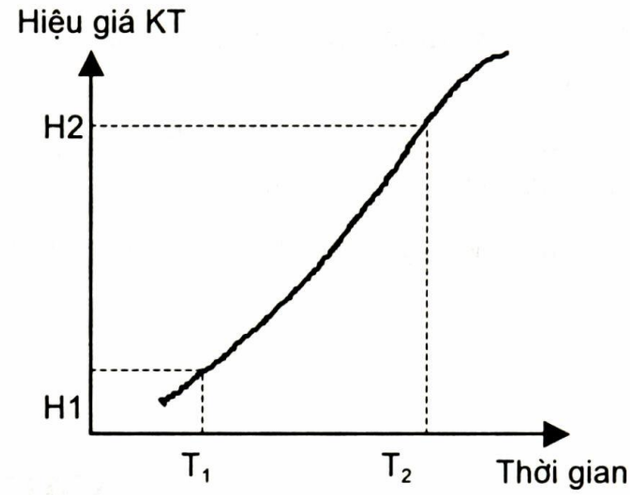
Hình 43. Hiệu giá KT bằng 160

Sau khi xác định hiệu giá KT, việc đánh giá kết quả phải dựa vào hiệu giá ranh giới (ngưỡng) giữa bình thường và bệnh lý, vì người khỏe bình thường vẫn có thể có KT chống lại một số vi sinh vật. Tuy nhiên không phải cứ có hiệu

giá KT cao hơn ngưỡng là bệnh lý, và ngược lại cứ thấp hơn là người lành. Hiệu giá KT càng cao hơn ngưỡng thì khả năng mắc bệnh càng lớn, càng thấp hơn ngưỡng thì khả năng mắc bệnh càng ít. Việc xác định hiệu giá KT ở một thời điểm thường chưa đủ để có kết luận chắc chắn, cần phải tiến hành 2 lần ở 2 thời điểm cách nhau từ 7 đến 10 ngày để tìm động lực KT.

Động lực KT là đại lượng đặc trưng cho mức độ thay đổi hiệu giá KT theo thời gian (Hình 44).

Động lực KT là thương số (không phải là hiệu số) giữa hiệu giá KT lần thứ hai và lần thứ nhất. Khi KT đang tăng thì động lực lớn hơn 1. Khi KT không thay đổi thì động lực bằng 1. Khi KT đang giảm thì động lực nhỏ hơn 1. Mặc dù về lý thuyết khi động lực KT lớn hơn 1 là đang có KN kích thích cơ thể hình thành KT, nhưng trên thực tế động lực KT ít nhất phải bằng 4 (tức là tăng 2 bậc khi HT được pha loãng bậc 2) mới có giá trị chẩn đoán chắc chắn là bệnh nhân đang mắc bệnh nhiễm trùng. Khi xét nghiệm lần thứ hai nếu hiệu giá KT chỉ tăng hơn lần thứ nhất 1 bậc thì chưa chắc đã phải là KT tăng thực sự hay chỉ do sai số kỹ thuật.



Hình 44. Động lực KT = H2 : H1

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trong vi sinh y học, các phản ứng KN-KT được sử dụng nhằm mục đích gì?
2. Trình bày khái niệm về 3 nhóm phản ứng KN-KT? Mỗi nhóm cho 2 ví dụ minh họa?
3. Trình bày nguyên lý (có sơ đồ minh họa) các phản ứng ngưng kết, kết tủa, trung hoà, MDHQ, ELISA, sắc ký miễn dịch?
4. Trình bày định nghĩa hiệu giá KT, động lực KT và lý giải ý nghĩa của chúng trong chẩn đoán bệnh nhiễm trùng? Cho ví dụ minh họa?

VACXIN VÀ HUYẾT THANH MIỄN DỊCH

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được nguyên lý sử dụng vacxin.*
2. *Phân tích được các nguyên tắc sử dụng vacxin và 2 tiêu chuẩn cơ bản của vacxin.*
3. *Phân tích được các yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch của cơ thể đối với vacxin.*
4. *Trình bày được cách phân loại vacxin và lịch tiêm chủng các vacxin đang được sử dụng rộng rãi ở nước ta.*
5. *Trình bày được nguyên lý và các nguyên tắc sử dụng huyết thanh miễn dịch.*

VACXIN

1. NGUYÊN LÝ

Sử dụng vacxin là đưa vào cơ thể kháng nguyên có nguồn gốc từ vi sinh vật gây bệnh hoặc vi sinh vật có cấu trúc kháng nguyên giống vi sinh vật gây bệnh, đã được bào chế đảm bảo độ an toàn cần thiết, làm cho cơ thể tự tạo ra tình trạng miễn dịch chống lại tác nhân gây bệnh.

2. NGUYÊN TẮC SỬ DỤNG VACXIN

2.1. Phạm vi và tỷ lệ tiêm chủng

Phạm vi tiêm chủng của mỗi nước, mỗi khu vực được quy định tuỳ theo tình hình dịch tễ của bệnh nhiễm trùng. Những quy định này có thể thay đổi theo thời gian do sự thay đổi về dịch tễ học của bệnh nhiễm trùng.

Tiêm chủng phải đạt trên 80% đối tượng chưa có miễn dịch mới có khả năng ngăn ngừa được dịch.

2.2. Đối tượng tiêm chủng

Đối tượng cần được tiêm chủng là tất cả những người có nguy cơ nhiễm vi sinh vật gây bệnh mà chưa có miễn dịch. Trẻ em cần được tiêm chủng rộng

rãi. Đối với người lớn, vacxin thường chỉ dành cho những nhóm người có nguy cơ cao.

Diện chống chỉ định tiêm chủng có hướng dẫn riêng đối với mỗi vacxin. Nói chung không được tiêm chủng cho các đối tượng sau đây:

- Những người đang bị sốt cao.
- Những người đang có biểu hiện dị ứng.
- Vacxin sống giảm độc lực không được tiêm chủng cho những người bị thiếu hụt miễn dịch, những người đang dùng thuốc đàn áp miễn dịch hoặc những người mắc bệnh ác tính.
- Vacxin virus sống giảm độc lực không được tiêm chủng cho phụ nữ đang mang thai.

2.3. Thời gian tiêm chủng

- Phải tiến hành tiêm chủng đón trước mùa dịch, để cơ thể có đủ thời gian hình thành miễn dịch.
- Đối với những vacxin khi tạo miễn dịch cơ bản phải tiêm chủng nhiều lần, khoảng cách hợp lý giữa các lần là 1 tháng.
- Thời gian tiêm chủng nhắc lại tuỳ thuộc vào thời gian duy trì được tình trạng miễn dịch còn đủ hiệu lực bảo vệ của mỗi loại vacxin.

2.4. Liều lượng và đường đưa vacxin vào cơ thể

2.4.1. Liều lượng

Liều lượng vacxin tuỳ thuộc vào loại vacxin và đường đưa vào cơ thể. Liều lượng quá thấp sẽ không đủ khả năng kích thích cơ thể đáp ứng miễn dịch. Ngược lại, liều lượng quá lớn sẽ dẫn đến tình trạng dung nạp đặc hiệu.

2.4.2. Đường tiêm chủng

- Chủng: là đường cổ điển nhất, ngày nay vẫn còn được sử dụng cho một số ít vacxin.
- Tiêm: tuỳ loại vacxin có thể tiêm trong da, tiêm dưới da hoặc tiêm bắp.
- Uống: đường uống kích thích miễn dịch tiết tại đường ruột mạnh hơn nhiều so với đường tiêm.

Vacxin còn được đưa vào cơ thể theo một số đường khác nhưng ít được sử dụng.

2.5. Các phản ứng không mong muốn do tiêm chủng

Tất cả các vacxin đều có thể gây ra phản ứng không mong muốn (phản ứng phụ) ở một số người.

- Tại chỗ: nơi tiêm có thể hơi đau, mẩn đỏ, hơi sưng hoặc nổi cục nhỏ. Những phản ứng này sẽ mất đi nhanh chóng sau một vài ngày, không cần phải can thiệp gì. Nếu tiêm chủng không đảm bảo vô trùng, thì nơi tiêm chủng có thể bị nhiễm trùng.
- Toàn thân: sốt hay gặp nhất, thường hết sau một vài ngày. Co giật có thể gặp nhưng với tỷ lệ rất thấp, hầu hết khỏi không để lại di chứng gì. Sốc phản vệ cũng có thể gặp nhưng với tỷ lệ hết sức thấp.

2.6. Bảo quản vacxin

Vacxin phải được bảo quản tốt ngay từ lúc sản xuất cho tới khi được tiêm chủng vào cơ thể. Thường quy bảo quản các vacxin không giống nhau, nhưng nói chung đều cần được bảo quản trong điều kiện khô, tối và lạnh.

Nhiệt và ánh sáng phá huỷ tất cả các loại vacxin, nhất là những vacxin sống. Ngược lại, đông lạnh phá huỷ nhanh các vacxin giải độc tố. Trong quá trình sử dụng ở cộng đồng, vacxin cần được bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C.

Các hóa chất sát trùng đều có thể phá huỷ vacxin. Nếu dụng cụ tiêm chủng được khử trùng bằng hóa chất thì chỉ cần một lượng rất nhỏ dính lại cũng có thể làm hỏng vacxin.

3. TIÊU CHUẨN CỦA VACXIN

Hai tiêu chuẩn cơ bản nhất của vacxin là an toàn và hiệu lực.

3.1. An toàn

Sau khi sản xuất vacxin phải được cơ quan kiểm định nhà nước kiểm tra chặt chẽ về mặt vô trùng, thuần khiết và không độc.

- Vô trùng: không được nhiễm các vi sinh vật khác.
- Thuần khiết: không được lẫn các thành phần kháng nguyên khác có thể gây ra các phản ứng phụ.
- Không độc: liều sử dụng phải thấp hơn rất nhiều so với liều gây độc.

3.2. Hiệu lực

Vacxin có hiệu lực lớn là vacxin gây được miễn dịch ở mức độ cao và tồn tại lâu. Hiệu lực gây miễn dịch của vacxin trước hết được đánh giá trên động vật thí nghiệm, sau đó trên thực địa.

Trên động vật thí nghiệm: đánh giá mức độ đáp ứng miễn dịch sau tiêm chủng vacxin và đánh giá hiệu lực bảo vệ lô động vật đã được tiêm chủng khi chúng được thử thách bằng vi sinh vật gây bệnh.

Thử nghiệm trên thực địa: vacxin được tiêm chủng cho một cộng đồng, theo dõi thống kê tất cả các phản ứng phụ và đánh giá khả năng bảo vệ khi mùa dịch tới.

Ngoài 2 tiêu chuẩn trên, người ta còn quan tâm đến giá thành và tính thuận lợi khi tiến hành tiêm chủng.

4. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH ĐỐI VỚI VACXIN

4.1. Tính kháng nguyên của vacxin

Tính kháng nguyên phụ thuộc vào bản chất hóa học (protein, polysaccharid,...), phân tử lượng (cao hay thấp), cấu trúc hóa học (phức tạp hay đơn giản). Nói một cách khái quát thì tính kháng nguyên càng cao khi nó càng "lạ" đối với cơ thể.

4.2. Liều lượng

Liều lượng quá thấp không đủ kích thích cơ thể sinh miễn dịch. Ngược lại, nếu liều lượng quá cao sẽ dẫn đến tình trạng dung nạp miễn dịch.

4.3. Đường đưa vacxin vào cơ thể

Mỗi loại vacxin được đưa vào cơ thể theo một đường thích hợp. Những vacxin bị phá huỷ bởi dịch dạ dày, dịch ruột thì không đưa vào cơ thể bằng đường uống; những vacxin nhằm kích thích miễn dịch tiết tại chỗ thì không đưa vào cơ thể bằng đường tiêm. Vacxin không được sử dụng đúng đường không những không tạo được miễn dịch mà còn có thể gây ra những tác dụng không mong muốn nguy hiểm.

4.4. Chất phụ gia miễn dịch (Immunological Adjuvant)

Chất phụ gia miễn dịch có 2 tác dụng: 1) Làm cho vacxin giáng hóa chậm, vì vậy có thể giảm được lượng vacxin và giảm số lần tiêm chủng; 2) Làm tăng sự kích thích cơ thể đáp ứng miễn dịch.

Chất phụ gia miễn dịch thường được sử dụng là các hợp chất của nhôm (aluminum hydroxyde, aluminum phosphate).

4.5. Kháng thể mẹ truyền

Sự tồn tại một lượng nhỏ kháng thể mẹ truyền cũng có thể ức chế sự đáp ứng kháng thể đối với kháng nguyên tương ứng.

4.6. Tình trạng của chủ thể

Cơ thể chỉ đáp ứng tốt với vacxin khi bộ máy miễn dịch hoàn chỉnh. Tình trạng dinh dưỡng kém cũng hạn chế mức độ đáp ứng miễn dịch. Điều này không có nghĩa là hạn chế tiêm chủng cho trẻ em suy dinh dưỡng, trái lại còn phải quan tâm hơn!

5. CÁC LOẠI VACXIN

Trước đây vacxin thường được chia thành 3 loại: 1) Vacxin giải độc tố, 2) Vacxin chết 3) Vacxin sống giảm độc lực. Ngày nay với sự tiến bộ của công nghệ sinh học chúng ta có thêm 2 loại: 4) Vacxin chiết tách và 5) Vacxin tái tổ hợp.

5.1. Vacxin giải độc tố

Được sản xuất từ ngoại độc tố của vi khuẩn bằng cách làm mất tính độc nhưng vẫn giữ được tính kháng nguyên. Vacxin giải độc tố kích thích cơ thể sản xuất ra kháng độc tố, có khả năng trung hòa ngoại độc tố.

Ví dụ về những vacxin thuộc loại này là vacxin bạch hầu, vacxin uốn ván...

5.2. Vacxin chết (bất hoạt)

Được sản xuất từ các vi sinh vật gây bệnh đã bị giết chết. Các kháng nguyên này chủ yếu kích thích đáp ứng miễn dịch dịch thể.

Ví dụ về những vacxin thuộc loại này là vacxin ho gà, vacxin thương hàn (cũ), vacxin tả, vacxin Salk (phòng bại liệt), vacxin viêm não Nhật Bản...

5.3. Vacxin sống giảm độc lực

Được sản xuất từ vi sinh vật gây bệnh hoặc vi sinh vật giống vi sinh vật gây bệnh, đã được làm giảm độc lực không còn khả năng gây bệnh. Vacxin sống kích thích cơ thể đáp ứng miễn dịch gần giống như đáp ứng với nhiễm trùng tự nhiên.

Ví dụ về những vacxin thuộc loại này là vacxin BCG sống, vacxin thương hàn (mới), vacxin Sabin (phòng bại liệt), vacxin sởi...

Tuy nhiên, điều phải quan tâm đặc biệt là tính an toàn của vacxin sống, phải đảm bảo không còn khả năng gây bệnh hoặc chỉ gây bệnh rất nhẹ, và vi sinh vật phải có tính di truyền ổn định không trở lại độc lực ban đầu.

5.4. Vacxin chiết tách

Loại vacxin này chứa kháng nguyên được chiết tách từ vi sinh vật. Những kháng nguyên đã được chiết tách để làm vacxin như polysaccharid của cầu khuẩn màng não, polysaccharid của phế cầu, polysaccharid của *H. influenzae* typ b; kháng nguyên Vi của vi khuẩn thương hàn...

5.5. Vacxin tái tổ hợp

Bằng công nghệ sinh học hiện đại, gen mã hóa cho kháng nguyên vi sinh vật cần có để làm vacxin được tách và tái tổ hợp vào *E. coli* hoặc một dòng tế bào thích hợp. Trong điều kiện tối ưu những tế bào này sẽ sản xuất mạnh mẽ loại kháng nguyên mong muốn đó. Trên thế giới nhiều loại vacxin tái tổ hợp đã được sản xuất như vacxin tả, vacxin thương hàn, vacxin Rotavirus, ...

6. LỊCH TIÊM CHỦNG

Vacxin	Liều lượng	Đường tiêm chủng	Tuổi tiêm chủng
BCG phòng lao (vacxin sống)	0,1 ml	Trong da (thường ở cánh tay trái)	Sơ sinh hoặc bất kỳ lúc nào sau đó
Sabin phòng bại liệt (vacxin sống)	2 giọt	Uống	Sơ sinh và lúc 2, 3, 4 tháng tuổi
DPT phòng bạch hầu (giải độc tố), ho gà (bất hoạt), uốn ván (giải độc tố)	0,5 ml	Tiêm bắp (thường ở đùi)	Lúc 2, 3, 4 tháng tuổi
Sởi (vacxin sống)	0,5 ml	Dưới da (thường ở cánh tay trái)	Lúc 9 tháng tuổi hoặc sớm nhất sau đó
Viêm não Nhật Bản	0,5 ml	Tiêm dưới da	Trẻ em 1 - 5 tuổi
(vacxin bất hoạt)	1,0 ml	Tiêm dưới da	Trẻ em >5 tuổi
Viêm gan B (vacxin tinh chế)	0,5 ml 1,0 ml	Tiêm bắp / dưới da Tiêm bắp	Trẻ em Người lớn

Căn cứ vào dịch tễ học của các bệnh truyền nhiễm tại các nước đang phát triển và khả năng cung cấp vacxin, Tổ chức Y tế Thế giới đã đưa ra chương trình tiêm chủng mở rộng với mục tiêu làm giảm tỷ lệ trẻ em mắc và tử vong do các bệnh bạch hầu, ho gà, uốn ván, lao, sởi và bại liệt bằng tiêm chủng vacxin. Chương trình tiêm chủng mở rộng ở nước ta hiện nay đã bổ sung thêm vacxin viêm gan virus và vacxin viêm não. Ngoài các vacxin nói trên, vacxin tả và vacxin thương hàn cũng được tiêm chủng khá rộng rãi ở những vùng, những đối tượng có nguy cơ cao.

HUYẾT THANH MIỄN DỊCH

1. NGUYÊN LÝ SỬ DỤNG HUYẾT THANH

Dùng huyết thanh miễn dịch là đưa vào cơ thể kháng thể có nguồn gốc từ người hay động vật, giúp cho cơ thể có ngay kháng thể đặc hiệu chống lại tác nhân gây bệnh.

2. NGUỒN KHÁNG THỂ

2.1. Bào chế từ huyết thanh động vật

Đầu tiên, động vật được tiêm vacxin, sau đó chúng có thể được tiêm chính vi sinh vật gây bệnh để kích thích sản xuất kháng thể mạnh mẽ hơn. Khi hiệu giá kháng thể trong huyết thanh đạt mức cao nhất, thì lấy máu để lấy huyết thanh đem bào chế.

Ngày nay, việc sử dụng huyết thanh động vật ngày càng giảm đi vì tỷ lệ gây ra phản ứng cao hơn hẳn so với kháng thể được sản xuất từ huyết thanh người.

2.2. Bào chế từ huyết thanh người

2.2.1. Globulin miễn dịch bình thường

Globulin miễn dịch bình thường được bào chế từ huyết thanh người khỏe mạnh hoặc từ máu rau thai. Mỗi lần được bào chế từ hàng nghìn mẫu huyết thanh, do đó không có sự khác nhau đáng kể về hiệu giá kháng thể giữa các lần sản xuất.

2.2.2. Globulin miễn dịch đặc hiệu

Globulin miễn dịch đặc hiệu được bào chế từ máu của những người mắc bệnh nhiễm trùng đã khỏi, hoặc từ máu của những người khỏe mạnh mới được tiêm chủng tăng cường. Trong globulin miễn dịch đặc hiệu, nồng độ kháng thể chống lại một loại vi sinh vật cụ thể (đặc hiệu), thường cao gấp hàng chục lần trong globulin miễn dịch bình thường.

3. NGUYÊN TẮC SỬ DỤNG

3.1. Đối tượng

Huyết thanh được sử dụng nhiều nhất để chữa và dự phòng các bệnh nhiễm trùng. Ngoài ra nó còn được sử dụng cho một số mục đích khác như điều trị thiếu hụt miễn dịch, dị ứng và dự phòng bệnh tan máu sơ sinh.

Trong chữa và dự phòng bệnh nhiễm trùng: huyết thanh chỉ có hiệu lực với những bệnh mà cơ chế bảo vệ chủ yếu nhờ miễn dịch dịch thể. Kinh điển nhất là huyết thanh kháng uốn ván (SAT) và huyết thanh kháng bạch hầu (SAD). Huyết thanh kháng ho gà, kháng sởi được tiêm cho trẻ chưa được tiêm chủng có tiếp xúc với bệnh nhân. Huyết thanh kháng dại được tiêm cho những người bị chó dại hoặc nghi dại cắn với vết thương nặng hoặc gần đầu. Ngoài ra còn có các huyết thanh kháng virus viêm gan, virus quai bị, rubêôn. Globulin miễn dịch còn được tiêm cho những bệnh nhân viêm đường hô hấp tái phát nhiều lần.

Huyết thanh người bình thường được tiêm cho trẻ bị thiếu hụt miễn dịch bẩm sinh. Một số công trình nghiên cứu cho thấy rằng globulin miễn dịch có tác dụng điều trị dị ứng.

Việc sử dụng globulin miễn dịch kháng D cho người mẹ có nhóm máu Rh (-) mới sinh con Rh (+) có tác dụng ngăn cản sự hình thành kháng thể kháng Rh và do đó tránh được nguy cơ tan máu sơ sinh cho đứa trẻ sau. Cơ chế của hiện tượng này là globulin miễn dịch kháng D sẽ phá huỷ các hồng cầu Rh (+) của đứa trẻ xâm nhập vào dòng tuần hoàn của người mẹ khi sinh, do đó việc tiêm globulin kháng D chỉ có hiệu quả trong thời gian 72 giờ sau khi sinh.

3.2. Liều lượng

Liều lượng huyết thanh sử dụng tuỳ thuộc vào tuổi và cân nặng của bệnh nhân, trung bình từ 0,1 đến 1 ml/kg cân nặng tuỳ theo loại huyết thanh và mục đích sử dụng. Huyết thanh kháng uốn ván được tính theo đơn vị, trung bình là 250 đơn vị cho một trường hợp. Nếu vết thương quá bẩn hoặc tiêm chậm sau 24 giờ thì liều lượng phải tăng gấp đôi.

3.3. Đường đưa huyết thanh vào cơ thể

Huyết thanh thường được đưa vào cơ thể bằng đường tiêm bắp. Đối với những loại huyết thanh đã được tinh chế đạt tiêu chuẩn cao, có thể tiêm tĩnh mạch nhưng cũng rất nên hạn chế. Tuyệt đối không tiêm tĩnh mạch những huyết thanh có nguồn gốc từ động vật.

3.4. Đề phòng phản ứng

Cần phải thực hiện tốt các việc sau:

1) Hỏi xem bệnh nhân đã được tiêm huyết thanh lần nào chưa. Rất thận trọng khi phải chỉ định tiêm huyết thanh lần thứ hai vì tỷ lệ phản ứng cao hơn nhiều so với lần thứ nhất.

2) Làm phản ứng thoát mẫn (phản ứng Besredka) trước khi tiêm: pha loãng huyết thanh 10 lần bằng dung dịch NaCl 0,85%, tiêm trong da 0,1 ml.

Sau 30 phút, nếu nơi tiêm không mẩn đỏ thì có thể tiêm huyết thanh. Nếu nơi tiêm mẩn đỏ, nói chung không nên tiêm, trừ khi tình trạng nhiễm trùng nhiễm độc của bệnh nhân đòi hỏi bắt buộc phải tiêm. Trong trường hợp đó, cần chia nhỏ tổng liều để tiêm dần, cách nhau 20 đến 30 phút.

3) Trong quá trình tiêm truyền huyết thanh phải theo dõi liên tục để có thể xử trí kịp thời nếu có phản ứng xảy ra, đặc biệt là phải chuẩn bị đầy đủ các điều kiện để xử trí sốc phản vệ.

3.5. Tiêm vacxin phối hợp

Kháng thể do tiêm huyết thanh sẽ phát huy hiệu lực ngay sau khi tiêm, nhưng chỉ tồn tại một thời gian ngắn. Hiệu giá kháng thể này giảm nhanh trong mấy ngày đầu, sau đó giảm chậm hơn nhưng cũng sẽ bị loại trừ hết sau khoảng 10 đến 15 ngày, do phản ứng với các kháng nguyên vi sinh vật và do bị cơ thể chuyển hóa. Việc tiêm vacxin phối hợp nhằm kích thích cơ thể tạo ra miễn dịch chủ động thay thế lúc miễn dịch thụ động do tiêm huyết thanh hết hiệu lực.

4. CÁC PHẢN ỨNG DO TIÊM HUYẾT THANH

Nói chung loại globulin miễn dịch có nguồn gốc từ người đã được tinh chế cao và đưa vào cơ thể bằng đường tiêm bắp ít gây ra các phản ứng nguy hiểm. Tuy nhiên cần phải lưu ý rằng, tỷ lệ phản ứng do tiêm huyết thanh cao hơn nhiều so với phản ứng do tiêm chủng vacxin. Những phản ứng khi tiêm huyết thanh do hai cơ chế chính: 1) do cơ thể phản ứng với các thành phần kháng nguyên lạ, nhất là đối với các huyết thanh chưa được tinh chế cao; 2) do cơ thể sản xuất kháng thể chống lại chính globulin miễn dịch.

4.1. Phản ứng tại chỗ

Nơi tiêm có thể bị đau, mẩn đỏ. Những phản ứng này thường nhẹ, không gây nguy hiểm và sẽ hết sau một ít ngày.

4.2. Phản ứng toàn thân

Bệnh nhân có thể bị sốt, rét run, khó thở, đau các khớp; một số trường hợp có thể bị nhức đầu và nôn. Sốc phản vệ là phản ứng nguy hiểm nhất. Nếu tiêm huyết thanh lần đầu, phản ứng thường xuất hiện sau 10 đến 14 ngày. Nếu tiêm huyết thanh lần thứ hai, phản ứng có thể xảy ra ngay sau khi tiêm đến sau một vài ngày, tuỳ thuộc vào lượng kháng thể do cơ thể sinh ra ở lần tiêm trước còn nhiều hay ít.

Các triệu chứng của sốc phản vệ như khó thở do phù nề đường hô hấp trên và co thắt thanh quản; ngứa toàn thân; nổi mày đay và ban sần khắp người; sưng mắt. Bệnh nhân có thể đau bụng và bí đái do các cơ trơn bị co thắt.

Ngoài ra còn gặp các triệu chứng do phức hợp kháng nguyên kháng thể đọng lại trong các tiểu động mạnh như viêm cầu thận, viêm cơ tim, van tim, viêm khớp...

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Hãy trình bày nguyên lý và những nét cơ bản nhất về nguyên tắc sử dụng vacxin?
2. Kể các tiêu chuẩn của vacxin và phân tích hai tiêu chuẩn cơ bản nhất?
3. Phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến sự đáp ứng miễn dịch đối với vacxin?
4. Liệt kê và nói rõ bản chất của các loại vacxin?
5. Liệt kê các loại vacxin đang được sử dụng rộng rãi ở nước ta? Mỗi loại nói rõ bản chất và lịch tiêm chủng?
6. Hãy trình bày nguyên lý và nguyên tắc sử dụng huyết thanh miễn dịch?

VI SINH VẬT TRONG TỰ NHIÊN VÀ KÝ SINH Ở NGƯỜI CÁC ĐƯỜNG TRUYỀN BỆNH

MỤC TIÊU

1. *Kể được một số vi sinh vật thường gặp trong đất, nước, không khí.*
2. *Trình bày được một số vi sinh vật thường gặp trên cơ thể người bình thường.*
3. *Nói được 3 loại đường truyền bệnh của vi sinh vật gây bệnh, mỗi loại đường truyền bệnh đưa ra được một ví dụ minh họa.*

1. ĐẠI CƯƠNG

Thế giới vi sinh vật bao gồm rất nhiều loài, gặp khắp nơi trong tự nhiên, trong số đó chỉ có một số ít gây bệnh cho người. Vi sinh vật trong tự nhiên có ở trong đất, nước, không khí, cây cối, thức ăn và cả trên cơ thể người và động vật. Nhiệm vụ quan trọng của ngành Vi sinh vật y học là nghiên cứu các vi sinh vật gây bệnh có ở ngoại cảnh để tìm các phương pháp phòng ngừa chúng, đồng thời nghiên cứu sự phân bố của vi sinh vật trên cơ thể người để có biện pháp phòng bệnh thích hợp.

2. VI SINH VẬT TRONG MÔI TRƯỜNG

2.1. Vi sinh vật trong đất

Người ta gọi đất là kho chứa vi sinh vật bởi vì đất là môi trường quan trọng đối với một số vi sinh vật và đất có một số điều kiện cần thiết cho vi sinh vật phát triển. Trong các hạt bụi đất lại có cả nước, không khí, chất vô vơ và cả chất hữu cơ tạo thành một loại môi trường thiên nhiên cho sự phát triển của vi sinh vật. Nước trong đất là những dung dịch muối loãng trong đó có chứa những thức ăn có nitơ, những thức ăn vô cơ cần thiết cho sự phát triển của vi sinh vật, đồng thời cũng chứa một số chất hữu cơ tan trong nước, các chất hữu cơ này luôn luôn phân giải tạo thành các chất cần thiết cho vi sinh vật phát triển. Tuy nhiên, tuỳ theo tính chất của đất ở từng địa phương khác nhau mà thành phần vi sinh vật cũng khác nhau. Đất còn bị ô nhiễm phân và các chất bài tiết của người và động vật với mức độ khác nhau nên số lượng và thành phần vi sinh vật cũng khác nhau. Từ đất, vi sinh vật gây bệnh có thể

lây sang cơ thể người và động vật. Đường lây chủ yếu là gián tiếp do sự ô nhiễm của đất bẩn nhất là vùng có liên quan đến chất thải công nghiệp, chất thải sinh hoạt, chất thải từ các lò mổ, bệnh viện ...

2.2. Vi sinh vật trong nước

Nước cũng là môi trường thiên nhiên trong đó vi sinh vật có thể phát triển, bởi vì vi sinh vật chỉ sinh sản trong điều kiện ẩm ướt. Vi sinh vật trong nước có thể từ đất mà ra hoặc từ không khí theo bụi chìm xuống nước. Nước sông, ao, hồ là những nguồn chứa vi sinh vật rất nguy hiểm, nhất là nguồn nước bị nhiễm vi sinh vật gây bệnh có khả năng lây lan như vi khuẩn *Salmonella, Shigella, Vibrio cholerae*...

2.3. Vi sinh vật trong không khí

Không khí là môi trường không có chất dinh dưỡng cho vi sinh vật phát triển, thêm vào đó lại có ánh sáng mặt trời càng làm cho vi sinh vật ít có khả năng nhân lên và tồn tại lâu trong không khí. Trong không khí ngoài bụi ra còn có vi khuẩn, virus, ký sinh trùng...

Một số vi sinh vật gây bệnh đường hô hấp như vi khuẩn lao, trực khuẩn bạch hầu, liên cầu tan máu nhóm A, tụ cầu vàng, virus cúm, virus sởi... từ bệnh nhân, từ người bệnh không triệu chứng bài tiết ra không khí và làm lây lan từ người này sang người khác chủ yếu là hình thức gián tiếp.

3. CÁC VI SINH VẬT THƯỜNG KÝ SINH Ở CƠ THỂ NGƯỜI (còn gọi là vi hệ: Normal flora)

3.1. Các vi sinh vật trên da và niêm mạc

Ở da chủ yếu là cầu khuẩn Gram dương, điển hình là các tụ cầu có ở một số vùng nhất định của cơ thể, phần lớn ở da đầu, họng... Ngoài ra còn có các trực khuẩn Gram dương như *Corynebacterium hoffmanii, Corynebacterium xerosis, Corynebacterium minussinum.*

3.2. Các vi sinh vật ký sinh ở đường tiêu hóa

3.2.1. Vi sinh vật ký sinh ở miệng

Ở trong miệng khi có bã thức ăn, kèm theo có nhiệt độ thích hợp là điều kiện thuận lợi để cho một số vi sinh vật phát triển. Trẻ mới sinh được vài giờ thì trong miệng đã có những vi sinh vật của người mẹ, như tụ cầu, liên cầu, trực khuẩn sữa, trực khuẩn *E. coli*... Sau khi sinh từ 2 đến 5 ngày thì ở trẻ đã có vi khuẩn giống như của người lớn. Trong miệng còn có một số xoắn khuẩn.

3.2.2. Vi sinh vật trong dạ dày

Trong dạ dày bình thường pH rất thấp (pH = 2) nên có rất ít vi sinh vật, đó là những vi khuẩn từ miệng vào. Vì dạ dày có pH là acid nên vi khuẩn lao có thể sống được. Gần đây nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh có một loại xoắn khuẩn có tên gọi là *Helicobacter* có khả năng phát triển trong môi trường acid của dạ dày đặc biệt là vùng hang vị. Trong giống này, có *Helicobacter pylori* là vi khuẩn có khả năng gây viêm loét dạ dày, tá tràng.

3.2.3. Vi sinh vật ở ruột

Trẻ em sau khi sinh được vài giờ đã có vi sinh vật trong ruột. Trẻ em nuôi bằng sữa mẹ, vi sinh vật thường là *Bifidobacterium bifidum* sau đó là *E. coli*. Đối với trẻ em nuôi bằng sữa bò thì vi sinh vật thường ở ruột có những loại như người lớn.

Do cấu trúc và chức năng của từng đoạn ruột có khác nhau nên số lượng cũng như chủng loại vi sinh vật cũng khác nhau. Ở ruột già có khoảng 70% là *E. coli* rồi đến trực khuẩn *Proteus*, cầu khuẩn đường ruột; trực khuẩn có vỏ, sinh hơi như *Klebsiella*, *Enterobacter* và một số vi khuẩn kỵ khí.

3.2.4. Vi sinh vật ở đường hô hấp

3.2.4.1. Vi sinh vật ở mũi

Ở mũi có nhiều trực khuẩn giả bạch hầu và tụ cầu, đáng chú ý là tụ cầu vàng. Có đến 20 - 50% người lành mang tụ cầu vàng trong mũi và tỷ lệ này còn cao hơn nữa ở những người làm việc ở trong bệnh viện.

3.2.4.2. Vi sinh vật ở họng mũi

Ở hầu thì vi sinh vật về chủng loại và số lượng khá phong phú do từ miệng lan truyền như phế cầu, *S. viridans*, *H. influenzae*, *Nesseria* hoại sinh...

3.2.4.3. Vi sinh vật ở khí quản và phế quản

Do cấu tạo sinh lý có niêm dịch, đại thực bào nên ở đường hô hấp dưới thường không có vi sinh vật.

3.2.5. Vi sinh vật ở bộ máy sinh dục, tiết niệu

Trong điều kiện bình thường, chỉ có bên ngoài bộ máy sinh dục, tiết niệu mới có vi sinh vật. Nam giới thường có *Mycobacterium smegmatis*; lỗ niệu đạo có tụ cầu, trực khuẩn Gram âm. Nữ giới, có thể có tụ cầu, trực khuẩn giả bạch hầu, cầu khuẩn đường ruột, trực khuẩn *E. coli* và thường không có vi sinh vật gây bệnh.

Trong âm đạo của thiếu nữ khi dịch tiết ra hơi kiềm thì có tụ cầu và trực khuẩn giả bạch hầu. Đến tuổi có kinh nguyệt, dịch tiết ra là acid thì vi sinh vật thường gặp là trực khuẩn *Lactobacillus* hay trực khuẩn *Doderlein.*

3.2.6. Vi sinh vật ở niêm mạc mắt

Niêm mạc mắt thường thấy trực khuẩn niêm mạc hoặc tụ cầu da (*S. epidermidis*).

3.2.7. Vi sinh vật ở bộ máy tuần hoàn và phủ tạng

Bình thường trong bộ máy tuần hoàn và các phủ tạng không có vi sinh vật.

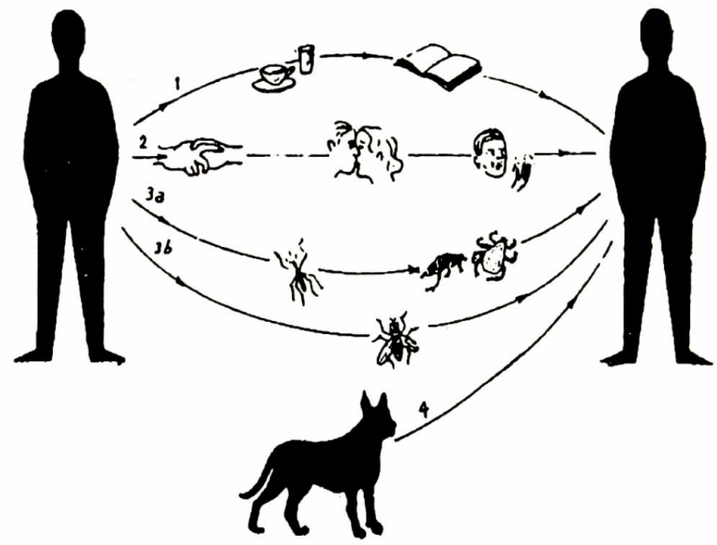
4. CÁC ĐƯỜNG LÂY TRUYỀN BỆNH

Vi sinh vật gây bệnh từ môi trường bên ngoài hay từ cơ thể bị bệnh lây truyền sang cơ thể lành có thể bằng con đường trực tiếp, gián tiếp hoặc thông qua môi giới trung gian là côn trùng tiết túc. Lây bằng con đường tiếp xúc trực tiếp như bệnh lậu, giang mai, AIDS... do quan hệ tình dục mà vi sinh vật từ người bệnh truyền sang cho người lành một cách trực tiếp và là con đường ngắn nhất.

Lây bệnh gián tiếp qua môi trường trung gian như không khí, nước, thức ăn, dụng cụ sinh hoạt v.v... vi sinh vật vào người lành rồi gây bệnh.

Lây bệnh bằng con đường thông qua côn trùng tiết túc, tức là vi sinh vật từ vật chủ hay môi trường bên ngoài qua côn trùng tiết túc (bọ chét, chấy, rận, muỗi...), rồi từ côn trùng tiết túc, vi sinh vật mới xâm nhiễm vào người lành mà gây bệnh như dịch hạch, sốt xuất huyết...

Đường xâm nhập của vi sinh vật vào cơ thể rất quan trọng đối với sự phát triển của bệnh truyền nhiễm. Sơ đồ sau đây minh họa các đường lây truyền của vi sinh vật:



Hình 45. Các đường truyền bệnh nhiễm trùng

1. Qua thức ăn và đồ dùng. 2. Trực tiếp giữa người với người. 3a. Qua côn trùng, vi sinh vật sinh sản bên trong côn trùng. 3b. Qua côn trùng nhưng vi sinh vật không sinh sản bên trong côn trùng. 4. Từ động vật sang người.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Kể tên vi khuẩn, virus và vi nấm thường gặp trong đất, nước và không khí. Chúng ta có thể can thiệp bằng những biện pháp gì để hy vọng ngăn chặn không cho chúng truyền sang gây bệnh cho người?
2. Hãy viết vai trò gây bệnh của VSV trong không khí và các đường truyền bệnh của chúng? Chúng ta có thể làm gì để hạn chế sự lây lan mầm bệnh từ không khí?
3. Trình bày vai trò gây bệnh của vi sinh vật trong đất và các đường truyền bệnh của chúng?
4. Trình bày vai trò gây bệnh của vi sinh vật trong nước và các đường truyền bệnh của chúng?

NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

MỤC TIÊU

1. *Viết được khái niệm về nhiễm trùng bệnh viện. Nêu được 2 loại ví dụ minh họa.*
2. *Kể được các loại nhiễm trùng bệnh viện và các đối tượng có nguy cơ nhiễm trùng bệnh viện.*
3. *Trình bày được đường xâm nhập của vi sinh vật trong nhiễm trùng bệnh viện và các biện pháp phòng ngừa.*

1. KHÁI NIỆM

Nhiễm trùng bệnh viện là bệnh mắc thêm sau khi vào viện 48giờ hoặc là bệnh nhiễm trùng mắc phải do khám, chữa,chăm sóc người bệnh đang nằm điều trị tại bệnh viện.

Ví dụ người thầy thuốc khám và điều trị cho bệnh nhân SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) tại bệnh viện, và sau đó, bị mắc bệnh SARS hoặc người nhà đến chăm sóc bệnh nhân SARS rồi mắc bệnh SARS; hoặc một bệnh nhân vào viện với một lý do gẫy xương đùi kín, sau khi vào viện được tiến hành phẫu thuật và bị nhiễm trùng, đó là nhiễm trùng mắc phải trong bệnh viện.

Như vậy, lây nhiễm ở bệnh viện (nhiễm trùng bệnh viện) có nghĩa là loại trừ các bệnh đang có hoặc đang ủ bệnh khi vào viện và cũng bao hàm cả một số bệnh phát ra sau khi ra viện. Tuy vậy, có những bệnh phát ra sau khi ra viện hàng tháng vẫn được coi là nhiễm trùng bệnh viện, ví dụ một bệnh nhân bị viêm xương do sự tiến triển âm ỉ của việc đóng đinh nội tủy, sau khi ra viện một vài tháng mới biểu hiện viêm xương do nguyên nhân đóng đinh không vô khuẩn. Hoặc một bệnh nhân sau khi nằm điều trị ở bệnh viện với một bệnh khác, sau khi ra viện về nhà xuất hiện viêm gan, trường hợp này cũng được coi là nhiễm trùng bệnh viện. Bởi vì thời gian ủ bệnh của bệnh viêm gan có thể từ 3 tuần đến 3 tháng.

Đồng thời tất cả những người thường xuyên hay có mặt trong chốc lát như y tá, hộ lý, nhân viên văn phòng của bệnh viện, ngay cả các bác sĩ... đều có thể mang mầm bệnh từ nơi khác đến. Các bệnh dễ lây ở bệnh viện gồm các bệnh SARS, bệnh ngoài da, sốt phát ban, sốt sau đẻ, bệnh đường ruột, viêm họng, viêm xoang, viêm phổi, bệnh lao v.v...

Nhiễm trùng bệnh viện thường gặp là nhiễm trùng ngoại khoa, nhiễm trùng bỏng và các bệnh truyền nhiễm (HIV, HBV).

2. NHỮNG ĐỐI TƯỢNG CÓ NGUY CƠ NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

Những đối tượng có nguy cơ nhiễm trùng bệnh viện là những bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch làm giảm khả năng đề kháng của cơ thể bởi các lý do chính sau đây:

- Bị các bệnh của cơ quan miễn dịch.
- Dùng các thuốc giảm miễn dịch, ví dụ dùng các thuốc điều trị bệnh ung thư.
- Sau phẫu thuật hoặc sau mắc một bệnh nặng hoặc đang mắc một bệnh mạn tính.
- Người có tuổi nằm điều trị ở bệnh viện lâu ngày, hoặc trẻ em còi xương, suy dinh dưỡng, bị bệnh ỉa chảy kéo dài.
- Nhân viên bệnh viện thường xuyên tiếp xúc với vi sinh vật gây bệnh, trong khi cơ thể có sức đề kháng kém, tình trạng vệ sinh và bảo hộ lao động chưa được cải thiện.

3. MỘT SỐ VI SINH VẬT THƯỜNG GẶP TRONG NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

3.1. Vi khuẩn: mọi loài vi khuẩn đều có thể gây nhiễm trùng bệnh viện với tỷ lệ khác nhau và hay gặp nhất là các loài sau đây:

- Họ vi khuẩn đường ruột (*Enterobacteriaeae*): họ vi khuẩn đường ruột đứng hàng đầu trong NTBV và hay gặp nhất là *E. coli* và nhóm KES (*Klebsiella-Entrobacter-Serratia*).
- Họ cầu khuẩn: trong số các cầu khuẩn thì tụ cầu là thường hay gặp hơn cả trong các loại bệnh NTBV nhưng thường chiếm tỷ lệ cao nhất là tụ cầu vàng (*S. aureus*), rồi đến tụ cầu da (*S. epidermidis*) và tụ cầu hoại sinh (*S. saprophyticus*).
- Họ *Pseudomonadaceae*: trong họ *Pseudomonadaceae* thì loài *Pseudomonas aeruginosa* thường chiếm tỷ lệ cao nhất trong các loại bệnh nhiễm trùng bệnh viện.
- Ngoài ra có thể gặp nhiễm trùng bệnh viện do *Acinetobacter* (điển hình là loài *A. baumannii*), *H. influenzae* và *Listeria* (*Listeria* có tỷ lệ gặp cao nhất là *L. monocytogenes*).

3.2. Virus

Virus cũng có thể gây nên NTBV, điển hình nhất là virus HIV, virus viêm gan (A, B,C); virus cúm, virus sởi, virus thuỷ đậu...

3.3. Vi nấm

Vi nấm cũng có thể gặp trong NTBV, loài hay gặp nhất là *Candia albicans*. Ngoài NTBV do vi khuẩn, virus, vi nấm người ta còn gặp nhiễm ký sinh trùng bệnh viện. Thông thường có 2 dạng: bệnh nhân hoặc thầy thuốc hoặc người chăm sóc bệnh nhân là những đối tượng mang ký sinh trùng và bị mắc bệnh ký sinh trùng trong thời gian khám, chữa bệnh, chăm sóc bệnh nhân và nằm điều trị tại bệnh viện. Loại thứ hai là loại ký sinh trùng đường ruột. Loài hay gặp là *Entamoeba histolytica* gây bệnh kiết lỵ (còn gọi là lỵ amip). Amip vào người, ký sinh ở ruột dưới dạng bào nang, khi sức đề kháng của cơ thể giảm sút chúng sẽ biến thành dạng hoạt động có thể xâm nhập vào tế bào để gây bệnh.

4. PHÂN LOẠI NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

Nguồn vi sinh vật để dẫn đến nhiễm trùng bệnh viện rất phong phú. Do nhiều nguyên nhân khác nhau. Có người bị nhiễm trùng bệnh viện khi nằm viện hoặc khi khám, chữa bệnh và chăm sóc bệnh nhân do các vi sinh vật từ bên ngoài cơ thể (nhiễm trùng ngoại sinh) hoặc bị nhiễm trùng do các vi sinh vật có ngay bên trong cơ thể (nhiễm trùng nội sinh) gây nên.

4.1. Nhiễm trùng bệnh viện nội sinh và ngoại sinh

4.1.1. Nhiễm trùng ngoại sinh

Nhiễm trùng ngoại sinh là loại nhiễm trùng do các vi sinh vật xâm nhập vào bệnh nhân từ môi trường bên ngoài hoặc cả vi sinh vật do thầy thuốc đem lại.

4.1.2. Nhiễm trùng nội sinh

Nhiễm trùng nội sinh là loại nhiễm trùng do các vi sinh vật đã ký sinh sẵn ở người bệnh gây ra. Chúng là những vi sinh vật gây bệnh cơ hội hoặc vi sinh vật có từ một vùng nhiễm trùng trên cơ thể bệnh nhân đã mắc từ trước.

4.2. Các dạng lâm sàng thường gặp trong nhiễm trùng bệnh viện

- Nhiễm trùng ngoại khoa
- Nhiễm trùng bỏng
- Nhiễm trùng các cơ quan: tiết niệu, tiêu hóa, hô hấp.

5. ĐƯỜNG XÂM NHẬP

Đường xâm nhập của vi sinh vật gây nên hiện tượng nhiễm trùng bệnh viện tuỳ thuộc vào rất nhiều yếu tố có liên quan. Đối với nhiễm trùng nội sinh do các vi sinh vật sống trên da và niêm mạc của cơ thể. Chúng thường gây

nhiễm cơ quan mà chúng ký sinh hoặc thường gây nên nhiễm trùng vết mổ. Các vi khuẩn thường thấy là các cầu khuẩn Gram dương, trực khuẩn đường ruột, cầu khuẩn đường ruột, một số vi khuẩn yếm khí như *Clostridium* hoặc các cầu khuẩn yếm khí. Trong bệnh viện, nhất là những bệnh nhân giảm bạch cầu, suy giảm miễn dịch, nằm điều trị lâu ngày thì khả năng mắc các bệnh về đường hô hấp dưới rất hay gặp. Nguyên nhân là do hít phải các chất dịch nhầy ở vùng mũi, họng có nhiều loài vi khuẩn có khả năng gây bệnh khi có điều kiện thuận lợi như *Hemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Klebsiella.*

Đối với nhiễm trùng ngoại sinh các vi sinh vật có thể xâm nhập vào cơ thể theo tất cả các đường như các nhiễm trùng khác; nhưng đường tiêm, truyền, phẫu thuật và đường truyền trực tiếp qua không khí, bàn tay là rất quan trọng.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG NGỪA

Để phòng ngừa nhiễm trùng bệnh viện, nói chung nên dựa vào mấy nguyên tắc chính sau đây:

6.1. Tiêu diệt các nguồn vi sinh vật có khả năng gây nhiễm trùng

Đây là một công việc rất khó khăn để phát hiện và diệt trừ chúng. Vì vậy, để hạn chế đến mức tối đa các vi sinh vật có thể xâm nhiễm vào cơ thể, người ta tìm mọi biện pháp, tuỳ từng công việc cụ thể. Ví dụ: để hạn chế nhiễm khuẩn đường tiết niệu do phẫu thuật đưa đến, nên dùng các biện pháp sau đây:

Cho kháng sinh dự phòng khi nội soi, sinh thiết tiền liệt tuyến, thăm dò động học vùng tiết niệu, hoặc mổ xẻ trên những thương tổn do tắc, u, sỏi ... Chỉ thông niệu đạo khi thật cần thiết. Không đặt ống thông quá thời hạn, cần đặt đúng kỹ thuật vô trùng bằng dụng cụ đã tiệt trùng. Cố định ống thông để tránh ống di động hay kéo trùng vào niệu đạo, hệ thống dẫn lưu phải kín và vô trùng.

6.2. Nâng cao thể trạng cho đối tượng cảm thụ

Công việc này rất cần thiết của bệnh viện và gia đình. Đặc biệt đối với bệnh nhân suy giảm miễn dịch, cần có chế độ ăn uống và điều trị thích hợp để cơ thể có đủ khả năng chống lại bệnh nhiễm trùng. Bên cạnh đó, việc vận động và tập luyện cho bệnh nhân làm một số động tác để tăng thêm hiệu lực trong phòng bệnh như vận động và tập thở, ho sau khi mổ,... để đề phòng viêm phổi do nằm lâu.

6.3. Thực hiện nguyên tắc vô trùng

Tiệt trùng ở các phòng mổ, phòng hậu phẫu và mỗi khi tiến hành các kỹ thuật hỗ trợ, thăm dò cũng như trong các thao tác tiêm, truyền dịch.

6.4. Quản lý chặt chẽ hiện tượng nhiễm trùng bệnh viện

Có quy chế theo dõi hàng tháng, hàng quý, hàng năm về tiến triển nhiễm trùng bệnh viện trong từng khoa, phòng và trong từng bệnh viện.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các khái niệm về NTBV? Cho 2 ví dụ minh họa? Phân biệt điểm khác nhau cơ bản của nhiễm trùng cộng đồng với nhiễm trùng bệnh viện?
2. Có mấy loại NTBV? Loại nào hay gặp nhất? Tại sao? Cho 2 ví dụ minh họa.
3. Trình bày các đối tượng có nguy cơ mắc NTBV và nguyên tắc phòng ngừa cho từng đối tượng?
4. Trình bày nguyên tắc phòng ngừa NTBV nói chung?

PHẦN II

CÁC VI KHUẨN GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

TỤ CẦU

(Staphylococci)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các tiêu chuẩn để xác định tụ cầu vàng, tụ cầu da và S. saprophyticus.*
2. *Trình bày được các yếu tố độc lực và khả năng gây bệnh của tụ cầu vàng.*
3. *Trình bày được các nguyên tắc phòng và điều trị các bệnh do tụ cầu.*

Tụ cầu là một trong những vi khuẩn gây bệnh được ghi nhận sớm nhất, vào đầu những năm 1880. Năm 1880, Louis Pasteur đã phân lập được tụ cầu. Năm 1881, Ogston đã gây bệnh thực nghiệm. Tụ cầu phân bố rộng rãi trong tự nhiên và là một loại vi khuẩn thường ký sinh trên da lỗ mũi và đường hô hấp trên của người. Trong đó nhiều loài (species) là những tụ cầu cộng sinh và một vài loài là những vi khuẩn gây bệnh giới hạn. Theo nhiều nghiên cứu ở Việt Nam, trong các vi khuẩn Gram dương, tụ cầu vàng là loài vi khuẩn gây bệnh thường gặp nhất và kháng lại kháng sinh mạnh nhất. Đặc biệt là gây nhiễm khuẩn huyết, gây ngộ độc thức ăn, gây nhiễm trùng bệnh viện...

Giống *Staphylococcus* ít nhất bao gồm 13 loài, trong đó có 3 loài có vai trò quan trọng trong y học là:

- *S. aureus* (tụ cầu vàng)
- *S. epidermidis* (tụ cầu da)
- *S. saprophyticus*

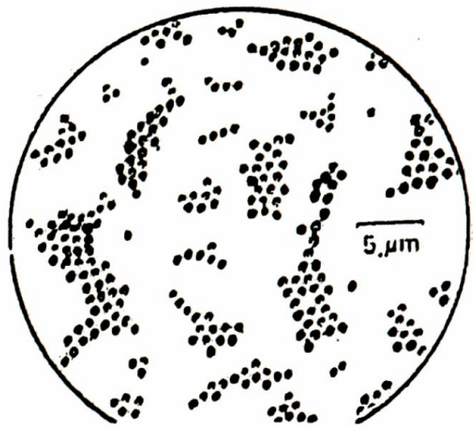
TỤ CẦU VÀNG

(Staphylococcus aureus)

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình dạng và kích thước

Tụ cầu là những cầu khuẩn, có đường kính từ 0,8-1,0 μm và đứng thành hình chùm nho, bắt màu Gram dương, không có lông, không nha bào, thường không có vỏ (Hình 46).



Hình 46. *S. aureus* dưới kính hiển vi quang học

1.2. Nuôi cấy

Tụ cầu vàng thuộc loại dễ nuôi cấy, phát triển được ở nhiệt độ 10 - 45°C và nồng độ muối cao tới 10%. Thích hợp được ở điều kiện hiếu và kỵ khí.

- Trên môi trường thạch thường, tụ cầu vàng tạo thành khuẩn lạc S, đường kính 1-2 mm, nhẵn. Sau 24 giờ ở 37°C, khuẩn lạc thường có màu vàng chanh.
- Trên môi trường thạch máu, tụ cầu vàng phát triển nhanh, tạo tan máu hoàn toàn. Tụ cầu vàng tiết ra 5 loại dung huyết tố (hemolysin): α, β, δ, ε, γ.
- Trên môi trường canh thang: tụ cầu vàng làm đục môi trường, để lâu nó có thể lắng cặn.

1.3. Khả năng đề kháng

Tụ cầu vàng có khả năng đề kháng với nhiệt độ và hóa chất cao hơn các vi khuẩn không có nha bào khác. Nó bị diệt ở 80°C trong một giờ (các vi khuẩn khác thường bị diệt ở 60°C trong 30 phút). Khả năng đề kháng với nhiệt độ thường phụ thuộc vào khả năng thích ứng nhiệt độ tối đa (45°C) mà vi khuẩn có thể phát triển. Tụ cầu vàng cũng có thể gây bệnh sau một thời gian dài tồn tại ở môi trường.

1.4. Sự kháng kháng sinh

Sự kháng lại kháng sinh của tụ cầu vàng là một đặc điểm rất đáng lưu ý. Đa số tụ cầu kháng lại penicillin G do vi khuẩn này sản xuất được men penicillinase nhờ gen của R-plasmid. Một số còn kháng lại được methicillin gọi là *methicillin resistance S. aureus* (viết tắt là MRSA), do nó tạo ra được các protein gắn vào vị trí tác động của kháng sinh. Hiện nay một số rất ít tụ cầu

còn đề kháng được với cephalosporin các thế hệ. Kháng sinh được dùng trong các trường hợp này là vancomycin.

1.5. Tính chất sinh vật hóa học

Tụ cầu có hệ thống enzym phong phú, những enzym được dùng trong chẩn đoán là:

- *Coagulase* có khả năng làm đông huyết tương người và động vật khi đã được chống đông. Đây là tiêu chuẩn quan trọng nhất để phân biệt tụ cầu vàng với các tụ cầu khác. Coagulase có ở tất cả các chủng tụ cầu vàng. Hoạt động của coagulase giống như thrombokianase tạo thành một "áo fibrinogen" trong huyết tương.

Coagulase có 2 loại: một loại tiết ra môi trường - gọi là coagulase *tự do* và một loại bám vào vách tế bào - gọi là coagulase *cố định*.

- Catalase dương tính. Enzym này xúc tác gây phân giải $H_2O_2 \rightarrow O + H_2O$. Catalase có ở tất cả các tụ cầu mà không có ở liên cầu.
- Lên men đường mannitol.
- Desoxyribonuclease là enzym phân giải ADN.
- Phosphatase.

2. PHÂN LOẠI

2.1. Kháng nguyên

Các tụ cầu có nhiều loại kháng nguyên: protein, polysaccharid,, acid teichoic của vách. Nhưng dựa vào kháng nguyên việc định loại rất khó khăn. Sau đây là một số kháng nguyên trên bề mặt tế bào được quan tâm nghiên cứu:

- Acid teichoic: là kháng nguyên ngưng kết chủ yếu của tụ cầu và làm tăng tác dụng hoạt hóa bổ thể. Đây còn là chất bám dính của tụ cầu vào niêm mạc mũi. Acid này gắn vào polysaccharid vách tụ cầu vàng. Đây là thành phần đặc hiệu của kháng nguyên O.
- Protein A: là những protein bao quanh bề mặt vách tụ cầu vàng và là một tiêu chuẩn để xác định tụ cầu vàng. 100% các chủng tụ cầu vàng có protein này. Sở dĩ kháng nguyên này mang tên protein A, vì protein này gắn được phần Fc của IgG. Điều này dẫn tới làm mất tác dụng của IgG, chủ yếu là mất đi opsonin hóa (opsonisation), nên làm giảm thực bào.
- Vỏ polysaccharid: một số ít chủng *S. aureus* có vỏ và có thể quan sát được bằng phương pháp nhuộm vỏ. Lớp vỏ này bao gồm nhiều tính đặc hiệu kháng nguyên và có thể chứng minh được bằng phương pháp huyết thanh học.
- Kháng nguyên adherin (yếu tố bám).

– Giống như nhiều vi khuẩn khác, tụ cầu có protein bề mặt đặc hiệu, có tác dụng bám vào receptor đặc hiệu tế bào. Adherin có thể là các protein: laminin, fibronectin, collagen.

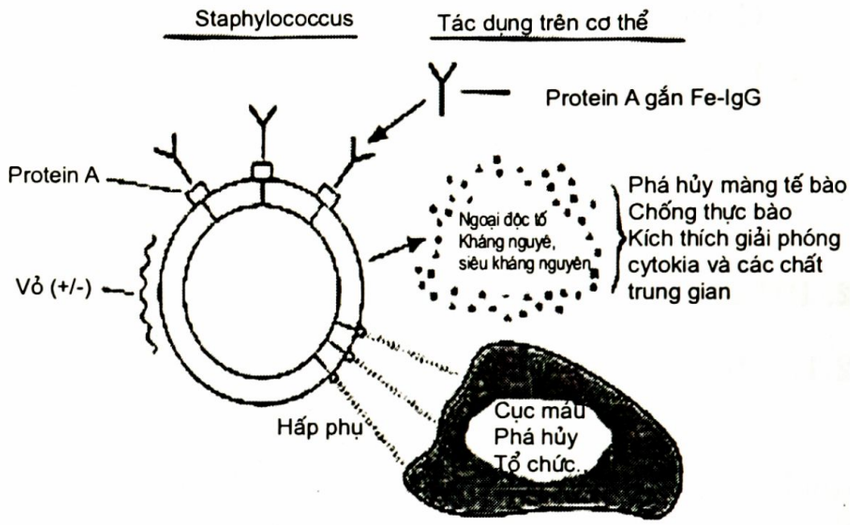
2.2. Phân loại bằng phage (phage typing)

Các phương pháp phân loại dựa trên kháng nguyên của tụ cầu là rất khó khăn, vì vậy việc phân loại tụ cầu vàng là chủ yếu dựa trên phage. Sự ký sinh của phage trên vi khuẩn mang tính đặc hiệu rất cao. Do vậy phương pháp này rất có ý nghĩa trong phân loại vi khuẩn. Đây là phương pháp được sử dụng nhiều trong phân loại *S. aureus*, vì đây là vi khuẩn gây nhiễm trùng nhiều nhất trên người.

3. ĐỘC TỐ VÀ CÁC YẾU TỐ ĐỘC LỰC

3.1. Độc tố ruột (enterotoxin)

Độc tố ruột được sản xuất bởi phần lớn các chủng tụ cầu vàng, nhưng không phải là tất cả mọi chủng: đây là những protein tương đối chịu nhiệt, nên không bị huỷ bởi sự đun nấu, có trọng lượng phân tử từ 28.000 - 30.000 dalton và bao gồm 6 týp được ký hiệu từ A-F. Về miễn dịch, 6 týp này được phân biệt khá rõ ràng, mặc dù giữa chúng có kháng nguyên chéo. Về cơ chế gây bệnh, độc tố ruột kích thích tạo ra một lượng lớn interleukin I và II. Xác định enterotoxin bằng các kỹ thuật miễn dịch.



Hình 47. Các yếu tố độc lực của Stophylococcus aureus

3.2. Độc tố gây hội chứng shock nhiễm độc (Toxic shock syndrome toxin-TSST)

Độc tố gây shock nhiễm độc thường gặp ở những phụ nữ có kinh dùng bông băng dày bẩn hoặc những người bị nhiễm trùng vết thương. Độc tố này khó phân biệt với enterotoxin F của tụ cầu vàng. TSST kích thích giải phóng TNF (Tumor necrosis factor, yếu tố hoại tử u) và các interleukin I, II. Cơ chế gây shock của nó tương tự như của nội độc tố.

3.3. Exfoliatin toxin hay epidermolytic toxin

Đây là một ngoại độc tố. Nó gây nên hội chứng phỏng rộp và chốc lở da (Scaded skin syndrome) ở trẻ em. Hội chứng này đã được biết khá lâu, nhưng

mãi đến năm 1971 người ta mới biết đến exfoliatin. Độc tố này được tạo bởi gen của 85% các chủng tụ cầu vàng thuộc loại phage nhóm II.

3.4. Alpha toxin

Độc tố này gây tan các bạch cầu có nhân đa hình và tiểu cầu, từ đó gây ra các ổ áp xe, gây ra hoại tử da và tan máu. Alpha toxin là một protein trọng lượng phân tử 33.000-36.000 dalton. Nó gắn trên màng tế bào và thể hiện các thuộc tính hoạt động bề mặt. Độc tố có tính kháng nguyên nhưng kháng thể của nó không có tác dụng chống nhiễm khuẩn.

3.5. Độc tố bạch cầu (Leucocidin)

Mặc dù một số staphylolysin chứa độc tố bạch cầu, nhưng chỉ một độc tố tụ cầu thực sự độc với bạch cầu và được coi là leucocidin. Độc tố này gây độc cho bạch cầu người và thỏ và không gây độc cho bạch cầu các loại động vật khác. Nó cũng có tác dụng hoại tử da thỏ. Leucocidin bao gồm 2 mảnh F và S và có thể tách rời bằng sắc ký ion, trọng lượng phân tử là 32.000 và 38.000 dalton. Nếu tách rời 2 mảnh này thì mất tác dụng gây độc.

3.6. Ngoại độc tố sinh mủ (pyogenic exotoxin)

Vào 1979, Schlivent và cộng sự đã tách biệt được một độc tố từ tụ cầu vàng. Về nhiều phương diện, độc tố này tương tự độc tố sinh mủ của liên cầu. Protein ngoại độc tố này có tác dụng sinh mủ và phân bào lymphocyt, đồng thời nó làm tăng nhậy cảm về một số phương diện đối với nội độc tố như gây shock và hoại tử gan và cơ tim.

Sau đó, người ta đã phân biệt được 3 loại ngoại độc tố sinh mủ, ký hiệu là A, B, C. Ba loại này khác nhau về trọng lượng phân tử (theo thứ tự: 12.000, 18.000 và 22.000 dalton) và về tính đặc hiệu kháng nguyên nhưng giống nhau về khả năng sinh mủ và phân bào.

3.7. Dung huyết tố (hemolysin còn gọi là staphylolysin)

Tụ cầu vàng sinh ra 4 loại hemolysin có các tính chất khác nhau:

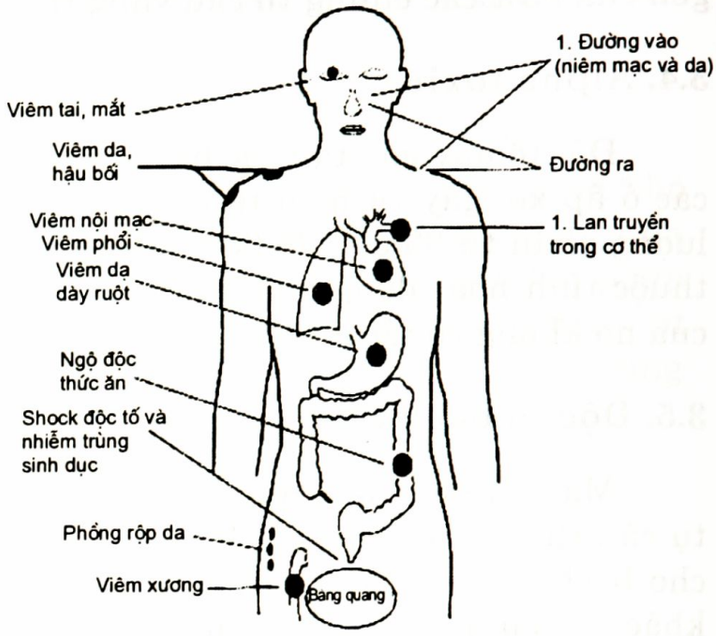
Týp	Loại hồng cầu nhậy cảm	Loại bạch cầu nhậy cảm	Nguồn gốc vi khuẩn	Tác động trên động vật thí nghiệm
α	Thỏ, cừu	Thỏ, người	Người	Gây hoại tử da thỏ, gây chết chuột và thỏ, gây độc tế bào nuôi cấy
β	Cừu, người, bò	Không	Động vật	Liều cao gây chết thỏ, hoại tử từng đám tế bào nuôi cấy
γ	Thỏ, người, cừu, chuột, bò, ngựa	?	Người	Hoại tử nhẹ da thỏ và da chuột, gây chết thỏ
δ	Người, thỏ, ngựa, cừu, chuột	Thỏ, chuột, người	Người	Làm xơ cứng da thỏ và da chuột, gây hoại tử tế bào nuôi cấy

Fribrinolysin (staphylokinase) là một enzym đặc trưng cho các chủng gây bệnh ở người, giúp tụ cầu phát triển trong các cục máu và gây vỡ các cục máu này, tạo nên tắc mạch.

3.8. Coagulase (xem mục 1.5.)

3.9. Hyaluronidase là enzym phân giải các acid hyaluronic của mô liên kết, giúp vi khuẩn lan tràn vào mô.

3.10. β-lactamase (xem mục 1.4.)



Hình 48. Khả năng gây nhiễm của *Staphylococcus aureus*

4. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Tụ cầu vàng thường ký sinh ở mũi họng và có thể cả ở da. Vi khuẩn này gây bệnh cho người bị suy giảm đề kháng hoặc chúng có nhiều yếu tố độc lực. Tụ cầu vàng là vi khuẩn gây bệnh thường gặp nhất và có khả năng gây nhiều loại bệnh khác nhau.

4.1. Nhiễm khuẩn ngoài da

Do tụ cầu vàng ký sinh ở da và niêm mạc mũi, nên nó có thể xâm nhập qua các lỗ chân lông, chân tóc hoặc các tuyến dưới da. Sau đó gây nên các nhiễm khuẩn sinh mủ: mụn nhọt, đầu đinh, các ổ áp xe, eczema, hậu bối... Mức độ các nhiễm khuẩn này phụ thuộc vào sự đề kháng của cơ thể và độc lực của vi khuẩn. Nhiễm tụ cầu ngoài da thường gặp ở trẻ em và người suy giảm miễn dịch. Hậu bối và đinh râu có thể gây nên các biến chứng nguy hiểm.

4.2. Nhiễm khuẩn huyết

Tụ cầu vàng là vi khuẩn thường gây nhiễm khuẩn huyết nhất. Do chúng gây nên nhiều loại nhiễm khuẩn, đặc biệt là các nhiễm khuẩn ngoài da, từ đấy vi khuẩn xâm nhập vào máu gây nên nhiễm khuẩn huyết. Đây là một nhiễm trùng rất nặng. Từ nhiễm khuẩn huyết, tụ cầu vàng đi tới các cơ quan khác nhau và gây nên các ổ áp xe (gan, phổi, não, tuỷ xương...) hoặc viêm nội tâm mạc. Có thể gây nên các viêm tắc tĩnh mạch. Một số nhiễm trùng khu trú này trở thành viêm mạn tính như viêm xương...

4.3. Viêm phổi

Viêm phổi do tụ cầu vàng ít gặp. Nó chỉ xảy ra sau viêm đường hô hấp do virus (như cúm) hoặc sau nhiễm khuẩn huyết. Tuy vậy cũng có viêm phổi tiên

phát do tụ cầu vàng, ở trẻ em hoặc những người suy yếu. Tỷ lệ tử vong của bệnh này khá cao, vì thế nó được coi là bệnh nặng.

4.4. Nhiễm độc thức ăn và viêm ruột cấp

Ngộ độc thức ăn tụ cầu có thể do ăn uống phải độc tố ruột của tụ cầu, hoặc do tụ cầu vàng vốn cư trú ở đường ruột chiếm ưu thế về số lượng. Nguyên nhân là sau một thời gian dài bệnh nhân dùng kháng sinh có hoạt phổ rộng, dẫn đến các vi khuẩn chí bình thường của đường ruột nhạy cảm kháng sinh bị tiêu diệt và tạo điều kiện thuận lợi cho tụ cầu vàng (kháng kháng sinh) tăng trưởng về số lượng.

Triệu chứng của ngộ độc thức ăn do tụ cầu thường rất cấp tính. Sau khi ăn phải thức ăn nhiễm độc tố tụ cầu từ 2 đến 8 giờ, bệnh nhân nôn và đi ngoài dữ dội, phân lẫn nước, càng về sau phân và chất nôn chủ yếu là nước. Do mất nhiều nước và điện giải có thể dẫn tới shock. Ngộ độc thức ăn do tụ cầu vàng là một trong những ngộ độc thức ăn rất thường gặp ở Việt Nam.

4.5. Nhiễm khuẩn bệnh viện do tụ cầu: rất thường gặp, nhất là đối với nhiễm trùng vết mổ, vết bỏng... từ đó dẫn tới nhiễm khuẩn huyết. Các chủng tụ cầu này có khả năng kháng kháng sinh rất mạnh và phải dùng tới vancomycin. Tỷ lệ tử vong của bệnh này rất cao.

4.6. Hội chứng da phồng rộp (Scalded skin syndrome), xem mục 3.3.

4.7. Hội chứng shock nhiễm độc (toxic shock syndrome), xem mục 3.2.

5. MIỄN DỊCH

Miễn dịch thu được với tụ cầu nói chung là thấp. Hàng rào tế bào tự nhiên, trong đó tế bào thực bào đóng vai trò quan trọng nhất.

- Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào có xảy ra với việc tiết ra các lymphokin và hoạt hóa đại thực bào. Tuy vậy nhưng đã không làm tăng được sự diệt khuẩn.
- Miễn dịch dịch thể cũng xuất hiện để chống lại các yếu tố độc lực (độc tố và enzym). Nhưng nó không có vai trò bảo vệ có ý nghĩa. Vì tụ cầu ít tiếp xúc với kháng thể hoặc tế bào sản xuất kháng thể. Do vi khuẩn này thường ẩn trú trong các ổ áp xe, trong các cục fibrin và trong các tế bào bạch cầu. Như vậy miễn dịch tích cực chống nhiễm tụ cầu ít có vai trò bảo vệ.

6. CHẨN ĐOÁN VI KHUẨN HỌC

Phân lập xác định tụ cầu là việc cần thực hiện và không mấy khó khăn.

Bệnh phẩm là máu, mủ, phân... tuỳ theo loại bệnh của tụ cầu.

Thạch máu là môi trường thích hợp để phân lập. Tụ cầu phát triển rất tốt trên môi trường này. Có thể sử dụng môi trường lựa chọn chứa 7,5% NaCl, đường mannitol và có thể có cả kháng sinh chống vi khuẩn Gram âm, khi bệnh phẩm có nhiều loại vi khuẩn. Sau đó xác định các tính chất:

- Khuẩn lạc S và màu vàng nhẹ.
- Cầu khuẩn Gram dương, đứng thành hình chùm nho.
- Coagulase dương tính.
- Mannitol dương tính.
- Kháng novobiocin.
- Phosphatase dương tính.
- Catalase dương tính.

7. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

7.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh nhiễm khuẩn tụ cầu chủ yếu là vệ sinh môi trường, quần áo và thân thể vì tụ cầu có rất nhiều ở những nơi này. Đặc biệt là vệ sinh môi trường bệnh viện để chống nhiễm khuẩn bệnh viện.

7.2. Điều trị

Kháng sinh trị liệu là biện pháp chủ yếu. Vấn đề khó khăn là tụ cầu rất kháng thuốc, nên cần phải làm kháng sinh đồ để chọn lọc thuốc thích hợp (xem mục 1.4.). Dùng vacxin gây miễn dịch chống tụ cầu vàng cũng là một biện pháp cần thiết ở những bệnh nhân dùng kháng sinh ít kết quả. Đây là những vacxin chết và có thể được bào chế từ chủng tụ cầu vàng phân lập được ở chính bệnh nhân đó (gọi là vacxin tự liệu), hoặc dùng các chủng tụ cầu vàng mẫu, là những chủng thường gặp (gọi là vacxin trị liệu).

Staphylococcus epidermidis và

Staphylococcus saprophyticus

Hai loại tụ cầu này cũng có vai trò gây bệnh. Hiện nay trên các y văn nước ngoài, vai trò gây bệnh của các *Staphylococcus* coagulase âm tính được đề cập đến rất nhiều.

Hai loại tụ cầu này, đặc biệt là *S. epidermidis* ký sinh trên da và trong lỗ mũi của người lành (carrier). Sự ký sinh này có rất sớm từ khi mới lọt lòng và kéo dài suốt đời. Sự ký sinh này có 3 ý nghĩa:

- Có tác dụng bảo vệ cơ thể, chống lại sự xâm nhập của các vi khuẩn khác, đặc biệt là các vi khuẩn độc lực. Vì các vi khuẩn này đã chiếm mất receptor là chỗ bám của các vi khuẩn khác.

- Ở các cơ thể suy giảm miễn dịch, hai loại tụ cầu này có thể gây các nhiễm trùng cơ hội, mà rất thường gặp là: *S. epidermidis* gây nhiễm khuẩn da và viêm nội tâm mạc bán cấp, *S. saprophyticus* gây nhiễm khuẩn tiết niệu.
- Sự cư trú trên cơ thể và trong môi trường bệnh viện giữa các loại tụ cầu, dẫn tới sự truyền cho nhau khả năng kháng thuốc, làm cho sự kháng kháng sinh tăng lên, nhất là trong bệnh viện. Càng làm cho việc điều trị kháng sinh khó khăn hơn. Có lẽ vì lý do này mà tụ cầu là một trong những vi khuẩn kháng thuốc mạnh nhất.

  So sánh các tính chất của 3 loại tụ cầu:

Tính chất	Cầu khuẩn Gram (+), chùm nho	Catalase	Coagu-lase	Tan máu β	Lên men mannit.	Deoxyribonuclease	Novobio cin	Protein A trên vách
S. aureus	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Kháng	(+)
S. epidermidis	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	Nhậy	(-)
S. saprophyticus	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	Kháng	(-)

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Kể tên các loài tụ cầu và đặc điểm phân biệt?
2. Các yếu tố độc lực và khả năng gây bệnh của tụ cầu vàng?
3. Các tiêu chuẩn chẩn đoán tụ cầu vàng?
4. Vì sao nói tụ cầu vàng là vi khuẩn Gram dương gây bệnh rất đáng quản ngại?

LIÊN CẦU

(Streptococci)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm sinh học chính của liên cầu.*
2. *Trình bày được khả năng gây bệnh của liên cầu.*
3. *Trình bày được các phương pháp chẩn đoán liên cầu nhóm A và ý nghĩa của từng phương pháp.*

1. LỊCH SỬ VÀ XẾP LOẠI

Liên cầu được Billroth mô tả lần đầu tiên vào năm 1874 từ mủ của các tổn thương viêm quầng và các vết thương bị nhiễm trùng. Năm 1880, Pasteur phân lập được liên cầu ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết. Sau đó Ogston (1881), Rosenbach (1884) đã nghiên cứu kỹ về tổ chức bệnh lý.

Năm 1919, Brown đã xếp loại liên cầu theo những hình thái tan máu khác nhau khi chúng phát triển trên môi trường thạch máu:

Tan máu (β): vòng tan máu trong suốt, hồng cầu bị phá huỷ hoàn toàn. Hình thái tan máu này gặp chủ yếu ở liên cầu nhóm A, ngoài ra còn có thể gặp ở nhóm B, C, G, F.

Tan máu (α): tan máu không hoàn toàn, xung quanh khuẩn lạc có vòng tan máu màu xanh, thường gặp liên cầu viridans.

Tan máu (γ): xung quanh khuẩn lạc không nhìn thấy vòng tan máu. Hồng cầu trong thạch vẫn giữ màu hồng nhạt, thường gặp liên cầu nhóm D.

Năm 1930, Lancefield dựa vào kháng nguyên C (carbohydrat) của vách tế bào vi khuẩn để xếp liên cầu thành các nhóm từ A đến R.

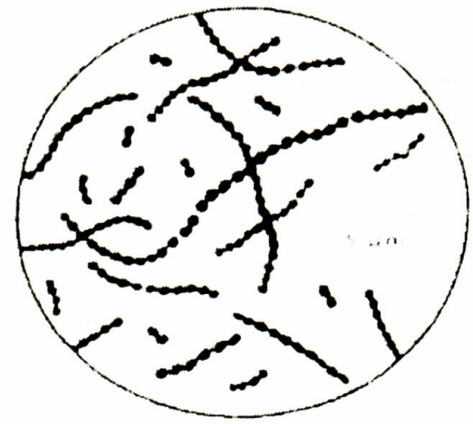
Sherman dựa vào tính chất sinh hóa xếp liên cầu thành các loài:

- Streptococcus pyogenes
- Streptococcus viridans
- Streptococcus feacalis (Enterococcus faecalis)

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Liên cầu là những cầu khuẩn bắt màu Gram dương, xếp thành chuỗi dài ngắn khác nhau, không di động, đôi khi có vỏ, đường kính 0,6 – 1 μm (Hình 54).



Hình 49. Hình thể và cách sắp xếp của liên cầu

2.2. Tính chất nuôi cấy

Liên cầu là những vi khuẩn hiếu kỵ khí tuỳ tiện. Môi trường nuôi cấy cần nhiều chất dinh dưỡng như máu, huyết thanh, đường, vv... Liên cầu phát triển thuận lợi trong khí trường có oxy hoặc có một phần CO_2.

Nhiệt độ thích hợp là 37°C, tuy vậy một số liên cầu phát triển được ở nhiệt độ từ 10°C đến 40°C như liên cầu đường ruột. Trên môi trường lỏng, liên cầu phát triển hình thành các chuỗi đến khi đủ lớn thì tạo thành những hạt nhỏ hoặc những hạt như bông rồi lắng xuống đáy ống. Vì vậy, sau 24 giờ nuôi cấy, môi trường phía trên trong, đáy ống có nhiều hạt lắng cặn.

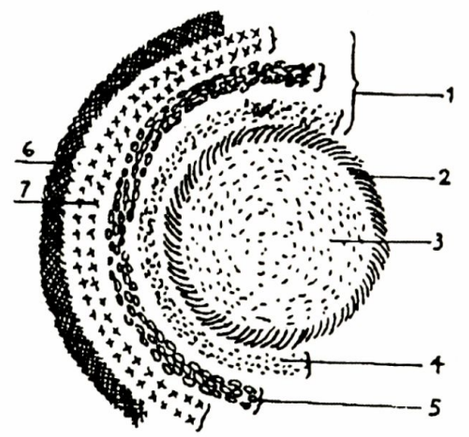
Trên môi trường đặc, vi khuẩn phát triển thành những khuẩn lạc nhỏ, tròn, lồi, bóng, khô, màu hơi xám. Liên cầu phát triển trên môi trường thạch máu có thể gặp 3 dạng tan máu: α, β, γ tuỳ thuộc từng nhóm liên cầu.

2.3. Tính chất hóa sinh học

Liên cầu không có men catalase, chúng có khả năng phát triển trong môi trường có mật, muối mật hoặc ethyl-hydrocuprein. Liên cầu nhóm A đặc biệt nhậy cảm với bacitracin.

2.4. Cấu trúc kháng nguyên

Liên cầu có cấu trúc kháng nguyên phức tạp. Vì vậy ở đây chỉ đề cập đến những kháng nguyên quan trọng liên quan nhiều đến độc lực, cơ chế gây bệnh của liên cầu.



Hình 50. Sơ đồ cấu trúc kháng nguyên của liên cầu

1. Vách tế bào
2. Màng nguyên tương
3. Nguyên tương
4. Mucopeptid
5. Carbohydrat (c)
6. Vỏ (hyaluronic)
7. Protein (kháng nguyên M, T, R)

2.4.1. Kháng nguyên C: đặc hiệu nhóm

Đây là kháng nguyên nằm ở vách tế bào vi khuẩn. Dựa vào carbohydrat C, Lancefield xếp liên cầu thành các nhóm từ A đến R.

2.4.2. Kháng nguyên M: đặc hiệu týp

Kháng nguyên M cũng nằm ở vách tế bào vi khuẩn. Dựa vào kháng nguyên này, Lancefield xếp liên cầu nhóm A thành 130 týp huyết thanh khác nhau. Ngoài ra, kháng nguyên M có khả năng chống lại thực bào, vì vậy nó có liên quan trực tiếp tới độc lực của liên cầu. Kháng nguyên M bị thuỷ phân bởi men trypsin hoặc pepsin.

2.4.3. Những kháng nguyên khác của liên cầu

Kháng nguyên T: là protein của vách tế bào vi khuẩn.

Kháng nguyên P: bản chất là nucleoprotein.

Kháng nguyên R: bản chất là protein, nằm ở vách tế bào vi khuẩn.

Glycerol teichoic acid: là kháng nguyên đặc hiệu của nhóm D và N.

2.5. Các enzym và độc tố

2.5.1. Streptokinase: enzym này tìm thấy ở liên cầu nhóm A và một số liên cầu nhóm khác. Streptokinase có khả năng làm tan tơ huyết, hoạt hóa xung quanh vùng tổn thương vì thế tạo điều kiện liên cầu lan tràn nhanh.

2.5.2. Streptodornase (Deoxyribonuclease) hoặc DNase: có khả năng thuỷ phân ADN, do đó làm lỏng mủ, nhưng nó chỉ có tác dụng khi có mặt của ion Mg.

2.5.3. Hyaluronidase: thuỷ phân acid hyaluronic của tổ chức, tạo điều kiện cho vi khuẩn lan tràn sâu rộng vào các mô.

2.5.4. DPNase (diphospho pyridine nucleotidase) được tìm thấy ở liên cầu nhóm A, C, G, là enzym có khả năng diệt bạch cầu.

2.5.5. Proteinase có khả năng thuỷ phân protein.

2.5.6. Dung huyết tố: liên cầu tan máu β có khả năng hình thành hai loại dung huyết tố:

Streptolysin O: dễ bị mất hoạt tính bởi oxy, vì thế trên môi trường nuôi cấy chúng gây tan máu ở phía sâu trong thạch. Độc tố này mang tất cả các tính chất của một ngoại độc tố: đặc biệt có tính kháng nguyên mạnh, vì thế có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể (*antistreptolysin O*).

Streptolysin S: có vai trò gây tan máu ở bề mặt của môi trường nuôi cấy. Độc tố này không bị mất hoạt tính bởi oxy, tính kháng nguyên kém, vì vậy không kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

2.5.7. Độc tố hồng cầu (erythrogenic toxin) bản chất là protein gây phát ban trong bệnh tinh hồng nhiệt.

3. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

3.1. Khả năng gây bệnh cho người

Liên cầu có khả năng gây ra nhiều bệnh ở người, đặc biệt liên cầu nhóm A. Khả năng gây bệnh phụ thuộc vào đường xâm nhập, tình trạng của cơ thể và các nhóm liên cầu khác nhau và thậm chí phụ thuộc vào các týp huyết thanh khác nhau trong nhóm.

3.1.1. Bệnh do liên cầu nhóm A

Liên cầu nhóm A là nhóm liên cầu gây bệnh quan trọng nhất ở người. Tuỳ từng týp huyết thanh học mà chúng gây nên các thể lâm sàng sau:

Nhiễm khuẩn tại chỗ: viêm họng, eczema, chốc lở, viêm quầng ở người lớn, nhiễm khuẩn các vết thương, viêm tai giữa, viêm hạch, viêm phổi, nhiễm trùng tử cung sau đẻ...

Cơ chế gây bệnh của các thể này đã được hiểu một cách rõ ràng. Những yếu tố giúp cho quá trình lan toả của liên cầu và yếu tố kháng đại thực bào giữ vai trò quan trọng trong bệnh lý. Một trong các yếu tố chủ yếu đó là hyaluronidase và protein M.

Các nhiễm khuẩn thứ phát: từ những ổ nhiễm khuẩn tại chỗ, bệnh nhân có thể bị nhiễm khuẩn huyết, viêm màng trong tim cấp.

Bệnh tinh hồng nhiệt: bệnh thường gặp ở trẻ em trên hai tuổi và ở các nước ôn đới.

Các bệnh khác:

Viêm cầu thận sau nhiễm liên cầu nhóm A. Bệnh thường xuất hiện sau khi nhiễm liên cầu nhóm A ở họng hoặc ở da hai đến ba tuần.

Bệnh thấp tim: bệnh thường xảy ra sau nhiễm liên cầu nhóm A ở họng hai đến ba tuần và tương đương với giai đoạn tìm thấy kháng thể chống liên cầu tăng cao trong máu.

3.1.2. Bệnh do liên cầu nhóm D

Liên cầu nhóm D là một thành viên của vi khuẩn chí bình thường ở đường ruột, tuy vậy liên cầu nhóm D có thể gây nhiễm khuẩn đường tiết niệu, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não, đôi khi gây viêm màng tim.

3.1.3. Bệnh do liên cầu viridans(Streptococcus viridans)

Liên cầu viridans gây nhiễm khuẩn đường hô hấp và là căn nguyên chính gây viêm màng trong tim chậm (osler) trên những người có van tim không bình thường.

3.1.4. Bệnh do các liên cầu nhóm khác

Thường nhẹ và gặp trong các nhiễm khuẩn tiến triển chậm.

3.2. Gây bệnh thực nghiệm

Thỏ là động vật nhạy cảm đối với liên cầu. Khi thỏ bị gây nhiễm, có thể biểu hiện các bệnh cảnh khác nhau như: áp xe, viêm khớp, nhiễm khuẩn huyết.

3.3. Miễn dịch

Trong các loại kháng thể tạo thành, chỉ có kháng thể kháng protein M có khả năng chống lại quá trình nhiễm trùng. Kháng thể này mang tính chất đặc hiệu týp. Kháng thể kháng streptolysin và kháng thể kháng streptokinase không có khả năng bảo vệ cơ thể.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

4.1.1. Bệnh phẩm

Tuỳ từng thể bệnh mà chúng ta lấy các bệnh phẩm ở từng vị trí khác nhau. Ví dụ như: bệnh phẩm họng miệng, máu, nước não tuỷ, dịch ổ áp xe hoặc mủ. Tất cả các loại bệnh phẩm đều phải cấy ngay vào môi trường nuôi cấy thích hợp, chậm nhất cũng không được quá 3 giờ.

4.1.2. Phân lập và xác định liên cầu

Nhuộm Gram: trên tiêu bản nhuộm Gram, vi khuẩn có hình cầu, bắt màu Gram dương, xếp thành chuỗi.

Nuôi cấy phân lập: bệnh phẩm máu hoặc nước não tuỷ được cấy vào bình canh thang glucose ủ ở nhiệt độ 37°C, theo dõi và đọc kết quả hàng ngày; nếu tới ngày thứ 15, không thấy vi khuẩn mọc thì kết luận mẫu bệnh phẩm âm tính. Nếu bình nuôi cấy dương tính (có vi khuẩn mọc) thì xác định tính chất sinh vật hóa học để xác định vi khuẩn. Các bệnh phẩm khác được cấy vào môi trường thạch máu.

Để xác định vi khuẩn dựa vào các tính chất sinh học như: dạng tan máu, thử nghiệm bacitracin, đồng ngưng kết và ngưng kết latex để chẩn đoán phân biệt giữa liên cầu nhóm A với liên cầu tan máu bê ta (β) khác. Thử nghiệm optochin, neufeld để phân biệt liên cầu tan máu alpha (α) với phế cầu. Thử nghiệm xác định men catalase để chẩn đoán phân biệt với tụ cầu.

Ngoài ra, hiện nay còn có phương pháp chẩn đoán nhanh liên cầu nhóm A từ tăm bông ngoáy họng, bằng cách sử dụng phản ứng ngưng kết latex. Phương pháp này có độ đặc hiệu cao nhưng độ nhậy kém, song cho kết quả nhanh, chỉ sau 10 phút.

4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Các nghiên cứu xác định kháng thể chống lại kháng nguyên ngoài tế bào được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán phát hiện nhiễm liên cầu nhóm A trước đó. Đặc biệt, xét nghiệm antistreptolysin O (ASLO) phát hiện kháng thể kháng streptolysin O, là xét nghiệm được sử dụng trong chẩn đoán bệnh thấp tim và viêm cầu thận cấp ở trẻ em. Ngưỡng giới hạn bất thường ở trẻ em học đường Việt Nam là: trên 240 đơn vị Todd.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh

Hiện nay chưa có vacxin phòng bệnh hữu hiệu, vì vậy chủ yếu vẫn là phòng bệnh chung. Cần phát hiện sớm những ổ nhiễm khuẩn ở da, ở họng do liên cầu nhóm A gây nên để điều trị kịp thời, tránh những nhiễm trùng thứ phát.

5.2. Nguyên tắc điều trị

Hiện nay theo khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới: penicillin vẫn là kháng sinh được lựa chọn hàng đầu để điều trị liên cầu nhóm A. Trong trường hợp bệnh nhân bị dị ứng với penicillin, có thể thay thế bằng erythromycin. Liên cầu viridans, liên cầu đường ruột kháng kháng sinh mạnh, do đó điều trị phải dựa vào kháng sinh đồ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các đặc điểm sinh học của liên cầu?
2. Trình bày các thể lâm sàng và cơ chế gây bệnh của liên cầu nhóm A?
3. Trình bày phương pháp chẩn đoán trực tiếp liên cầu nhóm A và phản ứng ASLO?

PHẾ CẦU

(Streptococcus pneumoniae)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm cơ bản để xác định phế cầu.*
2. *Trình bày được các yếu tố độc lực và khả năng gây bệnh của phế cầu.*
3. *Trình bày được các nguyên tắc phòng bệnh và điều trị bệnh do phế cầu.*

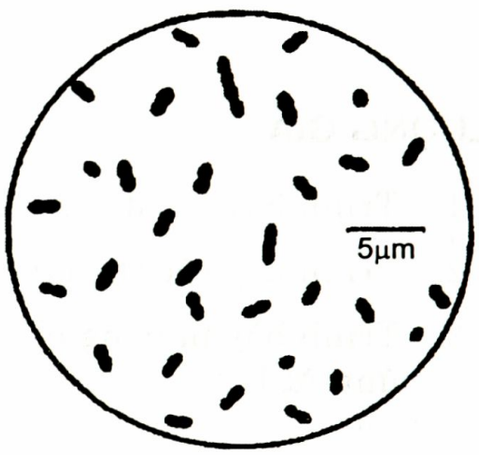
Phế cầu được phân lập lần đầu bởi L. Pasteur ở Pháp năm 1880. Một số năm sau người ta thấy nó có liên quan đến viêm phổi thuỳ.

Năm 1910, người ta đã định týp được bằng huyết thanh và đã sử dụng kháng huyết thanh để điều trị.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Phế cầu là những cầu khuẩn dạng ngọn nến, thường xếp thành đôi, ít khi đứng riêng lẻ, đường kính khoảng 0,5-1,25 µm. Trong môi trường nuôi cấy thường xếp thành chuỗi ngắn (dễ lầm với liên cầu). Gram dương, không di động, không sinh nha bào, trong bệnh phẩm hay trong môi trường nhiều albumin thì có vỏ (Hình 56).



Hình 51. Streptococcus pneumoniae

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn thích hợp ở 37°C, hiếu khí và kỵ khí tuỳ tiện. Vi khuẩn mọc dễ dàng trong các môi trường có nhiều chất dinh dưỡng. Trên thạch máu, khuẩn lạc tròn, lồi, bóng, trong như giọt sương, xung quanh có vòng tan máu týp α. Trên môi trường nghèo, phế cầu kém phát triển; khuẩn lạc khô, nhỏ, xù xì. Những khuẩn lạc có vỏ thường lớn, hơi nhầy và có màu xám nhẹ. Có thể có dạng khuẩn lạc trung gian M.

1.3. Tính chất hóa sinh học

Phế cầu bị ly giải bởi mật hoặc muối mật (thử nghiệm Neufeld), không có catalase. Vi khuẩn không phát triển được trong môi trường có ethylhydrocuprein (test optochin dương tính).

1.4. Sức đề kháng

Dễ bị tiêu diệt bởi hóa chất sát khuẩn thông thường và nhiệt độ (60°C trong 30 phút). Trong quá trình giữ giống, vi khuẩn dễ bị giảm độc lực hoặc biến đổi từ dạng khuẩn lạc S sang dạng R (không có vỏ). Phế cầu không chịu được nhiệt độ quá lạnh và quá nóng. Nhiệt độ giữ chủng thích hợp là 18°C - 30°C.

1.5. Kháng nguyên

Trên 85 týp huyết thanh của phế cầu đã được ghi nhận bởi kháng nguyên polysaccharid của vỏ phế cầu. Phế cầu có 3 loại kháng nguyên thân: kháng nguyên R hiểu biết còn ít, polysaccharid C là kháng nguyên đặc hiệu loài (như với liên cầu) và kháng nguyên M là những protein đặc hiệu týp. Nhưng kháng nguyên quan trọng, độc lập về miễn dịch và đặc hiệu týp là polysaccharid vỏ.

Kháng nguyên vỏ:

- Cấu trúc: vỏ phế cầu bao gồm các polyme polysaccharid, chúng tạo thành các gel và nước trên mặt các tế bào vi khuẩn. Mặc dù người ta đã biết rõ thành phần cấu tạo, nhưng cấu trúc của nó chỉ được xác định trong các týp 3, 6 và 8. Ví dụ týp 3 là sự trùng hợp của các đơn vị acid cellobiuronic (D-acid glucoronic nối với D-glucose) gắn bởi 1-3 glucosidic.
- Phản ứng chéo: mặc dù kháng nguyên vỏ polysaccharid là khá đặc hiệu týp, nhưng một số có phản ứng chéo giữa các týp phế cầu và với một số loại vi khuẩn khác (như với liên cầu tan máu α và không tan máu, *Klebsiella* và *Salmonella*).

2. VAI TRÒ GÂY BỆNH

2.1. Các yếu tố độc lực

- Phế cầu không có nội và ngoại độc tố.
- Phế cầu gây bệnh chủ yếu do vỏ của vi khuẩn. Vỏ của phế cầu có tác dụng bão hoà opsonin hóa, làm vô hiệu hóa tác dụng của IgG và bổ thể. Do vậy khả năng thực bào vi khuẩn bị giảm xuống và phế cầu vẫn tồn tại để gây bệnh.

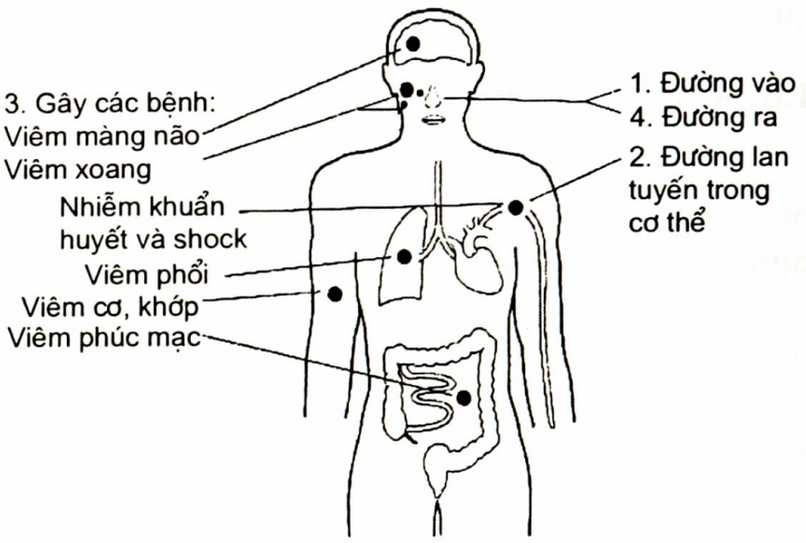
Vai trò gây bệnh quan trọng của vỏ phế cầu có thể xác định được bằng một số cách. Chỉ có những chủng có vỏ là gây bệnh cho người và các động vật thí nghiệm. Gây miễn dịch chủ động hoặc thụ động chống lại kháng nguyên vỏ, sẽ làm giảm nhiễm phế cầu ở mức đáng kể. Biến chủng trung gian của týp

3 (chỉ có lớp vỏ mỏng) nó bị giảm độc lực so với chủng có lớp vỏ dày hơn, nhưng độc lực vẫn cao hơn chủng không có vỏ (chủng R). Tuy vậy, các týp khác nhau của phế cầu có kích cỡ vỏ giống nhau nhưng độc lực khác nhau (ví dụ các týp 3 và 37).

- Phế cầu còn tiết ra protease thuỷ phân IgA, chủ yếu là IgAs. Do vậy đã làm mất đi tác dụng ngăn cản sự xâm nhập của phế cầu vào niêm mạc đường hô hấp.

2.2. Khả năng gây bệnh cho người

- Thường gặp phế cầu ở vùng tỵ hầu của người lành với tỷ lệ khá cao (khoảng 40-70%). Phế cầu có thể gây nên bệnh viêm đường hô hấp, điển hình là viêm phổi. Viêm phổi do phế cầu thường xảy ra sau khi đường hô hấp bị tổn thương do nhiễm virus (như virus cúm) hoặc do hóa chất. Các týp thường gây bệnh là 1, 2 và 3 (đối với người lớn) và 1, 6, 14 (với trẻ em). Tuy vậy ở các vùng khác nhau các týp có thể thay đổi. Ngoài ra, phế cầu còn gây viêm tai, viêm xoang, viêm họng, viêm màng não, viêm màng bụng, màng tim, viêm thận, viêm tinh hoàn, nhiễm khuẩn huyết và rất thường gây viêm màng não ở trẻ em. Phế cầu là một trong những vi khuẩn gây bệnh thường gặp nhất.



Hình 52. Khả năng gây bệnh của phế cầu

- Ở các nơi tổn thương, phế cầu hình thành một lớp vỏ dày, ngăn cản hiện tượng thực bào, có nhiều fibrin quanh chỗ tổn thương, tạo nên một vùng cách biệt, làm cho thuốc kháng sinh khó tác dụng, mặc dù những vi khuẩn này vẫn nhạy cảm với nhiều kháng sinh. Do đó, chữa bệnh bằng kháng sinh phải sớm và triệt để.

2.3. Khả năng gây bệnh thực nghiệm

Các chủng phế cầu có vỏ có thể gây bệnh cho chuột nhắt, chuột cống, thỏ và khỉ. Mèo và nhím không nhạy cảm. Chuột nhắt trắng dễ nhạy cảm với phế cầu, vì thế chúng thường được dùng để làm thử nghiệm xác định độc lực của vi khuẩn này.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Đây là phương pháp tốt nhất để xác định phế cầu gây bệnh. Bệnh phẩm có thể lấy từ họng mũi bằng tăm bông mềm hoặc máu (nếu nghi nhiễm khuẩn huyết) hoặc chất hút từ phổi... Nếu bệnh phẩm là dịch phế quản hoặc dịch hầu họng, nó được cấy vào môi trường thạch máu có gentamicin (5 μg/ml). Phế cầu có khuẩn lạc: S, nhầy, đường kính 1-2 mm, có chóp và tan máu α. Sau 18 giờ nuôi cấy, hình chóp của khuẩn lạc bị mất đi và khuẩn lạc trở nên lõm xuống. Điều này giúp ta phân biệt với *S. viridans*, là vi khuẩn rất thường gặp trong bệnh phẩm họng mũi và cũng tan máu α.

Người ta thường phân biệt phế cầu với liên cầu bằng test optochin. Phế cầu thường nhậy cảm và đường kính vòng vô khuẩn từ 14 mm trở lên. Còn liên cầu thì không nhậy cảm với test này. Cũng có thể thay optochin bằng mật bò. Phế cầu bị dung giải bởi mật bò còn liên cầu thì ngược lại.

Để xác định độc lực của phế cầu (nhằm phân biệt với các chủng ký sinh) thường phải tiêm vi khuẩn vào phúc mạc của chuột bạch, sau khi chuột chết phân lập lại vi khuẩn từ máu của tim chuột. Nếu phân lập được vi khuẩn thì chắc chắn là phế cầu có độc lực. Người ta cũng có thể xác định vỏ của vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm vỏ hoặc dùng phản ứng phình vỏ (Quellung). Khi kháng thể kháng vỏ kết hợp với vỏ nó sẽ làm cho lớp vỏ của vi khuẩn phình to lên và người ta có thể quan sát bằng phương pháp nhuộm vỏ.

3.2. Phản ứng huyết thanh

Loại phản ứng này không có ý nghĩa trong chẩn đoán phế cầu và không được dùng trong phòng thí nghiệm.

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

Phế cầu thường lây theo đường hô hấp cho nên việc phòng bệnh không đặc hiệu, rất khó khăn. Phòng bệnh đặc hiệu đã được sử dụng ở một số nước tiên tiến bằng vacxin polysaccharid của vỏ phế cầu. Người ta thường sử dụng vỏ của một số týp huyết thanh thường gây bệnh. Vacxin này có tác dụng bảo vệ nhưng không hoàn toàn, bởi lẽ nó không đầy đủ các týp huyết thanh, nhưng nó có tác dụng ngăn cản những nhiễm phế cầu nặng (viêm màng não mủ, hoặc nhiễm khuẩn huyết). Vì vacxin thường bao gồm những týp huyết thanh gây bệnh nặng này. Hiện nay vacxin này đã có ở Việt Nam do các hãng nước ngoài đưa vào.

4.2. Điều trị

Phế cầu nói chung vẫn là một vi khuẩn còn nhậy cảm với các kháng sinh thường dùng. Người ta thường dùng penicillin, cũng có thể dùng cephalosporin.

Điều đáng lưu ý ở đây là sự kháng kháng sinh của phế cầu ngày càng gia tăng, đặc biệt với penicillin G, chloramphenicol và cotrimoxazol.

Phế cầu kháng penicillin không phải bằng β-lactamase như nhiều vi khuẩn khác, mà bằng cách thay đổi 1 trong 6 protein gắn penicillin (PBP - penicillin binding protein). Hậu quả là làm giảm ái lực gắn PBP với thuốc, nhưng vẫn đảm bảo được chức năng transpeptidase cần thiết để xúc tác cho tổng hợp peptidoglycan của vách vi khuẩn. Cần có một lượng penicillin đủ lớn mới ức chế được vi khuẩn. Sự đề kháng này thường do biến cố di truyền (biến nạp plasmid hoặc transposon).

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Các tiêu chuẩn xác định phế cầu?
2. Các yếu tố độc lực của phế cầu, giải thích cơ chế gây bệnh của vỏ phế cầu?
3. Khả năng gây bệnh của phế cầu?
4. Trình bày các phương pháp phòng bệnh phế cầu? Vì sao vacxin vỏ phế cầu chưa được dùng phổ biến ở nước ta?

NÃO MÔ CẦU

(Neisseria meningitidis)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được những đặc điểm sinh học cơ bản của não mô cầu (hình thái, bắt màu, tính chất nuôi cấy và kháng nguyên).*
2. *Trình bày được khả năng gây bệnh của não mô cầu.*
3. *Trình bày được các phương pháp chẩn đoán não mô cầu.*
4. *Nhớ được nguyên tắc phòng bệnh và tên các kháng sinh điều trị viêm màng não do não mô cầu.*

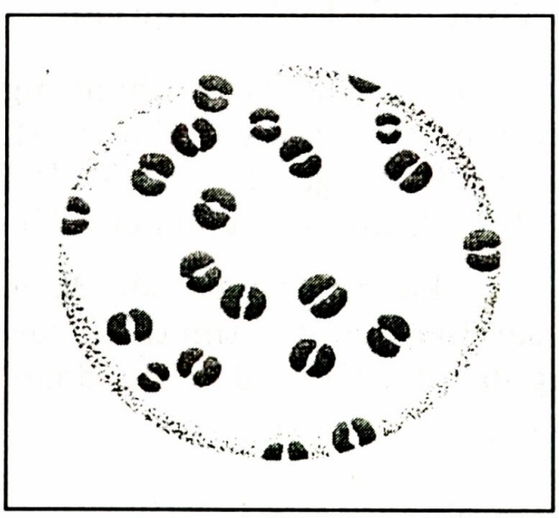
Neisseria meningitidis, thường được gọi là não mô cầu, do Albrecht và Ghon mô tả lần đầu tiên vào năm 1901. Năm 1903, chính hai tác giả này đặt tên cho vi khuẩn là *Micrococcus meningitidis* (meningis, màng não). Năm 1929, Murray đề nghị chuyển chúng sang giống *Neisseria*; từ đó cho đến nay, vi khuẩn có tên chính thức là *Neisseria meningitidis*. Não mô cầu thuộc giống *Neisseria*, họ *Neisseriaceae*.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trong dịch não tuỷ, *Neisseria meningitidis* có hình thể rất giống lậu cầu, đó là các song cầu Gram âm, hai mặt lõm quay vào nhau trông giống như hình hạt cà phê (Hình 58).

Kích thước tế bào khoảng 1 µm. Chúng có thể nằm bên trong hoặc bên ngoài tế bào bạch cầu. Trên các môi trường nuôi cấy, *N. meningitidis* có hình thể và kích thước rất thay đổi, tính chất bắt màu Gram cũng không đồng đều giữa các tế bào; nhiều tế bào có xu hướng tăng tính đề kháng với



Hình 53. Hình thể não mô cầu

Não mô cầu giống như hình hạt cà phê, đứng thành đôi, hai mặt lõm quay vào nhau.

tảy màu. Nuôi cấy càng lâu và cấy chuyển càng nhiều lần thì hình thể tế bào càng mất dần tính chất điển hình.

N. meningitidis trong dịch não tuỷ thường có vỏ, tính chất này thể hiện dưới hình thức một vùng sáng xung quanh tế bào vi khuẩn khi nhuộm bằng các phương pháp thông thường hoặc dễ nhận biết hơn nếu làm phản ứng phình vỏ bằng kháng huyết thanh tương ứng. Khi mới phân lập, *N. meningitidis* có các pili ở bề mặt. Những pili này giúp cho vi khuẩn bám vào tế bào biểu mô vùng họng mũi và duy trì tình trạng người lành mang vi khuẩn. Trên các môi trường nhân tạo, sự hiện diện của pili phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện nuôi cấy.

1.2. Tính chất nuôi cấy

Khi mới phân lập từ bệnh phẩm, *N. meningitidis* chỉ mọc tốt trên các môi trường có nhiều chất dinh dưỡng như thạch máu, chocolat và cần khí trường có từ 5 - 8% CO_2. Khi đã được cấy chuyển nhiều lần thì đòi hỏi về dinh dưỡng của *N. meningitidis* giảm đi, thậm chí chúng có thể mọc trên thạch dinh dưỡng bình thường. Nhiệt độ tối ưu là 37°C, nhưng chúng có thể mọc được trong khoảng nhiệt độ từ 25 - 42°C.

Khuẩn lạc của *N. meningitidis* thay đổi tuỳ thuộc vào môi trường nuôi cấy; thông thường trên môi trường thạch máu, sau 24 giờ, khuẩn lạc có đường kính khoảng 1 mm; không gây tan máu, dạng S (lồi, nhẵn, bóng).

1.3. Tính chất hóa sinh

N. meningitidis có phản ứng oxidase dương tính. Chúng phân giải đường glucose; không phân giải fructose, saccharose và lactose (giống như lậu cầu). Đặc điểm quan trọng nhất để phân biệt chúng với lậu cầu là: *N. meningitidis* thì phân giải maltose còn lậu cầu thì không.

1.4. Tính chất kháng nguyên

N. meningitidis có kháng nguyên vỏ là polysaccharid. Dựa vào kháng nguyên này, hiện nay ít nhất có 13 nhóm kháng nguyên đã được biết, trong đó 9 nhóm thường gặp là A, B, C, D, X, Y, Z, W-135 và 29E; bốn nhóm còn lại là H, I, K và L thì hiếm gặp hơn. Các nhóm A, B, C thường gây thành dịch.

Các kháng nguyên của *N. meningitidis*, đặc biệt là các kháng nguyên polysaccharid, có thể tìm thấy trong máu và trong dịch não tuỷ; người ta đã lợi dụng đặc điểm này để chẩn đoán nhanh *N. meningitidis* bằng các kỹ thuật miễn dịch.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Người là túc chủ duy nhất của *N. meningitidis*. Chúng thường ký sinh ở họng mũi (nasopharynx), có khoảng từ 2 - 8% người bình thường có mang *N.*

meningitidis ở vùng này; ở trạng thái không gây bệnh, *N. meningitidis* thường không có vỏ. Khi điều kiện thuận lợi, *N. meningitidis* gây viêm họng mũi (thường là nhẹ, không có triệu chứng); một tỷ lệ nhỏ trong các trường hợp này, chúng từ họng mũi xâm nhập vào máu, thường là qua đường bạch huyết, gây ra tình trạng nhiễm khuẩn huyết do não mô cầu. Từ máu, *N. meningitidis* có thể đến màng não gây viêm màng não, hoặc đến da gây nên các chấm (petechia) hoặc ban (rash) xuất huyết; hiếm hơn, có thể gặp các tổn thương ở khớp, phổi. Tổn thương xuất huyết có thể gặp ở da hoặc ở các cơ quan nội tạng đặc biệt là thận (hội chứng Waterhouse-Friderichsen); người ta cho rằng tổn thương này là do giải phóng các bướu (bleb) nội độc tố trên vách tế bào vi khuẩn. Nhiễm khuẩn huyết do *N. meningitidis* có thể dẫn đến sốc nặng trong vòng vài tiếng đồng hồ.

N. meningitidis còn có thể gây nên tình trạng đông máu nội mạch rải rác (DIC, *disseminated intravascular coagulation*) do một lượng lớn nội độc tố đã được giải phóng ra và kích thích cơ thể tổng hợp yếu tố hoại tử u loại α (TNF-α, tumor necrosis factor-α) và hoạt hóa yếu tố đông máu XII.

Biến chứng thường gặp nhất của nhiễm khuẩn huyết do não mô cầu là viêm màng não. Vi khuẩn đã vượt qua hàng rào máu-não và gây ra viêm màng não với các triệu chứng xuất hiện đột ngột: nhức đầu dữ dội, nôn mửa, cổ cứng và hôn mê trong vài giờ.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Nhuộm soi

Trong trường hợp viêm màng não, ly tâm dịch não tuỷ, lấy cặn ly tâm nhuộm đơn hoặc nhuộm Gram. Hình thể điển hình của *N. meningitidis* (1.1), vi khuẩn nằm trong tế bào bạch cầu đa nhân cho phép chẩn đoán nhanh bệnh viêm màng não.

3.2. Tìm kháng nguyên

Lấy dịch não tuỷ làm phản ứng ngưng kết với kháng thể đặc hiệu đã được gắn trên các hạt latex hoặc trên các giá đỡ khác, người ta có thể chẩn đoán nhanh sự hiện diện của *N. meningitidis* trong dịch não tuỷ và vì vậy, đây là kỹ thuật có giá trị cao trong chẩn đoán vi sinh vật bệnh viêm màng não.

3.3. Nuôi cấy

Cấy dịch não tuỷ vào môi trường không có chất ức chế (thường dùng là thạch máu và thạch chocolat), để trong khí trường có CO_2 (xem mục 1.2) ở 37°C. Chọn các khuẩn lạc nghi ngờ; xác định vi khuẩn bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với kháng thể mẫu và các tính chất hóa sinh (xem mục 1.3).

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

4.1.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Viêm màng não do não mô cầu lây qua đường hô hấp. Khi trong một tập thể (gia đình, trường học, đơn vị quân đội,...) có người bị viêm màng não thì những người xung quanh thường đã thấy có *N. meningitidis* ở họng mũi. Vì vậy, phải phát hiện bệnh sớm và cách ly những người nghi ngờ. Tập thể nào có người đã bị bệnh hoặc những người đã tiếp xúc với người bệnh, phải cho uống kháng sinh dự phòng.

4.1.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Dùng vacxin tinh chế từ vỏ polysaccharid của *N. meningitidis*. Vacxin này gồm 4 nhóm kháng nguyên (A, C, Y và W-135); trong đó, nhóm A gây đáp ứng miễn dịch tốt hơn các nhóm khác ở trẻ dưới 3 tháng tuổi; còn các kháng nguyên nhóm C, Y và W-135 thì gây đáp ứng miễn dịch rất kém hoặc không gây được đáp ứng miễn dịch ở nhóm trẻ dưới 2 tuổi. Polysaccharid nhóm B không có tính sinh miễn dịch ở người nên không được dùng để sản xuất vacxin.

4.2. Điều trị

Điều trị bệnh viêm màng nào do não mô cầu, cũng giống như do *H. influenzae*, phải bắt đầu càng sớm càng tốt. Kháng sinh chọn lọc hiện nay là penicillin. Trường hợp dị ứng với penicillin thì dùng erythromycin hoặc chloramphenicol. Dùng kháng sinh chỉ có hiệu quả cao khi tích cực phòng và điều trị các rối loạn khác.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Mô tả và vẽ hình thể điển hình của não mô cầu?
2. Trình bày khả năng gây bệnh của não mô cầu?
3. Trình bày các phương pháp vi sinh vật học chẩn đoán viêm màng não do não mô cầu?
4. Nêu nguyên tắc phòng bệnh và kể tên các kháng sinh điều trị viêm màng não do não mô cầu?

LẬU CẦU

(Neisseria gonorrhoeae)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được những đặc điểm sinh học cơ bản của lậu cầu (hình thái, bắt màu, tính chất nuôi cấy).*
2. *Trình bày được khả năng gây bệnh của lậu cầu.*
3. *Trình bày được các phương pháp vi sinh vật chẩn đoán bệnh lậu.*

Năm 1879, Neisser là người đầu tiên mô tả vi khuẩn lậu là căn nguyên gây bệnh. Năm 1882, Lestikow và Loeffler nuôi cấy thành công vi khuẩn lậu.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể

Vi khuẩn lậu là những song cầu hình hạt cà phê, bắt màu Gram âm. Trong các trường hợp lậu điển hình, vi khuẩn lậu đứng trong tế bào như lèn chặt vào bạch cầu đa nhân trung tính thoái hóa. Trong trường hợp lậu mạn tính, vi khuẩn đứng ngoài tế bào và ít trong tế bào.

Trong môi trường nuôi cấy, vi khuẩn lậu đa dạng, kích thước thay đổi và sắp xếp không điển hình: có thể xếp đôi hoặc thành bốn. Sự thay đổi hình thể, kích thước, cách sắp xếp biến đổi theo điều kiện môi trường nuôi cấy.

1.2. Nuôi cấy

Vi khuẩn lậu khó nuôi cấy. Khi ra khỏi cơ thể, vi khuẩn lậu rất dễ chết. Vi khuẩn lậu không phát triển được trong các môi trường thông thường mà đòi hỏi giầu chất dinh dưỡng như máu, huyết thanh và các yếu tố dinh dưỡng khác. Các môi trường được sử dụng là thạch chocolat, Martin-Thayer, Martin-Lewis. Các môi trường này thường có các kháng sinh như colistin, vancomycin, nystatin, lincomycin để ức chế các vi khuẩn khác nhưng không ảnh hưởng tới vi khuẩn lậu.

Điều kiện nuôi cấy lậu cầu: vi khuẩn lậu đòi hỏi khí trường 3-10% CO_2, ở 35° - 37°C với 70% độ ẩm, pH 7,3.

Hình dạng khuẩn lạc: sau 24 giờ kích thước khuẩn lạc từ 0,4 - 1 mm, xám trắng, mờ đục, lồi, lấp lánh sáng. Nếu để 48 - 72 giờ, khuẩn lạc tới 3 mm. Có 5 loại khuẩn lạc: T1, T2, T3, T4, T5. Trong đó khuẩn lạc T1, T2 vi khuẩn có pili, còn T3, T4 và T5 không có pili. Các khuẩn lạc T3, T4 và T5 thường to, phẳng, không có lấp lánh sáng. Sau 72 giờ nuôi cấy, vi khuẩn thường tự ly giải. Khi nhuộm vi khuẩn từ khuẩn lạc, cách sắp xếp và hình thái không điển hình.

1.3. Sức đề kháng

Vi khuẩn lậu dễ bị bất hoạt khi ở điều kiện ngoại cảnh tế bào: 55°C vi khuẩn lậu chết sau 5 phút; trong điều kiện khô và giầu oxy, vi khuẩn lậu chết sau 1 - 2 giờ. Nhiệt độ lạnh và khô, vi khuẩn lậu chết nhanh, do vậy không bao giờ giữ bệnh phẩm ở điều kiện lạnh.

Với hóa chất: phenol 1%, mercuric chloric 0,01%, formol 0,1%, sublime 0,1% vi khuẩn chết sau 1- 5 phút tiếp xúc.

1.4. Tính chất hóa sinh học

Test oxidase: lậu cầu cho test này dương tính: cho khuẩn lạc lậu cầu tiếp xúc với N- tetramethyl-P-phenylene-diamindihydrochlorid 1%, khuẩn lạc sẽ cho màu tím sẫm đến đen.

Test catalase: dương tính.

Chuyển hóa đường: người ta có thể sử dụng tính chất lên men đường để phân biệt lậu cầu với não mô cầu.

Vi khuẩn	Glucose	Maltose	Levulose
Lậu cầu	+	-	-
Não mô cầu	+	+	-

Chuyển hóa peptid: vi khuẩn lậu có khả năng phân giải prolin do chúng có men hydroxyprolinaminopeptidase.

Với nitrat và nitrit: vi khuẩn lậu không khử nitrat nhưng có khả năng khử nitrit sinh nitơ.

1.5. Cấu trúc kháng nguyên

Cấu trúc kháng nguyên của lậu cầu rất phức tạp, đặc biệt cho từng týp: kháng nguyên lipopolysaccharid (LPS) là kháng nguyên ngoài màng (Outer membrane antigen- OMA). Nhưng chúng không có ý nghĩa trong việc chẩn đoán bệnh.

Vi khuẩn lậu có pili, ở dạng T1 và T2 có thể mất pili. Pili giúp lậu cầu bám vào tế bào, giúp cho sự trao đổi các vật liệu di truyền giữa những chủng có pili.

Trong các nghiên cứu về vật liệu di truyền của vi khuẩn lậu, đáng quan tâm nhất là 3 dạng plasmid:

- Loại 1: plasmid 24,5 Md có khả năng hoạt hóa các plasmid khác.
- Loại 2: plasmid 2,6 Md chưa rõ chức năng.
- Loại 3: plasmid quy định sinh β-lactamase, đây là plasmid quy định tính kháng kháng sinh của lậu cầu khuẩn. Có nhiều plasmid β-lactamase trên vi khuẩn lậu gây bệnh ở các nước trên thế giới, chúng có trọng lượng phân tử thay đổi: 4,4 Md; 3,2 Md; 2,9 Md.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Vi khuẩn lậu chỉ có vật chủ duy nhất là người. Bệnh liên quan chặt chẽ với hoạt động tình dục. Vi khuẩn lậu gây viêm niệu đạo cho cả nam và nữ. Triệu chứng điển hình là đái mủ, đái khó, chảy mủ niệu đạo. Nhưng cũng có khoảng 1/5 số người không có triệu chứng điển hình. Ở phụ nữ, triệu chứng phức tạp hơn: tiết dịch niệu đạo, âm đạo. Vị trí bệnh ở phụ nữ thường ở cổ tử cung, tuyến Skene, tuyến Bartholin, có khi tới cả tử cung, vòi tử cung, buồng trứng.

Viêm trực tràng: thường gặp ở những người đồng tính luyến ái nam. Triệu chứng viêm trực tràng do lậu thường không điển hình.

Nhiễm lậu cầu ở họng: gặp ở đồng tính luyến ái cả hai giới hoặc khác giới. Bệnh lậu ở trẻ em: thường biểu hiện lậu ở mắt do lây vi khuẩn từ mẹ trong thời kỳ chu sinh, phổ biến nhất là chảy mủ kết mạc sau đẻ 1-7 ngày. Nếu không được điều trị kịp thời, có thể dẫn tới mù.

Nhiễm lậu cầu lan toả: bệnh thường gặp ở những người bị lậu nhưng không được điều trị, hầu hết xảy ra ở phụ nữ. Biểu hiện của bệnh: viêm khớp, viêm gan, viêm cơ tim, viêm nội tâm mạc, viêm màng não.

Miễn dịch: vai trò bảo vệ của kháng thể lớp IgA, IgG và IgM không rõ ràng. Nhìn chung, đáng chú ý nhất là IgM được dùng để chẩn đoán lậu cầu ngoài đường sinh dục.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Phương pháp nhuộm soi trực tiếp: người ta thường dùng phương pháp này để đánh giá hình thể, tính chất bắt màu, cách sắp xếp (đứng trong hay ngoài tế bào). Phương pháp này dùng bệnh phẩm là mủ niệu đạo hoặc dịch cổ tử cung có giá trị chẩn đoán cao.

Chẩn đoán lậu mạn tính: ít thấy vi khuẩn và nếu thấy có, vi khuẩn thường nằm ngoài tế bào rất khó phân biệt với các vi khuẩn không gây bệnh khác; những trường hợp này, cần phải tiến hành nuôi cấy.

Nuôi cấy: lựa chọn môi trường thích hợp: chocolat, Martin-Thayer có chất tăng sinh và chất ức chế. Khí trường 3-10% CO_2, độ ẩm 70%, pH 7,3; nhiệt độ 35°-37°C. Sau khi nuôi cấy, tiến hành xác định vi khuẩn bằng các thử nghiệm: oxidase, catalase, chuyển hóa đường.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

- Tìm kháng thể kháng lậu bằng kháng thể đơn dòng gắn huỳnh quang.
- Kỹ thuật PCR.
- Tìm IgM bằng ELISA để chẩn đoán lậu ngoài đường sinh dục.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng không đặc hiệu

Chủ yếu là giải quyết nạn mại dâm. Phòng các bệnh lây do tiếp xúc: bao cao su.

Ngoài ra, cần điều trị triệt để cho người bệnh nhất là phụ nữ có thai để tránh lây sang trẻ sơ sinh.

4.2. Điều trị

Hiện nay, lậu đã bắt đầu kháng lại nhiều kháng sinh, do đó phải làm kháng sinh đồ để lựa chọn kháng sinh thích hợp cho việc điều trị bệnh. Cần điều trị triệt để để tránh chuyển sang lậu mạn tính, rất khó chẩn đoán và điều trị.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày 5 đặc điểm sinh học cơ bản của lậu cầu?
2. Trình bày 3 đường lây và cơ chế lây truyền bệnh lậu?
3. Trình bày kỹ thuật nhuộm soi và kỹ thuật nuôi cấy để chẩn đoán bệnh lậu. Đánh giá trị của từng kỹ thuật chẩn đoán trực tiếp trên
4. Trong điều trị lậu cần phải làm kháng sinh đồ, giải thích vì sao

MORAXELLA CATARRHALIS

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được đặc điểm sinh học của* M. catarrhalis.
2. *Kể được khả năng gây bệnh của* M. catarrhalis.
3. *Trình bày được phương pháp vi sinh vật chẩn đoán* M. catarrhalis.
4. *Nêu được phương pháp phòng và điều trị bệnh do* M. catarrhalis.

Morraxella (*Branhamella*) *catarrhalis*, trước đây gọi là *Neisseria catarrhalis* hoặc *Micrococcus catarrhalis*. Vi khuẩn là một trong sáu loài (*M. catarrhalis*, *M. bovis*, *M. phenylpyruvica*, *M. lacunata*, *M. nonliquefaciens*, và *M. osloensis*) của giống *Moraxella*, thuộc họ *Moraxellaceae* (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. (R. E. Buchanan and N. E. Gibbons, ed.), The Williams & Wilkins Co. Baltimore, Md.).

Trong vòng 20 đến 30 năm trở lại đây, vi khuẩn này được coi là một căn nguyên quan trọng gây nhiễm khuẩn đường hô hấp trên ở trẻ em và người lớn tuổi. Ngoài ra, vi khuẩn còn là nguyên nhân của nhiễm khuẩn đường hô hấp dưới ở những bệnh nhân bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease-COPD). Ở những người bị suy giảm miễn dịch, *M. catarrhalis* có thể gây ra nhiều loại nhiễm trùng nặng khác nhau như viêm phổi, viêm nội tâm mạc, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não... Các vụ dịch viêm phổi do *M. catarrhalis* ngày càng nhiều, chứng tỏ vai trò quan trọng gây nhiễm trùng bệnh viện của *M. catarrhalis*.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

M. catarrhalis là các song cầu Gram (-), úp hai đầu dẹt vào nhau. Kích thước từ 0,5 đến 1,5 μm. Trong đờm, vi khuẩn có thể đứng thành đôi, thành bốn, hoặc thành từng nhóm nhỏ, hình thể giống như hạt cà phê.

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí, phát triển tốt ở môi trường có 5% máu cừu hoặc môi trường sô cô la, ở nhiệt độ 35 đến 37^{0}C, khí trường có 5 đến 7% CO_2. Trên thạch

máu, khuẩn lạc nhỏ, tròn, mờ đục, lồi, màu hơi trắng xám, không tan máu, đường kính 1 - 3 mm. Khi dùng que cấy đẩy, khuẩn lạc trượt trên mặt thạch. Vi khuẩn không mọc trên môi trường MacConkey.

1.3. Tính chất sinh vật hóa học

M. catarrhalis sinh oxidase, catalase, DNase, phân huỷ nitrat thành nitrit, thuỷ phân tributyrin. Vi khuẩn không sinh acid từ glucose, maltose, succrose, lactose, và fructose; test ONPG (-).

1.4. Tính chất kháng nguyên

M. catarrhalis có 3 týp huyết thanh (A, B và C). Phân biệt 3 týp này dựa trên sự khác nhau về cấu trúc của lipopolysaccharid trong vách của vi khuẩn. Týp A chiếm tới hơn 60% số chủng.

1.5. Yếu tố độc lực

Cho tới nay, các yếu tố độc lực của *M. catarrhalis* vẫn chưa được biết chính xác.

1.5.1. Sự bám dính

Vi khuẩn sử dụng một số cấu trúc bề mặt như fimbriae, hay các protein tham gia vào sự bám dính vào biểu mô của vật chủ.

1.5.2. Đề kháng với tác động của bổ thể

Sự đề kháng với tác động của bổ thể có sự tham gia của một số cấu trúc của vi khuẩn như các protein ở màng ngoài, hay các lipopolysaccharid.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Nhiều nghiên cứu cho thấy, có tới 75% số trẻ em có *M. catarrhalis* cư trú ở đường hô hấp. Tỷ lệ này thấp hơn rất nhiều ở người lớn (1 đến 3%). Người ta vẫn chưa biết lý do vì sao có sự khác biệt như vậy. Một trong những giả thuyết là do sự khác nhau về IgA tiết theo lứa tuổi.

2.1. Bệnh ở trẻ em

M. catarrhalis là một căn nguyên quan trọng gây nhiễm trùng ở những trẻ em bị suy giảm miễn dịch. Ngoài ra, vi khuẩn còn gây nhiều loại nhiễm trùng khác như viêm xoang, viêm tai giữa, viêm phế quản, viêm phổi, viêm kết mạc và viêm màng não. *M. catarrhalis* là căn nguyên của hơn 20% số trường hợp viêm xoang, 25% viêm tai giữa cấp ở trẻ em.

2.2. Bệnh ở người lớn

M. catarrhalis gây viêm họng, viêm phế quản, viêm phổi (đặc biệt ở những người bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, và người già). Vi khuẩn cũng có thể gây viêm nội tâm mạc, viêm màng não. Nó còn là một căn nguyên quan trọng gây nhiễm trùng bệnh viện. Viêm khí phế quản thường gặp nhất với triệu chứng ho có đờm. Viêm phổi do *M. catarrhalis* thường nhẹ, và có hình thâm nhiễm ở thuỳ dưới phổi trên phim X quang.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Nhuộm soi

Bệnh phẩm có thể là các loại dịch, mủ, máu tuỳ từng dạng nhiễm trùng của *M. catarrhalis*. Nhuộm Gram có ý nghĩa quan trọng trong chẩn đoán *M. catarrhalis*.

3.1.2. Nuôi cấy phân lập

M. catarrhalis có thể mọc trên môi trường nuôi cấy thông thường, nhưng những môi trường có máu và một số yếu tố khác như CO_2, nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của vi khuẩn. Một số môi trường chọn lọc có acetazolamid (giảm sự phát triển của các *Neisseria*), vancomycin, trimethoprim, và amphotericin B (ức chế sự phát triển của các vi khuẩn v nấm thuộc khuẩn chí bình thường) thường được dùng trong nuôi cấy và phân lập *M. catarrhalis*. Phân lập và xác định vi khuẩn dựa vào hình thể, tính chất bắt màu của vi khuẩn; đặc điểm của khuẩn lạc và các tính chất sinh vật hóa học.

Tiêu chuẩn chẩn đoán *M. catarrhalis* ở các phòng xét nghiệm cơ sở :

- Song cầu, bắt màu Gram (-)
- Không mọc trên MacConkey
- Oxidase (+)
- Catalase (+)
- Không phân giải các loại đường
- ONPG (-)
- DNase (+)

3.1.3. Các phương pháp chẩn đoán khác

Một số phương pháp khác được dùng để chẩn đoán *M. catarrhalis* như xác định týp huyết thanh, nghiên cứu cấu trúc của các protein màng ngoài, cấu trúc ADN bằng các kỹ thuật sinh học phân tử.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Nhiễm trùng *M. catarrhalis* thường hạn chế ở bề mặt niêm mạc, ít khi là nhiễm trùng toàn thân. Do vậy, các kỹ thuật phát hiện kháng thể trong máu có nhiều hạn chế.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

4.1.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Cũng giống như các vi khuẩn lây theo đường hô hấp khác, việc phòng bệnh không đặc hiệu gặp khó khăn. Các biện pháp tăng cường vệ sinh mũi họng, tránh tiếp xúc với người bệnh, đảm bảo thông thoáng môi trường làm việc và sinh hoạt là quan trọng.

4.1.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Hiện nay, việc phát triển vacxin phòng bệnh do *M. catarrhalis* là một vấn đề đang được quan tâm rộng rãi nhờ vào các mô hình nghiên cứu trên động vật và các kỹ thuật hiện đại. Tuy nhiên, cho tới nay, vẫn còn nhiều vấn đề cần được nghiên cứu thêm để có một vacxin hiệu quả phòng bệnh.

4.2. Điều trị

M. catarrhalis đề kháng tự nhiên với trimethoprim và rất nhiều chủng sinh β- lactamase. Tuy nhiên, theo nhiều nghiên cứu, *M. catarrhalis* vẫn nhậy cảm với phần lớn các kháng sinh thường dùng trong điều trị nhiễm trùng đường hô hấp.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của *M. catarrhalis*?
2. Trình bày phương pháp vi sinh vật chẩn đoán *M. catarrhalis*, nguyên tắc phòng và điều trị bệnh do *M. catarrhalis*?

HỌ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT

(Enterobacteriaceae)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các tính chất chung của họ vi khuẩn đường ruột và một số tính chất để phân biệt* E. coli, Salmonella *và* Shigella.
2. *Trình bày được cơ chế gây bệnh của* E. coli, Salmonella *và* Shigella.
3. *Mô tả được cách lấy và bảo quản bệnh phẩm để chẩn đoán nhiễm khuẩn đường ruột.*
4. *Phân tích được được giá trị của các phương pháp chẩn đoán vi sinh thường dùng đối với* E. coli, Salmonella *và* Shigella.
5. *Trình bày được các biện pháp không đặc hiệu và các vacxin đã có để phòng các bệnh do các thành viên của họ vi khuẩn đường ruột gây ra.*
6. *Trình bày được tình hình kháng thuốc của các thành viên gây bệnh thường gặp thuộc họ vi khuẩn đường ruột.*

1. MỘT SỐ NÉT CHUNG VỀ HỌ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT

Họ vi khuẩn đường ruột (*Enterobacteriaceae*) bao gồm các trực khuẩn Gram âm, hiếu khí hoặc kỵ khí tuỳ tiện; có thể mọc được trên các môi trường nuôi cấy thông thường, không có men oxidase; lên men đường glucose có kèm theo sinh hơi hoặc không; khử nitrat thành nitrit; có thể di động hoặc không, nhưng nếu di động thì có nhiều lông ở xung quanh thân; không sinh nha bào.

Các thành viên của họ vi khuẩn đường ruột đứng đầu trong các căn nguyên vi khuẩn gây tiêu chảy. Ngoài đường tiêu hóa, các vi khuẩn đường ruột có thể gây bệnh ở nhiều cơ quan khác như tiết niệu, hô hấp, thần kinh... ở bất kỳ loại bệnh phẩm nào cũng có thể gặp thành viên của họ vi khuẩn đường ruột.

Enterobacteriaceae là họ vi khuẩn có rất nhiều thành viên giữ vị trí quan trọng trong vi sinh y học, bài này chỉ trình bày về một số vi khuẩn gây bệnh cho người thường gặp.

2. SALMONELLA

Năm 1880 Grafky đã mô tả hình ảnh vi khuẩn quan sát được trên tiêu bản và là người đầu tiên phân lập được *S. typhi* vào năm 1884.

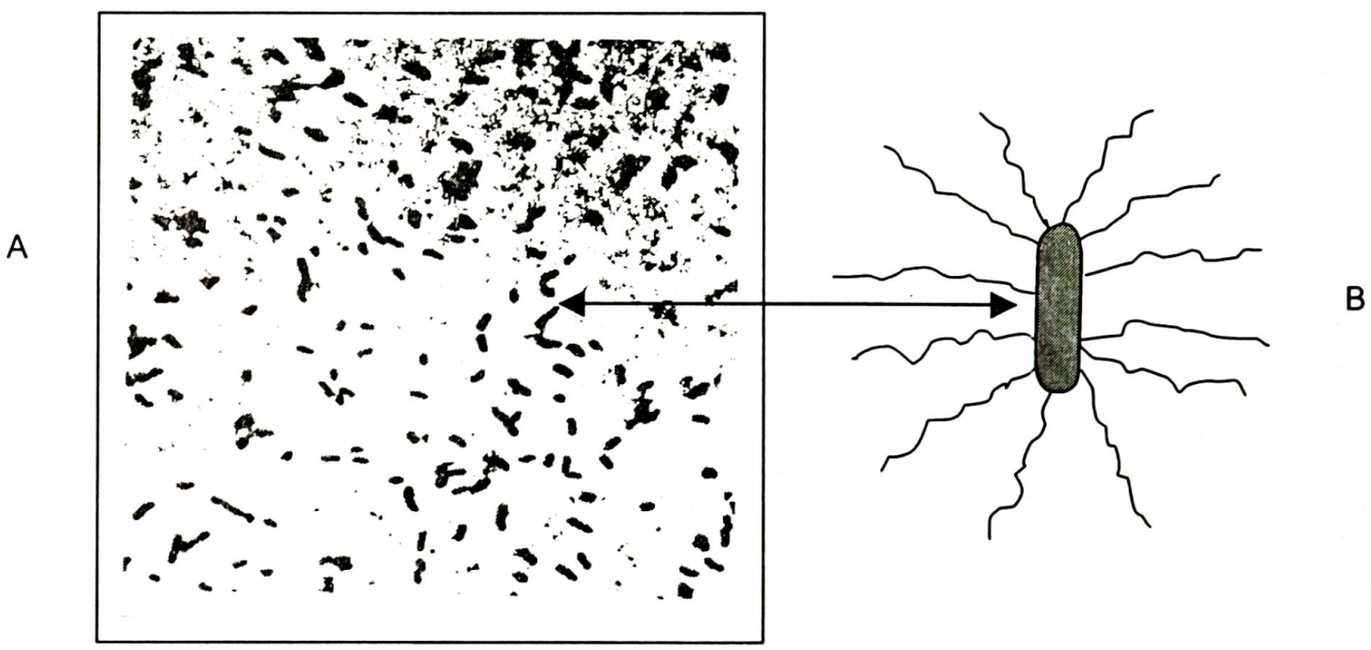
2.1. Đặc điểm sinh học

Salmonella là trực khuẩn Gram âm, có nhiều lông ở xung quanh thân.

Hiếu kỵ khí tuỳ tiện, phát triển được trên các môi trường nuôi cấy thông thường.

Salmonella không lên men lactose; lên men glucose, thường sinh hơi. Oxidase (-), Catalase (+), H_2S (+), urease (-), Simmons (-).

Salmonella có 3 nhóm kháng nguyên: O, H và K. Kháng nguyên O gồm gần 70 yếu tố khác nhau. Hầu hết *Salmonella* có kháng nguyên H. Kháng nguyên K chỉ có ở *S. typhi* và *S. paratyphi* C và được gọi là kháng nguyên Vi (Virulence). Dựa vào cấu trúc kháng nguyên, *Salmonella* được chia thành các nhóm, các loài và các týp huyết thanh.



Hình 54. Salmonella

Hình ảnh hiển vi quang học tiêu bản làm từ canh khuẩn *Salmonella* thuần nhất với độ phóng đại 1000 lần (A) và hình vẽ một vi khuẩn *Salmonella* với độ phóng đại khoảng 8000 lần(B).

2.2. Khả năng và cơ chế gây bệnh

2.2.1. Khả năng gây bệnh

Tuỳ từng loài, *Salmonella* có thể chỉ gây bệnh cho người, chỉ gây bệnh cho động vật, vừa gây bệnh cho người vừa gây bệnh cho động vật.

Những loài *Salmonella* có khả năng gây bệnh cho người được quan tâm nhiều là:

- *S. typhi*: chỉ gây bệnh cho người, là căn nguyên gây bệnh thương hàn quan trọng nhất.
- *S. paratyphi* A: chỉ gây bệnh cho người, là căn nguyên gây bệnh thương hàn, tỷ lệ ở nước ta đứng sau *S. typhi*.
- *S. paratyphi* B: chủ yếu gây bệnh ở người. Tại các nước châu Âu, tỷ lệ vi khuẩn này cao hơn ở nước ta.
- *S. paratyphi* C: vừa có khả năng gây bệnh thương hàn vừa có khả năng gây viêm dạ dày-ruột và nhiễm khuẩn huyết. Thường gặp ở các nước đông nam châu Á.
- *S. typhimurium* và *S. enteritidis*: vừa có khả năng gây bệnh cho người vừa có khả năng gây bệnh cho động vật. Chúng là nguyên nhân chủ yếu của bệnh nhiễm khuẩn nhiễm độc thức ăn do *Salmonella*.
- *S. choleraesuis*: là căn nguyên thường gặp trong nhiễm khuẩn huyết do *Salmonella* ở nước ta.

2.2.2. Cơ chế gây bệnh thương hàn

Bệnh thương hàn do *S. typhi* và các *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B, *S. paratyphi* C gây ra.

Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hóa do thức ăn, nước uống bị nhiễm bẩn, số lượng đủ để gây bệnh khoảng 10^5 đến 10^7. Sau khi vào ống tiêu hóa, vi khuẩn bám vào niêm mạc ruột non rồi xâm nhập qua niêm mạc vào các hạch mạc treo ruột. Ở đây chúng nhân lên rồi qua hệ thống bạch huyết và ống ngực đi vào máu, lúc này các dấu hiệu lâm sàng bắt đầu xuất hiện. Từ máu, vi khuẩn đến lách và các cơ quan khác. Tới gan theo mật đổ xuống ruột rồi được đào thải qua phân. Tới thận, một số vi khuẩn được đào thải ra ngoài theo nước tiểu. Tới mảng payer, vi khuẩn tiếp tục nhân lên.

Vi khuẩn thương hàn gây bệnh chủ yếu bằng nội độc tố. Nội độc tố kích thích thần kinh giao cảm ở ruột gây hoại tử chảy máu, vị trí tổn thương thường ở các mảng Payer. Có thể gặp biến chứng thủng ruột, thường do bệnh nhân ăn sớm khi chưa bình phục, nhất là các thức ăn cứng.

Nội độc tố theo máu lên kích thích trung tâm thần kinh thực vật ở não thất ba. Giai đoạn toàn phát thân nhiệt tăng cao, sốt "hình cao nguyên". Thân nhiệt tăng nhưng nhịp tim không tăng (mạch và nhiệt độ phân ly!). Bệnh nhân thường có dấu hiệu li bì, có thể hôn mê, truỵ tim mạch, tử vong.

Khoảng 5% bệnh nhân sau khi khỏi vẫn tiếp tục thải vi khuẩn qua phân do vi khuẩn vẫn tồn tại ở túi mật. Tình trạng này có thể kéo dài nhiều năm. Họ trở thành nguồn truyền bệnh rất nguy hiểm.

2.2.3. Nhiễm khuẩn và nhiễm độc thức ăn

Bệnh xảy ra do ăn phải thức ăn bị nhiễm *Salmonella*, thường do thức ăn không được bảo quản trong tủ lạnh. Các loài *Salmonella* gây nhiễm độc thức ăn, thường gặp ở nước ta, là *Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis.*

Thời gian ủ bệnh trung bình từ 10 đến 48 giờ. Sau thời gian ủ bệnh, bệnh nhân có sốt, nôn và ỉa chảy. Ở người lớn, rối loạn tiêu hóa thường kéo dài từ 2 đến 5 ngày rồi tự khỏi. Một số rất ít bệnh nhân trở thành người lành mang vi khuẩn, có thể kéo dài nhiều tháng.

Một số loài *Salmonella* chỉ gây nhiễm khuẩn nhiễm độc thức ăn ở người lớn lại có thể gây ra tình trạng bệnh lý rất nặng ở trẻ nhỏ và trẻ sơ sinh như nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não, viêm xương.

2.3. Miễn dịch

Sau khi mắc bệnh thương hàn, trong huyết thanh bệnh nhân có các kháng thể chống lại kháng nguyên O, H (và cả kháng nguyên Vi đối với những bệnh do *S. typhi* và *S. paratyphi* C). Tuy nhiên, ngày nay người ta thấy vai trò bảo vệ của các kháng thể trong huyết thanh không đầy đủ. Kháng thể lớp IgA trong dịch tiết tại chỗ có vai trò rất quan trọng trong cơ chế bảo vệ.

Tế bào lympho ở tổ chức bạch huyết tại ruột có khả năng đề kháng tự nhiên đối với *Salmonella*. Cơ chế đề kháng kiểu ADCC cũng được nói đến.

2.4. Chẩn đoán vi sinh vật bệnh thương hàn

2.4.1. Chẩn đoán trực tiếp

2.4.1.1 Nhuộm soi trực tiếp từ bệnh phẩm

Nhuộm soi vi khuẩn từ phân ít có giá trị chẩn đoán. Nhuộm đếm bạch cầu đa nhân có giá trị định hướng chẩn đoán, mật độ khoảng 20 trên một vi trường (độ phóng đại x 400).

2.4.1.2. Cấy máu

Cấy máu được tiến hành lúc bệnh nhân đang sốt cao, cần lấy máu trước khi điều trị kháng sinh. Nếu chưa điều trị kháng sinh, ở tuần lễ đầu, tỷ lệ dương tính tới 90%, tuần thứ 2 khoảng 70 - 80%; tuần thứ 3 khoảng 40 - 60%. Cấy máu dương tính cho phép xác định chắc chắn bệnh nhân mắc bệnh thương hàn.

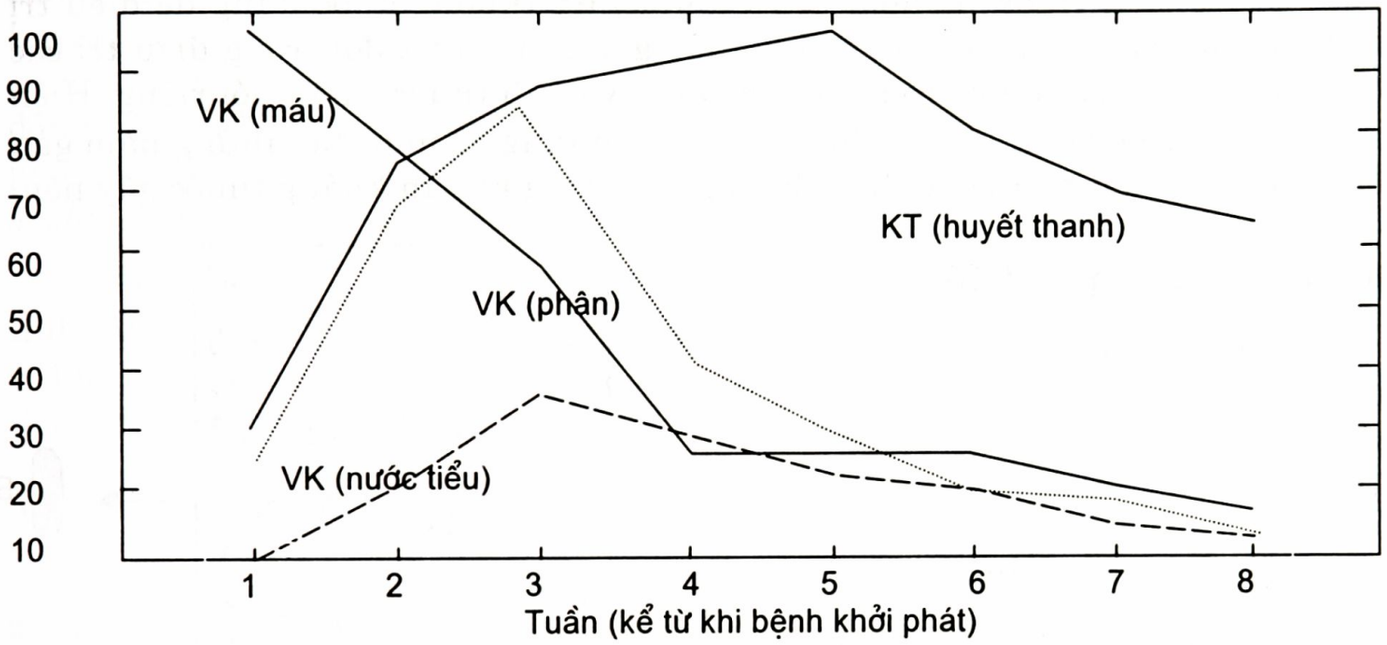
2.4.1.3. Cấy phân

Cấy phân có thể tiến hành vào bất kỳ giai đoạn nào của bệnh. Tuy nhiên chỉ riêng cấy phân dương tính không cho phép chẩn đoán chắc chắn, vì người lành cũng có thể mang vi khuẩn thương hàn.

Ngoài mục đích chẩn đoán, cấy phân còn có giá trị kiểm tra sau khi bệnh nhân đã hết các dấu hiệu lâm sàng có còn tiếp tục đào thải vi khuẩn nữa hay không và để phát hiện người lành mang vi khuẩn.

2.4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tiến hành phản ứng Widal để xác định kháng thể trong huyết thanh. Phản ứng cần được làm 2 lần để xác định động lực kháng thể: lần đầu làm ở tuần thứ nhất, lần 2 làm ở tuần thứ 2 của bệnh. Nếu động lực kháng thể cao mới cho phép có chẩn đoán chắc chắn.



Hình 55. Tỷ lệ phân lập được vi khuẩn thương hàn trong máu, phân, nước tiểu và hiệu giá kháng thể ngưng kết trong huyết thanh của bệnh nhân
(VK= Vi khuẩn, KT: Kháng thể)

2.5. Phòng bệnh

2.5.1. Phương pháp không đặc hiệu

- Thực hiện vệ sinh ăn uống.
- Cung cấp và sử dụng nước sạch.
- Quản lý, xử lý phân.
- Phát hiện người lành mang vi khuẩn, đặc biệt lưu ý ở những người có liên quan trực tiếp đến ăn uống của tập thể.
- Chẩn đoán sớm, cách ly kịp thời, xử lý chất thải của bệnh nhân.

2.5.2. Phương pháp đặc hiệu

Vacxin phòng thương hàn đang được sử dụng chứa kháng nguyên Vi của *S. typhi*, đưa vào cơ thể bằng đường tiêm với 1 liều 25 μg, có hiệu lực bảo vệ trên 70%.

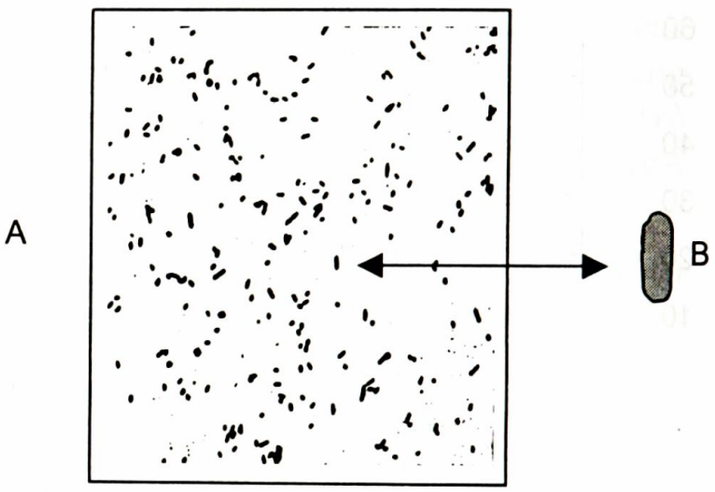
Nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới đang nghiên cứu vacxin sống, giảm độc lực, đưa vào cơ thể bằng đường uống.

2.6. Điều trị

Trước đây, chloramphenicol và ampicillin thường được dùng để điều trị *Salmonella;* chloramphenicol có hiệu lực gần như tuyệt đối trong điều trị các *Salmonella* nói chung và các *Salmonella* gây bệnh thương hàn nói riêng. Hiện nay, tỷ lệ *Salmonella* kháng thuốc ngày càng tăng. Ở nước ta, những năm gần đây đã xuất hiện những vụ dịch thương hàn do vi khuẩn kháng thuốc gây nên.

3. VI KHUẨN LỴ (SHIGELLA)

Shigella được Chantemesse mô tả từ năm 1888 và Shiga phân lập lần đầu tiên năm 1898.



Hình 56. Vi khuẩn lỵ

Hình ảnh hiển vi quang học tiêu bản làm từ canh khuẩn lỵ thuần nhất với độ phóng đại 1000 lần (A) và hình vẽ một vi khuẩn lỵ với độ phóng đại khoảng 8000 lần (B).

3.1. Đặc điểm sinh học

Shigella là trực khuẩn mảnh, Gram âm, không có vỏ và không sinh nha bào (Hình 61).

Shigella là vi khuẩn hiếu kỵ khí tuỳ tiện nhưng phát triển tốt trong điều kiện hiếu khí. *Shigella* lên men glucose, hầu hết không sinh hơi; không lên men lactose, trừ *S. sonnei* có khả năng lên men lactose chậm; H_2S (-), indol (-), Simmons (-), urease (-).

Shigella đều có kháng nguyên thân O, một số có kháng nguyên K, tất cả đều không có kháng nguyên H. *Shigella* được chia thành 4 nhóm: A (*S. dysenteriae*), B (*S. flexneri*), C (*S. boydii*) và D (*S. sonnei*):

- *S. dysenteriae* có 10 týp huyết thanh, týp 1 (*S. dysenteriae*) còn có tên là trực khuẩn *Shiga*. *S. shiga* ngoài nội độc tố còn sinh ra một ngoại độc tố mạnh.
- *S. flexneri* có 6 týp huyết thanh.
- *S. boydii* có 15 týp huyết thanh.
- *S. sonnei* chỉ có 1 týp huyết thanh.

3.2. Khả năng và cơ chế gây bệnh

Shigella là tác nhân gây bệnh lỵ trực khuẩn. Chỉ có người và khỉ mắc bệnh này. Bệnh rất hay gặp ở nước ta, có thể rải rác hoặc gây thành các vụ dịch địa phương.

Vi khuẩn theo thức ăn nước uống vào đường tiêu hóa, cũng có thể lây trực tiếp do bàn tay bẩn. Chỉ cần từ 10^2 đến 10^3 vi khuẩn đã có thể gây bệnh. *Shigella* gây tổn thương đại tràng nhờ khả năng xâm nhập và nội độc tố. Vi khuẩn bám rồi xâm nhập vào niêm mạc đại tràng. Chúng nhân lên nhanh chóng trong lớp niêm mạc. Vi khuẩn chết giải phóng ra nội độc tố gây xung huyết, xuất tiết, tạo thành những ổ loét và mảng hoại tử. Nội độc tố còn tác động lên thần kinh giao cảm gây co thắt và tăng nhu động ruột. Những tác động đó làm bệnh nhân đau bụng quặn, buồn đi ngoài và đi ngoài nhiều lần, phân có nhầy lẫn máu.
S. shiga và *S. smitzii* còn sinh ngoại độc tố có độc tính với thần kinh trung ương.

Bệnh lỵ trực khuẩn thường cấp tính. Một tỷ lệ nhỏ có thể trở thành mạn tính, những bệnh nhân này thỉnh thoảng lại bị ỉa chảy và thường xuyên thải vi khuẩn ra ngoài theo phân. Ở nước ta, đa số trường hợp bị lỵ trực khuẩn do *S. dysenteriae* và *S. flexneri*.

3.3. Miễn dịch

Sau khi mắc bệnh lỵ trực khuẩn hoặc nhiễm trùng thể ẩn, trong máu xuất hiện các kháng thể đặc hiệu. Tuy nhiên, hiệu lực bảo vệ của các kháng thể này rất kém.

Vai trò bảo vệ chủ yếu nhờ IgA tiết tại ruột. Nghiên cứu về miễn dịch tiết trong bệnh lỵ trực khuẩn đã được tiến hành rất sớm, thuộc vào những công trình đầu tiên trong lịch sử nghiên cứu miễn dịch tiết nói chung.

3.4. Chẩn đoán vi sinh vật

3.4.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.4.1.1. Nhuộm soi trực tiếp

Bệnh phẩm có thể lấy sau khi bệnh nhân đã đi ngoài ra bô sạch, chỗ phân có nhầy lẫn máu, hoặc lấy trực tiếp từ trực tràng. Làm tiêu bản nhuộm soi xác định mật độ bạch cầu đa nhân, thường rất cao từ 30 đến 50, có khi trên 50 trong một vi trường (độ phóng đại x400).

3.4.1.2. Cấy phân

Cấy phân là phương pháp tốt nhất để chẩn đoán bệnh lỵ trực khuẩn. Bệnh phẩm phải được cấy ngay vì vi khuẩn lỵ chết rất nhanh sau khi ra ngoài môi trường.

3.4.2. Chẩn đoán gián tiếp

Phản ứng huyết thanh rất ít được làm để chẩn đoán bệnh lỵ trực khuẩn vì cho kết quả chậm và tính đặc hiệu không cao do *S. flexneri* (một căn nguyên chiếm tỷ lệ cao) có yếu tố kháng nguyên chung với một số vi khuẩn đường ruột khác.

3.5. Phòng bệnh

Thực hiện các biện pháp phòng bệnh không đặc hiệu: vệ sinh ăn uống, sử dụng nước sạch, quản lý xử lý phân, diệt ruồi; chẩn đoán sớm và cách ly bệnh nhân.

Hiện nay ở nước ta chưa có vacxin phòng bệnh lỵ trực khuẩn.

3.6. Điều trị

Shigella là một trong các vi khuẩn có tỷ lệ kháng kháng sinh rất cao. Những chủng *Shigella* mang plasmid chứa các gen đa kháng được phát hiện đầu tiên ở Nhật Bản, sau đó ở nhiều nước khác trong đó có nước ta. Việc làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp là rất cần thiết.

4. ESCHERICHIA COLI

Escherichia do Escherich phát hiện lần đầu tiên năm 1885. Giống này gồm nhiều loài, trong đó, *E. coli* có vai trò quan trọng nhất.

4.1 Đặc điểm sinh học

E. coli là trực khuẩn Gram âm. Rất ít chủng *E. coli* có vỏ, nhưng hầu hết có lông. Phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường; hiếu kỵ khí tuỳ tiện. Lên men nhiều loại đường và có sinh hơi; các *E. coli* đều lên men lactose và sinh hơi trừ EIEC; indol (+), H_2S (-), Simmons và urease (-).

E. coli có cả 3 nhóm kháng nguyên: kháng nguyên O gồm gần 160 yếu tố; kháng nguyên K được chia thành 3 loại: A, B và L; kháng nguyên H gồm hơn 50 yếu tố. Dựa vào cấu trúc kháng nguyên, *E. coli* được chia thành các týp huyết thanh. Với sự tổ hợp của các yếu tố kháng nguyên sẽ có rất nhiều týp huyết thanh khác nhau, mỗi týp huyết thanh được ký hiệu bằng kháng nguyên O và K, ví dụ O86B7.

Dựa vào tính chất gây bệnh, *E. coli* được chia thành các loại:

EPEC (Enteropathogenic *E. coli*): *E. coli* gây bệnh đường ruột.

ETEC (Enterotoxigenic *E. coli*): *E. coli* sinh độc tố ruột.

EIEC (Enteroinvasive *E. coli*): *E. coli* xâm nhập đường ruột.

EAEC (Enteroadherent *E. coli*): *E. coli* bám dính đường ruột.

EHEC (Enterohaemorrhagic *E. coli*): *E. coli* gây chảy máu đường ruột.

4. 2. Khả năng và cơ chế gây bệnh

Trong đường tiêu hóa, *E. coli* chiếm khoảng 80% các vi khuẩn hiếu khí. Nhưng *E. coli* cũng là vi khuẩn gây bệnh quan trọng, nó đứng đầu trong các vi khuẩn gây ỉa chảy, viêm đường tiết niệu, viêm đường mật; đứng hàng đầu trong các căn nguyên gây nhiễm khuẩn huyết. *E. coli* có thể gây nhiều bệnh khác như viêm phổi, viêm màng não, nhiễm khuẩn vết thương.



Hình 57. Vi khuẩn E. coli bám dính vào niêm mạc ruột non

(Ảnh hiển vi điện tử của A. Takeuchi và cộng sự – đoạn thẳng ở góc dưới phải tương ứng với 1μm)

Cơ chế gây bệnh của *E. coli* khác nhau tuỳ loại:

ETEC: gây bệnh do ngoại độc tố LT, là loại độc tố ruột giống độc tố ruột của *V. cholerae* (xem cơ chế gây bệnh của vi khuẩn tả).

EIEC: gây bệnh do khả năng xâm nhập vào niêm mạc đại tràng, cơ chế gây bệnh giống vi khuẩn lỵ.

EAEC: gây bệnh do bám vào niêm mạc và làm tổn thương chức năng ruột (Hình 53), cơ chế chưa thật sáng tỏ.

EHEC: cơ chế cũng chưa hoàn toàn rõ, nhưng người ta đã xác định được một loại độc tố có cấu trúc kháng nguyên và cơ chế tác động giống với ngoại độc tố của *S. shiga*. Trong quá trình gây bệnh, EHEC làm tổn thương xuất huyết ở ruột.

EPEC: cơ chế gây bệnh chưa được biết rõ.

4.3. Chẩn đoán vi sinh vật

4.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm khác nhau tuỳ bệnh: là phân với nhiễm khuẩn đường tiêu hóa, nước tiểu với nhiễm khuẩn đường tiết niệu, máu nếu là nhiễm khuẩn máu.

Có thể làm tiêu bản soi trực tiếp đối với một số loại bệnh phẩm như cặn ly tâm nước tiểu hoặc nước não tuỷ. Phương pháp chẩn đoán chủ yếu nhất là nuôi cấy phân lập.

Đối với viêm màng não, hiện nay còn sử dụng kỹ thuật ngưng kết latex để xác định kháng nguyên của *E. coli* trong dịch não tuỷ.

4.3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Trên thực tế phương pháp chẩn đoán gián tiếp không được sử dụng để chẩn đoán các nhiễm khuẩn do *E. coli*.

4.4. Phòng bệnh

Hiện nay chưa có phương pháp phòng bệnh đặc hiệu. Để phòng nhiễm khuẩn đường tiêu hóa do *E. coli*, thực hiện các biện pháp phòng bệnh chung không đặc hiệu giống như đối với các vi khuẩn đường ruột khác.

Đề phòng nhiễm khuẩn đường tiết niệu do *E. coli* : thực hiện vệ sinh vùng hậu môn và bộ phận sinh dục ngoài, thực hiện nghiêm túc nguyên tắc vô trùng khi phải tiến hành thăm dò hoặc đặt thông đường tiết niệu.

4.5. Điều trị

E. coli thuộc vào các vi khuẩn có tỷ lệ kháng thuốc cao, nhất là các chủng phân lập được từ nước tiểu, vì vậy cần phải làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp.

Ngoài việc sử dụng kháng sinh, một số việc khác rất có giá trị trong điều trị như bồi phụ nước, điện giải trong trường hợp ỉa chảy, giải quyết các cản trở trên đường tiết niệu, rút ống thông sớm nếu có thể được.

5. MỘT SỐ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT KHÁC

5.1. Klebsiella

Đại diện điển hình của giống *Klebsiella* là loài *K. pneumoniae*. Ở một số người bình thường, có thể gặp *K. pneumoniae* trong phân hoặc đường hô hấp trên. Bệnh quan trọng nhất do *K. pneumoniae* gây ra là viêm phổi, thường gặp ở trẻ sơ sinh, tỷ lệ tử vong rất cao nếu không được điều trị sớm. Ngoài ra nó còn có khả năng gây nhiễm khuẩn đường tiết niệu, viêm màng não, viêm tai giữa, viêm xoang.

5.2. Proteus

Proteus là các trực khuẩn Gram âm, có lông ở xung quanh thân và có khả năng di động. Trên môi trường đặc thường không tạo thành khuẩn lạc mà lan khắp bề mặt, nhiều khi trông như những lớp sóng đồng tâm. Tính chất này gây cản trở cho việc phân lập các vi khuẩn gây bệnh khác.

Dựa vào kháng nguyên O và H, *Proteus* được chia thành 100 týp huyết thanh. Một số týp huyết thanh (OX_2, OX_{19}, và OX_k) có cấu trúc kháng nguyên giống *Rickettsia*, chúng được dùng làm kháng nguyên để chẩn đoán huyết thanh học bệnh do *Rickettsia* gây ra.

Ở người bình thường, có thể phân lập được *Proteus* trong phân, đôi khi còn gặp ở hốc tự nhiên như ở ống tai ngoài. Chúng là vi khuẩn gây bệnh cơ hội, có thể gây viêm đường tiết niệu, viêm tai giữa, nhiễm khuẩn huyết, viêm mủ vết thương.

5.3. Enterobacter

Trong số các loài thuộc giống *Enterobacter* đã biết, 2 loài *E. cloacae* và *E. aerogenes* được biết đến nhiều nhất, trong đó *E. cloacae* được chọn là đại biểu điển hình của giống này.

5.4. Serratia

Serratia có rất nhiều tính chất giống với *Klebsiella* và *Enterobacter.*

Đại biểu điển hình của giống *Serratia* là loài *S. marcescens*, loài này có khuẩn lạc màu đỏ.

5.5. Citrobacter

Đại biểu điển hình của giống *Citrobacter* là loài *C. freundii.*

5.6. Edwardsiella:

Đại biểu điển hình của giống *Edwardsiella* là loài *E. tarda.*

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Căn cứ vào đâu để xếp một vi khuẩn vào họ vi khuẩn đường ruột?
2. Nêu một số tính chất hóa sinh để phân biệt *E. coli, Salmonella* và *Shigella*?
3. Liệt kê các nhóm *E. coli* gây bệnh và cho biết đặc điểm nổi bật trong cơ chế gây bệnh của mỗi nhóm?
4. Trình bày cơ chế gây bệnh của vi khuẩn thương hàn và vi khuẩn lỵ?
5. Mô tả cách lấy và bảo quản bệnh phẩm phân để xét nghiệm tìm vi khuẩn đường ruột?
6. Phân tích giá trị của các phương pháp chẩn đoán vi sinh thường dùng đối với *E. coli*, *Salmonella* và *Shigella*?
7. Trình bày các biện pháp phòng bệnh do các thành viên của họ vi khuẩn đường ruột gây ra?
8. Trình bày nguyên tắc điều trị những bệnh thường gặp do các thành viên thuộc họ vi khuẩn đường ruột gây ra.

VIBRIO

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được cách phân loại và các tính chất sinh học chính của vi khuẩn tả.*
2. *Trình bày được khả năng và cơ chế gây bệnh của vi khuẩn tả.*
3. *Vẽ và giải thích được sơ đồ chẩn đoán vi sinh vật bệnh tả.*
4. *Trình bày được các phương pháp phòng và nguyên tắc chữa bệnh tả.*

1. TÍNH CHẤT CHUNG CỦA VIBRIO

Giống *Vibrio,* thuộc họ *Vibrionaceae,* gồm hơn 30 loài.

Vibrio là những vi khuẩn hình que hơi cong, di động nhờ một lông ở một đầu, hiếu khí hoặc hiếu kỵ khí tuỳ tiện, oxidase (+), catalase (+), lên men đường không sinh hơi, chuyển nitrat thành nitrit. Tất cả các loài thuộc giống *Vibrio* đều cần NaCl để phát triển, nhưng nồng độ tối ưu cho mỗi loài không giống nhau.

Tất cả các loài có khả năng gây bệnh cho người đều phát triển được trên môi trường TCBS (Thiosulfate Citrat Bile-salt Sucrose). Cấy bệnh phẩm (hoặc mẫu xét nghiệm khác) vào môi trường tăng sinh (nước pepton kiềm có 1% NaCl) và sau đó cấy chuyển sớm sang môi trường TCBS hoặc môi trường phân lập khác là việc làm thích hợp trong quá trình phân lập tất cả các *Vibrio*.

2. MỘT SỐ LOÀI THUỘC GIỐNG VIBRIO

2.1. V. cholerae sẽ được trình bày riêng ở mục 3

2.2. V. parahaemolyticus

V. parahaemolyticus là một "vi sinh vật biển", gặp ở các vùng bờ biển nóng và ôn hoà trên khắp thế giới. Bị nhiễm vi khuẩn này do ăn hải sản tươi hoặc chưa được nấu kỹ.

Các *V. parahaemolyticus* được phân biệt với nhau nhờ kháng nguyên O và kháng nguyên K, điều này giúp ích cho việc nghiên cứu dịch tễ học.

2.3. V. mimicus

Lúc đầu *V. mimicus* được cho là biến chủng của *V. cholerae*. Những nghiên cứu sau đó cho phép xếp *V. mimicus* thành một loài riêng. *V. mimicus* gây ỉa chảy do ăn hải sản tươi hoặc chưa được nấu kỹ.

2.4. V. fluvialis

V. fluvialis phân bố rộng khắp thế giới, ở các vùng nước ngọt và nước lợ cửa sông. Chúng đã được xác định có khả năng gây bệnh nhưng cơ chế vẫn chưa được sáng tỏ.

2.5. V. furnissii

Mặc dù thường phân lập được vi khuẩn này từ phân của các bệnh nhân ỉa chảy, nhưng vẫn chưa khẳng định được nó là căn nguyên, vì ngoài *V. furnissii* ra còn phân lập được vi khuẩn khác.

2.6. V. alginolyticus

Vi khuẩn này được xác định là có khả năng gây nhiễm trùng vết thương.

2.7. V. damsella

Vi khuẩn này cũng được xác định là có khả năng gây nhiễm trùng vết thương.

2.8. V. vulnificus

Vi khuẩn này có khả năng gây nhiễm trùng vết thương và nhiễm trùng máu.

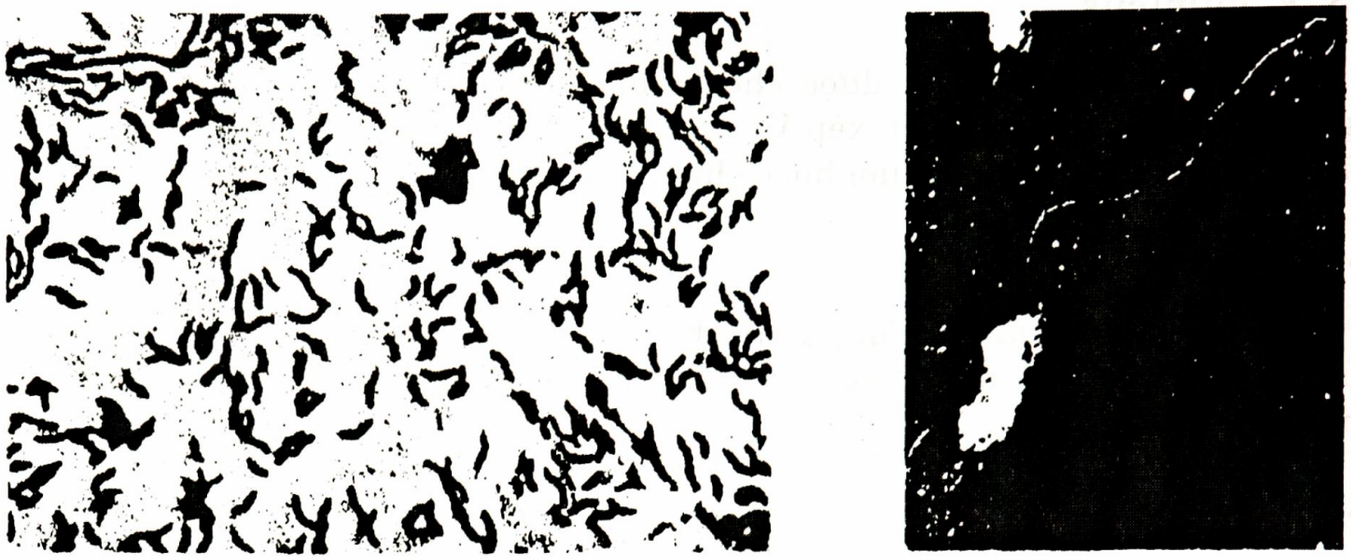
3. V. CHOLERAE

Được R. Koch phân lập lần đầu tiên 1883. *V. cholerae* là một loài bao gồm các vi khuẩn gây bệnh tả và cả những vi khuẩn không gây bệnh tả có sự giống nhau về cấu trúc của ADN, và có sự giống nhau cơ bản về các tính chất sinh vật học khác.

3.1. Đặc điểm sinh học

V. cholerae là loại vi khuẩn hình que hơi cong, Gram âm, không có vỏ, không sinh nha bào, có một lông ở đầu và có khả năng di động rất mạnh (Hình 63). Hiếu khí, có thể phát triển tốt trong môi trường kiềm (pH 8,5-9,5) và nồng độ NaCl cao (3%). Các tính chất hóa sinh: oxidase (+), indol (+), glucose (+), sucrose (+), manose (+), lactose (-), arabinose (-), H_2S (-), urease (-).

V. cholerae có sức đề kháng yếu với các tác nhân lý hóa, trừ pH kiềm; tuy nhiên có thể sống một số giờ trong phân và một số ngày trong nước.



Hình 58. Vibrio cholerae

a) Hình ảnh hiển vi quang học tiêu bản làm từ canh khuẩn thuần nhất với độ phóng đại 1000 lần.

b) Hình ảnh hiển vi điện tử với độ phóng đại 6400 lần.

3.2. Phân loại

Loài *V. cholerae* thuộc giống *Vibrio*, họ *Vibrionaceae*. Loài này có kháng nguyên lông (H) giống nhau. Căn cứ vào sự khác nhau của kháng nguyên thân (O), *V. cholerae* được phân chia thành hơn 100 nhóm.

Trước năm 1992, căn nguyên của tất cả các vụ dịch tả trên thế giới đều thuộc nhóm 01. Năm 1992 xuất hiện một nhóm huyết thanh mới, gây ỉa chảy với cơ chế hoàn toàn giống *V. cholerae* 01, đó là *V. cholerae* 0139. Vi khuẩn này lần đầu tiên được phát hiện trong một vụ dịch ở Madras Ấn Độ, sau đó đã gây ra những vụ dịch lớn ở nhiều nước trên thế giới.

Dựa vào thành phần kháng nguyên, *V. cholerae* 01 được chia thành 3 týp huyết thanh: *Ogawa, Inaba* và *Hikojima.* Dựa vào tính chất sinh học, vi khuẩn tả được chia thành hai týp (sinh týp): *V. cholerae* sinh týp cổ điển (thường được gọi tắt là *V. cholerae*), và *V. cholerae* sinh týp Eltor (thường được gọi tắt là *V. Eltor*).

V. cholerae O139 được giả thiết rằng có nguồn gốc từ *V. cholerae* O1, sinh týp *Eltor*. Một trong những cơ sở để ủng hộ giả thiết đó là độc tố ruột của *V. cholerae* O139 rất giống với độc tố ruột của *V. Eltor.* Tuy nhiên, *V. cholerae* O139 có những điểm khác với *V. cholerae* O1 về cấu trúc di truyền và một số tính chất khác. Sự khác biệt quan trọng nhất là *V. cholerae* O139 không có các gen kiểm soát quá trình tổng hợp kháng nguyên O1, vì vậy nó không bị ngưng kết bởi kháng huyết thanh kháng O1.

3.3. Miễn dịch

3.2.1. Cơ chế đề kháng không đặc hiệu

Độ acid của dịch vị là yếu tố đề kháng rất quan trọng ngăn chặn vi khuẩn tả. Hệ vi khuẩn bình thường (vi khuẩn chí bình thường) cũng tham gia vào cơ chế đề kháng không đặc hiệu nhờ sự cạnh tranh với vi khuẩn tả.

3.2.2. Cơ chế đề kháng đặc hiệu

Bệnh tả có khả năng tạo nên miễn dịch khá vững bền. Những nghiên cứu ở vùng có lưu hành dịch tả cho thấy rằng, 90% số người đã bị mắc bệnh tả không bị mắc lại. Thời gian bảo vệ kéo dài khoảng ba năm.

Vai trò chủ chốt tạo nên miễn dịch đặc hiệu là miễn dịch tiết, do các IgA tiết quyết định. Đối với cả *V. cholerae* O1 và O139 đều có hai loại kháng thể có vai trò bảo vệ: kháng thể chống LPS và kháng thể chống độc tố ruột LT. Kháng thể chống LPS ngăn cản sự bám của vi khuẩn vào niêm mạc ruột, còn kháng thể chống LT ngăn cản độc tố này gắn vào thụ thể GM1. Tuy nhiên các kháng thể này có tính đặc hiệu khác nhau, vì vậy những người đã có miễn dịch với *V. cholerae* O1 vẫn bị mắc bệnh do *V. cholerae* O139.

3.4. Khả năng và cơ chế gây bệnh

Trong điều kiện tự nhiên, vi khuẩn tả chỉ gây bệnh cho người.

Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể bằng đường ăn uống. Để xuống ruột non, vi khuẩn phải vượt qua dạ dày. Bình thường độ pH của dạ dày xấp xỉ 3, đủ gây chết nhanh chóng vi khuẩn tả. Những thử nghiệm trên động vật và trên người tình nguyện cho thấy rằng, vi khuẩn tả chỉ gây được ỉa chảy cấp nếu cho động vật thí nghiệm hoặc người tình nguyện uống natri bicarbonat ngay trước khi cho uống vi khuẩn tả. Trên thực tế, bệnh tả thường gặp ở những người có độ acid của dịch vị bị giảm hoặc mất. Đối với những người dạ dày tiết dịch bình thường thì thức ăn, nước uống phải có khả năng trung hoà bớt acid của dịch vị, vi khuẩn tả mới có thể gây bệnh được.

Sau khi vượt qua dạ dày xuống ruột non, vi khuẩn tả bám vào niêm mạc nhưng không xâm nhập sâu vào mô ruột và hầu như không gây tổn thương cấu trúc của niêm mạc ruột. Tại ruột non, vi khuẩn phát triển nhanh chóng nhờ pH thích hợp, tiết ra độc tố ruột LT (thermolabile toxin - trước kia gọi là choleragen). Độc tố ruột gắn vào niêm mạc ruột non làm cho tế bào niêm mạc ruột giảm hấp thụ Na^+, tăng tiết nước và Cl^- gây ra ỉa chảy cấp tính (Hình 64). Nếu không được điều trị tích cực bệnh nhân sẽ chết vì kiệt nước và mất các chất điện giải.

3.5. Dịch tễ học

Nguồn lây bệnh là bệnh nhân và người lành mang mầm bệnh. Bệnh nhân bắt đầu đào thải vi khuẩn theo phân từ thời kỳ ủ bệnh. Đến thời kỳ toàn

phát một số lượng lớn vi khuẩn được đào thải theo phân và chất nôn. Sau khi khỏi bệnh vi khuẩn vẫn còn tiếp tục được đào thải theo phân trong nhiều tháng. Trong các vụ dịch tả tỷ lệ người lành mang vi khuẩn cao hơn hẳn người mắc bệnh.

Nước (bao gồm cả nước ăn và nước sinh hoạt) giữ một vai trò đặc biệt trong quá trình truyền bệnh tả. Thức ăn được xác định là một yếu tố trung gian truyền bệnh quan trọng. Trong thức ăn giữ ở nhiệt độ xấp xỉ 30°C (nhiệt độ bình thường) vi khuẩn tả có thể sống được từ 1 đến 5 ngày, nếu ở nhiệt độ 5 - 10°C (ngăn dưới tủ lạnh) vi khuẩn tả có thể sống một vài tuần. Mọi lứa tuổi nếu chưa có miễn dịch đầy đủ đều có thể mắc bệnh tả. Tại những khu vực có bệnh tả lưu hành thì tỷ lệ trẻ em bị mắc bệnh cao hơn người lớn.

3.6. Chẩn đoán vi sinh vật

3.6.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm là phân và chất nôn. Cần phải xét nghiệm trong vòng 2 giờ, nếu muộn hơn thì phải cấy vào môi trường bảo quản.

3.6.1.1. Nhuộm soi hoặc soi tươi

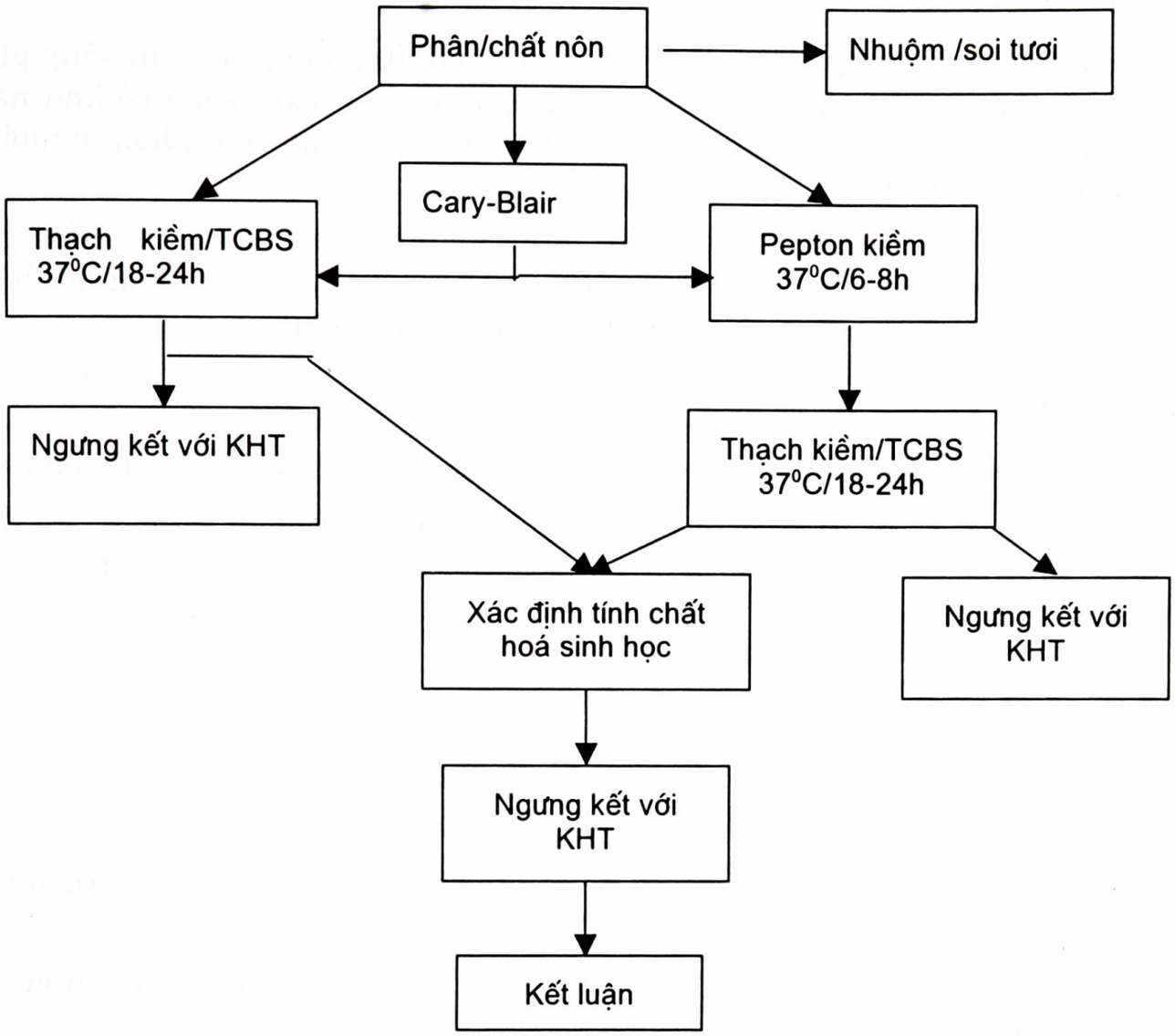
Tiến hành soi tươi, quan sát tính di động của vi khuẩn tả. Nhuộm soi, đếm bạch cầu trong phân: trong bệnh tả thường thấy số lượng rất ít, khoảng 5 bạch cầu trong một vi trường (độ phóng đại x400).

3.6.1.2. Kỹ thuật kháng thể huỳnh quang trực tiếp

Phương pháp này cho kết quả rất nhanh và có tính đặc hiệu cao, thường được áp dụng trong kiểm dịch ở các cửa khẩu.

3.6.1.3. Nuôi cấy phân lập

Các môi trường thường được dùng để phân lập vi khuẩn tả là: pepton kiềm, thạch kiềm, TCBS. Hình 59 giới thiệu sơ đồ phân lập và xác định vi khuẩn tả.



Hình 59. Sơ đồ phân lập và xác định vi khuẩn tả
(KHT=Kháng huyết thanh)

3.6.2. Chẩn đoán huyết thanh

Trên thực tế không làm chẩn đoán huyết thanh vì cho kết quả chậm.

3.7. Phòng và điều trị

3.7.1. Phòng bệnh

3.7.1.1. Không đặc hiệu

Những biện pháp quan trọng là: vệ sinh ăn uống, sử dụng nước sạch, diệt ruồi; chẩn đoán sớm, cách ly bệnh nhân, xử lý phân và chất nôn của bệnh nhân. Khi có dịch tả, phải thông báo ngay và kịp thời thực hiện các biện pháp bao vây dập dịch.

3.7.1.2. Đặc hiệu

Hiện nay có hai loại vacxin sử dụng theo đường uống: vacxin sống giảm độc lực và vacxin chết. Một số nghiên cứu cho thấy vacxin sống có khả năng tạo miễn dịch bảo vệ trên 80%, tương đương với tỷ lệ bảo vệ ở nhóm người đã bị mắc bệnh tả thể nhẹ.

Vacxin phòng bệnh tả đang được dùng ở nước ta là vacxin bất hoạt gồm cả O1 và O139, đưa vào cơ thể theo đường uống. Đối tượng sử dụng là những người sống trong vùng có dịch tả lưu hành, ở mọi lứa tuổi.

3.7.2. Điều trị

Bù nước và điện giải có tầm quan trọng hàng đầu để cứu sống bệnh nhân.

Vi khuẩn tả còn nhạy cảm với nhiều kháng sinh thông thường. Để điều trị bệnh tả thường dùng tetracyclin, chloramphenicol hoặc bactrim. Tuy nhiên cũng đã có tài liệu công bố phát hiện được vi khuẩn tả kháng thuốc.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày cách phân loại vi khuẩn tả theo kháng nguyên và theo tính chất sinh học?
2. Trình bày các tính chất chính, khả năng và cơ chế gây bệnh của vi khuẩn tả?
3. Trình bày cách lấy, bảo quản và vận chuyển bệnh phẩm phân để chẩn đoán bệnh tả?
4. Vẽ và giải thích sơ đồ chẩn đoán vi sinh vật bệnh tả?
5. Trình bày các phương pháp phòng và nguyên tắc chữa bệnh tả?

HELICOBACTER PYLORI

MỤC TIÊU

1. *Kể được đặc điểm sinh học của vi khuẩn* Helicobacter pylori *(HP).*
2. *Nói được cơ chế gây bệnhvà tính chất dịch tễ học của HP.*
3. *Kể được các phương pháp chẩn đoán vi sinh.*
4. *Trình bày được các nguyên tắc phòng và điều trị HP.*

Năm 1983 Marshall và Warren đã phân lập và xác định thành công vi khuẩn *Helicobacter pylori* (vi khuẩn gây viêm loét dạ dày tá tràng).

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

H. pylori là vi khuẩn hình xoắn, hơi cong, Gram âm, đường kính từ 0,3 - 1,0 µm, dài 1,5 - 5 µm. *H. pylori* di động trong môi trường lỏng nhờ một chùm lông ở một đầu, thông thường chúng có từ 2 đến 6 lông.



Hình 60. *Helicobacter pylori* dưới kính hiển vi quang học



H. pylori dạng hình cầu

H. pylori dạng hình cong

Hình 61. *Helicobacter pylori* dưới kính hiển vi điện tử

1.2. Nuôi cấy

H. pylori là loài vi khuẩn rất khó nuôi cấy. Khi nuôi cấy, cần môi trường giàu chất dinh dưỡng và một số yếu tố đặc biệt. Bên cạnh môi trường chọn lọc đặc hiệu, *H. pylori* rất cần khí trường thích hợp như 5% O_2, 7 % CO_2, 8% H_2, 70% N_2 và 10% các khí khác. Nhiệt độ thích hợp 37°C. Khuẩn lạc của *H. pylori* trên môi trường đặc thì trong hoặc xám nhạt, đôi khi gây tan máu, đường kính của khuẩn lạc khoảng 1 mm, xuất hiện sau 48 - 72 giờ.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

H. pylori không phân giải hydrat carbon, có men urease hoạt động rất mạnh. Đây là đặc điểm quan trọng để phân biệt *H. pylori* với *Campylobacter. H. pylori* có thể sống lâu trong môi trường acid nhờ sự có mặt của urease. *H. pylori* còn có hoạt tính mạnh về catalase, phosphatase kiềm và acid, cytocrom oxidase, không khử được nitrat cũng như không phân giải hippurat.

1.4. Khả năng đề kháng

H. pylori có khả năng sống lâu ở môi trường có độ acid cao của dạ dày nhưng không phải là vi khuẩn ưa acid như một số quan niệm trước đây. Lý do là *H. pylori* có khả năng bài tiết urease rất mạnh, nó phân giải urê trong dạ dày tạo thành amoniac bao quanh vi khuẩn, khiến cho chúng có thể chịu đựng được môi trường acid của dạ dày.

1.5. Kháng nguyên và độc tố

H. pylori có hai kháng nguyên chính: kháng nguyên lông và kháng nguyên thân. Kháng nguyên lông có bản chất là protein, còn kháng nguyên thân (kháng nguyên O) có bản chất là lipopolysaccharid chịu nhiệt. Đây là kháng nguyên hỗn hợp của các *H. pylori* gây bệnh cho động vật có vú. Kháng nguyên O có tính độc đối với tế bào túc chủ mà chúng ký sinh. Ngoài ra, *H. pylori* còn có một số kháng nguyên đóng vai trò quan trọng trong mối liên quan đến khả năng gây bệnh của chúng, đó là các enzym urease, catalase, superoxid, hismatase và kháng nguyên adhesin (adhesin: bám dính) giúp cho *H. pylori* bám vào tế bào niêm mạc. Phân loại độc tố từ các chủng khác nhau, người ta đã xác dịnh được 2 loại:

- Độc tố gây loét tá tràng, chiếm 60% số chủng.
- Độc tố gây tăng tiết dịch vị chiếm 40% số chủng.

1.6. Phân loại

Từ năm 1983 đến nay người ta đã phân lập được hơn 15 loài khác nhau. Trong số này, có *H. pylori, H. cinaedi, H. fennelliae, H. rappinii* và *H. heimanni* ký sinh ở người nhưng gây bệnh cho người thì chỉ có *H. pylori.*

2. MIỄN DỊCH

2.1. Miễn dịch tại chỗ

Tại nơi *H. pylori* xâm nhập, xuất hiện hiện tượng tập trung một số lượng lớn các bạch cầu trung tính và tế bào lympho. Các tế bào lympho và bạch cầu giải phóng ra các interleukin và các gốc tự do oxy hóa nhằm tấn công vi khuẩn, song phản ứng viêm tại chỗ này không có khả năng thanh toán *H. pylori*.

2.2. Đáp ứng miễn dịch dịch thể

Khi nghiên cứu tìm kháng thể trong máu những bệnh nhân loét dạ dày-tá tràng có mặt *H. pylori*, người ta đã phát hiện thấy có sự gia tăng kháng thể IgG, IgA và đặc biệt là IgM. Các kháng thể này giảm một cách có ý nghĩa sau khi tiệt trừ hết *H. pylori*.

3. KHẢ NĂNG, CƠ CHẾ GÂY BỆNH, DỊCH TỄ HỌC

3.1. Khả năng gây bệnh

Từ khi Marshall phân lập được vi khuẩn này, nhiều công trình nghiên cứu thành công về vai trò gây bệnh của *H. pylori* đã được thực hiện trên người tình nguyện cũng như trên động vật thí nghiệm. HP có thể gây viêm, loét và ung thư dạ dày.

3.2. Cơ chế gây bệnh

H. pylori có khả năng tiết urease mạnh, men này có hoạt tính rất mạnh phân giải urê thành amoniac. Urê là sản phẩm chuyển hóa của các mô tế bào, chúng vào máu một phần và được đào thải ra ngoài qua thận. Một lượng urê tương đương từ máu qua lớp niêm mạc dạ dày vào dịch dạ dày. Amoniac có phản ứng kiềm, tạo thành một lớp đệm bao quanh *H. pylori,* giúp cho chúng tránh được môi trường acid cao của dạ dày. Mặt khác, amoniac sinh ra cũng gây độc trực tiếp đối với tế bào niêm mạc dạ dày. Các men catalase, lipase và glycoproteinase của *H. pylori* phân giải chất nhầy giúp cho chúng xâm nhập vào niêm mạc sâu hơn và phơi bày các thụ thể tế bào cho các adhesin của *H. pylori* gắn vào đó và dần dần phá huỷ tế bào. *H. pylori* còn tiết ra các độc tố tế bào, các độc tố này cũng gây độc và phá huỷ tế bào.

Gần đây, người ta phát hiện thấy kháng nguyên CagA làm tăng tiết interleukin-8, có giả thuyết cho rằng yếu tố này cũng là một trong các yếu tố làm bệnh tiến triển đến ung thư.

3.3. Dịch tễ học

Tình trạng kinh tế và xã hội có ảnh hưởng lớn đến hiện tượng nhiễm *H. pylori.* Ngay ở Mỹ, tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở người da đen cũng cao hơn người da trắng, bởi vì liên quan tới đời sống tinh thần, vật chất và vệ sinh môi trường.

Nguồn truyền nhiễm là người, có thể gặp ở khỉ nhưng không đáng kể. Đường lây chủ yếu là người truyền sang người. Phương thức lây truyền là đường phân-miệng và đường miệng-miệng. Trong đó, đường phân-miệng đóng vai trò chủ yếu.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

4.1. Bệnh phẩm: là mảnh sinh thiết từ nơi viêm hoặc ổ loét dạ dày-tá tràng.

4.2. Chẩn đoán trực tiếp

- Nhuộm soi: có thể nhuộm Gram để quan sát hình thể và tính chất bắt màu của *H. pylori*.
- Nuôi cấy: môi trường để nuôi cấy *H. pylori* có rất nhiều loại, tuỳ theo kinh nghiệm của từng phòng thí nghiệm mà sử dụng các môi trường khác nhau, như môi trường Pylori-agar, Skirow's cải tiến, Columbia, Brucella hoặc BHI-agar có thêm 7-10% máu ngựa, ủ ở 37°C với 10% CO_2 và độ ẩm thích hợp.

4.3. Chẩn đoán gián tiếp

- Xác định men urease có ở mảnh sinh thiết: đây là kỹ thuật cho kết quả nhanh, chẩn đoán sơ bộ xem có mặt của *H. pylori* trong bệnh phẩm hay không (kỹ thuật CLO-test).
- Xác định kháng thể đặc hiệu IgG hoặc IgA trong huyết thanh bệnh nhân. Phương pháp này rất có ích trong nghiên cứu dịch tễ học.
- Có thể xác định urê qua hơi thở: người ta sử dụng sự hiện diện của men urease trong trường hợp niêm mạc dạ dày bị nhiễm *H. pylori*, thông qua việc gắn chất đồng vị phóng xạ ^{14}C vào dạ dày, nếu có men urease thì sẽ nhanh chóng phân giải urê ^{14}C thành amoniac và dioxit phóng xạ ^{14}C. Dioxit carbon phóng xạ này sẽ nhanh chóng đi vào máu và tới phổi và có thể phát hiện được chúng qua hơi thở của bệnh nhân.

Kỹ thuật nhân gen PCR (polymerase chain reaction): đây là kỹ thuật có thể phát hiện được các đoạn gen đặc hiệu của *H. pylori* ở cả mảnh sinh thiết dạ dày, dịch dạ dày, nước bọt và phân của bệnh nhân.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh

- Nguyên tắc phòng bệnh chung: bệnh dạ dày-tá tràng phụ thuộc rất nhiều vào các điều kiện kinh tế-xã hội. Việc nâng cao đời sống cho nhân dân là rất cần thiết, trong đó vấn đề vệ sinh môi trường cũng đóng vai trò quan trọng, vì bệnh lây chủ yếu theo đường phân-miệng.

– Ngyên tắc phòng bệnh đặc hiệu: phòng bệnh có hiệu quả và lý tưởng nhất là dùng vacxin. Hiện nay, vacxin phòng bệnh viêm loét dạ dày-tá tràng đang được nghiên cứu.

5.2. Nguyên tắc điều trị

Điều trị nội khoa bệnh viêm loét dạ dày-tá tràng nhằm giải quyết hậu quả do độc tố của *H. pylori* gây ra là viêm loét và tăng tiết dịch vị; đồng thời, dùng kháng sinh để tiêu diệt căn nguyên vi khuẩn *H. pylori.* Nên dùng bismuth subsalicylat, chất đối kháng thụ thể H_2 với histamin. Về kháng sinh, nên dùng hai loại phối hợp thì hiệu quả tác dụng tốt hơn là chỉ dùng một loại.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày đặc điểm sinh học và cơ chế gây bệnh của vi khuẩn HP?
2. Trình bày độc tố, tính kháng nguyên của vi khuẩn HP?
3. Kể tên các phương pháp chẩn đoán vi sinh đối với vi khuẩn HP? Nguyên tắc phòng và điều trị bệnh viêm loét dạ dày tá tràng do vi khuẩn HP gây ra?

CAMPYLOBACTER

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm vi khuẩn học chủ yếu của* Campylobacter.
2. *Trình bày được khả năng gây bệnh, chẩn đoán vi khuẩn học, nguyên tắc phòng và điều trị bệnh do* Campylobacter *gây ra.*

Campylobacter thuộc họ *Campylobacteriaceae*. Hai loài gây bệnh quan trọng cho người là *Campylobacter jejuni* và *Campylobacter intestinalis* (*C. fetus*). Việt Nam, theo một số công trình nghiên cứu *Campylobacter jejuni* có vai trò gây tiêu chảy rất lớn, .chiếm khoảng 10% tổng số các loại vi sinh vật gây tiêu chảy, bằng tổng tỷ lệ gây tiêu chảy của của Salmonella và Shigella

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC HỌC

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Campylobacter là những trực khuẩn Gram âm, mảnh, hình cong (dấu phẩy, chữ S hoặc cánh chim). Không có nha bào, có một lông ở một đầu, di động như vặn nút chai.



Hình 62. *Campylobacter* spp. dưới kính hiển vi quang học

1.2. Nuôi cấy: thích hợp với môi trường vi hiếu khí (5% O_2, 10% CO_2, 85% N_2). Nhiệt độ phát triển tối ưu rất thay đổi, nhưng các loài đều phát triển được ở 37°C. *C. jejuni* thích hợp với nhiệt độ 42°C, nhưng không mọc được ở 25°C; ngược lại, *C. intestinalis* không phát triển ở 42°C nhưng mọc được ở 25°C.

Khuẩn lạc trên môi trường thạch máu có màu trắng, xám, bóng, ướt và không tan máu. Thời gian mọc thành khuẩn lạc thường là 48 -72 giờ.

1.3. Tính chất sinh vật hóa học

Oxidase (+), catalase (+), ure (-), indol (-), H_2S (-).

1.4. Đề kháng: không có khả năng đề kháng đặc biệt. Với kháng sinh: nhậy cảm với nalidixic acid và kháng tự nhiên với cephalotin.

1.5. Kháng nguyên: các *Campylobacter* có hai loại kháng nguyên:

- Kháng nguyên thân O là LPS, *Campylobacter* được chia ra 90 týp huyết thanh.
- Kháng nguyên lông H, *Campylobacter* được chia ra 112 týp huyết thanh.

Định týp huyết thanh cần thiết cho điều tra dịch tễ học.

2. KHẢ NĂNG VÀ CƠ CHẾ GÂY BỆNH

Campylobacter có thể gây tiêu chảy và nhiễm khuẩn huyết, nhưng quan trọng là tiêu chảy.

- Tiêu chảy ở trẻ nhỏ do viêm đại tràng, căn nguyên thường gặp là *C. jejuni*. Tại các nước đang phát triển, tỷ lệ tiêu chảy do *Campylobacter* thường chiếm từ 5-45% và tỷ lệ nhiễm đến 90%; còn ở các nước phát triển tỷ lệ này thấp hơn (Mỹ 4,6%). Tại Hà Nội theo một số điều tra của bộ môn Vi sinh Trường đại học Y Hà Nội tỷ lệ này là 6%-10% trẻ em bị tiêu chảy, lớn hơn nhiều tỷ lệ tiêu chảy do *Shigella* và *Salmonella* (1-2%). Tiêu chảy do *C. jejuni* gặp nhiều ở lứa tuổi 12-24 tháng sau sinh.
- Nhiễm khuẩn huyết có thể gặp ở trẻ đẻ non và người lớn suy giảm đề kháng, do *C. intestinalis*, nhưng rất hiếm.
- Cơ chế gây bệnh gây tiêu chảy:

Hiện nay chưa hoàn toàn rõ, nhưng dựa vào tính chất phân tiêu chảy, có thể cho rằng nó do hai loại yếu tố:

+ Độc tố ruột như ở vi khuẩn tả, vì nhiều trường hợp phân hoàn toàn nước.
+ Yếu tố xâm nhập, như ở vi khuẩn lỵ, vì một số trường hợp phân có máu.

3. MIỄN DỊCH

Trẻ em có miễn dịch với *C. jejuni* trong các năm đầu cuộc đời, sau đó IgG giảm dần và IgA tăng lên do bị nhiễm liên tục trong cả cuộc đời.

4. DỊCH TỄ HỌC

Các động vật nuôi trong gia đình (chó, mèo, gà, trâu bò) là ổ chứa *Campylobacter* và từ đó lây lan sang người. Có đường lây giữa người với người qua đường phân miệng, đặc biệt ở trẻ nhỏ. *Campylobacter* có thể gây bệnh cho các gia súc non.

5. CHẨN ĐOÁN VI KHUẨN HỌC

- Tiêu chảy: bệnh phẩm là phân, nuôi cấy trên môi trường thạch máu có cephalotin (để ức chế các vi khuẩn khác trong ruột). Để ở điều kiện vi hiếu khí và 42°C. Xác định *C. jejuni* bằng các tính chất sinh vật hóa học và nhậy cảm nalidixic acid. Phân biệt với *C. intestinalis* là *C. jejuni* không mọc ở 25°C.
- Nhiễm khuẩn huyết: bằng cách cấy máu, xác định *C. intestinalis* bởi hình thể, di động, tính chất sinh vật hóa học và phân biệt với *C. jejuni* bằng khả năng mọc ở 25°C.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

- Phòng bệnh: chưa có vacxin, cách phòng bệnh tốt nhất là xử lý tốt phân, nước, rác.
- Điều trị: erythromycin thường được chọn cho điều trị tiêu chảy do *C. jejuni*.
- Điều trị nhiễm khuẩn huyết do *C. intestinalis* thường dùng aminoglycosid.
- Theo một nghiên cứu của bộ môn Vi sinh Đại học Y Hà Nội, *C. jejuni* còn nhạy cảm 100% với gentamicin và nhậy 80% với erythromycin.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Các đặc điểm hình thể, nuôi cấy và kháng nguyên của Campylobacter?
2. Khả năng và cơ chế gây bệnh của Campylobacter?
3. Chẩn đoán vi khuẩn học, phòng bệnh và điều trị bệnh do Campylobacter?

TRỰC KHUẨN BẠCH HẦU

(Corynebacterium diphtheriae)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm cơ bản để xác định vi khuẩn bạch hầu.*
2. *Trình bày được khả năng và cơ chế gây bệnh của vi khuẩn bạch hầu.*
3. *Trình bày được các các nguyên tắc phòng và chữa bệnh bạch hầu.*

Năm 1826, Bretonnean đã mô tả bệnh cảnh lâm sàng của bệnh bạch hầu. Năm 1883, Klebs đã quan sát và mô tả trực khuẩn bạch hầu (TKBH). Một năm sau đó, Loffler đã phân lập được TKBH và đưa ra các bằng chứng về vai trò bệnh nguyên, do vậy TKBH còn mang tên là vi khuẩn Klebs-Loffler.

Một số loài *Corynebacterium* gây bệnh cho động vật, điển hình là *C. ulceran* gây bệnh cho ngựa, ngoại độc tố của trực khuẩn này gần như ngoại độc tố của TKBH. Trên da và lỗ mũi người có một số loại *Corynebacterium* không gây bệnh, đó là *C. hoffmannii* (*C. pseudodiphtherium*) và *C. xerosis*. TKBH gây bệnh nguy hiểm cho người, chủ yếu là trẻ em. Đó là bệnh nhiễm trùng, nhiễm độc rất cấp tính và gây thành dịch.

Việt Nam vào thời gian 1980-1995 đã có dịch bạch hầu trong cả nước, đã cướp đi nhiều sinh mạng trẻ em và gây nhiều khó khăn cho xã hội. Các năm sau đó vẫn có các trường hợp bị bệnh bạch hầu tản phát.

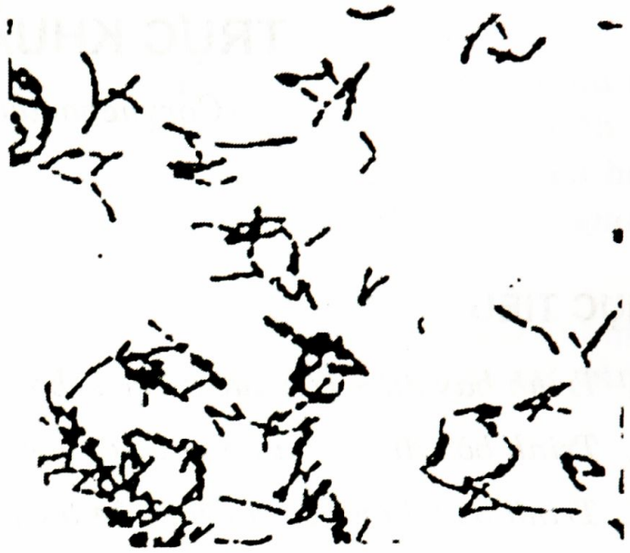
1. TÍNH CHẤT SINH HỌC

1.1. Hình thể

TKBH có hình dạng giống các *Corynebacterium* khác. Kích thước của chúng khoảng 0,5-1 x 2-8 μm, Gram dương; luôn có hạt nhiễm sắc, đó là các không bào chứa polime của polyphosphoric. Trên môi trường nuôi cấy, TKBH thường đa hình thái (hình chuỳ, hình vợt). Khi nhuộm trực tiếp từ bệnh phẩm, TKBH thường có hạt nhiễm sắc và đứng thành từng đám như chữ nho (Hình 66).

1.2. Nuôi cấy

TKBH thuộc loại khó nuôi cấy. Chúng phát triển tốt trên môi trường có máu hoặc huyết thanh. Trên môi trường huyết thanh đông (Loffler), TKBH phát triển rất nhanh, tạo nên khuẩn lạc xám và dẹt. Hiện nay người ta thay môi trường này bằng môi trường trứng, TKBH mọc sau nuôi cấy qua đêm, nhưng không rõ khuẩn lạc. Môi trường trứng kinh tế và dễ sản xuất hơn. Trên môi trường thạch máu có tellurit kali (môi trường Schroer), TKBH tạo thành khuẩn lạc màu đen sau cấy 48 giờ. Tellurit kali đã ức chế các vi khuẩn khác mà chủ yếu là liên cầu, một vi khuẩn có nhiều trong họng miệng nhưng ít ức chế TKBH.



C.diphtheria intermedius

Hình 63. Hình thể trực khuẩn bạch hầu

1.3. Tính chất sinh vật hóa học

Dựa trên tính chất sinh vật hóa học để phân biệt TKBH và giả bạch hầu:

	Ure	Glucose	Maltose	Lactose
TKBH	-	+	+	-
Giả TKBH	+	-	-	-

1.4. Tính chất sinh vật hóa học

TKBH có 2 loại kháng nguyên là kháng nguyên thân (0) và kháng nguyên bề mặt (K). Có thể dựa trên 2 kháng nguyên này để định týp TKBH. Nhưng giữa kháng nguyên này và độc lực của TKBH không có sự liên quan. Vì thế người ta không định loại vi khuẩn theo kháng nguyên.

1.5. Týp sinh học (biotype)

Bảng tính chất sinh học của ba týp sinh học trực khuẩn bạch hầu

	Gravis	Mitis	Intermedius
Hình thể (trực khuẩn)	Ngắn	Dài	Trung bình
Khuẩn lạc	R	S	Trung gian
Thuỷ phân tinh bột	Có	Không	Không

Giữa các TKBH độc lực không có sự khác nhau về kháng nguyên nhưng có sự khác nhau về một số đặc điểm sinh học, trên cơ sở này TKBH được phân thành 3 týp sinh học là: *gravis, mitis* và *intermedius.*

Giữa 3 týp sinh học này cũng có sự khác nhau về khả năng gây bệnh. *Gravis* thường gây dịch bạch hầu lớn, còn mitis thường gây dịch bạch hầu tản phát, nhưng tồn tại dai dẳng. Dịch bạch hầu ở nước ta trong mấy năm gần đây là do týp *mitis*. Nhưng giữa 3 týp không khác nhau về ngoại độc tố.

1.6. Đề kháng

TKBH thuộc loại vi khuẩn có khả năng đề kháng khá tốt. Chúng ít nhậy cảm với ánh sáng và nhiệt độ. Chúng đề kháng với sulfamid, nhưng nhậy cảm với penicillin và kháng sinh có hoạt phổ rộng. TKBH có thể tồn tại ở đồ chơi và quần áo từ một đến vài tuần.

2. CƠ CHẾ GÂY BỆNH

Đường xâm nhập: TKBH lây lan theo đường thở và xâm nhập vào cơ thể bằng các giọt nước bọt, có thể qua đồ chơi của trẻ em.

Nơi cư trú: TKBH thường ký sinh ở phần trên của đường hô hấp, mà thường gặp nhất là vùng hầu họng. Chúng tạo nên các màng giả ở đây.

Ở một số nước trên thế giới, TKBH có thể xâm nhập vào niêm mạc mắt, âm đạo và da (nơi bị tổn thương) và tạo nên màng giả bạch hầu.

- Tính chất màng giả bạch hầu: màu trắng xám, dai, khó bóc và khi bóc hay chảy máu. Màng giả được tạo thành do fibrin và tế bào viêm. TKBH sống ở đây và tiết ra ngoại độc tố, ngoại độc tố thấm vào máu và tác động tới toàn thân. Màng giả bạch hầu có thể lan xuống thanh khí quản gây bít tắc hô hấp.
- Ngoại độc tố bạch hầu: là những glycopotein, trọng lượng phân tử 60.000 dalton. Nó gồm 2 phần: phần B (binding) bám vào màng tế bào cảm thụ, giúp phần tử A (active, mang hoạt tính enzym) chui vào tế bào ngăn cản sự sinh tổng hợp protein của tế bào, gây nên nhiễm độc toàn thân. Phần A đã ngăn cản giải phóng các ARN vận chuyển, sau khi nó đã đưa các acid amin đến các polyribosom, nên sự tổng hợp protein bị ngăn cản.
- Ngoại độc tố bạch hầu do gen của β prophage tích hợp vào nhiễm sắc thể TKBH.
- Các cơ quan bị tổn thương nặng do ngoại độc tố bạch hầu là tim (nên thường gây biến chứng tim và người bệnh chết), thần kinh ngoại biên (nên có biến chứng liệt), tuyến thượng thận và gan.
- Năm 1888, Roux và Yersin đã tìm ra ngoại độc tố của TKBH và chứng minh được vai trò bệnh sinh của nó. Năm 1923, G. Ramon đã bào chế

thành công giải độc tố (toxoid) từ ngoại độc tố xử lý bằng 0,5% formalin ở 37°C. Giải độc tố không còn khả năng gây bệnh, nhưng còn tính kháng nguyên của ngoại độc tố và được dùng như một vacxin phòng bệnh bạch hầu rất có hiệu quả. Cho đến nay cả thế giới đều dùng vacxin này.

3. MIỄN DỊCH

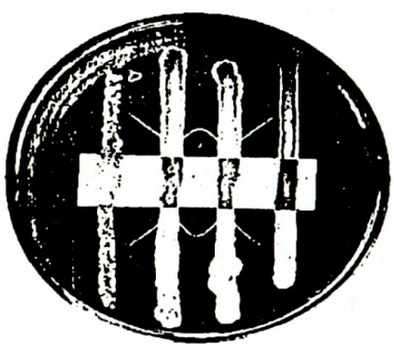
- Sau khi nhiễm TKBH hoặc sau dùng vacxin bạch hầu, người ta có được miễn dịch bảo vệ. Đó là những kháng thể trung hòa độc tố. Nó vô hiệu hóa ngoại độc tố, nhưng không ngăn cản được người lành mang vi khuẩn. Do vậy nếu lơ là việc tiêm phòng vacxin bạch hầu là dễ dàng xảy ra dịch bệnh.
- Phản ứng Schick: để phát hiện sự miễn dịch này (sự mẫn cảm với TKBH) người ta thường dùng phản ứng Schick là phản ứng trung hòa trong da. Tiêm 0,1 ml độc tố bạch hầu (có 1/50 MLD) vào trong da cẳng tay. Phía tay đối diện ta tiêm như trên, nhưng ngoại độc tố đã được hủy bằng nhiệt độ. Sau tiêm 5 ngày nếu tại nơi tiêm có quầng tím đỏ với đường kính từ 1 cm trở lên là phản ứng dương tính. Còn đường kính bé hơn, hoặc không có quầng đỏ là âm tính. Dương tính chứng tỏ cơ thể chưa có miễn dịch với TKBH và âm tính là ngược lại. Nói cách khác âm tính là cơ thể đã có miễn dịch bảo vệ với TKBH. Phản ứng này được dùng để đánh giá tình trạng miễn dịch BH ở trong cộng đồng sau khi dùng vacxin.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

Bạch hầu là bệnh nguy hiểm và cấp tính nên cần chẩn đoán nhanh.

- Bệnh phẩm: là màng giả bạch hầu, hoặc ngoáy họng bằng tăm bông vô trùng khi người bệnh có biểu hiện nhiễm trùng, nhiễm độc.
- Nhuộm trực tiếp: thường nhuộm 2 tiêu bản, 1 xanh methylen kiềm (hoặc Albert hay Neisser) để xem hạt nhiễm sắc của TKBH. Xanh methylen kiềm là phương pháp nhuộm đơn giản và kinh tế hơn nhuộm Albert hay Neisser. Một tiêu bản nhuộm Gram để xem các vi khuẩn khác. Nếu thấy trực khuẩn hình chùy có hạt nhiễm sắc thì rất có ý nghĩa với chẩn đoán bạch hầu.

Chú ý: những dấu hiệu để chẩn đoán sớm BH: người bệnh có biểu hiện nhiễm trùng, nhiễm độc, có màng giả và nhuộm thấy hình thể TKBH.



Hình 64. Phản ứng Elek xác định ngoại độc tố TKBH

Trong 4 đường cấy vi khuẩn, có 2 đường giữa là hai chủng C. diphtheriae có ngoại độc tố: xuất hiện các đường tủa trắng giữa miếng giấy tẩm SAD (nằm ngang) và đường cấy vi khuẩn (thẳng đứng)

- Nuôi cấy: thường cấy trên môi trường trứng và Schroer. Trên môi trường trứng TKBH mọc sau 18 giờ, nhưng không tạo thành khuẩn lạc. Để xác định TKBH người ta phải nhuộm mù 3 điểm trên bề mặt môi trường. Còn môi trường Schroer là môi trường chọn lọc, nên việc nhận biết khuẩn lạc TKBH dễ hơn. Đó là những khuẩn lạc có màu đen và dạng S (nếu là *C. mitis*) hoặc dạng R (nếu là *C. gravis*).
- Sinh vật hóa học: *(xem mục 3)*
- Xác định độc tố: để khẳng định TKBH độc lực cần xác định được ngoại độc tố của chúng bằng phản ứng Elek (Hình 67) hoặc phản ứng trung hòa trong da thỏ hay chuột lang. Xác định ngoại độc tố rất cần thiết ở trường hợp dịch tản phát hoặc ngoài dịch bạch hầu.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Tiêu chuẩn xác định vi khuẩn bạch hầu gây bệnh?
2. Cơ chế gây bệnh của vi khuẩn bạch hầu?
3. Trình bày nguyên tắc phòng và chữa bệnh bạch hầu?
4. Vì sao bệnh bạch hầu thường xảy ra ở trẻ em và là một bệnh rất nặng?
5. Các bước trong chẩn đoán trực tiếp vi khuẩn bạch hầu? Vì sao không áp dụng phương pháp chẩn đoán huyết thanh học vi khuẩn bạch hầu?

   Các biotyp vi khuẩn bạch hầu có ý nghĩa gì?

MYCOBACTERIUM

MỤC TIÊU

1. *Trình bày các đặc điểm của vi khuẩn kháng cồn và acid.*
2. *Phân loại các vi khuẩn kháng cồn và acid.*
3. *Trình bày khả năng, các yếu tố gây bệnh và các đặc điểm của bệnh lao và phong.*
4. *Giải thích các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật các bệnh lao và phong.*
5. *Viết được nguyên tắc phòng và điều trị các bệnh lao và phong.*

Các *Mycobacterium* bao gồm những trực khuẩn kháng cồn, kháng acid. Vì thế chúng được gọi là các vi khuẩn kháng cồn kháng toan. Chúng có thể tồn tại trong môi trường có nồng độ cồn và acid nhất định. Chúng không bị mất màu khi tẩy bằng cồn và acid loãng ở tiêu bản nhuộm Ziehl - Neelsen.

Các trực khuẩn thuộc tộc này phần lớn là không gây bệnh (*M. apathogens*) và sống trong tự nhiên. Có hai loại vi khuẩn gây bệnh là trực khuẩn lao và trực khuẩn phong (hủi). Ngoài hai loại này ra, một số *Mycobacterium* không điển hình (atypical *Mycobacterium*) cũng có gây bệnh, nhưng rất hiếm gặp.

Trực khuẩn lao được Robert Koch xác định năm 1882 và Ông cũng là người phát hiện ra hiện tượng dị ứng lao năm 1890. Nhưng đến hiện nay bệnh lao vẫn là một vấn đề nổi cộm của y tế toàn cầu, đặc biệt là các nước đang phát triển. Theo Tổ chức Y tế Thế giới công bố năm 2000: trên toàn cầu có 1,9 tỷ người nhiễm vi khuẩn lao (1/3 dân số Thế giới), hàng năm có 8-9 triệu người mắc lao mới và 3 triệu người chết do lao. Dự đoán đến 2005 sẽ có 11,9 triệu người mắc lao mới và tử vong do lao chiếm 25% tổng số chết do mọi nguyên nhân, 98% số này ở các nước đang phát triển.

Việt Nam là nước có tỷ lệ lao trung bình ở Khu vực Châu Á-Thái Bình Dương. Hàng năm có 145.000 người nhiễm lao mới và tử vong khoảng 20.000 người.

Hiện nay, điều đáng quan tâm là trong số những bệnh nhân AIDS, có khoảng 1/2 là có biểu hiện bệnh lao. Vì khả năng đề kháng của cơ thể họ bị suy giảm nên bệnh lao dễ xuất hiện.

TRỰC KHUẨN LAO

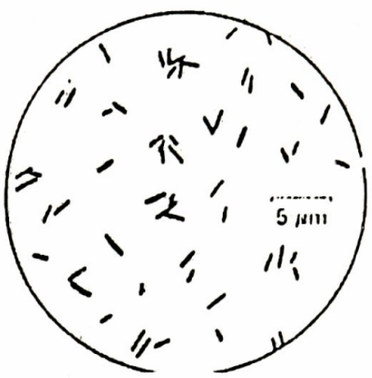
(Mycobacterium tuberculosis)

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể

Vi khuẩn lao là những trực khuẩn mảnh, kích thước khoảng 0,5 x 2-5 µm. Chúng không có vỏ, không có lông và không có nha bào. Trong bệnh phẩm, trực khuẩn lao thường đứng thành từng đám nối đầu vào nhau. Nhuộm Zielh-Neelsen, vi khuẩn có màu đỏ (Hình 67).

Nuôi cấy: trực khuẩn lao thuộc loại hiếu khí. Chúng phát triển rất chậm, thường 1-2 tháng mới tạo được khuẩn lạc trên môi trường. Trên môi trường đặc Loeweinstein (gồm chủ yếu khoai tây, huyết thanh và asparagin), trực khuẩn lao mọc thành khuẩn lạc dạng R. Trong môi trường lỏng Sauton (là môi trường tổng hợp), trực khuẩn lao mọc thành váng và lắng cặn.



Hình 65. Mycobacterium tuberculosis

1.2. Phân loại

Gây bệnh lao cho người gồm có *M. tuberculosis* (trực khuẩn lao người), *M. bovis* (trực khuẩn lao bò) và *M. avium* (trực khuẩn lao chim). Chúng được phân biệt với nhau bằng các tính chất sau:

Tính chất / Loài *Mycobacterium*	Màu khuẩn lạc	Nhiệt độ thích hợp (^{0}C)	Thời gian mọc	Gây bệnh cho chuột lang	Gây bệnh cho người
M. tuberculosis	Vàng	37	30 ngày	++	++
M. bovis	Trắng	37	30 ngày	+	+
M. avium	Hồng	40	10 ngày	-	+
M. apathogens	Trắng	20	2-3 ngày	-	-

1.3. Sự đề kháng

Trực khuẩn lao thuộc loại có khả năng đề kháng tương đối cao với các yếu tố lý hóa, so với các vi khuẩn không nha bào khác.

Trong đờm ẩm, chúng có thể sống được một tháng, trong sữa chúng có thể sống được nhiều tuần. Với kháng sinh và hóa trị liệu, trực khuẩn lao ngày càng kháng lại streptomycin, ethambutol, INH, rifampicin. Vi khuẩn lao kháng thuốc ban đầu đang là vấn đề nổi cộm. Việt Nam là nước có tỷ lệ vi khuẩn lao kháng thuốc ban đầu cao thứ 4 trên thế giới (theo WHO 1997).

2. CƠ CHẾ GÂY BỆNH

- Trực khuẩn lao thường xâm nhập theo đường thở qua các giọt nước bọt và gây nên lao phổi (90% tổng số lao). Chúng vẫn có thể xâm nhập vào đường tiêu hóa (qua sữa bò tươi) và gây nên lao dạ dày, ruột. Lao hạch gặp nhiều thứ 2 sau lao phổi.
- Nhiễm vi khuẩn lao lần đầu gọi là lao sơ nhiễm. Khoảng 90% lao sơ nhiễm sẽ qua khỏi và để lại miễn dịch với vi khuẩn lao. Từ 5-15% lao sơ nhiễm phát triển thành lao bệnh, do không được điều trị và khả năng đề kháng suy giảm, hoặc sau khi bị lao sơ nhiễm một số năm họ bị bệnh lao.
- Từ các cơ quan bị lao ban đầu (phổi, đường ruột...), trực khuẩn lao theo đường máu và bạch huyết đến tất cả các cơ quan và gây lao ở các bộ phận khác nhau của cơ thể (lao hạch, lao màng não, lao thận, lao xương...).

Cơ chế bệnh sinh của bệnh lao hiện nay chưa rõ hoàn toàn. Vi khuẩn này không có nội và ngoại độc tố. Người ta chưa xác định được yếu tố độc lực của trực khuẩn lao. Nhưng có lẽ nó là một tập hợp của nhiều yếu tố, trong đó yếu tố sợi (cord factor) và lớp sáp ở vách tế bào trực khuẩn có ý nghĩa rất quan trọng. Các chủng vi khuẩn lao độc lực có chứa đựng nhiều yếu tố sợi mà bản chất hóa học là 6,6'-dimycolyl trehalose. Yếu tố sợi này làm cho vi khuẩn lao gắn với nhau thành bó sợi. Khi làm mất cord factor vi khuẩn lao giảm độc lực.

3. MIỄN DỊCH

Sau khi khỏi bệnh lao, người bệnh có cả miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào. Nhưng kháng thể không có vai trò bảo vệ. Trực khuẩn lao sau khi đã bị kết hợp bởi kháng thể và bị bắt bởi đại thực bào, vẫn không bị tiêu hóa. Chúng chỉ bị tiêu hóa sau khi đại thực bào đã được hoạt hóa bởi các lymphokin. Như vậy trong bệnh lao, miễn dịch tế bào đóng vai trò bảo vệ. Lần đầu tiên người ta đã phát hiện ra miễn dịch tế bào từ những chuột lang được gây nhiễm bằng trực khuẩn lao. Mặc dù hiện tượng *Koch* đã được phát hiện từ 1886 - hiện tượng dị ứng lao - nhưng lúc đó chưa ai chứng minh được miễn dịch tế bào. Đến năm 1942, *Lansteiner* và cộng sự mới chứng minh được miễn dịch bảo vệ trong bệnh lao không phải là kháng thể mà là các tế bào bạch cầu (chủ yếu là

các tế bào lympho T). Từ đó cụm từ *miễn dịch qua trung gian tế bào* mới được biết đến.

Phản ứng tuberculin: là một loại test nội bì để đánh giá miễn dịch lao. Bản chất của nó là một phản ứng quá mẫn muộn. Nước ta và nhiều nước khác thường dùng phản ứng *Mantoux* để đánh giá miễn dịch lao. Trong phản ứng này, kháng nguyên là tuberculin đã được tinh chế và chuẩn hóa. Tuberculin là một sản phẩm chuyển hóa của vi khuẩn lao. *Mantoux* dương tính là cơ thể có miễn dịch đối với lao, còn âm tính là ngược lại. Phản ứng này chỉ dùng để chẩn đoán lao ở trẻ em và là một test tham khảo khi chẩn đoán lao ở người lớn. Phản ứng *Mantoux* còn được dùng để đánh giá miễn dịch sau tiêm vacxin BCG và miễn dịch tế bào.

Tiêm 5 đơn vị tuberculin tinh chế (5 IU PPD/ 0,1 ml tuberculin) trong 0,1 ml tuberculin vào trong da mặt ngoài trước cẳng tay. Ba ngày sau tiêm, đọc kết quả. Nếu tại nơi tiêm xuất hiện một dát đỏ (nổi cục đỏ) đường kính từ 1 cm trở lên là phản ứng dương tính, tức là cơ thể đã có miễn dịch với vi khuẩn lao. Còn đường kính bé hơn là phản ứng âm tính, cơ thể chưa có hoặc chưa đầy đủ miễn dịch với vi khuẩn lao. Có những người bị bệnh lao nhưng cơ thể suy giảm miễn dịch thì phản ứng này cũng âm tính, đang bị bệnh lao rất nặng và cơ thể đã bị suy kiệt phản ứng cũng âm tính.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Do các trực khuẩn lao có nhiều kháng nguyên chéo với các *Mycobacterium* khác, nên đến hiện nay người ta không chẩn đoán huyết thanh bệnh lao. Nhưng gần đây, kháng nguyên A60 của *M. bovis* đã được dùng trong kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể lao. Chẩn đoán vi sinh vật bệnh lao bằng cách nhuộm, nuôi cấy và PCR.

- Bệnh phẩm: là đờm nếu nghi lao phổi, nước não tuỷ nếu nghi lao màng não, nước tiểu nếu nghi lao thận.
- Nhuộm trực tiếp bệnh phẩm: Ziehl-Neelsen là phương pháp nhuộm đặc hiệu *Mycobacterium*. Nếu thấy một số trực khuẩn bắt màu đỏ và hơi mảnh, thường đứng nối đầu vào nhau là BK dương tính (BK: Bacilli de Koch). Kết quả này chỉ nói là có *Mycobacterium* trong bệnh phẩm, nhưng chưa chắc là trực khuẩn lao. Do vậy hiện nay người ta thay cho chữ BK bằng chữ AFB (Acid Fast Bacilli) để chính xác hơn. Nếu thấy từ 10 - 99 vi khuẩn (AFB) trên 100 vi trường là dương tính. Trong thực tế, dựa vào số lượng trực khuẩn này trên tiêu bản, cùng với các dấu hiệu lâm sàng và X quang đã có thể khẳng định chẩn đoán. Với đờm, người ta có thể dùng phương pháp thuần nhất cho kết quả cao hơn.
- Nuôi cấy: bệnh phẩm được xử lý và nuôi cấy trên môi trường Sauton hoặc Loeweinstein hay cả hai, cho kết quả chính xác hơn, nhưng rất chậm; hiện nay người ta đang nghiên cứu để tạo ra môi trường mới mà trực khuẩn lao phát triển nhanh hơn.

– Tiêm truyền chuột lang: đây là phương pháp hiện nay ít dùng vì độ nhậy thấp.

Hiện nay một số kỹ thuật mới đã được áp dụng vào chẩn đoán bệnh lao, trong đó có:

Kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) còn gọi là kỹ thuật khuếch đại chuỗi gen. Kết quả chẩn đoán nhanh (khoảng 48 giờ) và chính xác, rất tốt cho chẩn đoán lao ngoài phổi.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh

Quan trọng nhất là tiêm vacxin BCG (*Bacillus Calmette Guerin*). Calmette và Guerin đã nuôi cấy trực khuẩn lao bò rất nhiều lần trên môi trường có mật bò, làm cho trực khuẩn này mất khả năng gây bệnh, nhưng vẫn còn sống và gây được miễn dịch tốt. Hiện nay cả thế giới đều dùng vacxin này. Chúng ta hiện dùng tiêm cho trẻ em trong chương trình tiêm chủng mở rộng. Với thiếu niên và người trưởng thành chỉ dùng vacxin này khi Mantoux âm tính.

5.2. Điều trị

Do trực khuẩn lao ngày càng kháng lại kháng sinh, nên người ta thường điều trị kết hợp giữa kháng sinh và hóa trị liệu. Trong những năm 80 của thế kỷ 20, WHO đã đưa ra phác đồ điều trị ngắn ngày có giám sát, gọi tắt là DOTS (Directly Observed Treatment Short-Course), kết hợp 5 loại thuốc theo công thức 2SHRZ/6HE* với bệnh lao mới.

*Viết tắt: S, Streptomycin; H, Isonazid; R, Rifampicin; Z, Pyrazinamid; E, Ethambutol.

TRỰC KHUẨN PHONG

(Mycobacterium leprae)

Trực khuẩn này được Hansen phát hiện năm 1874 ở Novergia.

Bệnh phong trước đây gặp khắp thế giới, nhưng hiện nay chỉ còn ở vùng nhiệt đới và ôn đới, nơi có điều kiện sống thấp. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (12/2003), trên toàn cầu có 534.311 bệnh nhân phong đang điều trị đa hóa trị liệu và bệnh nhân mới là 620.672. Đông Nam Á là khu vực có bệnh nhân phong cao nhất.

Việt Nam, theo báo cáo của Viện Da liễu Trung ương (12/2003): bệnh nhân phong đã được điều trị là 570.412 và bệnh nhân phong mới phát hiện là 45.799. Tỷ lệ bệnh phong lưu hành giảm từ 6,78/10.000 xuống 0,15/10.000 dân năm 2003.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể và bắt màu

Trực khuẩn phong có hình dạng như trực khuẩn lao, nhưng mập hơn và kháng cồn kháng acid ít hơn (Hình 69).

1.2. Nuôi cấy

Trực khuẩn phong chưa nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Khi tiêm truyền vào chuột hamster, trực khuẩn phong sinh sản nhanh tại chỗ tiêm. Nhờ vậy người ta có thể giữ được chủng phong để nghiên cứu.



Hình 66. *Mycobacterium leprae* dưới kính hiển vi quang học
(Nhuộm Ziehl-Neelsen từ tổn thương da)

2. GÂY BỆNH

Trực khuẩn phong gây bệnh tự nhiên cho người. Chúng xâm nhập chủ yếu qua đường da, nhưng có thể đi qua đường niêm mạc. Thời gian ủ bệnh rất dài (thường 2-3 năm, có trường hợp tới 40 năm).

Bệnh phong có ba thể lâm sàng: phong củ (nhẹ nhất), phong ác tính (nặng nhất) và phong bất định (thể trung gian).

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

Người ta có thể dùng phương pháp huyết thanh học. Nhưng thường dùng nhất là lấy bệnh phẩm để nhuộm Ziehl-Neelsen.

3.1. Nhuộm Ziehl-Neelsen soi trực tiếp

Bệnh phẩm: thường dùng là tăm bông ngoáy lỗ mũi, nhưng cũng có thể sinh thiết củ phong. Trong tiêu bản ngoáy mũi, thường thấy trực khuẩn phong đứng thành từng đám như bó củi. Trong thể phong ác tính, trực khuẩn phong còn có trong máu, nước tiểu và niêm mạc hầu họng.

Trong thể phong ác tính còn tìm thấy vi khuẩn phong trong máu, nước tiểu và niêm mạc hầu họng. Tỷ lệ phát hiện bằng nhuộm soi trực tiếp khoảng 50%. Tỷ lệ này phụ thuộc vào số lượng vi khuẩn có trong bệnh phẩm.

3.2. Chẩn đoán mô bệnh học, tỷ lệ phát hiện cao hơn nhuộm trực tiếp, nhưng không phân biệt được vi khuẩn phong sống hay đã chết

3.3. Một số kỹ thuật mới

Gần đây một số kỹ thuật hiên đại đã được dùng trong chẩn đoán bệnh phong:

- Chẩn đoán huyết thanh bằng ELISA hoặc bằng ngưng kết hạt. Dùng kháng nguyên PGL-1 (phenolic glycolipid-1) để phát hiện bệnh phong cộng đồng.
- Dùng PCR phát hiện gen của vi khuẩn phong, độ nhậy và độ đặc hiệu cao, nhưng không phân biệt được vi khuẩn sống hay đã chết.

4. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂY LAN CỦA BỆNH PHONG

Bệnh phong là bệnh lây nhiễm, nhưng tỷ lệ lây rất thấp (do thời gian phân bào khá dài 12-13 ngày/ thế hệ và phụ thuộc:

- Số lượng vi khuẩn phải đủ lớn mới gây nhiễm .
- Người bị nhiễm thường bị suy giảm miễn dịch.
- Vi khuẩn phong xâm nhập vào đường da và niêm mạc bị tổn thương.
- Có thể cắt nguồn lây bằng điều trị ĐS hoặc rifampicin.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh

Với phong ác tính cần cách ly. Có thể điều trị bệnh nhân hủi tại gia đình hoặc trong các trại điều dưỡng phong. Trước đây nhân dân ta thường có quan niệm không đúng và cô lập các bệnh nhân phong.

5.2. Điều trị

Bệnh nhân phong có thể hoàn toàn điều trị được. Có nhiều thuốc điều trị hủi, nhưng công hiệu nhất là DDS (diamino-diphenyl-sulfon).

6. MIỄN DỊCH

Giống như lao, miễn dịch bảo vệ trong bệnh phong là miễn dịch tế bào.

Phản ứng Mitsuda: Test này dùng để đánh giá và tiên lượng bệnh phong. Bản chất và cách tiến hành giống như phản ứng Mantoux. Kháng nguyên là nước nghiền củ phong. Mitsuda dương tính ở thể phong củ và âm tính ở thể phong ác tính, ở thể bất định có thể dương hoặc âm tính.

CÁC MYCOBACTERIUM KHÔNG ĐIỂN HÌNH

(Atypical Mycobacterium)

Một số loài *Mycobacterium* có những đặc điểm không điển hình, chúng khác với *M. tuberculosis* về một số phương diện. Ví dụ, các *Mycobacterium* không điển hình phân bố rộng rãi trong môi trường và không gây bệnh cho chuột lang, còn *M. tuberculosis* chỉ thấy ở cơ thể con người và có độc lực với chuột lang.

Các *Mycobacterium* không điển hình được chia thành 4 nhóm dựa trên thời gian phát triển ở môi trường và tạo thành sắc tố trong tối hoặc sáng.

Bảng phân loại *Mycobacterium* không điển hình của Runyon:

Nhóm	Tốc độ phát triển	Sinh sắc tố trong		Loài tiêu biểu
		Tối	Sáng	
I	Chậm	-	+	M. kansasii, M. marium
II	Chậm	+	±	M. scrofulaceum
III	Chậm	-	-	M. avium, M. intracellulare
IV	Nhanh	-	-	M. fortuitum, M. chelonae

Nhóm I: sinh sắc tố ngoài ánh sáng (Photochromogens)

Tạo nên sắc tố màu vàng cam trong ánh sáng. *M. kansasii* gây bệnh phổi giống với lao phổi về lâm sàng. Kháng nguyên của chúng rất giống với *M. tuberculosis* và do vậy bệnh nhân thường có phản ứng tuberculin dương tính. Người ta chưa rõ sự cư trú của chúng trong thiên nhiên, nhưng chúng gây bệnh chủ yếu ở các bang miền tây và Texac của Mỹ.

Nhóm II: sinh sắc tố trong tối (Scotochromogens)

Chúng tạo thành sắc tố chủ yếu trong tối. *M. scrofulacearum* gây bệnh tràng nhạc ở cổ (viêm hạch vùng cổ), thường gặp ở trẻ em. Các vi khuẩn này thâm nhập qua họng và gây viêm các hạch vùng họng và cổ. Nhóm vi khuẩn này thường tồn tại ở nước, nhưng cũng có thể sống ở đường thở như những vi khuẩn hoại sinh.

Nhóm III: không sinh sắc tố (Non-chromogens)

Các *Mycobacterium* nhóm III không tạo thành (hoặc tạo rất ít) sắc tố màu vàng chanh trong tối. *M. avium* và *M. intracellulare* gộp thành nhóm này và rất khó phân biệt chúng bằng các test chuẩn. Chúng gây nên bệnh phổi mà

lâm sàng rất khó phân biệt với lao, đặc biệt ở những bệnh nhân suy giảm miễn dịch như AIDS. Nhóm vi khuẩn này phân bố rộng rãi trong thiên nhiên (đất và nước), đặc biệt ở miền Nam nước Mỹ. Chúng thường kháng thuốc rất mạnh và cần phải phối hợp tới 6 loại kháng sinh và hóa trị liệu để điều trị.

Nhóm IV: các *Mycobacterium* phát triển nhanh. Nhóm này bao gồm các *Mycobacterium* phát triển nhanh và tạo thành khuẩn lạc dưới 7 ngày. *M. photuitum* và *M. chelonae* là hai loại rất giống nhau tạo nên nhóm này. Chúng là những vi khuẩn hoại sinh, thường tìm thấy ở đất và nước. Chúng ít gây bệnh cho người, trừ những người suy giảm khả năng đề kháng. Chúng cũng kháng thuốc rất mạnh.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Các loài vi khuẩn gây bệnh thuộc tộc *Mycobacterieae* và các đặc điểm phân biệt chúng?
2. Vì sao gọi các vi khuẩn thuộc tộc *Mycobacterieae* là kháng cồn kháng acid?
3. Cơ chế gây bệnh của vi khuẩn lao?
4. So sánh phản ứng Mantouxvà Midsuda, chúng có ý nghĩa gì?
5. Phản ứng miễn dịch bảo vệ trong bệnh lao? Vì sao kháng thể không có tác dụng chống lại vi khuẩn lao?
6. Vì sao vi khuẩn lao có thể gây bệnh mạn tính và chúng có khả năng kháng thuốc kháng sinh và hóa trị liệu cao?
7. Vì sao bệnh nhân lao là đối tượng có nguy cơ cao nhiễm HIV và ngược lại? Do đâu mà điều trị bệnh lao ở những người nhiễm HIV rất khó khăn?
8. Các phương pháp chẩn đoán phòng thí nghiệm vi khuẩn phong?
9. Vì sao bệnh phong rất ít lây nhiễm?

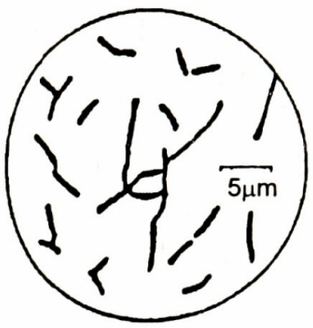
ACTINOMYCETES

MỤC TIÊU

1. Trình bày các đặc điểm chủ yếu và các bệnh của A. israelli và N. asteroides.

Actinomycetes thực sự là những vi khuẩn. Nó cùng với Corynebacterium và Mycobacterium tạo thành nhóm CMA. Tuy là những trực khuẩn dài, có thể có nhánh sợi như nấm, nhưng không phải nấm.

Actinomycetes gồm hai loài có vai trò gây bệnh đáng quan tâm là *Actinomycete israelli* và *Nocardia asteroides*. Các đặc điểm chính của hai loài này theo bảng dưới đây:



Hình 67. Actinomyces israelli

Loài	Bệnh	Cư trú	Hiếu hoặc kỵ khí	Chẩn đoán	Điều trị
A.israelli	Gây áp xe nơi bị chấn thương tạo thành những u hạt vàng xanh. Do nhiều sợi xuyên qua các lỗ rò từ da. Có thể gây sâu răng, viêm xương	Khoang tiêu hóa	Kỵ khí tuyệt đối	Trực khuẩn sợi nhánh Gram dương, tạo hạt sulfur	Penicillin
N.asteroides	Gây áp xe não và thận ở người suy giảm miễn dịch, chủ yếu viêm phổi. Vi khuẩn lan tràn vào máu rất nguy hiểm.	Môi trường	Hiếu khí	Trực khuẩn nhánh sợi, kháng acid, Gram dương	Sulfona-mid

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Đặc điểm hình dạng của *Actinomycetes*?
2. Đặc điểm vi khuẩn và khả năng gây bệnh của *A. israelli* và *Norcadia asteroides*?

LEGIONELLA

MỤC TIÊU

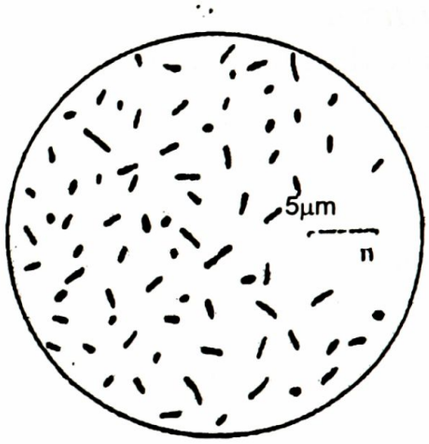
1. *Trình bày đặc điểm vi khuẩn học, khả năng gây bệnh, chẩn đoán vi khuẩn học; nguyên tắc phòng bệnh và điều trị.*

– Sau vụ dịch viêm phổi năm 1976 ở quân đội lê dương Mỹ ở Philadelphia và vi khuẩn là căn nguyên được đặt tên là *Legionella pneumophila,* đây là loài điển hình của giống *Legionella*. Giống này bao gồm 23 loài, phần lớn chúng thuộc loại gây viêm phổi không điển hình. Trong nước ta, mức độ dùng điều hoà nhiệt độ ngày càng nhiều và có những nghi ngừ về vai trò gây bệnh của vi khuẩn này.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

– *Legionella* là những trực khuẩn bắt màu Gram âm nhạt. Trong tiêu bản sinh thiết phổi, chúng không bắt màu Gram mà phải nhuộm bằng phương pháp thấm bạc.

– *Legionella* thuộc loại vi khuẩn khó nuôi cấy, yêu cầu có nhiều ion sắt và cystein.



Hình 68. Legionella pneumophila

2. GÂY BỆNH VÀ DỊCH TỄ HỌC

– *Legionella* thường tồn tại trong các nguồn nước lạnh hồ ao, nước điều hoà nhiệt độ. Điều hoà nhiệt độ là điều kiện lây nhiễm thuận lợi nhất của vi khuẩn này.

– Vi khuẩn này lây lan qua đường thở và gây ra viêm phổi. Từ bệnh nhân viêm phổi, vi khuẩn này có thể gây nhiễm nguồn nước máy (vòi nước, bể nước) và khăn mặt. *Legionella* không truyền trực tiếp từ người sang người.

– Ngoài gây viêm phổi không điển hình, *Legionella* còn có thể gây ra tiêu chảy nhẹ kèm theo sốt, nhức đầu và bệnh tự khỏi sau 4-5 ngày.

- *L. pneumophila* sinh sản trong đại thực bào và thuộc loại gây bệnh nội bào.
- Những người già, nghiện rượu, hút thuốc và suy giảm miễn dịch là những đối tượng dễ bị bệnh do *L. pneumophila.*

3. CHẨN ĐOÁN VI KHUẨN HỌC

- Do *Legionella* khó nuôi cấy, nên chẩn đoán chủ yếu dựa trên phương pháp huyết thanh học.
- *L. pneumophila có* 6 týp huyết thanh, nên phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (IFA) thường được tiến hành với 6 kháng nguyên của 6 týp huyết thanh này.
- Cũng có thể sử dụng phản ứng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp (DFA) với tiêu bản sinh thiết phổi.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

- Phòng bệnh bằng cách hạn chế hút thuốc, uống rượu và tiếp xúc với nguồn nước nhiễm vi khuẩn.
- Điều trị nên dùng erythromycin vì kháng sinh này còn có tác dụng với một số vi khuẩn gây viêm phổi khác như phế cầu và *Mycoplasma.* Mặt khác, *L. pneumophila* thường kháng với kháng sinh nhóm beta lactam vì nó có enzym β-lactamase.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Các đặc điểm cơ bản của *L. pneumophila*?
2. Vì sao nó cvi khuẩn này thể gây viêm phổi không điển hình? Phương pháp chẩn đoán điều trị?

TRỰC KHUẨN HO GÀ

(Bordetella pertussis)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm sinh học cơ bản của trực khuẩn ho gà (hình thể, tính chất đề kháng, tính chất nuôi cấy và độc tố).*
2. *Mô tả được cơ chế gây bệnh ho gà.*
3. *Trình bày được các phương pháp vi sinh vật chẩn đoán bệnh ho gà.*
4. *Trình bày được các nguyên tắc phòng và chữa bệnh ho gà.*

Trực khuẩn ho gà (*Bordetella pertussis*) thuộc giống *Bordetella*, họ *Alcaligenaceae*. Trực khuẩn ho gà mang tên J. Bordet, người cùng với O. Gengou, lần đầu tiên phân lập được vi khuẩn này từ một bệnh nhi mắc bệnh ho gà năm 1906. Năm 1923, Bergey và cộng sự đặt tên cho nó là *Haemophilus pertussis* (*Haemophilus*, ưa máu; *Per*, tiếp đầu ngữ tiếng La tinh, nghĩa là "trầm trọng"; *tussis* nghĩa là ho). Năm 1952, Moreno López chuyển chúng sang giống *Bordetella*.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

B. pertussis hình cầu trực khuẩn nhỏ, kích thước 0,2 - 0,5 × 0,5 - 1,0 μm. Bắt màu Gram âm, thường là đậm hơn ở hai cực. Ở pha I, chúng đứng riêng rẽ hoặc từng đôi, và rất hãn hữu, thành chuỗi. Ở pha IV, vi khuẩn to hơn và hay xếp thành chuỗi ngắn. *B. pertussis* không có lông mà chúng có các sợi ngưng kết hồng cầu (filamentous hemagglutinin = FHA) chứa protein, trông giống như các pili. FHA giúp cho vi khuẩn bám vào tế bào có lông chuyển của biểu mô đường hô hấp.

1.2. Nuôi cấy

B. pertussis khó nuôi cấy. Khi mới phân lập, chúng không mọc trên các môi trường dinh dưỡng thông thường. Mọc chậm trên môi trường Bordet-Gengou (B-G) (môi trường không có pepton, có khoai tây, glycerol và máu). Hiếu khí tuyệt đối. *B. pertussis* bị ức chế bởi các acid béo không bão hoà, các

sulfit hình thành trong quá trình chế tạo môi trường nuôi cấy (nhất là công đoạn hấp ướt) và các peroxit hữu cơ. Nhiệt độ thích hợp nhất là 37°C.

Trên môi trường B-G, sau 3-6 ngày, *B. pertussis* mọc thành những khuẩn lạc nhỏ, hình vòm, mặt nhẵn bóng và sáng như một giọt thuỷ ngân. Có thể thấy tan máu nhẹ, nhất là ở vùng cấy dày. Khi cấy chuyển nhiều lần, *B. pertussis* trải qua 4 pha:

- Pha I: khuẩn lạc nhỏ, nhẵn, có độc tố, có ngưng kết nguyên và kháng nguyên ngưng kết hồng cầu.
- Pha IV: là giai đoạn cuối cùng của thoái hóa tự phát (spontaneous degradation). Khuẩn lạc sù xì, mọc được trên môi trường nuôi cấy thông thường, không độc, không có các kháng nguyên ở pha I.
- Pha II và III: là tất cả các dạng trung gian giữa pha I và IV.

Người ta cho rằng, sự biến đổi trên liên quan tới một enzym; nó có ở pha I và mất đi ở pha IV. Sự biến đổi pha có ý nghĩa quan trọng trong sản xuất vacxin: các vacxin ho gà chỉ có hiệu lực khi chọn đúng vi khuẩn đang ở pha I.

1.3. Tính chất hóa sinh

B. pertussis chuyển hóa đường theo kiểu hô hấp, không bao giờ lên men. Phân giải một số acid amin (acid glutamic, prolin, alanin, serin) theo kiểu oxy hóa, sinh ra amoniac và CO_2.

1.4. Đề kháng

B. pertussis đề kháng yếu với các yếu tố ngoại cảnh (nhiệt độ, hóa chất, tia cực tím). Ra khỏi cơ thể, chúng chết rất nhanh.

1.5. Độc lực

B. pertussis sản xuất ra một số độc tố, chúng có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh. Độc tố ho gà (Pertussis toxin = PT) là một protein có phổ tác động sinh học rộng. Dựa vào hoạt tính sinh học, PT còn được gọi là yếu tố tăng lympho bào - LPF (lymphocytosis promoting factor), protein hoạt hóa vùng đảo tuỵ - IAP (islet activating protein), yếu tố nhậy cảm với histamin - HSF (histamin sensitizing factor). PT chịu trách nhiệm về nhiều triệu chứng lâm sàng cũng như về dấu hiệu tăng tương đối hoặc tuyệt đối số lượng lympho trong quá trình bệnh lý. Kháng thể chống PT bảo vệ được động vật thực nghiệm khỏi mắc bệnh ho gà.

B. pertussis còn sản xuất ra adenylcyclase (AC). AC có khả năng xâm nhập vào các tế bào viêm ở đường hô hấp trên, gây ra tăng lượng adenosin monophosphat (AMP) vòng nội bào. AMP vòng ức chế đáp ứng miễn dịch tại chỗ bằng cách ức chế hiện tượng hóa ứng động bạch cầu đa nhân trung tính và ức chế hiện tượng thực bào. Độc tố tế bào khí quản (tracheal cytotoxin) gây tổn thương đặc hiệu các tế bào có lông chuyển của biểu mô đường hô hấp. *B. pertussis* còn sản xuất ra một loại độc tố không chịu nhiệt.

1.6. Kháng nguyên và miễn dịch

Ngoài PT và FHA là những kháng nguyên mạnh và quan trọng nhất, *B. pertussis* còn có kháng nguyên thân chịu nhiệt gọi là sinh ngưng kết nguyên (agglutinogen) O, kháng nguyên này chung cho cả giống *Bordetella*. Ở vỏ, 14 kháng nguyên chịu nhiệt đã được biết trong giống này, gọi là các "yếu tố". Yếu tố từ 1 đến 6 đặc hiệu cho *B. pertussis*, yếu tố 7 chung cho cả giống, yếu tố 12 đặc hiệu cho *B. bronchiseptica* và yếu tố 14 đặc hiệu cho *B. parapertussis*.

Trẻ sơ sinh không mắc bệnh ho gà vì thừa hưởng kháng thể từ mẹ. Nếu không được tiêm chủng, trẻ từ 1-5 tuổi dễ mắc bệnh nhất, vì lúc này miễn dịch thụ động đã hết trong khi miễn dịch chủ động chưa được thiết lập. Sau khi mắc bệnh, người bệnh có miễn dịch lâu dài.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

B. pertussis ký sinh bắt buộc trên niêm mạc đường hô hấp của người (nghĩa là, người là vật chủ duy nhất). Chúng bám vào các tế bào có lông chuyển bằng sợi ngưng kết hồng cầu, không xâm nhập sâu vào niêm mạc cũng như không vào máu. Tại chỗ bám, chúng tiết ra PT và các yếu tố độc lực khác. Hệ thống nhung mao ở lớp thượng bì bị phá huỷ, tế bào bị hoại tử. Sự giải phóng histamin từ các tổ chức bị tổn thương tác động lên niêm mạc vốn đã nhậy cảm với histamin (nhờ HSF) gây kích thích cực độ đường hô hấp, dẫn đến những cơn ho không tự kìm chế được. LPF đã gây nên hiện tượng tăng lympho bào điển hình ở máu ngoại vi. Những đảo Langerhans của tụy được hoạt hóa làm tăng sản xuất insulin, gây ra hạ đường huyết. Tổn thương não đôi khi gặp trong ho gà nặng, có thể liên quan đến tình trạng hạ đường huyết hơn là tình trạng thiếu oxy não trong cơn ho. Đường hô hấp bị tổn thương thường dẫn đến bội nhiễm các vi khuẩn khác, có thể gây viêm phổi, làm cho tình trạng bệnh trở nên trầm trọng hơn.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Nhuộm soi

Bệnh phẩm được xử lý và nhuộm theo kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp. Phương pháp này cho kết quả nhanh, nhưng chỉ bổ sung, chứ không thay thế được cho phương pháp nuôi cấy, vì độ nhậy của phương pháp này thấp.

3.1.2. Nuôi cấy

Lấy bệnh phẩm ở họng mũi bằng tăm bông mềm và đàn hồi qua đường mũi, cấy vào môi trường ngay tại giường bệnh nhân, nếu không có môi trường vận chuyển phù hợp. Trong cơn ho, có thể dùng môi trường nuôi cấy hứng trực tiếp vào gần miệng bệnh nhân. Để môi trường đã nuôi cấy ở 37°C. Xác định vi khuẩn dựa vào các tính chất về hình thể (1.1), tính chất nuôi cấy (1.2), kết quả

nhuộm vi khuẩn với kháng thể huỳnh quang và ngưng kết với kháng huyết thanh mẫu.

3.1.3. Tìm các thành phần hóa học trong bệnh phẩm

Dùng kháng thể đơn dòng để tìm LPF và FHA của *B. pertussis* trong bệnh phẩm hoặc dùng kỹ thuật nhân gen (PCR) để tìm đoạn ADN đặc trưng.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tìm kháng thể kháng PT và FHA trong huyết thanh bệnh nhân.

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

4.1.1. Phòng bệnh không đặc hiệu: cách ly bệnh nhân ngay từ khi có dấu hiệu nghi ngờ.

4.1.2. Phòng bệnh đặc hiệu: vacxin ho gà hiện nay là vacxin chết, được làm từ vi khuẩn ho gà ở pha I. Người ta phối hợp vacxin này với giải độc tố bạch hầu và uốn ván thành một vacxin "3 trong 1". Tiêm bắp cho trẻ lúc trẻ được 2, 3 và 4 tháng tuổi và tiêm nhắc lại 2 lần vào lúc 6-12 tháng và 4-6 tuổi. Vacxin này có công hiệu từ 80 - 100%.

4.2. Điều trị

Trẻ bị ho gà phải được chăm sóc cẩn thận, nhất là trong những cơn kịch phát. Phải duy trì đủ lượng dinh dưỡng và dịch cần thiết. Kháng sinh chọn lọc là erythromycin. Erythromycin cắt được tình trạng nhiễm trùng sau 4-7 ngày, nhưng phải điều trị kéo dài ít nhất 2 tuần để đề phòng tái phát. In vitro, *B. pertussis* nhậy cảm với ampicillin, amoxicillin, co-trimoxazol và ciprofloxacin; những thuốc này đã được dùng để điều trị, nhưng hiệu quả lâm sàng đều kém erythromycin.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Mô tả hình thể và tính chất bắt màu của vi khuẩn ho gà?
2. Trình bày cơ chế gây bệnh ho gà?
3. Mô tả các phương pháp vi sinh vật chẩn đoán bệnh ho gà?
4. Nêu các nguyên tắc phòng bệnh ho gà?
5. Kể tên các kháng sinh thường dùng để điều trị bệnh ho gà?

HAEMOPHILUS

MỤC TIÊU

1. *Hiểu và nhớ đặc tính khuyết dưỡng của Haemophilus.*
2. *Trình bày được đặc điểm sinh học cơ bản (hình thể, tính chất nuôi cấy, tính chất kháng nguyên) của H. influenzae.*
3. *Kể được các bệnh do H. influenzae gây ra.*
4. *Trình bày được các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật, phòng bệnh và điều trị các bệnh do H. influenzae gây ra.*

Haemophilus là một giống vi khuẩn đặc biệt, thuộc họ *Pasteurellaceae*. Thuật ngữ "haemophilus" do Winslow và cộng sự đề xuất năm 1917, dựa theo gốc từ Hy lạp, có nghĩa là "ưa máu" (*haemo*: máu; *philus*: ưa, thích).

Giống *Haemophilus* gồm các trực khuẩn nhỏ, Gram âm, không di động. Đây là các vi khuẩn khuyết dưỡng, chúng không tự tổng hợp được một số yếu tố cần thiết cho sự sinh sản và phát triển; đó là các yếu tố X và V (X: hematin; V: nicotinamid adenin dinucleotid = NAD). Để *Haemophilus* có thể mọc được, người ta phải bổ sung bắt buộc một hoặc cả hai yếu tố này (tuỳ theo loài) vào môi trường trước khi nuôi cấy chúng. Cả hai yếu tố X và V, gọi là các *nhu yếu* của *Haemophilus*, đều có mặt trong hồng cầu. Yếu tố X thì bền vững với nhiệt độ, yếu tố V thì ngược lại, không chịu được nhiệt.

Bảng 1. Tính chất sinh học của một số *Haemophilus*

Tên vi khuẩn	Nhu yếu		Tan máu
	X	V	
H. influenzae	+	+	-
H. hemolyticus	+	+	+
H. ducreyi	+	-	-
H. parainfluenzae	-	+	-
H. segnis	-	+	-
H. aphrophilus	+	-	-
H. paraphrophilus	-	+	-

Các *Haemophilus* ký sinh bắt buộc trên niêm mạc của người hoặc động vật. Hiện nay, 10 loài có khả năng gây bệnh cho người đã được công nhận, loài quan trọng nhất là *Haemophilus influenzae.*

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Haemophilus influenzae do Richard Pfeiffer phân lập lần đầu tiên từ một bệnh nhân bị chết trong vụ dịch cúm lớn năm 1892 (nên còn gọi là trực khuẩn Pfeiffer). Từ đó trở đi, trong một khoảng thời gian dài, người ta tin rằng nó chính là căn nguyên gây ra bệnh cúm (influenza) và đặt tên là *Bacterium influenzae*. Mãi đến năm 1933, khi phát hiện ra virus cúm thì căn nguyên của bệnh cúm cũng như vai trò của *B. influenzae* mới được làm sáng tỏ: virus cúm gây ra bệnh cúm, còn *B. influenzae* là vi khuẩn "ăn theo" (second invader) sau khi các tế bào niêm mạc đường hô hấp đã bị tổn thương nặng nề bởi virus cúm.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

H. influenzae là trực khuẩn hoặc cầu trực khuẩn nhỏ, Gram âm. Kích thước 0,3-0,5 × 0,5-3 μm. Có thể gặp các dạng dài và mảnh như một đoạn chỉ khi điều kiện nuôi cấy không chuẩn. Không có lông, có thể có vỏ.

1.2. Nuôi cấy

H. influenzae là loại vi khuẩn khó nuôi cấy. Chúng không mọc trên các môi trường nuôi cấy thông thường, chỉ mọc trong môi trường đã có sẵn cả hai yếu tố X và V. Yếu tố X có lẽ không phải là một chất thuần tuý mà là hỗn hợp của các chất màu có chứa sắt (như hemin và hematin). Chất thường gặp trong số các chất đó là protoporphyrin IX.

H. influenzae dùng yếu tố X để tổng hợp catalase, peroxidase và các cytochrom của hệ thống vận chuyển điện tử. Máu và các sản phẩm của máu, kể cả hemin, là nguồn nguyên liệu truyền thống được sử dụng để sản xuất yếu tố X.

H. influenzae hiếu khí, mọc tốt hơn khi có CO_2 (3 - 5%) lúc mới phân lập. Mọc tốt trên môi trường chocolat và Levinthal trong khoảng nhiệt độ 23 - 39°C; tối ưu: 37°C. Không mọc được trên thạch máu cừu; nếu mọc được trên các loại thạch máu khác (ví dụ máu thỏ) thì không gây tan máu và khuẩn lạc nhỏ hơn nhiều so với trên thạch chocolat trong cùng các điều kiện nuôi cấy khác. Cũng trên thạch máu, người ta thấy, các khuẩn lạc của *H. influenzae* xung quanh các khuẩn lạc bội nhiễm thì rất to; trong khi đó, ở những vùng xa thì, hoặc là không mọc hoặc là mọc rất bé. Hiện tượng này gọi là hiện tượng "vệ tinh" (satellitism). Bản chất của hiện tượng này là sự tiết ra yếu tố V của vi khuẩn bội nhiễm.

1.3. Đề kháng

H. influenzae chịu đựng rất kém với các yếu tố ngoại cảnh. Trong bệnh phẩm, chúng chết nhanh chóng nếu để ra ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp, để khô hoặc lạnh. Các chất sát khuẩn thông thường tiêu diệt chúng một cách dễ dàng.

1.4. Kháng nguyên và miễn dịch

Kháng nguyên vỏ, bản chất hóa học là polysaccharid, có tính đặc hiệu týp. Vỏ của týp b là một polymer mạch thẳng chứa pentose (như ribose), các týp khác thì chứa hexose. Vỏ có vai trò quan trọng trong chống thực bào hoặc bảo vệ vi khuẩn khỏi bị tiêu diệt khi đã bị thực bào. Vỏ của týp b đã được tinh chế dùng làm vacxin.

Hai tháng đầu sau khi đẻ, trẻ thừa hưởng kháng thể kháng *H. influenzae* từ mẹ truyền sang. Kháng thể này giảm dần, có khi mất hẳn; sau đó chúng lại tăng dần theo tuổi do bị nhiễm *H. influenzae*, hoặc các vi khuẩn khác có các yếu tố kháng nguyên chung từ bên ngoài, tạo nên miễn dịch chủ động ở mức như người lớn. Sự biến đổi của hiệu giá kháng thể kháng vỏ theo tuổi có liên quan đến tình hình mắc bệnh: trẻ dưới hai tháng rất ít khi mắc bệnh do *H. influenzae* gây ra, từ 2 tháng đến dưới 5 tuổi là thời kỳ hay mắc nhất, từ 5 tuổi trở lên lại ít mắc bệnh.

1.5. Phân loại

- Theo cấu trúc kháng nguyên: chia thành 6 týp huyết thanh (a, b, c, d, e, f). Týp b là týp thường gặp và cũng là týp gây bệnh nặng nhất.
- Theo tính chất sinh học: dựa vào các tính chất sinh indol, urease và ornithin decarboxylase, *H. influenzae* được chia thành 8 týp sinh học: I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII. Týp I thường có tính xâm nhập mạnh và gây ra các bệnh cấp tính (viêm màng não, viêm phổi, nhiễm khuẩn huyết), các týp còn lại thường thấy trên người lành.

Bảng 2. Các týp sinh học của *H. influenzae*

Týp	Urease	Indol	Ornithin decarboxylase
I	+	+	+
II	+	+	-
III	+	-	-
IV	+	-	+
V	-	+	+
VI	-	-	+
VII	+	-	-
VIII	-	-	-

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

H. influenzae ký sinh bắt buộc trên niêm mạc đường hô hấp của người. Khoảng 75% trẻ lành có mang *H. influenzae* ở họng mũi (nasopharynx) như là một thành viên của vi khuẩn chí bình thường. Ở người lớn, tỷ lệ này thấp hơn.

Bệnh do *H. influenzae* thường là thứ phát (sau sởi, cúm), gồm: viêm màng não, viêm đường hô hấp trên (thanh quản, tai giữa, xoang), viêm đường hô hấp dưới (viêm phế quản cấp và mạn tính, viêm phổi), nhiễm khuẩn huyết, viêm nội tâm mạc (hiếm), viêm niệu đạo và các nhiễm trùng sinh dục (âm đạo, cổ tử cung, tuyến Bartholin, vòi tử cung).

Viêm màng não do *H. influenzae* là một bệnh nặng và có tính chất cấp tính, cần được chẩn đoán và điều trị tức khắc. Ở những trẻ mà khả năng đề kháng giảm (suy dinh dưỡng, suy giảm miễn dịch, đang mắc các bệnh nặng khác), *H. influenzae* từ họng mũi xâm nhập vào máu, rồi theo đường máu đến màng não. Cũng có giả thuyết cho rằng, *H. influenzae* đến màng não bằng cách trực tiếp chui qua xoang sàng.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Nhuộm soi: lấy cặn ly tâm dịch não tuỷ nhuộm có thể thấy các cầu trực khuẩn Gram âm, to nhỏ không đều, bắt màu mờ nhạt trên vi trường có nhiều bạch cầu đa nhân; rải rác có các vi khuẩn rất dài và mảnh. Tính chất đa hình thái như vậy là một dấu hiệu tốt để nghĩ tới *H. influenzae*.

Tìm kháng nguyên vỏ týp b trong bệnh phẩm: để chẩn đoán nhanh các nhiễm trùng do *H. influenzae* týp b gây ra, ngày nay, người ta dùng kỹ thuật miễn dịch để phát hiện kháng nguyên týp b trong dịch não tuỷ, máu và nước tiểu. Các phương pháp miễn dịch được áp dụng là miễn dịch điện di đối lưu, ngưng kết thụ động, đồng ngưng kết và ELISA với kháng thể đơn dòng.

Tìm ADN: dùng một đoạn ADN mẫu đánh dấu phóng xạ hoặc dùng kỹ thuật nhân gen PCR (polymerase chain reaction) để tìm đoạn ADN đặc trưng của *H. influenzae* trong bệnh phẩm.

3.2. Nuôi cấy

Nếu bệnh phẩm không bội nhiễm (các loại dịch trong các khoang kín, máu) thì dùng thạch chocolat thường. Nếu bệnh phẩm bội nhiễm (đờm, nhầy họng, dịch hút khí quản) thì dùng thạch chocolat có bacitracin (300 µg/ml) để ức chế các tạp khuẩn. Để các môi trường đã nuôi cấy vào khí trường 3-5% CO_2 ở 37°C. Xác định vi khuẩn dựa vào:

- Hình thái (1.1), tính chất nuôi cấy (1.2).
- Nhu yếu: dùng kỹ thuật "vệ tinh", khoanh giấy (X, V) và porphyrin.
- Kháng huyết thanh: dùng phản ứng ngưng kết trên phiến kính hoặc phản ứng phình vỏ với kháng huyết thanh mẫu (từ *a* đến *f*). Đương nhiên, những chủng không có vỏ thì không dùng được phương pháp này.
- Định týp sinh học (Bảng 2). Týp sinh học có giá trị về dịch tễ học; trong viêm màng não, hơn 90% số chủng thuộc về týp I. Kỹ thuật này có thể áp dụng cho tất cả các chủng có vỏ hoặc không có vỏ.

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

- Phòng không đặc hiệu:

Viêm màng não do *H. influenzae* týp b là một bệnh lây theo đường hô hấp. Bệnh nhân phải được cách ly. Người lành tiếp xúc với người bệnh phải uống kháng sinh dự phòng.

- Phòng đặc hiệu:

Vacxin thế hệ thứ nhất: được tinh chế từ vỏ polysaccharid của *H. influenzae* týp b. Đáp ứng miễn dịch đối với vacxin này thì tốt ở nhóm trẻ trên hai tuổi nhưng rất kém ở nhóm dưới hai tuổi, nhóm mà nguy cơ mắc bệnh cao nhất.

Vacxin thế hệ thứ hai: nhược điểm của vacxin thế hệ thứ nhất là tính sinh miễn dịch kém; vì vậy, hiện nay người ta đã gắn kháng nguyên này vào một protein mang (carrier protein) tạo nên một hỗn hợp, trong đó protein mang hoạt động như một tá chất. Vì vậy, tính sinh miễn dịch của polysaccharid được tăng cường và vacxin này đã được chứng minh là gây đáp ứng miễn dịch tốt hơn vacxin thế hệ thứ nhất trên trẻ nhỏ.

4.2. Điều trị

Năm 1968, lần đầu tiên, một trường hợp viêm màng não mủ do *H. influenzae* điều trị bằng ampicillin bị thất bại. Năm 1974, những chủng kháng ampicillin do sinh ra men β-lactamase đã thật sự được chứng minh.

H. influenzae kháng chloramphenicol nhờ men chloramphenicol acetyl-transferase (CAT). Men này xúc tác quá trình chuyển hai nhóm acetyl từ coenzym A tới những vị trí hoạt động của phân tử chloramphenicol; nhờ vậy, tính chất ức chế tổng hợp protein của chloramphenicol bị mất đi.

Vì các lý do nêu trên, điều trị các nhiễm trùng do *H. influenzae* gây ra phải dựa vào kháng sinh đồ. Trong khi chưa có kết quả kháng sinh đồ hoặc khi không phân lập được vi khuẩn, hiện nay, người ta ưu tiên lựa chọn ampicillin và/hoặc chloramphenicol. Dùng cephalosporin thế hệ thứ 3 (ví dụ, cefotaxime) cũng cho kết quả rất tốt.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Khi nuôi cấy, đặc tính khuyết dưỡng của *Haemophilus* được biểu hiện như thế nào?
2. Trình bày hình thể, tính chất nuôi cấy và tính chất kháng nguyên của *H. influenzae*?
3. Kể các bệnh do *H. influenzae* gây ra và cơ chế gây ra các bệnh đó?

   Trình bày các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật, phòng bệnh và điều trị các bệnh do *H. influenzae* gây ra?

HỌ PSEUDOMONADACEAE

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm sinh học cơ bản của trực khuẩn mủ xanh và Whitmore (hình thái, sắc tố đặc trưng, nuôi cấy, sinh vật hóa học).*
2. *Kể được các bệnh do trực khuẩn mủ xanh và Whitmore gây ra.*
3. *Trình bày được các phương pháp vi sinh vật chẩn đoán bệnh do trực khuẩn mủ xanh và Whitmore gây ra.*
4. *Nhớ được các kháng sinh dùng điều trị trực khuẩn mủ xanh và Whitmore.*

Họ Pseudomonadaceae do Winslow và cộng sự mô tả năm 1917, đây là một họ lớn và phức tạp. Họ Pseudomonadaceae, hiện nay, gồm 7 giống: Chryceomonas, Comamonas, Flavimonas, Shewanella, Xanthomonas, Pseudomonas và Burkholderia.

Hai vi khuẩn có tầm quan trọng nhất trong y học là trực khuẩn mủ xanh và trực khuẩn Whitmore.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Pseudomonas aeruginosa, trước đây gọi là *Bacterium aeruginosa*, do Schroeter mô tả năm 1872. Năm 1900, Migula chuyển chúng sang giống *Pseudomonas*, từ đó, vi khuẩn mang tên *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudes*, tiếng Hylạp, = giả; *monas*, tiếng Hylạp, = đơn vị; *aeruginosa* = gỉ đồng).

Ngay từ trước khi phân lập được vi khuẩn này, người ta đã có nhận xét rằng, trong một số trường hợp, vết thương sinh ra một loại mủ đặc biệt có màu xanh như màu gỉ đồng. Hiện tượng này đã được giải thích theo nhiều quan điểm khác nhau, nhưng chỉ có lời giải thích thoả đáng khi người ta phân lập được vi khuẩn từ ổ mủ đó dưới dạng thuần khiết. Thì ra, hiện tượng này rất đơn giản, là do vi khuẩn đã sinh ra một loại sắc tố có màu xanh. Chính vì vậy, người ta thường gọi *Pseudomonas aeruginosa* là *trực khuẩn mủ xanh*.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Trực khuẩn mủ xanh Gram âm, thẳng hoặc hơi cong nhưng không xoắn, hai đầu tròn. Kích thước từ 0,5-1,0 μm × 1,5-5,0 μm. Có một lông duy nhất ở một cực. Các pili của trực khuẩn mủ xanh dài khoảng 6 nm, là nơi tiếp nhận nhiều loại phage và giúp cho vi khuẩn gắn vào bề mặt của tế bào vật chủ. Trực khuẩn mủ xanh không sinh nha bào.

1.2. Nuôi cấy

Trực khuẩn mủ xanh mọc dễ trên các môi trường nuôi cấy thông thường (thạch thường, thạch máu, canh thang), hiếu khí tuyệt đối. Nhiệt độ tối ưu là 37°C, nhưng chúng có thể mọc được trong khoảng dao động rộng (5 - 42°C); pH thích hợp từ 7,2 - 7,5 (dao động 4,5 - 9,0).

Trên môi trường đặc, có thể gặp hai loại khuẩn lạc: một loại to, nhẵn, bờ trải dẹt, giữa lồi lên trông giống như quả trứng ốp (fried egg); một loại khác thì xù xì; cũng có khi gặp loại thứ ba, khuẩn lạc nhầy. Trong các bệnh phẩm lâm sàng, thường gặp loại thứ nhất; trong các mẫu lấy từ môi trường, thường gặp loại thứ hai. Tính chất đặc trưng của trực khuẩn mủ xanh là sinh sắc tố và chất thơm. Có hai loại sắc tố chính:

- Pyocyanin: có màu xanh lá cây, tan trong nước và chloroform, khuyếch tán tốt ra môi trường nuôi cấy, làm cho môi trường và khuẩn lạc có màu xanh nên có thể nhận ra nó một cách dễ dàng bằng mắt thường. Pyocyanin thuộc loại sắc tố phenazin, cấu trúc hóa học của nó đã được phân tích chi tiết. Chính sắc tố này đã làm cho mủ có màu xanh.
- Pyoverdins: là loại sắc tố huỳnh quang, phát màu xanh khi chiếu tia cực tím có bước sóng 400 nm. Pyoverdins không bền vững, dễ mất đi trong điều kiện nuôi cấy không chuẩn. Khi nuôi cấy vi khuẩn ở môi trường có nồng độ sắt thấp, nó được tổng hợp nhiều hơn. Cấu trúc hóa học của pyoverdins chưa được biết đầy đủ.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Trực khuẩn mủ xanh có đủ các cytochrom (b, c, a và oxidase) trong hệ thống vận chuyển điện tử. Trong thực hành, người ta thường dùng "oxidase test" để tìm sự có mặt của cytochrom oxidase. Các tính chất hóa sinh thường sử dụng trong lâm sàng gồm: urease (-), indol (-), H_2S (-); citrat Simmons, arginin dihydrolase và gelatinase (+); khử NO_3^- đến N_2. Trên môi trường OF (Oxidation - Fermentation), nhiều loại carbohydrat bị thoái hóa theo lối oxy hóa có sinh acid: glucose, mannitol, glycerol, ethanol, arabinose, fructose và galactose.

1.4. Khả năng đề kháng

Trực khuẩn mủ xanh chết nhanh chóng ở 100°C. Trong môi trường ẩm, thoáng và không có ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp, chúng sống được hàng tuần; trong môi trường có dinh dưỡng tối thiểu; ở 5°C, chúng sống được hơn 6 tháng.

1.5. Kháng nguyên

Kháng nguyên O chịu nhiệt, bản chất hóa học là lipopolysaccharid (LPS). Dựa vào kháng nguyên này, người ta đã chia trực khuẩn mủ xanh thành 12 nhóm. Kháng nguyên H không chịu nhiệt, là kháng nguyên lông. Vì khó khăn trong việc điều chế, nên việc định týp huyết thanh dựa trên kháng nguyên này chưa được áp dụng rộng rãi.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Trực khuẩn mủ xanh là loại vi khuẩn gây bệnh có điều kiện. Khi cơ thể bị suy giảm miễn dịch (tự nhiên hoặc mắc phải), bị mắc các bệnh ác tính hoặc mạn tính, dùng lâu dài corticoid, kháng sinh hoặc các chất chống ung thư thì dễ mắc bệnh nhiễm trùng nội sinh hoặc ngoại sinh do trực khuẩn mủ xanh.

Người ta đã tìm thấy trực khuẩn mủ xanh ở khắp nơi trong bệnh viện: đầu các ống thông, máy khí dung, máy hô hấp nhân tạo, máy hút ẩm, bình chứa nước, vòi nước máy, thậm chí trong cả một số dung dịch vẫn dùng để rửa vết thương do pha chế hoặc bảo quản không tốt. Trực khuẩn mủ xanh cùng với tụ cầu vàng là hai vi khuẩn thường gặp nhất trong nhiễm trùng bệnh viện.

Trực khuẩn mủ xanh từ môi trường bên ngoài xâm nhập vào cơ thể qua các vết thương hở (nhất là bỏng). Tại chỗ xâm nhập, chúng gây viêm có mủ (điển hình, mủ có màu xanh); nếu cơ thể suy giảm sức đề kháng, chúng có thể xâm nhập vào và gây viêm các phủ tạng (xương, đường tiết niệu, tai giữa, phế quản, màng não) hoặc gây bệnh toàn thân (nhiễm khuẩn huyết, viêm nội tâm mạc). Về bệnh sinh học, có giả thuyết cho rằng, các sản phẩm ngoại tiết như sắc tố, độc tố tan máu, độc tố ruột, ngoại độc tố A (độc tố gây chết) có vai trò chính.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

Những bệnh phẩm lấy từ ổ kín (ổ mủ chưa vỡ, dịch màng phổi, dịch màng não) hoặc từ máu thì cấy trực tiếp vào môi trường thạch thường. Những bệnh phẩm lấy từ những vùng tạp nhiễm (ổ mủ đã vỡ, đờm, nhầy họng) thì cấy vào môi trường có cetrimid (chất ức chế). Để các môi trường đã cấy bệnh phẩm ở 37°C trong khí trường thường.

Chọn các khuẩn lạc màu xanh và nhuộm xanh môi trường để làm các thử nghiệm xác định vi khuẩn. Trong thực hành bệnh viện, nếu những khuẩn lạc

như trên là trực khuẩn Gram âm không sinh nha bào, oxidase (+), chuyển hóa đường theo kiểu oxy hóa thì được coi là trực khuẩn mủ xanh.

Có khoảng 10% số chủng trực khuẩn mủ xanh không sinh sắc tố; trong những trường hợp này, chẩn đoán vi khuẩn học gặp nhiều khó khăn. Người phải dùng các môi trường tăng sinh sắc tố: môi trường King A (tăng sinh pyocyanin) và môi trường King B (tăng sinh pyoverdins).

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Phòng bệnh không đặc hiệu đóng vai trò chính trong việc ngăn ngừa nhiễm trực khuẩn mủ xanh. Giữ gìn vệ sinh chung, triệt để thực hiện các quy trình tiệt trùng, làm đúng các thao tác vô trùng để tránh lây chéo trong bệnh viện. Đối với cá nhân: giữ gìn vệ sinh, tránh sây sát da và niêm mạc, tăng cường sức đề kháng chung, tránh lạm dụng kháng sinh và các thuốc gây suy giảm miễn dịch.

4.2. Điều trị

Trực khuẩn mủ xanh kháng lại nhiều kháng sinh thông dụng (penicillin, ampicillin, chloramphenicol và tetracyclin), nhất là những chủng gây nhiễm trùng bệnh viện. Người ta thường dùng aminoglucoside (gentamicin, amikacin, tobramycin) hoặc cephalosporin thế hệ 3 (ví dụ, ceftazidime) hoặc imipenem để điều trị các nhiễm trùng do trực khuẩn mủ xanh.

BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

Burkholderia pseudomallei còn gọi là trực khuẩn Whitmore, do Alfred Whitmore - bác sĩ giải phẫu bệnh người Anh - mô tả lần đầu tiên năm 1913 ở Rangoon, Myanmar.

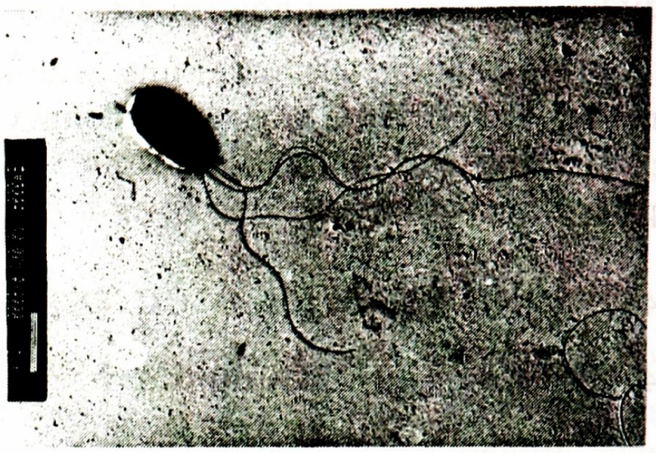
B. pseudomallei là tác nhân gây ra bệnh melioidosis - một bệnh lưu hành ở vùng đông-nam châu Á và phía bắc Australia. Bệnh melioidosis thường nặng, tỷ lệ tử vong cao do chẩn đoán lâm sàng và vi sinh vật khó khăn, bệnh hay tái phát và còn do *B. pseudomallei* kháng lại nhiều kháng sinh.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

B. pseudomallei là trực khuẩn hoặc cầu-trực khuẩn Gram âm, thường bắt màu đậm ở hai cực; nhìn qua kính hiển vi giống như hình một chiếc kim

băng. Kích thước khoảng 0,8 × 1,5 μm, không sinh nha bào, có một chùm lông ở một cực (Hình 69).



Hình 69. Lông của B. pseudomallei
B. pseudomallei có một chùm lông ở một cực (Ảnh chụp qua kính hiển vi điện tử, x10.000; Lê Văn Phủng, 1995)

1.2. Nuôi cấy

B. pseudomallei mọc được trên các môi trường nuôi cấy thông thường, hiếu khí tuyệt đối. Trên môi trường lỏng, *B. pseudomallei* hình thành nhiều váng; càng để lâu, váng càng dày và có thể leo lên cả thành ống. Trên môi trường đặc, khuẩn lạc thường khô, bề mặt nhăn nheo, bờ răng cưa, màu trắng đục hoặc màu kem. Trên cùng một đĩa thạch, có thể thấy tồn tại cùng một lúc nhiều dạng khuẩn lạc có kích thước và hình thái khác nhau (có cả đồng thời các khuẩn lạc dạng S, R và M). Mọc được ở nhiệt độ từ 5 - 42°C và ở môi trường có 3% NaCl.

B. pseudomallei không sinh sắc tố hoà tan. Nuôi cấy toả ra một mùi thơm đặc biệt giống như mùi nho (grape-like odor), mùi này còn tồn tại đến chừng nào vi khuẩn trên môi trường còn sống.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Oxidase và catalase (+). Trên môi trường OF, nhiều carbohydrat bị phân giải theo lối oxy hóa có sinh acid: arabinose, dulcitol, fructose, galactose, glucose, glycerol, lactose và mannitol; gelatinase, arginin dihydrolase và citrat Simmons (+); urease và trypthophanase (-) ; khử NO_3^- đến N_2. Di động mạnh bằng một chùm lông chỉ có ở một cực (Hình 72).

1.4. Đề kháng

B. pseudomallei sống tự do ở ngoài môi trường tự nhiên; người ta đã tìm thấy chúng trên các cánh đồng lưa nước ở vùng đông-nam châu Á. Sức chịu đựng với các điều kiện ngoại cảnh tương tự như *P. aeruginosa*.

1.5. Miễn dịch

Do vi khuẩn phân bố rộng rãi trên đồng ruộng, 30 - 50% nông dân khỏe mạnh sống trong vùng *B. pseudomallei* lưu hành có kháng thể chống vi khuẩn này. Khi bị mắc bệnh, kháng thể tăng cao và còn tồn tại vài tháng sau khi khỏi bệnh. Tuy vậy, kháng thể này không có vai trò bảo vệ, bệnh nhân có thể bị tái nhiễm hoặc tái phát một cách dễ dàng.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Gây bệnh thực nghiệm

B. pseudomallei có thể gây bệnh cho rất nhiều loài động vật: chuột lang, thỏ, ngựa, bò, chim. Chuột lang có thể bị mắc bệnh bằng nhiều đường khác nhau: chà xát vào da, tiêm vào cơ, tiêm phúc mạc hoặc khí dung. Trước đây người ta dùng chuột lang đực để gây bệnh thực nghiệm nhằm xác định *B. pseudomallei*: khi bị bệnh melioidosis, tinh hoàn chuột sưng to, gọi là hiện tượng Strauss. Bệnh melioidosis của súc vật có thể lây sang người.

2.2. Gây bệnh cho người

B. pseudomallei từ môi trường bên ngoài xâm nhập vào cơ thể chủ yếu qua những chỗ sây sát hoặc vết thương trên da. Tại chỗ xâm nhập, chúng gây thành các mụn mủ nhỏ, đôi khi gây thành một áp xe rất to. Ở những người mà sức đề kháng kém (suy giảm miễn dịch mắc phải hoặc tự nhiên, mắc các bệnh ác tính hoặc mạn tính - nhất là sỏi thận và đái đường; nghiện rượu, tiêm chích ma tuý) vi khuẩn thường vào máu, gây nên bệnh cảnh nặng nề của một nhiễm khuẩn huyết do vi khuẩn Gram âm. Từ máu, vi khuẩn đến các phủ tạng gây nên các áp xe nhỏ ở nhiều cơ quan, hay gặp là phổi, gan và lách. Tiến triển theo thời gian, nếu không được điều trị đúng, các áp xe nhỏ liên kết lại với nhau thành ổ áp xe lớn, gây nên các triệu chứng lâm sàng rất đa dạng ở nhiều nơi khác nhau và tưởng chừng như không có liên quan gì với nhau. Bệnh melioidosis có thể diễn biến cấp tính, bán cấp hoặc mạn tính. *B. pseudomallei* có thể sống trong các đại thực bào, đây có thể là lý do của những trường hợp bệnh tái phát.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Nuôi cấy

Tuỳ theo bệnh cảnh lâm sàng mà lấy các loại bệnh phẩm khác nhau: mủ (áp xe, mụn mủ), máu (nghi nhiễm khuẩn huyết), đờm (viêm phế quản, phổi), dịch (màng phổi, màng tim, màng não...). Những bệnh phẩm từ các ổ kín thì cấy vào các môi trường thông thường, không có chất ức chế (thạch thường, thạch máu, canh thang). Những bệnh phẩm có bội nhiễm thì cấy vào môi trường có chất ức chế của Ashdown (chất ức chế là gentamicin).

Xác định vi khuẩn căn cứ vào: hình thể và tính chất bắt màu của chúng (cầu trực khuẩn Gram âm, bắt màu đậm ở hai cực), hình thái khuẩn lạc (mặt nhăn nheo, khô), oxidase và catalase (+), có di động, chuyển hóa đường theo kiểu oxy hóa; citrat Simmons và arginin dihydrolase (+).

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

- Trong điều tra dịch tễ học: dùng phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động (IHA) với kháng nguyên thô.

– Trong chẩn đoán bệnh: dùng IHA kết hợp cùng ELISA với kháng nguyên là protein hoặc glycolipid tinh chế.

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Tăng cường sức đề kháng chung, giữ gìn vệ sinh, cố gắng tránh các tổn thương da khi làm việc trên các đồng lúa nước.

4.2. Điều trị

B. pseudomallei kháng gentamicin và ampicillin; nhậy cảm với tetracyclin, chloramphenicol, bactrim và đặc biệt là ceftazidim. Trong chọn lựa kháng sinh, cần lưu ý tới khả năng lẩn tránh của *B. pseudomallei* trong các tế bào.

Các biện pháp điều trị hỗ trợ (tháo mủ các ổ áp xe, tăng cường dinh dưỡng, điều trị các bệnh kèm theo và điều trị triệu chứng) có ý nghĩa rất lớn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Mô tả hình thái đặc trưng của trực khuẩn Whitmore?
2. Mô tả sắc tố đặc trưng của trực khuẩn mủ xanh và nêu giá trị của nó trong định danh vi khuẩn này?
3. Kể tên các bệnh do trực khuẩn mủ xanh và Whitmore gây ra?
4. Trình bày các phương pháp vi sinh vật chẩn đoán bệnh do trực khuẩn mủ xanh và Whitmore gây ra?
5. Nêu đặc điểm kháng thuốc kháng sinh và kể tên các kháng sinh dùng điều trị trực khuẩn mủ xanh và Whitmore?

VI KHUẨN DỊCH HẠCH

(Yersinia pestis)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm sinh học cơ bản của* Y. pestis *(hình thể đặc trưng, tính chất nuôi cấy, độc tố).*
2. *Phân tích dây chuyền dịch tễ học của vi khuẩn dịch hạch và ý nghĩa của nó.*
3. *Trình bày được các phương pháp vi sinh vật chẩn đoán các bệnh do* Y. pestis *gây ra.*
4. *Hiểu và kể được các phương pháp phòng bệnh dịch hạch, các kháng sinh điều trị bệnh dịch hạch.*

Yersinia pestis do nhà vi khuẩn học người Thuỵ Sỹ, tên là A.J.E Yersin, phân lập lần đầu tiên năm 1894 trong một vụ dịch hạch ở Hồng Kông. Năm 1896, Lehmann và Neumann đặt tên cho vi khuẩn này là *Bacterium pestis* (*pestis* = dịch hạch). Năm 1944, Van Loghen chuyển chúng sang giống *Yersinia* để ghi công của Yersin.

Yersinia pestis thuộc giống *Yersinia*, họ vi khuẩn đường ruột (*Enterobacteriaceae*). Giống *Yersinia* hiện nay có 10 loài, trong đó, 3 loài gây bệnh cho người quan trọng nhất là: *Y. pestis, Y. pseudotuberculosis* và *Y. enterocolitica.*

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Vi khuẩn dịch hạch có hình bầu dục (cầu trực khuẩn) nhỏ, kích thước 0,5 - 0,8 × 1 - 2 μm. Bắt màu Gram âm, đậm ở hai cực (Hình 70). Khi nhuộm bằng phương pháp Wayson, đặc điểm này thể hiện rõ hơn và là dấu hiệu có giá trị để chẩn đoán nhanh bệnh dịch hạch.



Hình 70. *Yersinia pestis* trong máu chuột

Y. pestis bắt màu đậm ở hai cực, bên cạnh các tế bào máu

Tuy nhiên, nếu nhuộm từ môi trường nuôi cấy (nhất là nuôi cấy già hoặc cấy chuyển nhiều lần) thì có thể gặp nhiều loại hình thể khác nhau (đa hình thái). Không sinh nha bào, có thể có vỏ khi nuôi cấy trên môi trường thích hợp ở 37°C hoặc khi tiêm truyền cho động vật thí nghiệm. Không có vỏ khi nuôi cấy ở 28°C.

1.2. Nuôi cấy

Y. pestis mọc được trên các môi trường nuôi cấy thông thường, nhưng chậm. Sau 48 giờ ở 28°C, đường kính khuẩn lạc khoảng 1 - 1,5 mm, bờ trải mỏng ra và không đều, bề mặt nhẵn hoặc xù xì, trung tâm lồi tạo nên hình ảnh trông giống như nửa chiếc vỏ trai úp xuống.

Trên môi trường lỏng, *Y. pestis* lúc đầu làm đục đều, dần dần tạo nên các khúm hình nhũ đá (stalactite) ở thành ống. Những khúm này, sau đó, rơi xuống đáy ống làm thành lắng cặn và môi trường trở nên tương đối trong. *Y. pestis* kỵ khí tuỳ tiện, nhiệt độ nuôi cấy thích hợp nhất là 28°C.

1.3. Tính chất hóa sinh

Y. pestis không di động ở bất cứ nhiệt độ nào. Đặc điểm này dùng để phân biệt nó với các *Yersinia* khác: không di động ở 37°C, nhưng di động ở 28°C hoặc thấp hơn. Chúng mang tất cả các đặc điểm chuyển hóa của *Enterobacteriaceae*, nhưng tính chất hóa sinh có xu hướng "trơ": không lên men sucrose, rhamnose, cellobiose và sorbitol; urease, indol, lysin và ornithin decarboxylase, arginin dihydrolase, citrat Simmons và H_2S đều âm tính. Lên men đường glucose nhưng không sinh hơi.

1.4. Đề kháng

Y. pestis dễ bị tiêu diệt bởi các tác nhân vật lý và hóa học. Ở 100°C, chúng bị tiêu diệt sau khoảng 1 phút. Trong thạch mềm, ở 4°C, chúng có thể sống tới 10 năm, nếu thạch không bị khô. Có 3 biến thể sinh học (biovars) liên quan đến phân bố bệnh theo vùng địa lý: *antiqua*, *medievalis* và *orientalis*. Phân biệt giữa 3 biến thể này như sau:

Tính chất	Antiqua	Medievalis	Orientalis
Lên men glycerol	+	+	-
Khử NO_2^-	-	+	+
Lên men melibiose	-	+	-
Phân bố	Châu Á, Phi	Iran, Nga	Khắp thế giới

1.5. Miễn dịch

Người mắc bệnh dịch hạch khỏi thì có miễn dịch cao đối với tái nhiễm. Ở trạng thái miễn dịch này, hiện tượng thực bào có vai trò quan trọng nhất. Hiện tượng này được thực hiện thông qua opsonin hóa nhằm vô hiệu hóa đặc tính kháng thực bào của vỏ vi khuẩn. Các kháng thể kháng F_1 và V-W cũng có vai trò bảo vệ.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Độc lực của *Y. pestis* liên quan đến nhiều yếu tố:

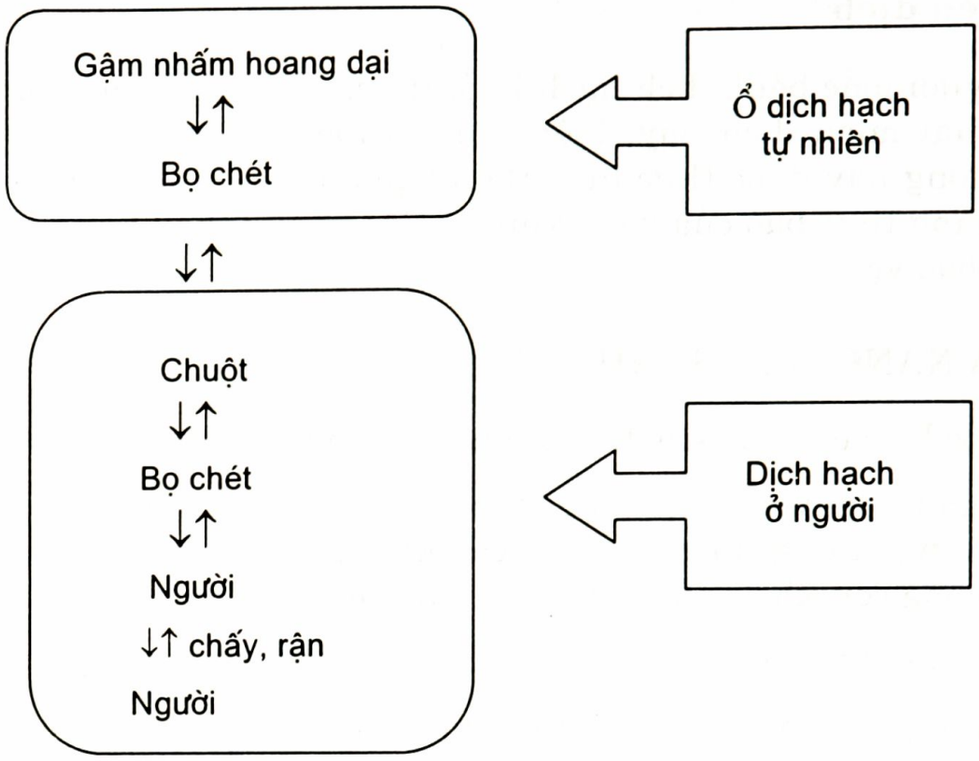
- Kháng nguyên F1 (không chịu nhiệt) và các kháng nguyên V, W: chỉ có ở những chủng độc; khi mất các kháng nguyên này, vi khuẩn dịch hạch không còn khả năng gây bệnh cho chuột thí nghiệm.
- Sinh sắc tố ở môi trường có hemin và khả năng hấp phụ đỏ congo.
- Sinh pesticin I và II. Những chủng sinh pesticin I thường đi kèm với sinh các yếu tố làm tan tơ huyết (fibrinolytic factors) và men coagulase.
- Độc tố gây độc cho chuột (murine toxin)
- Khả năng tổng hợp purin.

Một chủng vi khuẩn dịch hạch có độc lực mạnh thì thường có tất cả các yếu tố kể trên. Vi khuẩn dịch hạch là loại đa vật chủ; hơn 300 loài gậm nhấm có thể mắc bệnh dịch hạch. Mầm bệnh tồn tại trong tự nhiên ở các loài gậm nhấm hoang dại. Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể chủ yếu theo đường da, do côn trùng đốt hoặc do da có vết sây sát tiếp xúc trực tiếp với vật phẩm có vi khuẩn.

Môi giới trung gian truyền bệnh là bọ chét, chủ yếu là *Xenopsylla cheopis*. Bọ chét ký sinh trên chuột, chúng hút máu để sống. Khi vi khuẩn vào dạ dày của bọ chét thì chúng tiếp tục nhân lên và tạo nên một khối kết dính giống như tơ huyết. Những khối này dần dần gây tắc nghẽn một phần hoặc hoàn toàn ống tiêu hóa ở phần tiền dạ dày. Khi chuột bị bệnh chết, bọ chét nhanh chóng nhảy ra khỏi cơ thể chuột và đi tìm vật chủ mới để hút máu; nhưng mỗi lần hút máu, vì ống tiêu hóa đã bị tắc nghẽn nên máu ứa lại vật chủ. Vi khuẩn, bằng cách đó, đột nhập vào cơ thể.

Bệnh dịch hạch ở người có ba thể lâm sàng: thể hạch (thường gặp nhất), thể phổi và thể nhiễm khuẩn huyết; hai thể sau, bệnh cảnh lâm sàng rất nặng, tỷ lệ tử vong cao.

Dây chuyền dịch tễ học của bệnh dịch hạch được tóm tắt như sau:



Hình 71. Dây chuyền dịch tễ học của bệnh dịch hạch

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Nhuộm soi

Làm tiêu bản từ nước chọc hạch, nhuộm Gram hoặc Wayson, quan sát hình thể và tính chất bắt màu. Phương pháp này cho kết quả nhanh và có giá trị chẩn đoán cao nếu bệnh phẩm không bị bội nhiễm.

3.1.2. Miễn dịch huỳnh quang trực tiếp

Bệnh phẩm được phết vào lam kính, sau đó nhuộm với kháng thể dịch hạch đánh dấu huỳnh quang. Phương pháp này cũng cho kết quả nhanh và chính xác nhưng tốn kém và đòi hỏi các phương tiện đắt tiền.

3.1.3. Nuôi cấy, phân lập

Bệnh phẩm là nước chọc hạch, đờm hoặc máu tuỳ theo thể lâm sàng của bệnh. Nếu cần tìm vi khuẩn ở ngoài môi trường thì lấy bọ chét hoặc phủ tạng chuột nghiền ra làm bệnh phẩm. Vi khuẩn dịch hạch không thuộc loại khó nuôi cấy; những bệnh phẩm (loại không bội nhiễm) được cấy vào thạch máu hoặc thạch thường và canh thang, những bệnh phẩm bội nhiễm thì cấy vào môi trường có chất ức chế hoặc tiêm truyền động vật.

Xác định vi khuẩn căn cứ vào: hình thể (1.1), tính chất nuôi cấy (1.2), tính chất hóa sinh (1.3), tính chất gây bệnh thực nghiệm (3.1.4).

3.1.4. Tiêm truyền động vật

Tiêm dưới da chuột lang hoặc chuột nhắt trắng. Riêng bệnh phẩm là đờm hoặc nhớt họng, vì có quá nhiều loại vi khuẩn, đặc biệt là phế cầu, phải dùng phương pháp bôi bệnh phẩm vào mũi hoặc chà xát lên da. Thông thường, chuột chết trong khoảng từ 3 - 5 ngày. Tổn thương gồm: gan ứ máu nặng, lách sưng to, có nhiều nốt mủ trắng hoặc xám. Lấy lách, gan và hạch nghiền nhỏ để tìm vi khuẩn. Trong nhiều trường hợp, nhuộm máu tim hoặc vết ép các phủ tạng đã thấy nhiều vi khuẩn có hình thể điển hình của vi khuẩn dịch hạch. Tiêm truyền động vật cũng được dùng để xác định những vi khuẩn nghi ngờ khi đã phân lập được từ bệnh phẩm.

3.1.5. Tìm kháng nguyên F1 trong bệnh phẩm

Bệnh phẩm trước tiên được ủ với kháng huyết thanh F_1, sau đó cho hồng cầu gắn F_1 vào. Nếu không xảy ra ngưng kết là trong bệnh phẩm có F_1. Phương pháp này cho kết quả tương đối nhanh; tuy nhiên, kết quả có thể là âm tính giả nếu lượng kháng nguyên trong bệnh phẩm quá ít.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Dùng phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động để phát hiện kháng thể kháng F_1. Phương pháp này ít có ý nghĩa trên lâm sàng vì cho kết quả chậm, nhưng có giá trị trong điều tra dịch tễ học.

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Diệt chuột, diệt bọ chét nhằm cắt đứt dây chuyền dịch tễ học của bệnh. Nơi có chuột chết hàng loạt (dịch chuột) mà không giải thích được lý do, phải tiến hành phun ngay thuốc diệt bọ chét. Khi bệnh dịch hạch đã xảy ra, cần tổ chức uống kháng sinh (tetracyclin) dự phòng cho người nhà bệnh nhân, nhân dân vùng có chuột chết và các nhân viên y tế tiếp xúc với thể phổi. Cách ly bệnh nhân, chẩn đoán sớm và điều trị triệt để, đặc biệt là những trường hợp đầu tiên có nghi ngờ dịch hạch để có cơ sở tin cậy nhằm quyết định đúng đắn các biện pháp phòng chống khẩn cấp.

4.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Hiện nay có hai loại vacxin: vacxin sống và vacxin chết. Vacxin chết thì tiêm hai lần, gây miễn dịch được 6 tháng. Vacxin sống thì tiêm một lần, tuy có gây phản ứng mạnh hơn so với vacxin chết, nhưng gây miễn dịch nhanh (5-7

ngày) và thời gian miễn dịch kéo dài hơn (6 tháng đến 1 năm). Không tiêm vacxin một cách rộng rãi cho tất cả các đối tượng, chỉ tiêm cho cho những người đang sống ở những vùng có chỉ điểm dịch tễ học hoặc phải vào làm nhiệm vụ ở các vùng đó.

4.3. Điều trị

Vi khuẩn dịch hạch hiện nay vẫn nhậy cảm với nhiều loại kháng sinh thường dùng. Tuỳ theo thể lâm sàng mà người ta dùng streptomycin, tetracyclin và chloramphenicol đơn lẻ hoặc kết hợp giữa chúng. Cần phải nhấn mạnh rằng, dịch hạch là một bệnh nhiễm trùng, nhiễm độc cấp tính, nếu chỉ chú trọng tới kháng sinh liệu pháp thì vẫn chưa đủ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Mô tả và vẽ hình thể điển hình của vi khuẩn dịch hạch?
2. Trình bày được đặc điểm nuôi cấy của vi khuẩn dịch hạch?
3. Vẽ và phân tích dây chuyền dịch tễ học của vi khuẩn dịch hạch?
4. Trình bày các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật bệnh dịch hạch?
5. Kể và phân tích hai phương pháp phòng bệnh dịch hạch?
6. Kể tên các kháng sinh thường dùng để điều trị bệnh dịch hạch?

TRỰC KHUẨN THAN

(Bacillus anthracis)

MỤC TIÊU

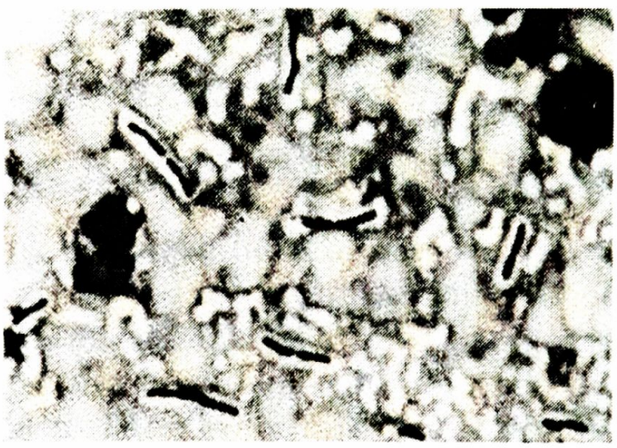
1. *Kể được các đặc điểm sinh học của trực khuẩn than.*
2. *Trình bày các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật bệnh than.*
3. *Viết được khả năng gây bệnh của trực khuẩn than.*
4. *Trình bày được các nguyên tắc phòng và điều trị bệnh than.*

Trực khuẩn than có tên khoa học là *Bacillus anthracis*. Giống *Bacillus* có nhiều loài, trong đó chỉ có *Bacillus anthracis* gây bệnh cho người.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Trong bệnh phẩm (nốt mủ, máu, phủ tạng), trực khuẩn than hình gậy, đầu vuông, không có lông, không di động, có nha bào, Gram dương, đứng riêng rẽ hoặc xếp thành từng chuỗi, thường có vỏ; dài từ 1 - 5 μm, rộng từ 1 - 2 μm. Nha bào có hình trứng hoặc hình trụ, đường kính khoảng 1 μm, thường ở trung tâm và không làm biến dạng thân vi khuẩn. Trong môi trường nuôi cấy, *B. anthracis* xếp thành chuỗi, không có vỏ, hình thành nha bào rất sớm.



Hình 72. Nha bào trực khuẩn than nhuộm từ bệnh phẩm lấy từ chuột lang thực nghiệm (ảnh kính hiển vi quang học)

1.2. Nuôi cấy

Trực khuẩn than hiếu khí tuyệt đối. Chúng mọc tốt trên các môi trường nuôi cấy thông thường ở nhiệt độ 35°C và pH từ 7-7,4. Trong môi trường lỏng, đáy ống có cặn bông và nước ở phía trên trong. Trên môi trường thạch, khuẩn lạc to, vàng nhạt và xù xì (dạng R); ở nhiệt độ 20-30°C, với sự có mặt của oxy, thì nha bào hình thành.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Trực khuẩn than lên men, không sinh hơi dextrin, glucose, levulose, maltose, saccharose, trehalose và cả salicin. Thuỷ phân amidon, không lên men lactose, galactose và arabinose. Chúng ly giải protein, hóa lỏng gelatin.

1.4. Khả năng đề kháng

Trực khuẩn than dễ bị chết ở nhiệt độ 38°C trong 1 giờ. Ở trạng thái nha bào, trực khuẩn than tồn tại rất lâu, nhất là trong đất; có thể tồn tại từ 20 - 30 năm. Tuy vậy chúng còn nhậy cảm với các chất sát trùng.

1.5. Độc tố

Độc tố rất yếu, gồm 2 yếu tố: yếu tố A là lipoprotein; yếu tố B là một protein. Hai yếu tố này kết hợp với nhau chặt chẽ, rất khó tách biệt. Độc tố gồm cả nội và ngoại độc tố. Tác dụng của nó gần giống như trực khuẩn Gram âm.

1.6. Các loại kháng nguyên

Trực khuẩn than có nhiều loại kháng nguyên. Kháng nguyên vỏ là polypeptid. Một kháng nguyên thân là polyosid và một kháng nguyên phức hợp hoà tan, có tác dụng gây độc và gây miễn dịch khi bào chế thành vacxin tiêm chủng.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Gây bệnh cho động vật

Trực khuẩn than gây bệnh chủ yếu cho các động vật ăn cỏ. Cừu, dê, trâu, bò và ngựa là những động vật dễ mắc bệnh than nhất. Đây là một bệnh nhiễm trùng cấp tính, hay gặp thể nhiễm khuẩn huyết và gây tử vong. Sau khi súc vật chết, dù được chôn sâu, nhưng nha bào của nó có thể lây lan trên mặt đất (do giun, mối đùn, đẩy lên) làm lây nhiễm cây cỏ. Súc vật ăn phải cỏ này sẽ mắc bệnh và chết.

2.2. Gây bệnh cho người

Trực khuẩn than là một mầm bệnh nguy hiểm của chiến tranh sinh học.

Những người tiếp xúc với động vật bị bệnh hoặc tiếp xúc với da lột của động vật bị bệnh rất có thể bị mắc bệnh than. Thường hay gặp 3 thể:

- Thể da: vi khuẩn xâm nhập vào da, tại chỗ xâm nhập, xuất hiện nốt phỏng, ở giữa có màu đen do hoại tử, gọi là nốt mủ ác tính. Bệnh tiến triển 24 - 36 giờ sau khi vi khuẩn xâm nhập vào da, hậu quả là tổn thương da hoại tử.

- Thể phổi: người bệnh hít phải nha bào do tiếp xúc với không khí bị nhiễm khuẩn, gây nên một viêm phổi nặng kèm theo viêm thận, nhiễm độc, có thể dẫn đến nhiễm khuẩn huyết và tử vong.
- Thể ruột: do ăn phải trực khuẩn than; thể này rất nặng, nhưng ít gặp.

2.3. Cơ chế gây bệnh

Sau khi trực khuẩn than xâm nhập vào cơ thể, nha bào bắt đầu phát triển và hình thành những trực khuẩn hoạt động, gây nên hiện tượng phù keo các tổ chức và xung huyết các mô. Trực khuẩn than đi tới các hạch lympho, lách rồi đến máu. Ở máu, chúng nhân lên nhanh chóng, gây nên nhiễm khuẩn huyết và xâm nhập vào các cơ quan, nhiều nhất là lách, tổ chức phổi.

2.4. Dịch tễ học

Bệnh than là bệnh của động vật lây sang người. Từ nguồn bệnh ở trong đất, xác súc vật chết hoặc do tiếp xúc trực tiếp với động vật bị bệnh hoặc ăn phải vi khuẩn hoặc hít phải không khí có vi khuẩn mà người bị mắc bệnh than. Hầu hết các nước trên thế giới đều coi bệnh than là bệnh nghề nghiệp bởi vì gặp hầu hết ở các đối tượng tiếp xúc với nguồn gây bệnh trong khi làm việc.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

3.1. Bệnh phẩm: các nốt mủ , đờm, máu...

3.2. Chẩn đoán trực tiếp

- Nhuộm soi: bằng phương pháp Gram, soi kính hiển vi quang học để quan sát vỏ, cách sắp xếp và tính chất bắt màu thuốc nhuộm.
- Nuôi cấy: cấy bệnh phẩm vào môi trường nuôi cấy thông thường, ủ ấm ở nhiệt độ 35°C, theo dõi trong vòng 24 - 48 giờ. Quan sát khuẩn lạc và thử các tính chất sinh vật hóa học.
- Cấy máu: đòi hỏi ở tất cả các trường hợp bệnh than ở người, song thường dương tính chậm, vì vậy cần theo dõi ít nhất là 1 tuần.

Tiêm cho động vật thí nghiệm: tiêm trực tiếp bệnh phẩm vào dưới da hoặc phúc mạc của chuột lang, chuột sẽ chết sau từ 24-72 giờ.

Làm phản ứng Ascoli: lấy một mảnh phủ tạng nghiền nhỏ, nát vụn, cho một ít nước muối sinh lý, đun sôi vài phút, lọc lấy nước trong. Nước lọc cho vào ống nghiệm rồi cho tiếp xúc với kháng huyết thanh đặc hiệu của trực khuẩn than. Sau 15 phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm, nếu có hiện tượng kết tủa là phản ứng dương tính có nghĩa là trong bệnh phẩm có trực khuẩn than.

3.3. Chẩn đoán gián tiếp

Có thể xác định tình trạng dị ứng ở bệnh nhân mắc bệnh than bằng cách tiêm vào trong da bệnh nhân (hoặc người đã khỏi bệnh) 0,1 ml chất gây dị ứng

(allergène), sau 24 - 48 giờ, xuất hiện một nốt viêm ban đỏ có đường kính khoảng 8 mm, biểu hiện phản ứng dương tính.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Nguyên tắc phòng bệnh

Nguyên tắc phòng bệnh chung:

- Đối với ngành thú y, cần phát hiện sớm các động vật bị bệnh than, cách ly và điều trị kịp thời. Trong trường hợp động vật bị chết, cần chôn sâu, phủ hóa chất như vôi bột; cần phải chôn xa nguồn nước, các bãi cỏ. Đối với các công nhân lò sát sinh, công nhân thuộc da, đóng giày, cần có bảo hộ lao động tốt và cơ sở phải đảm bảo vệ sinh môi trường.
- Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu:

Có hai loại vacxin phòng bệnh than cho người: loại vacxin sống giảm độc lực chứa nha bào của chủng *B. anthracis* không còn khả năng sinh vỏ. Đưa vào cơ thể bằng đường tiêm. Hiệu lực bảo vệ cho cơ thể khoảng 1 năm. Loại vacxin chứa các kháng nguyên chiết xuất từ môi trường nuôi cấy các chủng *B. anthracis* không có vỏ. Đưa vào cơ thể bằng đường tiêm. Hiệu lực bảo vệ của vacxin này tương đương với vacxin sống giảm độc lực.

4.2. Nguyên tắc điều trị

Các kháng sinh có tác dụng tốt đối với trực khuẩn than là penicillin, tetracyclin. Tác dụng tốt nhất là penicillin. Trong trường hợp vi khuẩn kháng penicillin thì nên chọn kháng sinh khác và nên kết hợp các loại kháng sinh thì kết quả tốt hơn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. So sánh đặc điểm sinh học của hai loài vi khuẩn: than và *Brucella*. Đường truyền bệnh của 2 loài vi khuẩn này như thế nào? Để phòng mắc bệnh than và bệnh brucellosis chúng ta nên làm gì?
2. Trình bày khả năng gây bệnh của trực khuẩn than và *Brucella*
3. Trình bày phương pháp chẩn đoán vi sinh học đối với vi khuẩn than và *Brucella* ?

VI KHUẨN BRUCELLA

MỤC TIÊU

1. *Kể được đặc điểm sinh học của* Brucella.
2. *Viết được khả năng gây bệnh của* Brucella.
3. *Nói được các phương pháp chẩn đoán vi sinh học.*
4. *Trình bày được các nguyên tắc phòng và điều trị bệnh do* Brucella *gây ra.*

Giống *Brucella* thuộc họ *Brucellaceae,* giống này gồm 6 loài: *B. abortus*, *B. canis, B. melitensis, B. neotomae, B. ovis* và *B. suis.*

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Brucella là trực khuẩn nhỏ, dài từ 0,5 - 1,5 μm, không di động, không sinh nha bào, đôi khi có vỏ. *Brucella* không bắt màu thuốc nhuộm Gram.

1.2. Nuôi cấy

Brucella hiếu khí tuyệt đối, phát triển kém trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Nhiệt độ thích hợp là 37°C, pH 6. Với *B. abortus,* khí trường nuôi cấy cần có từ 5-10% $C0_2$ thì vi khuẩn mới phát triển được.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Brucella không hóa lỏng gelatin và không làm đông huyết tương, làm kiềm hóa nhưng không làm đông sữa, không sinh indol trong nước pepton, có khả năng sinh H_2S, song số lượng nhiều hay ít tuỳ thuộc vào loài vi khuẩn. Khả năng thuỷ phân urê mạnh, nhưng cũng tuỳ thuộc vào loài. Lên men glucose không sinh hơi, các loại đường khác thì chuyển hóa chậm.

1.4. Khả năng đề kháng

Brucella nhậy cảm với sức nóng và các chất diệt khuẩn. Ở nhiệt độ 60°C, trong 1 giờ, đã diệt được vi khuẩn. Tuy vậy, khả năng sống của nó rất lớn cả trong môi trường nuôi cấy, cả trong môi trường bên ngoài (bùn, nước tiểu) có thể tồn tại vài tháng. Nhiệt độ thấp, *Brucella* có thể sống trong một thời gian

dài trong đất về mùa đông. Chúng có thể sống được một tuần trong sữa và nhiều tuần trong thịt.

1.5. Độc tố

Brucella không sinh ngoại độc tố nhưng có một nội độc tố gắn liền với thân vi khuẩn. Roux đã phân chia độc tố của *Brucella* thành 2 yếu tố: lipid vách gắn liền với kháng nguyên glucido-lipido-proteic; yếu tố này có ở tất cả các *Brucella*. Một yếu tố khác là protein nguyên tương, yếu tố này chỉ có ở các chủng độc.

1.6. Các loại kháng nguyên

Brucella có 2 loại kháng nguyên với tỷ lệ nhiều ít khác nhau tuỳ theo loài: kháng nguyên A và M. Kháng nguyên A có nhiều ở *B. abortus* và *B. suis*; kháng nguyên M có nhiều ở *B. melitensis*. Theo tính toán của Miles thì kháng nguyên A và M của các *Brucella* như sau:

B. melitensis A/M = 1/20; *B. abortus* A/M = 20/1; *B. suis* A/M= 2/1

1.7. Phân loại

Brucella được phân thành nhiều loài như *B. melitensis, B. abortus, B. suis, B. neotomae* và *B. ovis*. Các loài này được phân biệt dựa vào tỷ lệ hai phức hợp kháng nguyên A và M, các tính chất sinh vật hóa học như khả năng phát triển trong môi trường có chất ức chế (thionin, fucshin), sự đòi hỏi CO_2, khả năng sinh H_2S, ngưng kết với kháng huyết thanh đa giá và ngưng kết với phage Tbiliski.

2. MIỄN DỊCH

Bệnh Brucellosis gây ra được miễn dịch lâu dài, có nghĩa là những người đã mắc bệnh Brucellosis thì không bị mắc lại. Đó là miễn dịch chéo giữa nhiều loài *Brucella*. Miễn dịch chống *Brucella* chủ yếu là miễn dịch qua trung gian tế bào; lympho T và đại thực bào đóng vai trò chủ chốt trong cơ chế đề kháng của cơ thể.

3. KHẢ NĂNG, CƠ CHẾ GÂY BỆNH VÀ MIỄN DỊCH

3.1. Khả năng gây bệnh

– Gây bệnh cho động vật:

Brucella thực chất là vi khuẩn ký sinh ở động vật, trong điều kiện thuận lợi, chúng trở nên gây bệnh cho túc chủ. *Brucella* có khả năng gây bệnh cho nhiều loài động vật, song mỗi loài *Brucella* có vật chủ thích hợp hơn; ví dụ, *B. abortus* là bò, *B. suis* là lợn và *B. canis* là chó.

– Gây bệnh cho người:

Thời gian ủ bệnh từ 2-4 tuần lễ. Tiếp đến là sốt, mệt mỏi và đau vùng có tổn thương. Thời kỳ này cũng có thể dẫn tới bệnh Brucellosis cấp tính với nhiễm khuẩn huyết. Các ổ nhiễm khuẩn chủ yếu gặp ở khớp, các phủ tạng, bộ phận sinh dục hoặc ở màng não. Bệnh *Brucellosis* có thể xuất hiện sớm hoặc muộn (nhiều tháng hoặc vài năm) sau giai đoạn cấp tính. Thường thì bệnh nhân mắc bệnh *Brucellosis* mạn tính, triệu chứng không điển hình, chủ yếu là sốt nhẹ, kéo dài, mệt mỏi, đau nhiều hay ít ở vùng tổn thương (chủ yếu là các khớp xương), đặc biệt là có các dấu hiệu về thần kinh.

3.2. Cơ chế gây bệnh

Vi khuẩn *Brucella* xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hóa do ăn phải thức ăn bị nhiễm khuẩn, hoặc theo đường hô hấp do hít phải bụi có mang vi khuẩn, hoặc qua da do tiếp xúc trực tiếp với vật phẩm có mầm bệnh. Từ các đường xâm nhập khác nhau, *Brucella* đi vào hệ thống bạch huyết rồi vào máu; sau đó, *Brucella* đến các cơ quan như gan, lách..., tạo nên các ổ nhiễm khuẩn nguyên phát. Song song với giai đoạn này, cũng có thể có tình trạng cấp tính do *Brucella* đi vào máu gây nên bệnh cảnh nhiễm khuẩn huyết. Trong cơ thể, *Brucella* ký sinh nội bào, vì vậy gây nên tình trạng bệnh mạn tính, kéo dài.

3.3. Dịch tễ học

Bệnh *Brucellosis* thường xảy ra ở các loài động vật ăn cỏ như dê, cừu, bò, ngựa.... Vì vậy, ổ chứa *Brucella* chủ yếu ở các loài này. Trong các loài động vật mang mầm bệnh thì giống đực truyền sang cho giống cái và gây sẩy thai.

Người bị lây truyền từ động vật ốm hoặc từ phân, nước tiểu hoặc sữa của chúng.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

4.1. Bệnh phẩm: máu, mủ hoặc hạch trong trường hợp khó chẩn đoán.

4.2. Nuôi cấy

Bệnh phẩm được cấy vào môi trường đặc hoặc môi trường lỏng đặc biệt, có nhiều chất dinh dưỡng; khí trường 10% CO_2. Theo dõi 4 tuần, nếu không thấy vi khuẩn mọc mới được kết luận là âm tính.

4.3. Chẩn đoán huyết thanh

Làm phản ứng xác định kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân. Hiệu giá kháng thể tăng trong giai đoạn cấp tính của bệnh; thường tiến hành phản ứng từ 15-20 ngày kể từ khi mắc bệnh.

4.4. Phản ứng da

Dùng nước lọc canh khuẩn hoặc protein chiết xuất từ vi khuẩn tiêm vào trong da (0,1 ml). Trong 24 giờ, nơi tiêm nề đỏ, đường kính trên 40 mm là phản ứng dương tính.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh chung

- Cách ly hoặc giết các động vật bị nhiễm bệnh.
- Khử khuẩn sữa và các sản phẩm của sữa bằng phương pháp Pasteur.
- Tránh tiếp xúc với các gia súc đẻ non. Thận trọng khi xử lý các chất bài tiết và các phủ tạng súc vật bị ốm.

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu

Tiêm vacxin cho những đối tượng có nguy cơ mắc bệnh (người chăn nuôi súc vật, nhân viên thú y, công nhân lò sát sinh). Có hai loại vacxin (sống và chết). Ngoài việc tiêm phòng cho người, người ta còn tiêm phòng cho động vật.

6. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Trong bệnh Brucellosis cấp hoặc bán cấp, thường dùng kháng sinh phối hợp: tetracyclin và streptomycin. Đối với thể mạn tính, kháng sinh hầu như không có tác dụng, chủ yếu là giải mẫn cảm cho bệnh nhân bằng kháng nguyên liệu pháp (tiêm vacxin vào dưới da với các liều thấp).

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng, cơ chế gây bệnh của Brucella?
2. Trình các phương pháp chẩn đoán vi sinh học đối với vi khuẩn Brucella?
3. Trình bày nguyên tắc phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn Brucella gây nên?

LISTERIA MONOCYTOGENES

MỤC TIÊU

1. *Trình bày đặc điểm vi khuẩn, khả năng gây bệnh, chẩn đoán vi khuẩn học và điều trị.*

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

- Trực khuẩn Gram dương bé, sắp xếp như hình chữ nho giống với trực khuẩn bạch hầu.
- Soi tươi thấy di động hỗn loạn, đây là đặc điểm khác với trực khuẩn bạch hầu (không di động).
- Khuẩn lạc S màu xám, tan máu beta như một số liên cầu.
- Chứa dung huyết tố như streptolysin O và ở vách có chứa thành phần như LPS nội độc tố của vi khuẩn Gram âm và gây các triệu chứng như LPS.

2. GÂY BỆNH

Bệnh do *Listeria* chia làm hai loại:

- Thai nhi, sơ sinh và phụ nữ có thai: *Listeria* lây truyền qua rau thai hoặc trong khi sinh, dẫn tới đẻ non hoặc nhiễm khuẩn huyết hay viêm màng não cấp sau sinh từ tuần 1 đến tuần thứ 4. Mẹ bị nhiễm *Listeria* thường là không triệu chứng hoặc bệnh giống như cúm.
- Người lớn bị suy giảm miễn dịch nhiễm *L. monocytogenes* biểu hiện nhiễm khuẩn huyết hoặc viêm màng não. Các bệnh này thường gặp ở các bệnh nhân bị ung thư hoặc ghép thận.

3. MIỄN DỊCH

L. monocytogenes thuộc loại mầm bệnh nội tế bào, nhân lên trong bạch cầu đơn nhân và có thể tạo thành u hạt. Miễn dịch tế bào có tác dụng bảo vệ.

4. DỊCH TỄ HỌC

- Nguồn lây: *L. monocytogenes* tồn tại rộng rãi trong tự nhiên (động vật: sữa, phân; đất và rau sống).

- Đường lây: từ các nguồn lây chúng có thể xâm nhập vào cơ thể người do tiếp xúc, ăn sữa không vô trùng hoặc ăn rau sống. Gần đây nhiều tài liệu công bố là vi khuẩn này có thể *gây ngộ độc thức ăn.* Đường tiêu hóa cũng là nơi vi khuẩn này có thể tồn tại và gây nhiễm khuẩn nội sinh.

5. CHẨN ĐOÁN VI KHUẨN HỌC

- Lấy bệnh phẩm là nước não tuỷ hoặc máu hay phân tuỳ theo thể lâm sàng.
- Nhuộm Gram: trực khuẩn Gram dương bé. Soi tươi di động, đây là dấu hiệu quan trọng để phân biệt với *Corynebacterium.*
- Nuôi cấy trên môi trường thạch máu: khuẩn lạc bé, tan máu beta, màu xám.
- Xác định bằng tính chất lên men đường.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

- Phòng bệnh có nhiều khó khăn vì không có vacxin, chủ yếu là hạn chế tiếp xúc với nguồn lây và vệ sinh an toàn thực phẩm.
- Điều trị bằng penicillin hoặc erythromycin. Vi khuẩn này ít kháng thuốc kháng sinh.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các đặc điểm chủ yếu xác định *L. monocytogenes*?
2. So sánh các đặc điểm giữa bạch hầu và *L. monocytogenes*?
3. Trình bày các loại bệnh và đường lây bệnh của *L. monocytogenes*?

MỘT SỐ VI KHUẨN KỴ KHÍ CÓ NHA BÀO GÂY BỆNH

(Clostridia)

MỤC TIÊU

1. *Kể được các đặc điểm chung của vi khuẩn* Clostridia.
2. *Viết được cơ chế gây bệnh của vi khuẩn uốn ván, ngộ độc thịt và hoại thư.*
3. *Trình bày các phương pháp chẩn đoán vi sinh học đối với vi khuẩn uốn ván, ván, ngộ độc thịt và hoại thư.*
4. *Nói được các nguyên tắc phòng và điều trị bệnh uốn ván, ngộ độc thịt và hoại thư.*

Vi khuẩn kỵ khí là những vi khuẩn không thể sống được khi có mặt của oxy tự do, chúng sử dụng được các hợp chất dinh dưỡng nhờ có hệ thống enzym của chúng, đặc biệt là loại dehydrogenase. Các vi khuẩn kỵ khí có nha bào thuộc giống *Clostridia* bao gồm 4 loài gây bệnh quan trọng là: *C. tetani*, *C. botulinum*, *C. perfringens*, và *C. difficile.* Chúng có một số đặc điểm chung sau đây:

1. VỀ HÌNH THỂ

Gram dương, có nha bào, kỵ khí và di động.

2. ĐỘC TỐ: hầu hết các vi khuẩn kỵ khí có nha bào đều sinh ngoại độc tố.

3. KHẢ NĂNG ĐỀ KHÁNG: các vi khuẩn kỵ khí khi đã hình thành nha bào khi ra ngoại cảnh đều có sức đề kháng tốt.

4. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH: các vi khuẩn *Clostridia* đóng vai trò gây bệnh quan trọng ở người. Chúng có thể gây ngộ độc thức ăn (*C. botulinum*, *C. difficile*) hoặc tác động thần kinh (*C. tetani*) hoặc gây hoại thư (*C. perfringens*).

5. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC: thường ít áp dụng vì bệnh xẩy ra cấp tính, tuy vậy trong trường hợp cần thiết, có thể tiến hành chẩn đoán vi sinh nhưng ít có giá trị.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ: phòng bệnh đặc hiệu là tiêm vacxin cho những đối tượng có nguy cơ mắc bệnh. Trong những trường hợp khẩn cấp, có thể dùng kháng huyết thanh để phòng bệnh nhưng sau đó phải tiêm vacxin để tạo miễn dịch củng cố. Điều trị chủ yếu dùng kháng huyết thanh để trung hoà độc tố song song với dùng kháng sinh để diệt mầm bệnh.

TRỰC KHUẨN UỐN VÁN

(Clostridium tetani)

Theo cách sắp xếp của Tổ chức Y tế Thế giới thì bệnh uốn ván xếp vào loại bệnh từ động vật truyền cho người.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Trực khuẩn thẳng và mảnh, dài từ 3-4 μm, rộng khoảng 0,4 μm, không có vỏ, có lông và di động, bắt màu Gram dương. Khi gặp điều kiện không thuận lợi thì trực khuẩn hình thành nha bào.



Hình 73. Trực khuẩn uốn ván nhuộm từ nuôi cấy (kính hiển vi quang học)

1.2. Nuôi cấy

Trực khuẩn uốn ván kỵ khí tuyệt đối, phát triển tốt trên môi trường thông thường, bởi vì trực khuẩn uốn ván không cần nguồn dinh dưỡng lớn do chuyển hóa đơn giản. Ở nhiệt độ 37°C và pH = 7 và kỵ khí tuyệt đối là điều kiện thuận lợi nhất cho trực khuẩn uốn ván phát triển.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Trực khuẩn uốn ván làm lỏng gelatin chậm, không làm đông sữa, không phân giải protein, sinh indol, lên men yếu các loại đường: arabinose, galactose, lactose và sucrose. Trong môi trường canh thang glucose, trực khuẩn uốn ván sinh ra axeton. Nó không chuyển hóa nitrat thành nitrit, nhưng có khả năng gây nên tan máu.

1.4. Khả năng đề kháng

Trực khuẩn uốn ván có thể chết ở nhiệt độ 56°C nhưng ở thể nha bào thì sự tồn tại của nó ở nhiệt độ 120°C trong vòng 30 phút mới chết. Nha bào có thể tồn tại trong rất nhiều năm ở môi trường bên ngoài.

1.5. Độc tố

Độc tố của trực khuẩn uốn ván là một ngoại độc tố, bản chất là protein, có trọng lượng phân tử vào khoảng 68.000 dalton, bao gồm một số lượng lớn acid amin. Độc tố uốn ván có hai loại: độc tố của trực khuẩn uốn ván bắt màu

Gram và độc tố của những trực khuẩn uốn ván không bắt màu Gram. Độc tố của những trực khuẩn uốn ván bắt màu Gram có độc tính rất cao. Độc tố này gồm hai phần:

– Tetanolysin: tác dụng làm tan hồng cầu của thỏ, người và ngựa, gây hoại tử ít. Độc tố này có vai trò rất phụ trong gây bệnh.

– Tetanospasmin: là độc tố thần kinh. Phần độc tố này gây nên những triệu chứng đặc hiệu của bệnh uốn ván. Đây là một độc tố không chịu nhiệt, bị bất hoạt ở nhiệt độ 65°C sau 5 phút và bị tiêu huỷ nhanh chóng bởi men proteinase, đặc biệt là dịch tiêu hóa. Đây là loại độc tố có tính kháng nguyên mạnh, vì vậy có thể dùng để sản xuất vacxin phòng bệnh.

1.6. Các loại kháng nguyên

Trực khuẩn uốn ván bao gồm kháng nguyên H và O. Kháng nguyên H là kháng nguyên lông, được chia thành 10 nhóm huyết thanh H. Tất cả các loài trực khuẩn uốn ván đều có kháng nguyên O chịu nhiệt chung với nhiều hoặc tất cả các týp kháng nguyên.

2. MIỄN DỊCH

Một người mẹ mang thai được tiêm vacxin uốn ván, sau khi miễn dịch hình thành thì truyền được cho thai nhi qua rau thai và sau khi sinh, miễn dịch của người mẹ cũng được truyền qua sữa non và sữa.

3. KHẢ NĂNG VÀ CƠ CHẾ GÂY BỆNH, DỊCH TỄ HỌC

3.1. Khả năng gây bệnh

– Gây bệnh cho động vật: trực khuẩn uốn ván sống hoại sinh trong ruột người, bò và một số động vật nhai lại khác. Nó sống lâu trong đất, đặc biệt là đất ẩm ướt. Trực khuẩn uốn ván thường gây bệnh cho các loài động vật có vú như bò, ngựa, cừu, chó, mèo và một số động vật nhỏ như thỏ, chuột lang, chuột nhắt.

– Gây bệnh cho người: bệnh uốn ván ở người là một hiện tượng nhiễm độc tố gây nên bởi sự xuyên qua tổ chức. Thời gian nung bệnh từ 5 - 10 ngày, đôi khi lâu hơn. Triệu chứng đầu tiên là đau và căng cơ ở nơi bị thương, dấu hiệu này bệnh nhân thường bỏ qua. Sau đó, triệu chứng xuất hiện rõ rệt. Đầu tiên là cứng hàm do cơ nhai bị co cứng, sau đó tới cơ mặt. Vì vậy bệnh nhân há mồm khó, các cơ mặt co kéo làm cho nét mặt bệnh nhân thay đổi hẳn. Tiếp đến là tổn thương các cơ gáy, cơ lưng, cơ thành ngực, cơ bụng và các cơ chi làm cho lưng và cổ bệnh nhân bị uốn cong, thân chỉ tiếp xúc với giường bởi gót chân, đầu và mông khi lên cơn; vì vậy gọi là bệnh uốn ván.

Giai đoạn cuối của bệnh, sự co thắt cơ lan rộng ra cơ bụng và cơ hoành làm cho bệnh nhân nuốt và thở khó khăn, chức năng hô hấp và tuần hoàn bị rối loạn. Triệu chứng co giật có thể xảy ra ở những nhóm cơ khác nhau, có khi

dẫn đến đứt cơ và sai khớp xương. Những cơn co giật như vậy làm bệnh nhân vô cùng đau đớn. Mặc dầu vậy, bệnh nhân hoàn toàn tỉnh táo cho đến lúc chết. Bệnh nhân thường chết trong tình trạng suy hô hấp cấp tính. Độc tố thần kinh cũng làm cho nhiệt độ bệnh nhân tăng cao, có khi lên đến 41°C, mạch nhanh từ 150 đến 180 lần/phút, huyết áp giảm, nhịp thở nhanh và nông. Ngoài ra còn thấy thay đổi một số thành phần trong máu như kali giảm, đường huyết tăng... gây mất thăng bằng kiềm - toan trong cơ thể.

3.2. Cơ chế gây bệnh

Trực khuẩn uốn ván không xâm nhập tổ chức mà nó sống ở trong vết thương, tại đó trực khuẩn uốn ván sinh ra ngoại độ tố. Độc tố uốn ván vào trong cơ thể bằng nhiều đường khác nhau như: đường máu, bạch huyết, thần kinh, nước não tuỷ... Trong cơ thể chỉ có tổ chức não tuỷ và cơ tim là có khả năng cố định được độc tố uốn ván.

3.3. Dịch tễ học

Bệnh uốn ván là một bệnh nhiễm độc độc tố, thường căn nguyên là trực khuẩn uốn ván hoặc nha bào uốn ván từ đất hoặc từ bụi than xâm nhập vào cơ thể người và động vật.

Đa số các động vật, đặc biệt là ngựa, cừu, bò, lợn ngay cả chó, mèo, thỏ, chuột lang... có thể có vi khuẩn uốn ván ký sinh trong ruột của chúng. Chính vì vậy, trực khuẩn uốn ván có khả năng lây lan ở môi trường bên ngoài; từ môi trường bên ngoài, chúng vào cơ thể con người chủ yếu qua các vết thương, đặc biệt là vết thương sâu, kín.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

Nói chung để chẩn đoán bệnh uốn ván, người ta dựa chủ yếu vào các triệu chứng lâm sàng. Nhuộm bệnh phẩm để xác định hình thể vi khuẩn dưới kính hiển vi rất ít có giá trị.

Bệnh phẩm: thường là mủ, chất xuất tiết của vết thương, đôi khi có thể lấy các mẫu tổ chức bị dập nát.

Nuôi cấy: bệnh phẩm được nuôi cấy vào môi trường canh thang V.F (Viande - Foie) hoặc canh thang gan cục - glucose hoặc môi trường Rosenow, ủ ấm 37°C trong vòng 4 - 5 ngày; quan sát khuẩn lạc, nhuộm khuẩn lạc bằng phương pháp nhuộm Gram để xác định hình thể dưới kính hiển vi quang học.

Tiêm súc vật thí nghiệm: động vật thí nghiệm tốt nhất là chuột lang hoặc chuột nhắt trắng. Thực nghiệm được tiến hành như sau: nghiền bệnh phẩm cho nát, cho vào 1 ml canh thang vô khuẩn, lắc đều, ly tâm, lấy 0,25 ml dịch nổi ly tâm tiêm vào dưới da. Trong trường hợp dương tính, sau 48 giờ sẽ xuất hiện hiện tượng uốn ván điển hình: co cứng các cơ; sau 48 giờ thí nghiệm, con vật bị chết.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh

– Nguyên tắc phòng bệnh chung: vệ sinh môi trường, nhất là xử lý phân gia súc là rất quan trọng vì đây là nguồn làm ô nhiễm môi trường. Những trường hợp vết thương có khả năng nhiễm trực khuẩn uốn ván cần phải xử lý ngoại khoa cẩn thận như rửa sạch vết thương, rạch rộng, cắt lọc các tổ chức bị dập nát.... và tiêm kháng huyết thanh chống uốn ván (serum antitetani = SAT).

– Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu: đối với các trường hợp nghi có khả năng nhiễm trực khuẩn uốn ván như vết thương chiến tranh, tai nạn giao thông, tai nạn lao động, vết thương do chó, mèo, chuột... cắn, cần được rửa sạch vết thương và tiêm vacxin phòng bệnh uốn ván.

Đối với các nước còn có uốn ván sơ sinh, phụ nữ có thai, phụ nữ ở độ tuổi sinh đẻ đều được tiêm vacxin uốn ván. Phụ nữ có thai được tiêm ba lần (ba mũi) vào những tháng sớm nhất, các mũi cách nhau 4 tuần lễ.

5.2. Nguyên tắc điều trị

Điều trị uốn ván thường tập trung giải quyết một số vấn đề cơ bản sau đây:

– Xử lý vết thương và trung hoà độc tố uốn ván càng sớm càng tốt. Thông thường, người ta dùng từ 100.000 - 200.000 đơn vị SAT.

– Chống co giật bằng các thuốc an thần, giãn cơ và tránh mọi kích thích thần kinh bằng cơ học như các thao tác tiêm truyền, cho ăn; cho bệnh nhân nằm ở phòng yên tĩnh.

– Dùng kháng sinh để diệt mầm bệnh.

– Có chế độ hộ lý, chăm sóc đặc biệt để đề phòng bệnh nhân bị loét.

TRỰC KHUẨN GÂY NGỘ ĐỘC THỊT

(Clostridium botulinum)

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Trực khuẩn thẳng, dài từ 4-8 μm, rộng từ 0,5 - 0,1 μm, hai đầu tròn, không có vỏ, có lông và di động chậm. Nha bào của trực khuẩn hình trứng.

1.2. Nuôi cấy

Kỵ khí tuyệt đối, nhiệt độ thích hợp từ 24 - 33°C với pH là 7,0. Sự phát triển của trực khuẩn ngộ độc thịt tốt nhất khi có CO_2. Trong môi trường lỏng,

trực khuẩn phát triển mạnh, sinh H_2S, sinh hơi, có mùi khó chịu; trong thạch sâu, khuẩn lạc nhỏ, thường làm nứt thạch.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Trực khuẩn làm hóa lỏng nhanh gelatin, đông và tiêu sữa chậm. Không sinh indol nhưng sinh H_2S, và NH_3. Lên men sinh acid và hơi đối với adonitol, dextrin, galactose, glucose, glycerol, lactose, levulose, maltose và salixin, gây tan máu hoàn toàn.

1.4. Khả năng đề kháng

Nha bào có sức đề kháng rất cao, ở nhiệt độ bình thường nó sống được nhiều năm, ở nhiệt độ 110°C trong 10 phút chưa đủ để diệt nó. Nếu sấy ướt 115°C trong 4 phút thì mới diệt được 80% nha bào, 8 phút mới diệt được 95%, phải ở nhiệt độ 120°C trong vòng 10 phút mới diệt được hoàn toàn nha bào.

1.5. Độc tố

Trực khuẩn ngộ độc thịt có khả năng sinh độc tố rất mạnh trong thực phẩm và cả trong môi trường nuôi cấy nhân tạo, khi có khí trường CO_2 thích hợp.

Độc tố của trực khuẩn là ngoại độc tố không chịu nhiệt, bản chất là protein. Độc tố gây bệnh ngộ độc thịt có độc tính rất cao, chỉ cần 0,035 mg độc tố đã đủ giết chết được một người, nhưng dễ bị mất hoạt tính bởi nhiệt độ 65°C trong 5 phút. Tuy vậy độc tố của trực khuẩn ngộ độc thịt không bị phá huỷ bởi men tiêu hóa.

1.6. Các loại kháng nguyên

Dựa vào phản ứng ngưng kết, kết tủa, kết hợp bổ thể, có thể xác định các týp huyết thanh của trực khuẩn ngộ độc thịt gồm týp A và 4 nhóm huyết thanh của týp B; còn týp C, D, F chưa phân định rõ, týp E cũng được chia thành 3 týp huyết thanh.

2. MIỄN DỊCH

Trong bệnh ngộ độc thịt, miễn dịch dịch thể không bền vững, không tồn tại lâu.

3. KHẢ NĂNG VÀ CƠ CHẾ GÂY BỆNH, DỊCH TỄ HỌC

3.1. Khả năng gây bệnh

Biểu hiện lâm sàng: bệnh nhân mắc bệnh khi ăn phải thức ăn có nhiễm khuẩn. Thời kỳ ủ bệnh từ 6 đến 8 giờ, nhưng có khi tới 8 đến 10 ngày. Sau thời kỳ ủ bệnh, bệnh nhân thấy đau bụng vùng thượng vị, nôn mửa, ỉa chảy (có khi

táo bón). Đồng thời có biểu hiện thần kinh như trông không rõ, nhìn đôi, có khi không nhìn thấy gì, nhận thức về sự việc không minh bạch, nhức đầu, choáng váng. Ngoài ra có thể gây rối loạn thần kinh cơ: gây liệt đối xứng hoặc không. Trong giai đoạn cuối của bệnh, nếu không được điều trị kịp thời, bệnh nhân khó thở, thở nhanh nông và cuối cùng chết do ngạt thở. Một số trường hợp bệnh nhân vẫn tỉnh táo cho đến lúc chết. Trong những trường hợp nặng, nếu khỏi có thể để lại di chứng.

3.2. Cơ chế gây bệnh

Bệnh ngộ độc thịt là một loại bệnh nhiễm khuẩn, nhiễm độc. Cơ thể bị bệnh có thể do ăn phải độc tố có sẵn trong thức ăn hoặc ăn phải độc tố vừa tiết ra ở đường tiêu hóa và các mô do vi khuẩn mới xâm nhập vào. Khi vào dạ dày, độc tố không bị dịch vị phá huỷ, độc tố ngấm nhanh vào máu và phân tán khắp cơ thể, vào các tế bào của các mô khác nhau, trước hết vào tế bào của hệ thần kinh trung ương rồi gây ra những biểu hiện lâm sàng phát sinh từ hành tuỷ.

3.3. Dịch tễ học

- Trực khuẩn ngộ độc thịt có thể tồn tại trong đất và nhiễm vào thực phẩm nếu quá trình sản xuất và bảo quản không đảm bảo vệ sinh.
- Tất cả các loài động vật máu nóng đều cảm nhiễm với trực khuẩn ngộ độc thịt (ngựa là loài cảm nhiễm nhất) và đều có khả năng lây bệnh cho người.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: chất nôn, dịch rửa dạ dày, nếu còn thức ăn mà trước đó bệnh nhân đã ăn là tốt nhất. Cho bệnh phẩm vào nước muối sinh lý vô khuẩn, ly tâm lấy cặn.
- Nuôi cấy: cặn ly tâm được cấy vào môi trường canh thang V.F hoặc V.L glucose. Đun nóng các ống môi trường ở nhiệt độ 100°C trong vài phút sau đó cấy bệnh phẩm rồi ủ ấm ở nhiệt độ 33°C từ 3 - 4 ngày, đưa ra quan sát các tính chất mọc của trực khuẩn ngộ độc thịt.
- Tiêm cho động vật thí nghiệm: người ta lấy bệnh phẩm hoặc canh thang (sau khi nuôi cấy và ủ ấm 33°C trong 3 - 4 ngày) ly tâm, rồi lấy nước nổi tiêm cho chuột nhắt trắng. Nếu trong thực phẩm có độc tố hoặc trong nuôi cấy trực khuẩn đã tiết ra độc tố thì chuột nhắt trắng bị liệt rất điển hình và sẽ chết.

4.2. Chẩn đoán huyết thanh học

Phương pháp chẩn đoán huyết thanh học người ta ít áp dụng vì ít có giá trị.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh chung

Cần quan tâm đến khâu bảo quản và chế biến thực phẩm hợp vệ sinh. Thức ăn hàng ngày cần được đun nấu kỹ.

5.2 Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu: tiêm phòng cho những đối tượng có nguy cơ mắc bệnh bằng giải độc tố ngộ độc thịt. Tuy vậy, loại vacxin này hiện nay không được thông dụng vì giá thành đắt.

6. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Khi phát hiện bệnh nhân có nguy cơ ngộ độc thịt thì cần tiến hành rửa dạ dày hoặc tìm mọi biện pháp cho bệnh nhân nôn hết thức ăn có trong dạ dày. Đồng thời tiêm huyết thanh kháng độc tố ngộ độc thịt, tốt nhất là dùng loại đa giá (polyvalent). Ngoài ra còn phải điều trị phối hợp với các thuốc chống trụy tim mạch, nâng cao thể trạng cho bệnh nhân.

CÁC VI KHUẨN GÂY HOẠI THƯ SINH HƠI

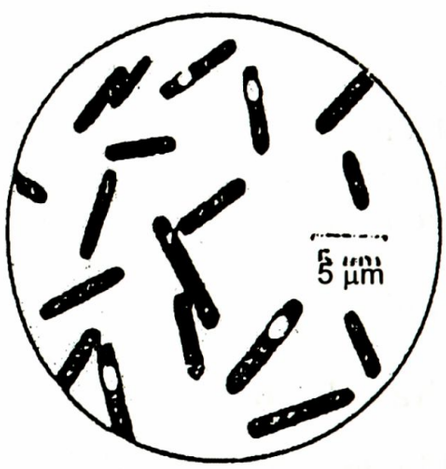
Đây là nhóm vi khuẩn kỵ khí, sinh nha bào, giống nhau về mặt hình thể và tính chất gây ra nhiễm khuẩn và nhiễm độc ở các vết thương. Thương tổn chủ yếu gây ra cho các tổ chức và tiến triển rất dữ dội. Nhóm vi khuẩn này còn có thể gây ra viêm ruột thừa, viêm gan mật, viêm ruột, viêm màng bụng, viêm do chấn thương ở não tuỷ, do sảy thai và nhiễm độc thức ăn.

Trong số các vi khuẩn gây hoại thư sinh hơi, có ba loài thường hay phối hợp với nhau gây thối rữa tổ chức và gây sinh hơi là *C. perfringens, C. septicum* và *C. novyi.*

1. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

1.1. Hình thái

Trực khuẩn thẳng, ngắn, dài từ 3 - 4 μm, rộng từ 1 - 1,5 μm; hai đầu tròn, có vỏ, không có lông và không di động, bắt màu Gram dương.



Hình 74. Clostridium perfringens

1.2. Nuôi cấy

Vi khuẩn kỵ khí tuyệt đối. Phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Nhiệt độ thích hợp và 37°C, pH 7,6.

Trên thạch Veillon, khuẩn lạc hình hạt đậu. Trong canh thang gan cục, vi khuẩn phát triển làm đục đều. Trong môi trường có gelatin, làm lỏng gelatin chậm. Trên các môi trường có đường glucose, lactose, sucrose hoặc maltose, vi khuẩn chuyển hóa nhanh và có sinh hơi.

1.3. Độc tố

C. perfringens có 6 týp độc tố, đánh dấu bằng các chữ cái A, B, C, D, E, F. Trong số này, chỉ có týp A gây bệnh cho người, còn các týp khác thì gây bệnh cho động vật. Độc tố A không phải là một chất đơn thuần mà bao gồm nhiều phân hóa tố khác nhau, đáng chú ý nhất là các phân hóa tố sau đây:

- α toxin: là phân hóa tố kiểu lecithinase, chúng phân giải lecithin; gây tan hồng cầu, hoại tử các tổ chức phần mềm.
- θ toxin: là độc tố quan trọng của *C. perfringens*. Chúng phá huỷ rất nhanh các tổ chức nếu đảm bảo môi trường kỵ khí và ít oxy tự do. Chúng không phân giải lecithin, nhưng cũng có khả năng làm tan hồng cầu và gây liệt các chức phận tim.
- μ toxin: là độc tố giống như hyaluronidase và có khả năng khuyếch tán, làm huỷ hoại tổ chức liên kết giữa các mô.
- β, γ, δ toxin: là những độc tố yếu, gây chết, cũng có khả năng gây hoại tử tổ chức và gây tan máu. Độc tố của *C. perfringens* dưới tác dụng của formol 0,4% ở 37°C, trong 8 ngày có thể tạo thành giải độc tố.

2. CLOSTRIDIUM SEPTICUM

Vi khuẩn này là một tác nhân gây hoại thư sinh hơi. Về mặt hình thái, chúng chỉ khác các vi khuẩn hoại thư sinh hơi khác là có lông và có khả năng di động. Trong bệnh phẩm, có khi đứng thành chuỗi.

Các môi trường dùng để nuôi cấy *C. perfringens* có thể dùng để nuôi cấy *C. septicum*. *C. septicum* lên men có sinh hơi dextrin, galactose, glucose, lactose, levulose, sucrose và maltose.

Trên môi trường thạch máu, *C. septicum* có khả năng gây tan máu. Chúng có một độc tố chịu nhiệt, bản chất là protein, gồm 4 yếu tố:

- Độc tố α là yếu tố gây chết, hoại tử và gây tan máu, đây là một yếu tố đặc hiệu.
- Độc tố β là một desoxyribonuclease.
- Độc tố γ là một hyaluronidase.

– Độc tố δ là một yếu tố gây tan máu yếu.

Độc tố của *C. septicum* dưới tác dụng của sức nóng và formol 0,4%, có thể tạo thành giải độc tố. *C. septicum* chỉ có một týp do cấu trúc đơn giản.

3. CLOSTRIDIUM NOVYI

Về tính chất sinh vật hóa học, *C. novyi* giống *C. oedematiens*. Các môi trường nhân tạo dùng để nuôi cấy *C. perfringens* và *C. septicum* cũng có thể dùng để nuôi cấy *C. novyi*, song vi khuẩn này phát triển kém hơn.

C. novyi lên men và sinh hơi các loại đường glucose, galactose, lactose, levulose. Hóa lỏng gelatin chậm, không sinh indol, H_2S và urease.

Độc tố của *C. novyi* là một phức hợp gồm nhiều yếu tố: gây chết, hoại tử, tan máu, đông huyết tương.... Cũng giống như các vi khuẩn đã nêu ở trên, dưới tác dụng của sức nóng và formol, độc tố của *C. novyi* có thể trở thành giải độc tố.

4. HÌNH ẢNH LÂM SÀNG

Bệnh hoại thư sinh hơi là một bệnh không lây. Trong cơ chế gây bệnh của hoại thư sinh hơi, phải có một số điều kiện nhất định như nơi có vết thương dập nát, nhiều ngõ ngách, tình trạng chống đỡ của cơ thể kém.

– Triệu chứng đầu tiên là đau. Đau tăng nhanh và làm cho người bệnh khó chịu, da bị căng, bệnh nhân có cảm giác là da càng ngày càng bị thắt chặt.

– Da nơi tổn thương có thể trắng, có khi lại đỏ hoặc tái xám hoặc xanh; trông da ở vết thương như màu da chết. Sờ lên da có tiếng kêu lạo xạo do có hiện tượng sinh hơi. Chất tiết từ vết thương là những giọt mỡ và tổ chức bị chết, đôi khi có bọt hơi. Toàn thân có dấu hiệu nhiễm độc.

5. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

Chẩn đoán bệnh hoại thư sinh hơi chủ yếu dựa vào lâm sàng, nhưng trong một số trường hợp cần thiết, có thể chẩn đoán vi sinh vật để khẳng định chính xác căn nguyên.

5.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm có thể là chất tiết ở vết thương, mủ, tổ chức hoại tử hoặc máu trong trường hợp nhiễm khuẩn huyết, nước tiểu trong viêm gan - thận hoặc phân trong trường hợp nhiễm độc thức ăn.

5.2. Nhuộm, soi trực tiếp

Có thể nhuộm Gram hoặc nhuộm xanh methylen; soi kính thấy các trực khuẩn ngắn, bắt màu Gram dương, có vỏ, hai đầu bằng giống như bị cắt.

5.3. Nuôi cấy

Bệnh phẩm được cho vào một ít nước muối sinh lý vô khuẩn, một phần cấy vào môi trường V.F hoặc môi trường V.L glucose 0,2%, phần còn lại cấy vào môi trường Rosenow. Đối với trực khuẩn *C. perfringens* thường cấy vào môi trường Wilson-Blair. Theo dõi ở nhiệt độ 37 °C từ 24 - 48 giờ. Trong trường hợp nghi ngờ, có thể theo dõi lâu hơn để quan sát các tính chất của vi khuẩn trên các môi trường nuôi cấy.

5.4. Tiêm truyền súc vật

Trộn bệnh phẩm vào nước muối sinh lý (khoảng 1 ml), đun nóng 100°C trong 3 phút, để nguội, tiêm vào bắp thịt của chuột lang. Theo dõi chuột lang, khi chuột bị bệnh, nơi tiêm bị viêm và có hiện tượng sinh hơi hoặc chuột bị nhiễm khuẩn huyết.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

6.1. Nguyên tắc phòng bệnh

- Nguyên tắc phòng bệnh chung: xử lý vết thương bằng ngoại khoa như cắt lọc và rửa vết thương thật sạch.
- Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu: kháng độc tố giữ vai trò rất quan trọng trong phòng bệnh, nhất là các vết thương dập nát nhiều.

6.2. Nguyên tắc điều trị

Ngoài việc xử lý vết thương bằng ngoại khoa, có thể dùng kháng độc tố để điều trị. Thường tiêm huyết thanh nhỏ giọt tĩnh mạch từ 18.000 đến 20.000 đơn vị kháng độc tố. Để diệt mầm bệnh, cần dùng kháng sinh.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các đặc điểm chung của *Clostridia* gây bệnh.
2. Giải thích các cơ chế gây bệnh của các vi khuẩn: uốn ván, hoại thư, và ngộ độc thịt?
3. Trình bày nguyên tắc phòng các bệnh do *Clostridia* gây ra.
4. Viết nguyên tắc điều trị các bệnh do *Clostridia* gây ra.
5. Kể tên tiêu chuẩn xác định vi khuẩn uốn ván, hoại thư, và ngộ độc thịt.

CÁC VI KHUẨN KỴ KHÍ KHÔNG SINH NHA BÀO

MỤC TIÊU

1. *Trình bày các đặc điểm chung và nguyên tắc điều trị các bệnh do các vi khuẩn kỵ khí không sinh nha bào?*
2. *Trình bày đặc điểm và khả năng gây bệnh của* Bacteroides*?*

Ngoài các loài vi khuẩn kỵ khí có nha bào thuộc tộc *Clostridium*, còn bao gồm nhiều tộc vi khuẩn kỵ khí không sinh nha bào và có vai trò gây bệnh quan trọng.

Các tộc vi khuẩn kỵ khí không sinh nha bào:

Hình dạng	Gram	Tộc vi khuẩn kỵ khí
Trực khuẩn	(+)	*Acitnomycetes, Eubacterium, Lactobacillus, Propionibacterium.*
	(-)	*Bacteroides, Fusobacterium.*
Cầu khuẩn	(+)	*Peptococus, Peptostreptococcus, Streptococcus.*
	(-)	*Veillonella*

1. MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CHUNG

- Nhiều thành viên quan trọng của các vi khuẩn kỵ khí không sinh nha bào là những vi khuẩn chí bình thường (normal flora) tại nơi chúng ký sinh, nhưng chúng trở thành gây bệnh khi lạc vào vị trí khác.
- Các vi khuẩn kỵ khí không sinh nha bào thường gây nên các ổ áp xe ở não, phổi, bụng, đường tiết niệu phụ nữ, đường mật...

Trong các ổ áp xe thường tìm thấy một (hoặc vài) loài vi khuẩn kỵ khí cùng với một loại vi khuẩn ái kỵ khí tuỳ ngộ, ví dụ *Bacteroides fragilis* và *E.coli*. Vi khuẩn ái kỵ khí tuỳ ngộ đã sử dụng oxy để tạo môi trường kỵ khí cho vi khuẩn yếm khí.

Có 3 đặc điểm lâm sàng để nghĩ tới áp xe kỵ khí: bệnh phẩm có mùi thối khắm, tổ chức áp xe có hơi và hoại tử.

2. CHẨN ĐOÁN VI KHUẨN HỌC

- Chẩn đoán vi khuẩn học là cần thiết và có ý nghĩa, nếu ta thu được bệnh phẩm thích hợp và vận chuyển nhanh đến phòng thí nghiệm. Khi trả lời kết quả không được khẳng định là vi khuẩn kỵ khí gây bệnh, nếu gặp nó ở vị trí ký sinh bình thường. Không tìm vi khuẩn kỵ khí trong phân và trong đờm.
- Các bước chẩn đoán bao gồm: nhuộm Gram xem hình thể và bắt màu nuôi cấy trong môi trường kỵ khí xác định sinh vật hóa học và rất quan trọng là nếu xác định được khả năng tạo gaz làm kháng sinh đồ nếu cần.

3. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Các kháng sinh thường dùng trong điều trị nhiễm khuẩn kỵ khí là: penicillin G, cefoxitin, chloramphenicol, lindamycin và metronidazole. Lưu ý là *B. fragilis* thường sinh β-lactamase nên kháng penicillin.

Cần điều trị đồng thời vi khuẩn kỵ khí và vi khuẩn ái ký trong nhiễm trùng phối hợp.

Vi khuẩn kỵ khí không sinh nha bào gây bệnh quan trọng nhất là *Bacteriodes*.

4. BACTEROIDES

4.1. Hình dạng

Bacteroides là những trực khuẩn đa hình thái (cầu trực, trực), kích thước 0,5-1,0 x 1,5-8,0 μm. Gram âm, bắt mầu fuchsin không đều. Đứng thành từng đám, thành đôi hoặc chuỗi

4.2. Khả năng gây bệnh

Bacteroides bao gồm 22 loài, trong đó có 3 loài gây bệnh cho người: *B. fragilis*, *B. melaninogenicus* và *B. corrodens.*

Bacteroides là vi khuẩn gây nhiễm trùng kỵ khí nặng và nhiều nhất, đặc biệt là viêm phúc mạc, nhiễm khuẩn huyết và áp xe. Các nhiễm trùng này thường xuất hiện sau phẫu thuật, xuất huyết và bị bệnh mạn tính. Từ các ổ nhiễm ban đầu, *Bacteroides* đi theo máu và đến các cơ quan khác. Có thể bị áp xe phổi do hít phải *Bacteroides* từ các dịch của đường ruột. Nhiễm khuẩn kỵ khí là một nhiễm trùng nội sinh, không phải là nhiễm khuẩn cộng đồng.

B. fragilis ký sinh nhiều nhất tại đại tràng, là thành viên của vi khuẩn chí bình thường tại đây (có khoảng 100 tỷ vi khuẩn/g phân và chiếm 90% vi khuẩn chí đại tràng). Loài gây bệnh điển hình là *B. fragilis* và chúng thường xuất hiện trong 70% bệnh phẩm, đặc biệt là các bệnh phẩm vùng bụng có thể

gặp tới 100%. Vì vậy tên của loài *B. fragilis* được coi là tên chung của nhóm này. *B. fragilis* gây bệnh bằng vỏ polisaccarit.

Trong âm đạo của 60% phụ nữ có *B. melaninogenicus* và *B. corrodens* ký sinh.

4.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

Chẩn đoán *Bacteroides* tuân theo các bước chẩn đoán vi khuẩn học kỵ khí, đầu tiên nhuộm Gram, tiếp đó là nuôi cấy và cuối cùng xác định bằng tính chất sinh vật hóa học.

Trên môi trường thạch máu có đặt khoanh giấy kháng sinh aminoglycozid (gentamicin hoặc kanamycin) để ức chế vi khuẩn ái khí. Sau 48 giờ trong vòng ức chế của aminoglycozid xuất hiện các khuẩn lạc *B. fragilis*: đường kính 1-2 mm, loại S, màu hơi xám bóng; ngoài vùng ức chế của aminoglycozid đường kính khuẩn lạc lớn hơn.

B. fragilis lên men nhiều loại đường và sản xuất một số acid hữu cơ (formic, acetic...). Dựa vào đặc điểm này để xác định vi khuẩn.

4.4. Nguyên tắc điều trị

Điều trị các nhiễm khuẩn Bacteroides theo nguyên tắc chung của nhiễm trùng kỵ khí.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các đặc điểm chung của vi khuẩn kị khí không sinh nha bào.
2. Trình bày các đặc điểm vi khuẩn học, khả năng gây bệnh, chẩn đoán vi khuẩn học, và điều trị bệnh do *Bacteroides fragilis*.

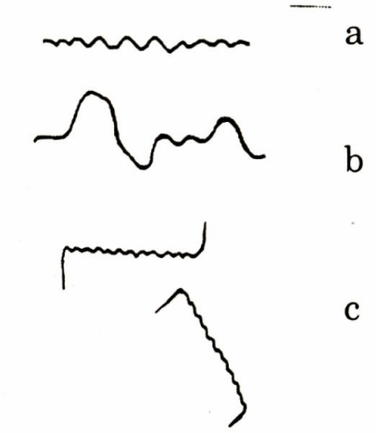
MỘT SỐ XOẮN KHUẨN GÂY BỆNH

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được đặc điểm chung của một số xoắn khuẩn gây bệnh.*
2. *Trình bày được đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của xoắn khuẩn sốt hồi quy.*
3. *Trình bày được đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của xoắn khuẩn giang mai; các phương pháp chẩn đoán vi sinh; nguyên tắc phòng và điều trị giang mai.*
4. *Trình bày được đặc điểm sinh học, dây chuyền dịch tễ, khả năng gây bệnh của Leptospira; nguyên tắc chẩn đoán vi sinh, phòng và điều trị Leptospirosis.*
5. *Trình bày được khả năng gây bệnh của B. burgdorferi, nguyên tắc phòng và điều trị bệnh Lyme.*

Một số xoắn khuẩn gây bệnh được giới thiệu trong bài này nằm trong bộ *Spirochaetales*, gồm họ *Spirochaetaceae* và *Leptospiraceae*. Chúng có một số đặc điểm chung sau đây:

- Hình thể: xoắn lò xo, mềm mại, dễ uốn, mảnh, đường kính thân 0,1- 0,5 μm, chiều dài 5 - 40 μm và di động mạnh nhờ các sợi fibrin bao quanh ống nguyên tương.
- Tính chất nhuộm màu: chúng bắt màu Gram âm, nhưng thường phải nhuộm bằng phương pháp Fontana-Tribondeau.
- Sức đề kháng: yếu, nhậy cảm với hóa chất, các tác nhân lý, hóa và kháng sinh.



Hình 75. Mô phỏng hình thể xoắn khuẩn
a: Treponema; b: Borrelia; c: Leptospira

Phân loại: trong bộ *Spirochaetales* có 3 giống có đại diện là tác nhân gây bệnh. Dựa vào hình thể, có thể phân biệt được 3 giống này:

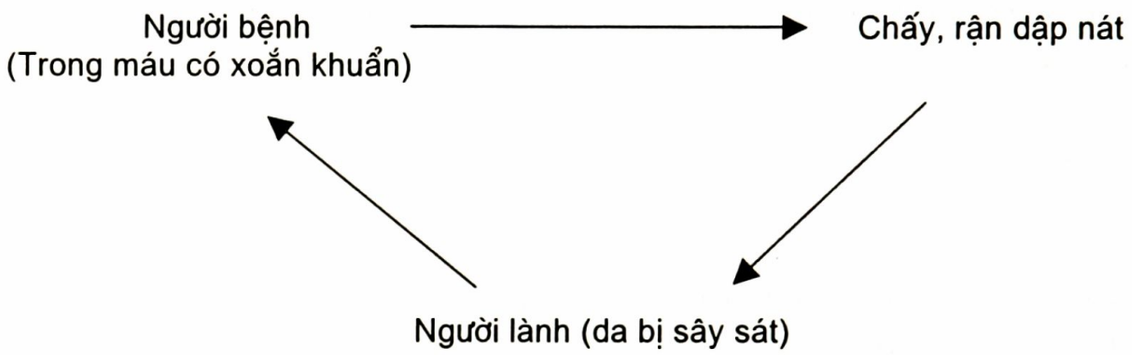
- Giống *Treponema*: vòng xoắn đều nhau và khoảng cách giữa các vòng xoắn cũng đều nhau. Đại diện là *T. pallidum*, gây bệnh giang mai (Hình 75a).
- Giống *Borrelia*: vòng xoắn không đều nhau và khoảng cách giữa các vòng xoắn cũng không đều nhau. Đại diện là *B. recurrentis* gây bệnh sốt hồi quy (Hình 75b).
- Giống *Leptospira*: các vòng xoắn sát nhau và hai đầu cong lại như móc câu (Hình 75c).

XOẮN KHUẨN SỐT HỒI QUY

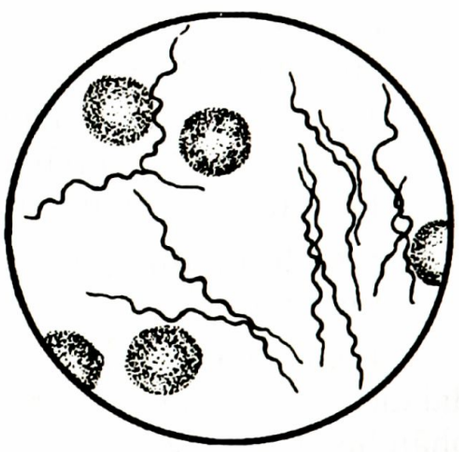
(Borrelia recurrentis)

Bệnh sốt hồi quy đã có từ lâu; năm 1868, Obermeier đã tìm thấy tác nhân gây bệnh trong máu bệnh nhân ở Bệnh viện Berlin.

Hay gặp trên toàn thế giới là bệnh sốt hồi quy lây truyền qua chấy rận (ở châu Phi và Mỹ la tinh, còn lây truyền qua ve). Dây chuyền dịch tễ: Người → chấy rận → người, được lây lan mạnh trong điều kiện ăn ở mất vệ sinh và thời tiết lạnh (đặc biệt trong chiến tranh).



Chấy rận hút máu người bệnh, *Borrelia* xuyên qua thành dạ dày vào bạch huyết và máu, nhân lên và nằm lại đó. Khi đốt người lành, qua vết sây sát do ngứa gãi và chấy rận bị dập nát, *Borrelia* xâm nhập vào cơ thể. Sau thời gian ủ bệnh khoảng 1 tuần, bệnh khởi đầu bằng sốt cao đột ngột, ngừng sốt ít lâu rồi lại sốt lại; chu kỳ này lặp lại 3-4 lần, đo đó được gọi là sốt hồi quy. Người bệnh chỉ có miễn dịch trong vài tháng vì *Borrelia* có khả năng thay đổi kháng nguyên.



Hình 76. *Borrelia* trong tiêu bản giọt máu

Nguyên tắc chẩn đoán vi sinh: lấy máu lúc bệnh nhân sốt cao, làm tiêu bản giọt đặc nhuộm Giemsa tìm *Borrelia* (đường kính 0,3-0,5 μm, dài 10-30 μm) (Hình...).

Nguyên tắc điều trị: Penicillin, tetracyclin.

XOẮN KHUẨN GIANG MAI

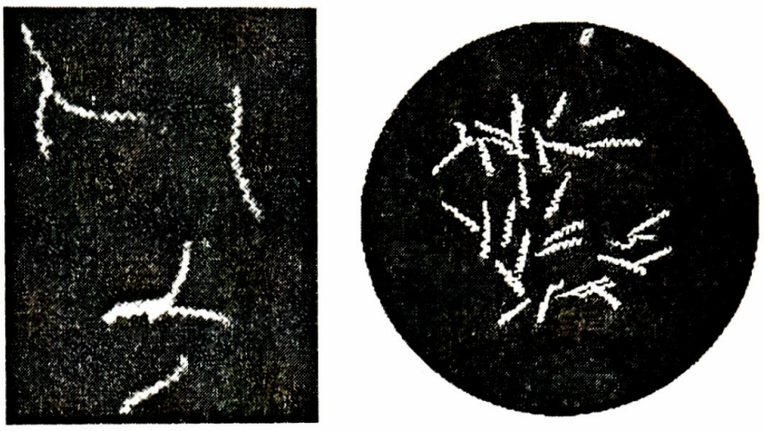
(Treponema pallidum biovar pallidum)

Bệnh giang mai (Syphilis) đã được biết từ lâu, song phải đến năm 1905 Schaudin và Hoffmann mới tìm thấy vi khuẩn trong dịch tiết ở vết loét giang mai và xác định nó chính là tác nhân gây bệnh. Bệnh giang mai có hai loại là giang mai mắc phải và giang mai bẩm sinh.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể

Rất mảnh, đường kính 0,2 μm, dài 5- 15 μm. Quan sát sống dưới kính hiển vi nền đen: chuyển động xoay tròn gần như không di chuyển vị trí (Hình...). Nhuộm Fontana-Tribondeau: vi khuẩn có màu vàng nâu, sóng hình sin.



Hình 77. Xoắn khuẩn T. pallidum dưới kính hiển vi nền đen
(trái: ảnh chụp; phải: vẽ mô phỏng)

1.2. Tính chất nuôi cấy

Cho đến nay chưa nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Việc giữ chủng giang mai do Nichols phân lập năm 1911 từ một bệnh nhân bị giang mai liệt toàn thân, được thực hiện bằng cách cấy truyền liên tục trong tinh hoàn thỏ.

1.3. Sức đề kháng

Vi khuẩn giang mai rất nhậy cảm với điều kiện bên ngoài, nhất là khô và nóng: ở nhiệt độ >50°C bị chết trong vòng 60 phút; ở nhiệt độ phòng chỉ sống được vài giờ, do đó khó lây qua các dụng cụ bị nhiễm vi khuẩn; rất nhậy cảm với hóa chất như arsenic, thuỷ ngân, bismuth, với pH thấp và kháng sinh.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Các nhiễm khuẩn tự nhiên xoắn khuẩn giang mai chỉ xảy ra ở người. Các thực nghiệm trên thỏ hoặc khỉ, không gây thành bệnh giang mai.

2.1. Bệnh giang mai mắc phải

Có thể lây qua niêm mạc mắt, miệng hoặc da bị sây sát hoặc dụng cụ bị nhiễm nhưng những trường hợp này hiếm. Việc lây truyền chủ yếu là do tiếp

xúc trực tiếp qua đường sinh dục. Xoắn khuẩn vào cơ thể, gây bệnh và bệnh được diễn biến qua 3 thời kỳ:

Giang mai thời kỳ 1 (primary syphilis): từ 10-90 ngày sau khi nhiễm vi khuẩn.

Bệnh tích chủ yếu là vết loét "săng" (chancre) ở bộ phận sinh dục; vết loét không ngứa, không đau, loét nông và chân cứng. Kèm theo có hạch rắn ở vùng lân cận. Trong dịch tiết của vết loét và dịch trong hạch có nhiều xoắn khuẩn. Đây là thời kỳ lây lan mạnh. Có điều trị hay không thì vết loét cũng khỏi và không để lại sẹo. Từ hạch bạch huyết, vi khuẩn vào máu.

Giang mai thời kỳ 2 (secondary syphilis): từ 2- 12 tuần sau khi có săng.

Biểu hiện: đa dạng, có thể nhức đầu, sốt nhẹ, rụng tóc... và điển hình là các thương tổn trên da như các loại sẩn, dát màu hoa đào (nốt hồng ban-roseola) có thể ở một chỗ hay toàn thân kể cả lòng bàn tay, bàn chân nhưng hay gặp nhất là ở cổ. Các nốt này xuất hiện nhiều lần và khỏi không để lại dấu vết gì. Trong nốt hồng ban có rất ít vi khuẩn, song vẫn là thời kỳ lây lan mạnh. Một số bệnh nhân có thể chuyển sang thời kỳ 3.

Giang mai thời kỳ 3 (tertiary syphilis): sau thời gian tiềm tàng từ vài năm cho đến vài chục năm. Tổn thương ăn sâu vào tổ chức, tạo nên các "gôm" (gumma) ở da, xương, gan, đặc biệt là tổn thương tim mạch và thần kinh trung ương (liệt). Hiếm thấy vi khuẩn trong gôm.

2.2. Bệnh giang mai bẩm sinh

Phụ nữ có thai bị bệnh giang mai, xoắn khuẩn có thể qua rau thai vào thai nhi gây sảy thai, thai chết lưu, đẻ non hoặc đứa trẻ sinh ra đã mắc bệnh giang mai (giang mai bẩm sinh).

2.3. Gây bệnh thực nghiệm

Có thể gây bệnh thực nghiệm cho thỏ bằng cách đưa vào trong da hay trong mắt. Tiêm truyền để nhân giống chủng giang mai dùng cho các phản ứng huyết thanh chẩn đoán phải đưa vào tinh hoàn thỏ. Sau khi tinh hoàn thỏ bị viêm, lấy dịch hoàn bị viêm tiêm vào tinh hoàn thỏ khác.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH

3.1.Chẩn đoán trực tiếp

Tìm xoắn khuẩn giang mai, chỉ áp dụng được cho giang mai thời kỳ 1. Lấy cồn lau sạch vết loét, lấy gạc chà xát vết loét, chờ đến khi có dịch trong tiết ra; lấy dịch tiết soi tươi trên kính hiển vi nền đen (Hình...) hoặc nhuộm Fontana - Tribondeau. Nếu có hạch, dùng bơm tiêm chọc hạch, hút lấy dịch tìm vi khuẩn.

Giá trị của phương pháp này: nếu kết quả (+) rõ, kết hợp với tiền sử và lâm sàng có thể kết luận được bệnh.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

Tìm kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân, áp dụng cho giang mai thời kỳ 2 và 3.

3.2.1. Phản ứng không đặc hiệu

Dùng kháng nguyên là chất lipoid chiết xuất từ tim bò (cardiolipin) nhưng có cấu trúc gần giống chất lipoid của xoắn khuẩn giang mai, do đó đây là kháng nguyên không đặc hiệu. Cũng vì vậy, chỉ phát hiện được reagin (phản ứng tố) trong huyết thanh bệnh nhân. Reagin hình thành là do kích thích của chất lipoid của xoắn khuẩn và chống lại chất lipoid này. Với kháng nguyên cardiolipin có thể tiến hành các phản ứng:

- Lên bông (kết tủa): VDRL (Veneral Disease Research Laboratories)
- RPR (Rapid Plasma Reaction) là một cải tiến của VDRL.

Ngoài ra còn có thể làm phản ứng giọt máu, Citochol trong điều tra cơ bản.

Giá trị: vì kháng nguyên không đặc hiệu nên có thể có những trường hợp (+) giả đối với một số bệnh khác như sốt rét, thận hư nhiễm mỡ hoặc phụ nữ có thai > 7 tháng. Do vậy phải làm phản ứng không đặc hiệu này hai lần nhằm kiểm tra (sự lặp lại) kết quả.

3.2.2. Phản ứng đặc hiệu

Dùng kháng nguyên là xoắn khuẩn giang mai.

- Phản ứng TPI (*Treponema Pallidum* Immobilization): phản ứng bất động xoắn khuẩn giang mai. Trộn một giọt huyết thanh bệnh nhân và một giọt xoắn khuẩn giang mai lấy từ tinh hoàn thỏ bị viêm, quan sát dưới kính hiển vi nền đen. Nếu có kháng thể đặc hiệu, xoắn khuẩn bị bất động (nằm im).

Thực hiện phản ứng này có nhiều khó khăn nhưng kết quả 100% (+) ở bệnh nhân giang mai bẩm sinh và giang mai thời kỳ 3 không điều trị.

- Phản ứng FTA (Fluorescence Treponema Antibody): phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp, dùng xoắn khuẩn đã bị giết chết trộn với huyết thanh bệnh nhân và γ-globulin-kháng kháng thể gắn huỳnh quang. Nếu có kháng thể đặc hiệu, xoắn khuẩn sẽ phát sáng dưới kính hiển vi huỳnh quang. Đây là phản ứng đặc hiệu và rất nhạy.
- Phản ứng TPHA (*Treponema Pallidum* Haemagglutination): phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động; dùng kháng nguyên từ xoắn khuẩn giang mai hấp thụ trên mặt tế bào hồng cầu. Phản ứng này có độ nhạy như FTA.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

Giang mai là một bệnh xã hội, gây nhiều hậu quả nguy hiểm, đứng thứ hai sau AIDS nên nhiệm vụ của toàn xã hội là giáo dục nếp sống lành mạnh, thanh toán nạn mãi dâm. Nhiệm vụ của y tế là: phát hiện bệnh nhân sớm, ngăn chặn tiếp xúc, điều trị sớm và điều trị triệt để.

4.2. Điều trị

Dùng penicillin (từ trước đến nay chưa thấy xoắn khuẩn đề kháng kháng sinh), ngoài ra còn có thể dùng tetracyclin (nếu bị dị ứng penicillin).

LEPTOSPIRA

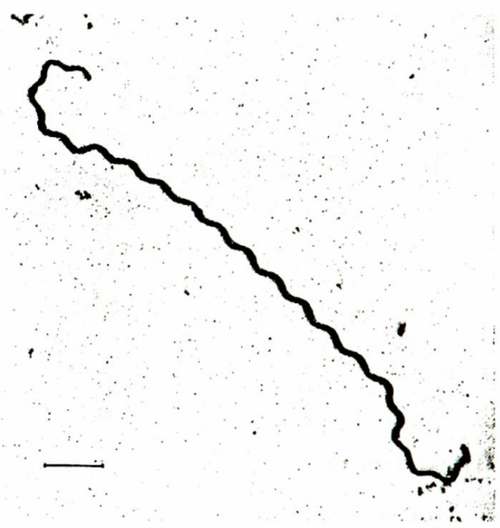
Leptospira gây bệnh Leptospirosis. Leptospirosis là bệnh của súc vật nhưng có thể lây sang người.

Năm 1886, Weil (người Đức) đã phát hiện ra bệnh Leptospirosis ở người lần đầu tiên; nhưng đến năm 1915, hai nhóm các nhà khoa học Nhật Bản và Pháp mới cùng tìm thấy xoắn khuẩn *L. interrogans*.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC

1.1. Hình thể

Rất mảnh, đường kính 0,1-0,2 μm, dài 5-25 μm. Quan sát vi khuẩn sống dưới kính hiển vi nền đen thấy di động mạnh. Phải nhuộm theo phương pháp nhuộm thấm bạc Fontana- Tribondeau mới phát hiện được vi khuẩn: mảnh như sợi tóc, hai đầu cong như móc câu. Dưới kính hiển vi điện tử phóng đại khoảng 10.000 lần mới thấy các vòng xoắn nhỏ, sát nhau (Hình 78).



Hình 78. *Leptospira* dưới kính hiển vi điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Đây là xoắn khuẩn duy nhất nuôi cấy được trong điều kiện hiếu khí. Thường nuôi trong môi trường lỏng có thêm huyết thanh động vật (thỏ) tươi (sản xuất theo Terskich hoặc Korthoff); pH 7,2- 7,5; nhiệt độ 28-30°C và giàu oxy. *Leptospira* mọc chậm, sau 6-10 ngày mới phát triển tốt: làm vẩn nhẹ môi trường như khói thuốc lá.

1.3. Sức đề kháng

Nói chung các *Leptospira* có sức đề kháng yếu, song cao hơn các xoắn khuẩn khác; chết nhanh trong môi trường acid. *Leptospira* có thể sống tự do ở trong đất, trong nước ngọt và mặn (sống được hàng tháng) nhưng có ánh sáng mặt trời thì nhanh chết.

1.4. Cấu tạo kháng nguyên

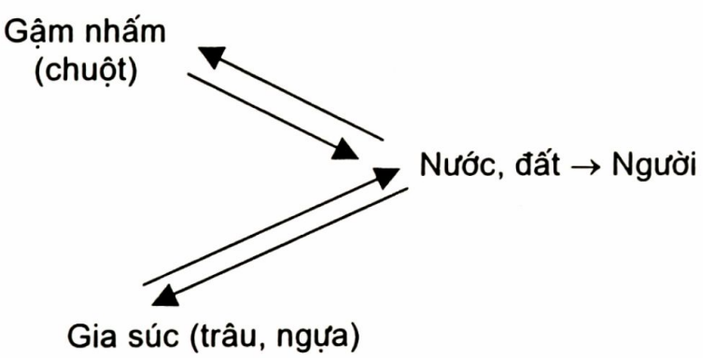
Dựa vào cấu trúc kháng nguyên mà phân loại thì *Leptospira* được chia ra làm 20 nhóm; mỗi nhóm có nhiều týp huyết thanh. Các týp huyết thanh có nhiều yếu tố kháng nguyên trùng chéo. Ở Việt Nam thường gặp 12 týp huyết thanh sau:

L. australis	*L. canicola*	*L. autumnalis*
L. grippothyphosa	*L. bataviae*	*L. hebdomalis*
L. ictero-haemorrhagiae	*L. ponoma*	*L. mitis*
L. saxkoebing	*L. poi*	*L. sejroe*

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Gây bệnh ở người

Dây chuyền dịch tễ: nguồn lây là các súc vật mang *Leptospira* và nước tiểu của chúng. Ổ chứa thường xuyên là loại gặm nhấm (chuột), chúng luôn đào thải *Leptospira*. Ổ chứa không thường xuyên là gia súc, trâu, bò, ngựa...



Đường lây: qua da bị sây sát, qua vết thương hoặc qua niêm mạc do tiếp xúc trực tiếp hay gián tiếp với nguồn lây; ví dụ, những người tiếp xúc trực tiếp với gia xúc bị bệnh như bác sĩ thú y, công nhân chăn nuôi hoặc mổ gia súc... Nhưng có thể nhiễm khuẩn gián tiếp qua nước, đất bị nhiễm *Leptospira* như bộ đội, công nhân lâm nghiệp, công nhân hầm mỏ, ...

Bệnh Leptospirosis diễn biến qua 2 thời kỳ:

- Thời kỳ 1: sốt cao đột ngột sau thời gian ủ bệnh 1-2 tuần. Trong máu có nhiều vi khuẩn. Sốt kéo dài 3-8 ngày.

– Thời kỳ 2: sốt trở lại do các cơ quan, nhất là gan và thận bị tổn thương (vàng da, albumin niệu); có thể có hội chứng màng não do thần kinh trung ương bị tổn thương. Các mao mạch giãn (có thể xuất huyết) và đau cơ. Xoắn khuẩn nằm lại thận và được đào thải theo nước tiểu ra ngoài. Ở giai đoạn này cơ thể đã hình thành kháng thể.

Ở nước ta, bệnh hay gặp ở những người làm việc trong rừng và gần rừng như bộ đội (biên giới), công nhân địa chất, lâm nghiệp, hầm mỏ, công nhân chăn nuôi và nông dân.

2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật rất nhậy cảm với *Leptospira* là chuột lang, nhất là đối với *L. ictero-haemorrhagiae*. Nếu trong bệnh phẩm có lẫn tạp khuẩn mà đem tiêm vào phúc mạc chuột lang non thì sau 10 phút *Leptospira* đã xâm nhập vào máu trong khi các tạp khuẩn khác chưa vào được máu. Vì vậy Schuffner đã gọi chuột lang là "cái lọc sống" đối với *Leptospira*.

3. NGUYÊN TẮC CHẨN ĐOÁN VI SINH

Tuỳ theo từng thời kỳ của bệnh mà có cách lấy bệnh phẩm và chẩn đoán thích hợp.

Thời kỳ 1: lấy máu lúc bệnh nhân sốt cao, đem nuôi cấy và/hoặc tiêm truyền vào chuột lang; sau đó xác định và định loại vi khuẩn.

Thời kỳ 2:

– Có thể lấy nước tiểu bệnh nhân, ly tâm, tiêm vào phúc mạc chuột lang non; sau đó lấy máu tim chuột nuôi cấy tìm vi khuẩn.

– Lấy máu bệnh nhân tìm kháng thể bằng phản ứng ngưng kết "tan" Martin-Pettit. Kháng nguyên là *Leptospira* sống (12 týp huyết thanh hay gặp ở Việt Nam). Huyết thanh bệnh nhân được pha loãng thành nhiều nồng độ. Nơi có tỷ lệ kháng nguyên - kháng thể thích hợp nhất sẽ có hiện tượng "ngưng kết sao"- phản ứng (+). Vì *Leptospira* có nhiều kháng nguyên trùng chéo nên hiệu giá kháng thể lần đầu phải cao hơn 1/800 mới nghi ngờ; nên làm phản ứng 2 lần để xác định động lực kháng thể (ít nhất là gấp hai lần).

Trong thực tế, chẩn đoán Leptospirosis bằng phản ứng huyết thanh hay được áp dụng hơn; vì phương pháp nuôi cấy tìm vi khuẩn rất phức tạp, khó thực hiện.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh không đặc hiệu bằng cách cắt đứt dây chuyền dịch tễ như diệt chuột, phòng bệnh cho gia súc nhưng chủ yếu là phòng hộ lao động cho những đối tượng phải tiếp xúc với nguồn lây. Nói chung có nhiều khó khăn.

Phòng bệnh đặc hiệu bằng vacxin chết, song chỉ cho các đối tượng phải tiếp xúc với nguồn lây.

4.2. Điều trị

Dùng kháng sinh penicillin, tetracyclin; hiệu quả điều trị cao nếu kháng sinh được dùng sớm, ngay từ những ngày đầu của bệnh. Điều trị triệu chứng cũng đóng vai trò quan trọng.

BORRELIA BURGDORFERI

(Gây bệnh Lyme)

Tên bệnh được gọi theo tên một địa phương thuộc bang Connecticut (miền Bắc Mỹ), nơi có những thanh niên bị bệnh được phát hiện lần đầu.

Bệnh Lyme là bệnh nhiễm khuẩn mạn tính do *Borrelia burgdorferi*. Những triệu chứng chính là biểu hiện ngoài da, viêm khớp và có thể có các hội chứng thần kinh, tim.

Bệnh cảnh lâm sàng được mô tả trong sách giáo khoa các bệnh ngoài da từ cuối thế kỷ 19. Đến năm 1983, Burgdorfer và cộng sự mới nuôi cấy và phân lập được xoắn khuẩn từ ve *Ixodes* (trong đó có *I. dammini*) và từ những tổn thương da, từ máu và từ dịch của người bệnh. Xoắn khuẩn này có nhiều đặc điểm giống xoắn khuẩn sốt hồi quy nên được xếp vào giống *Borrelia*.

Nhiều ngày hoặc vài tuần sau khi bị ve đốt, tại nơi bị đốt xuất hiện vết ban đỏ có ranh giới (bờ) rõ; vết ban ngứa, đau rát và nhiều triệu chứng không đặc hiệu khác. Nhiều tuần hoặc nhiều tháng sau đó, khoảng 50% trường hợp bị viêm khớp cấp; hay gặp ở các khớp lớn, nhất là khớp gối. Khoảng 20% người bệnh ở giai đoạn muộn có hội chứng thần kinh với hình ảnh lâm sàng của một viêm màng não, viêm não hoặc các hội chứng thần kinh lặp đi lặp lại. Ở Mỹ, khoảng10% bệnh nhân giai đoạn muộn có hội chứng tim rất đa dạng, hay gặp là tắc nghẽn dẫn truyền nhĩ-thất (AV-Block).

Về cơ chế bệnh sinh, viêm khớp hoặc các hội chứng khác nhau ở giai đoạn sau- bệnh Lyme muộn là do xoắn khuẩn còn duy trì trong cơ thể hay là do phản ứng tự miễn, chưa được giải thích thoả đáng. Bệnh Lyme có thể kéo dài từ 4 tuần đến 6 năm, trung bình là 7-8 tháng.

1. NGUYÊN TẮC CHẨN ĐOÁN

Chủ yếu dựa vào lâm sàng với biểu hiện ban đỏ lan tỏa, sẽ khó chẩn đoán khi không có triệu chứng này. Khi có hội chứng thần kinh cần chẩn đoán phân

biệt với viêm não-màng não do virus. Có thể xác định IgM và IgG chống *B. burgdorferi* bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp hoặc ELISA.

2. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

Bệnh Lyme xảy ra chủ yếu ở vùng có nhiều rừng cây và nơi có ve tồn tại; bệnh có thể thành dịch lẻ tẻ vào mùa hè-thu. Ổ chứa là các loài động vật hoang dại và gia súc, kể cả chim. Môi giới truyền bệnh là ve nên biện pháp phòng bệnh là chống ve đốt, đặc biệt là khi làm việc trong rừng.

3. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Kháng sinh được lựa chọn hàng đầu là tetracyclin (doxycyclin); hàng thứ hai là penicillin G; nếu dị ứng penicillin thì thay bằng erythromycin. Khoảng 15% bệnh nhân trong 24 giờ đầu điều trị có thể có phản ứng Jarisch-Herxheimer. Điều trị sớm làm giảm các biểu hiện ngoài da và các triệu chứng khác nhưng không loại trừ được hoàn toàn các triệu chứng của bệnh Lyme muộn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày những đặc điểm sinh học chung của xoắn khuẩn gây bệnh.
2. Phân tích giá trị của các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật bệnh giang mai?
3. Người bệnh có triệu chứng nhiễm trùng và biểu hiện vàng da; dựa vào đâu có thể kết luận người đó bị nhiễm *Leptospira* mà không phải là bị viêm gan do virus?
4. Trình bày khả năng gây bệnh của *B. recurrentis* và *B. burgdorferi*; nguyên tắc phòng và điều trị bệnh do chúng gây ra.

RICKETTSIA, MYCOPLASMA VÀ CHLAMYDIA

MỤC TIÊU

1. *So sánh các đặc điểm giống và khác nhau giữa Rickettsia, Mycoplasma, Chlamydia, vi khuẩn, và virus.*
2. *Kể tên 6 nhóm Rickettsia gây bệnh cho người và đường lây.*
3. *Giải thích khả năng và cơ chế gây bệnh của Rickettsia, Mycoplasma, và Chlamydia.*
4. *Trình bày các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học Rickettsia, Mycoplasma, và Chlamydia.*
5. *Trình bày nguyên tắc phòng và điều trị các bệnh do Rickettsia, Mycoplasma, và Chlamydia.*

Đây là những vi khuẩn ký sinh nội bào bắt buộc.

Trước đây người ta xếp các vi khuẩn này thuộc trung gian giữa vi khuẩn và virus bởi vì *Rickettsia*, *Chlamydia* và *Mycoplasma* có những đặc điểm giống virus và một số đặc điểm giống vi khuẩn. Hệ thống men phân hủy đường glucose và men tham gia chu trình Krebs luôn luôn không hoàn chỉnh. Nhưng về mặt cấu trúc tế bào, chúng có đầy đủ các bộ phận như vi khuẩn, nghĩa là có vách, nhân, nguyên sinh chất... Có thể dựa vào bảng sau đây để sơ bộ nhận biết *Rickettsia*, *Chlamydia*, *Mycoplasma* và virus.

	Hình thái	Phát triển trên môi trường nhân tạo	Men chuyển hoá	Qua lọc vi khuẩn	Phát triển trên nuôi cấy tế bào	Hình thức sinh sản	Acid nucleic	Nhậy cảm kháng sinh
Rickettsia	Đa hình thái	-	+*	-	+	Phân đôi	ADN và ARN	+
Chlamydia	Bé, khoảng 2-10 µm	-	+*	-	+	Phân đôi	ADN và ARN	+
Myco-plasma	Rất bé: 0,5-0,8 µm	+	±**	+	+	Phân đôi	ADN và ARN	+
Virus	Vô cùng bé 10-200 nm	-	-	+	+	Nhân lên	ARN hoặc ADN	-
Vi khuẩn	Khoảng 0,2-50 µm	+	+	-	-	Phân đôi	ADN và ARN	+

* Enzym sinh tổng hợp protein và tạo năng lượng.
** Không có enzym tạo năng lượng, có enzym sinh tổng hợp protein.

RICKETTSIA

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Rickettsia là những vi khuẩn không di động, kích thước khoảng 0,5 - 1,0 μm, đứng riêng rẽ hoặc thành từng đôi trong hoặc ngoài tế bào. *Rickettsia* không bắt màu Gram.

1.2. Nuôi cấy

Rickettsia ký sinh bắt buộc trong tế bào, vì vậy việc nuôi cấy chúng phải dựa vào tế bào sống, cảm thụ trong các chiết xuất tế bào. Có thể nhân chúng bằng các phương pháp sau đây:

- Tiêm vào gậm nhấm như chuột lang, chuột nhắt trắng, đặc biệt là nhân lên trong tế bào phổi sau khi chuột hít *Rickettsia* qua đường khí quản. Tổn thương chủ yếu xuất hiện ở màng trong tế bào các mao mạch.
- Gây bệnh thực nghiệm ở côn trùng, tiết túc trung gian như ve, bọ, rận (đặc biệt là tiêm qua hậu môn vào ruột rận).
- Tiêm vào lòng đỏ của bào thai gà 7 ngày, để ở nhiệt độ 34 - 37°C, *Rickettsia* phát triển nhiều ở màng niệu đệm và nhất là ở túi noãn hoàng.

Trong thực nghiệm, *Rickettsia* được nhân lên trong tế bào bằng cách phân đôi, cắt ngang, chúng đứng riêng rẽ hoặc tập trung thành từng đám bên trong tế bào. Khi các tế bào vỡ ra, *Rickettsia* được giải phóng vào môi trường gian bào và tiếp tục gây nhiễm các tế bào khác.

- Tạo ra miễn dịch chéo trên súc vật thí nghiệm để bảo vệ cho các súc vật chống lại sự xâm nhiễm của *Rickettsia* mẫu.

1.3. Khả năng đề kháng

Rickettsia là những vi khuẩn rất yếu, bị tiêu diệt nhanh chóng bởi sức nóng, độ ẩm, độ khô và các chất hóa học, bị bất hoạt ở nhiệt độ thường nhưng tồn tại tốt ở nhiệt độ thấp (-25 đến -70°C) bằng phương pháp đông lạnh.

1.4. Độc tố

Một số *Rickettsia* sinh ra một loại độc tố hòa tan trong nuôi cấy, đồng thời có tính chất gây tan máu và hoại tử. Độc tố này rất yếu, sự gây tổn thương ở các cơ quan nhiễm trùng như dạng tổn thương của ngoại độc tố. Nhưng thực ra hoạt tính gây bệnh của *Rickettsia* còn phụ thuộc vào enzym

gây tan huyết. Độc tố gắn liền với thân *Rickettsia*. Nếu đun 60°C trong 30 phút hoặc xử lý bằng formalin 0,37% thì độc sẽ bị hủy nhưng vẫn giữ được tính chất kháng nguyên và tính miễn dịch. Độc tố còn bị trung hòa bởi kháng độc tố.

1.5. Các loại kháng nguyên

Rickettsia có một kháng nguyên hòa tan đặc hiệu của nhóm và một kháng nguyên chéo. Kháng nguyên này có cấu trúc gần gũi với kháng nguyên của *Proteus vulgaris* (chủng OX_{19}, OX_2 và OX_k), bản chất của kháng nguyên này là polysaccharid.

1.6. Phân loại

Zdrodovski (1948-1956) phân chia *Rickettsia* thành 6 nhóm trong đó có 5 nhóm gây bệnh cho người và một nhóm gây bệnh cho động vật, các nhóm đó là:

* Nhóm sốt phát ban dịch tễ:

Nhóm này thường gây nên hai bệnh chủ yếu là sốt phát ban dịch tễ và sốt phát ban chuột (sốt phát ban địa phương, bệnh Tobadillo của Mechico).

- Sốt phát ban dịch tễ: mầm bệnh là *R. prowaseki*. Môi giới truyền bệnh là rận. Ổ chứa mầm bệnh là người bệnh. Khư trú và sinh sản trong nguyên sinh chất tế bào.
- Sốt phát ban chuột: mầm bệnh là *R. mooseri*. Môi giới truyền bệnh là bọ, rận, chuột, ve chuột. Ổ chứa mầm bệnh là chuột cống, chuột nhắt. Khư trú và sinh sản trong nguyên sinh chất tế bào.

* Nhóm sốt do ve truyền:

Nhóm này thường gây nên bởi *Dermacentroxenus*. Khư trú và nhân lên trong nguyên sinh chất và nhân tế bào và gây bệnh địa phương, môi giới truyền bệnh là ve.

* Nhóm do mò đỏ truyền:

Mầm bệnh gây nên là do *R. orientalis* hay còn gọi là *R. tsutsugamushi*. Nơi khu trú và sinh sản của mầm bệnh là trong nguyên sinh chất của tế bào. Môi giới truyền bệnh là nhiều loại mò đỏ khác nhau (Trombicula) như: *T. akamushi*, *T. flecheri. T. deliensis* và *T. schneffneri*. Ổ chứa là mò đỏ và một số loại gậm nhấm như chuột đồng, chuột cống... Ở nước ta, bệnh này gặp khá nhiều; chủ yếu ở miền núi và trung du.

* Nhóm gây bệnh sốt "Q" (Query).

Nhóm này thường gây tổn thương ở phổi, bệnh này gặp ở châu Úc, châu Mỹ và châu Âu. Mầm bệnh gây nên sốt "Q" là *R. burnetii* (còn gọi là *R. diapoprica, Coxiella burnetii*). Nơi khư trú và sinh sản của mầm bệnh là nguyên sinh chất tế bào. Môi giới truyền bệnh rất phong phú: *Ixodidae,*

Argasodae và *Gamasoidae* (môi giới giữa động vật và chim). Ổ chứa chủ yếu là *Ixodidae*.

* Nhóm gây bệnh sốt hầm hào (Trench fever).

Có hai loại bệnh về triệu chứng lâm sàng rất rầm rộ và có ban:

- Sốt hầm hào: sốt từng đợt cách nhau 4 ngày: mầm bệnh là *R. quintana*. Môi giới truyền bệnh là rận. Ổ chứa là người, người có thể mang mầm bệnh lâu dài.
- Bệnh sốt cực độ do ve truyền (Ixodo - Rickettsiosis paroxismalis):

Mầm bệnh là *Rickettsia* hay *Dermacentroxenus*. Môi giới truyền bệnh là ve *Ixodes ricinus* và chuột đồng.

* Nhóm gây bệnh cho súc vật:

Nhóm này thường gây bệnh cho động vật có sừng như dê, cừu và gây bệnh cho chó. Mầm bệnh là *R. ruminantium*, thường gây nên tràn dịch màng tim của các động vật có sừng.

2. MIỄN DỊCH

Các kháng nguyên khác nhau phát triển trong các tổ chức của cơ thể nhiễm trùng hoặc sau khi tiêm vacxin. Xuất hiện các kháng thể ngưng kết, kháng thể hòa tan đặc hiệu và có khả năng chống lại bệnh nhiễm trùng. Nhiễm khuẩn *Rickettsia* gây nên sốt phát ban có khả năng tạo ra miễn dịch mạnh mẽ và lâu dài.

3. KHẢ NĂNG, CƠ CHẾ GÂY BỆNH VÀ DỊCH TỄ HỌC

3.1. Khả năng gây bệnh

- Gây bệnh cho người:

Các *Rickettsia* gây bệnh có thể gây nhiễm với những tiến triển khác nhau, biểu hiện dưới dạng có sốt, thường kèm theo phát ban điển hình ở da. Đặc biệt đa số các trường hợp bệnh đều có tổn thương ở mạch máu nhỏ kiểu viêm hoặc viêm tắc mao mạch.

- Gây bệnh cho động vật:

Có 6, 7 loài phụ của *Rickettsia* có khả năng gây bệnh cho động vật có sừng (dê, cừu...) và chó. Trong số đó hay gặp nhất là loại phụ *R. ruminantium* thường gây nên bệnh tràn dịch màng tim ở động vật.

3.2. Cơ chế gây bệnh

Sau thời gian nhiễm vi khuẩn, *Rickettsia* đi vào máu, chui vào màng trong tế bào của các mạch máu nhỏ, ở đó chúng nhân lên và bài tiết yếu tố tiền

đông huyết tương và các cục máu đông (thrombose) làm tổn thương mạch máu, đôi khi làm tắc mạch.

Đứng về mặt dịch tễ học: sự lây bệnh giữa người bệnh sang người lành, hoặc tương tự, từ động vật ốm sang người lành bởi côn trùng tiết túc thông qua phân hoặc nước bọt có chứa *Rickettsia*. Vi khuẩn chui qua vết thương ở da hoặc ở niêm mạc bằng cách chui qua vết đốt của côn trùng tiết túc.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

Chẩn đoán vi sinh học đối với *Rickettsia* cũng giống như chẩn đoán các vi sinh vật khác, người ta dựa vào hai phương pháp chính:

- Phân lập để xác định mầm bệnh.
- Chẩn đoán huyết thanh để tìm hiệu giá kháng thể. Ngoài ra có thể xác định hiện tượng dị ứng da.

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: nếu là người bệnh thì lấy máu khi sốt hoặc chọc hạch khi có hạch viêm. Lấy nước não tủy hay mảnh tổ chức khi mổ tử thi. Trong trường hợp điều tra dịch tễ học, có thể lấy các phủ tạng của gậm nhấm hoặc chính bản thân ve, bọ, mò, rận...
- Nhuộm bệnh phẩm và soi kính: nhuộm đặc biệt bằng Macchiavello hoặc bằng phương pháp mới Gimenez hoặc miễn dịch huỳnh quang.
- Nuôi cấy: bệnh phẩm được nghiền nát cho vào nước muối sinh lý vô khuẩn, ly tâm lấy nước trong, tiêm vào bào thai gà hoặc nuôi cấy tế bào và tiêm cho động vật thí nghiệm.

4.2. Chẩn đoán huyết thanh

Để xác định động lực kháng thể kháng *Rickettsia* trong máu bệnh nhân, cần được lấy máu hai lần. Có nhiều phương pháp huyết thanh học đặc hiệu như: phản ứng ngưng kết đặc hiệu, phản ứng kết hợp bổ thể, phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu, phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp. Hoặc áp dụng thử nghiệm kết tủa với chất đồng vị phóng xạ để chẩn đoán bệnh sốt "Q", kỹ thuật ELISA... Ngoài ra, người ta có thể áp dụng phản ứng không đặc hiệu như phản ứng Weil-Felix (phản ứng này không áp dụng cho những *Rickettsia* nào không có kháng nguyên chung với *Proteus*).

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh chung

- Xua đuổi hoặc tiêu diệt côn trùng tiết túc như phát quang bụi rậm, dùng hóa chất...

- Cách ly bệnh nhân khi có dịch sốt phát ban, nếu có điều kiện thì cho những người tiếp xúc thường xuyên với bệnh nhân hoặc những người ở vùng dịch có nguy cơ mắc bệnh uống hóa dược dự phòng.

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu

- Vacxin chết: dùng vacxin này thì không tạo ra được một miễn dịch hoàn toàn đảm bảo nhưng có tác dụng chuyển bệnh sang thể nhẹ, lành tính.
- Vacxin sống giảm độc lực: loại vacxin này có tiến bộ hơn so với vacxin chết song vẫn còn nhiều nhược điểm như còn chứa thành phần protein cảm nhiễm của tổ chức lòng đỏ trứng gà, kỹ thuật sử dụng còn phức tạp như vấn đề chuẩn bị hàng loạt cũng như vấn đề bảo quản vacxin.
- Vacxin sống phối hợp với kháng sinh. Cơ sở của loại vacxin này là có một số chủng *Rickettsia* độc lực khi xử lý một loại kháng sinh thích hợp với liều lượng ức chế thì chủng *Rickettsia* đó trở nên vô độc cho súc vật cảm nhiễm và có tác dụng gây miễn dịch rất tốt đối với súc vật.

6. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Ngày nay có nhiều loại kháng sinh như aureomycin, biomycin, lincomycin, fluoroquinolon dùng để điều trị Rickettsiosis bên cạnh chloramphenicol và tetracyclin. Đối với trẻ em và phụ nữ mang thai, người ta dùng rovamycin (nhóm macrolide). Kháng sinh có tác dụng ức chế *Rickettsia* nên có ý nghĩa lớn trong việc giảm tỷ lệ tử vong, rút ngắn thời gian sốt của nhiều bệnh *Rickettsia* khác nhau.

MỘT SỐ RICKETTSIA THƯỜNG GẶP

1. RICKETTSIA PROWASEKI

R. prowaseki là tác nhân gây sốt phát ban do rận (Typhous exanthematique), thường gây thành dịch.

1.1. Đặc điểm sinh học

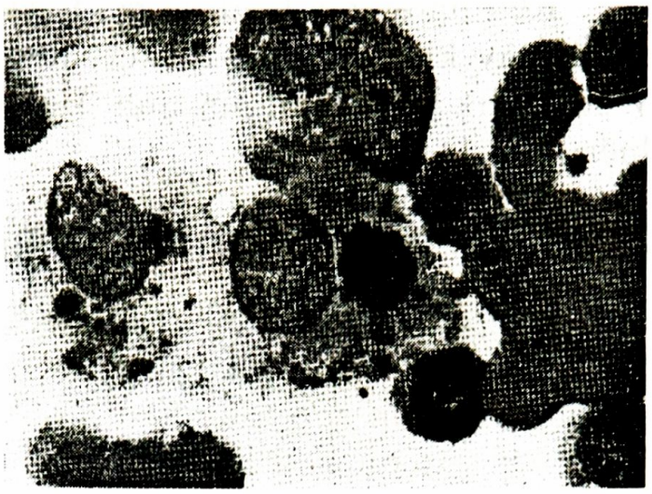
Có hình cầu, đường kính từ 0,3 - 0,6 μm (Hình 79). Sức đề kháng yếu, dễ chết bởi tác nhân lý hóa học, có thể gây thực nghiệm cho khỉ, chuột lang, chuột nhắt trắng.

1.2. Khả năng gây bệnh

Là vi khuẩn gây nên bệnh sốt phát ban, thường có 3 hội chứng chủ yếu nổi bật:

- Sốt cao từ 40 - 41°C, hình cao nguyên
- Mụn chấm bắt đầu vào ngày thứ 5 của bệnh, có thể xuất hiện rất kín đáo và thường để lại vết.
- Hội chứng sốt phát ban rất rầm rộ, có hiện tượng mê sảng, đôi khi hôn mê và rối loạn cảm giác và tinh thần.

Bệnh xảy ra ở trẻ em thì nhẹ hơn xảy ra ở người lớn tuổi.



Hình 79. Vi khuẩn *R. prowaseki* nhuộm từ nuôi cấy tế bào bào thai người (kính hiển vi quang học)

2. RICKETTSIA MOOSERI

Là tác nhân gây nên sốt phát ban chuột còn gọi là sốt phát ban địa phương.

2.1. Đặc điểm sinh học

- Về kích thước, so với *R. prowaseki* thì *R. mooseri* nhỏ hơn rất nhiều.
- Thường dùng chuột lang để gây bệnh thực nghiệm, chuột mắc bệnh điển hình và bao giờ cũng có phản ứng viêm tinh hoàn, kèm theo sốt.

2.2. Khả năng gây bệnh

Bệnh sốt phát ban địa phương là bệnh nhiễm khuẩn cấp tính gồm các triệu chứng sốt, đau đầu, và nổi ban. Đây là bệnh ở chuột truyền sang cho người qua môi giới trung gian là bọ chuột *Xenopsylla cheopis*. Bệnh thường gặp ở Hy Lạp và Mỹ.

3. RICKETTSIA BURNETII (COXIELLA BURNETII)

Đây là nguyên nhân gây nên bệnh sốt "Q"

Đặc điểm sinh học

Vi khuẩn hình cầu hoặc hình que, rất nhỏ, có thể chui qua màng lọc vi khuẩn là loài *Rickettsia* nhỏ hơn cả. Khác với nhiều *Rickettsia, R. burnetii* không chịu tác dụng của các chất làm tan chất béo như ête, cloroform, toluen...

R. burnetii tồn tại lâu ở môi trường bên ngoài trên các chất thải khô và ẩm, bền vững với các tác dụng lý hóa học và chất khử trùng thông thường. *R. burnetii* phát triển tốt trong nuôi cấy tế bào, trong bào thai gà và gây bệnh điển hình cho chuột lang.

Khả năng gây bệnh là bệnh sốt cấp tính kèm theo viêm phổi điển hình. Bệnh này khác với các Rickettsiose khác là không có ban nổi và phản ứng Weil- Felix hoàn toàn âm tính. Bệnh này lưu hành khắp toàn cầu nhưng phổ biến nhất là ở châu Âu.

4. RICKETTSIA TSUTSUGAMUSHI

Là tác nhân gây nên bệnh sốt mò hay còn gọi là sốt phát ban rừng rú. Năm 1919, Wolbach phát hiện ra mầm bệnh *R. orientalis*; một năm sau đó, Hayashi nghiên cứu tác nhân này kỹ hơn và gọi là *R. tsutsugamushi*, bởi vì bệnh này gặp nhiều ở triền sông Nhật Bản nên gọi là bệnh Kedani.

4.1. Đặc điểm sinh học

Vi khuẩn có dạng song cầu khuẩn hoặc song trực khuẩn, không bắt màu Gram. Có sức đề kháng yếu nhất trong tất cả *Rickettsia.*

Tính kháng nguyên và miễn dịch: *R. tsutsugamushi* có cấu trúc kháng nguyên rất độc đáo, khác hẳn với các *Rickettsia* khác ở tính không thuần nhất của nó. Theo Bergtson và Topping thì sự khác nhau về huyết thanh học của các chủng *R. tsutsugamushi* có liên quan đến nguồn gốc địa lý khác nhau của chúng. Người ta thấy rằng những người bị sốt mò ở vùng này, khi đến một vùng khác, chẳng bao lâu là có thể bị bệnh lại. Điều đó được giải thích bởi sự khác loại của các chủng trong những khu vực địa lý khác nhau.

4.2. Khả năng gây bệnh

Là bệnh nhiễm khuẩn cấp tính có đặc điểm là khởi phát đột ngột, tiến triển kèm theo có vết ban, có dấu hiệu đau khởi đầu và sưng các hạch lympho. Thời kỳ ủ bệnh từ 7-18 ngày. Bệnh thường xuất hiện các dấu hiệu tiền triệu như khó chịu, đau đầu, chóng mặt, kém ăn hoặc ăn không ngon miệng.

- Sốt xuất hiện sau một cơn rét run và kéo dài 2 - 3 tuần.
- Vết loét: nơi bị mò đỏ đốt tạo thành vết loét. Vết loét không ngứa. Vị trí vết loét tuỳ thuộc vào vị trí đốt của mò đỏ, thường thấy ở tay, hõm nách, thân mình, bìu, mông, đùi... Đây là những tổn thương đặc hiệu.
- Ban đỏ xuất hiện vào cuối tuần thứ nhất của bệnh, ban chỉ tồn tại vài ngày có khi kéo dài hàng tuần. Ban kiểu dát sần, ít khi xuất huyết. Ban xuất hiện đầu tiên ở ngực, bụng rồi lan ra toàn thân, các chi. Rất hiếm thấy ở mặt, gan bàn tay, bàn chân.

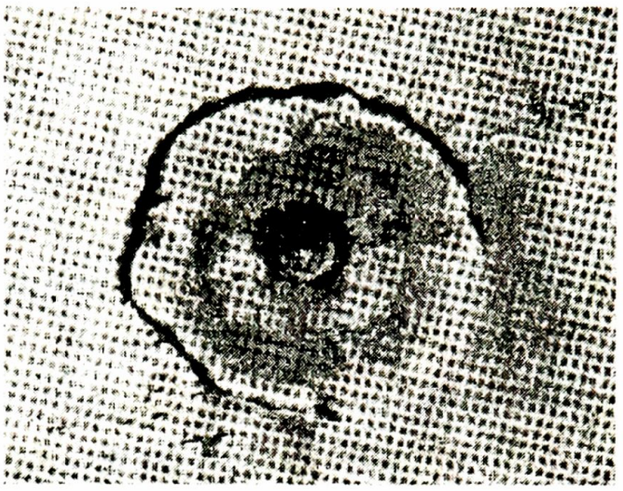
4.3. Chẩn đoán vi sinh học: như trình bày ở mục 4, bài "Rickettsia".

MYCOPLASMA

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Mycoplasma là những vi khuẩn rất nhỏ, không di động, không sinh nha bào. Hình thể rất đa dạng (hình thoi, hình gậy ngắn hoặc hình cầu). *Mycoplasma* không bắt màu Gram, rất khó nhuộm vì dễ biến dạng khi qua các bước nhuộm. *Mycoplasma* không có vách tế bào.



Hình 80. Khuẩn lạc *Mycoplasma* (x100)

1.2. Nuôi cấy

Mycoplasma có thể sinh sản và phát triển trên những môi trường có hoặc không có tế bào sống. Ở môi trường không có tế bào, *Mycoplasma* đòi hỏi những chất dinh dưỡng đặc biệt như huyết thanh ngựa, chiết xuất men... Nhiều loài *Mycoplasma* kỵ khí hoặc hiếu khí tuyệt đối nhưng cũng có loài *Mycoplasma* kỵ khí tuỳ tiện. Nhiệt độ tốt nhất để *Mycoplasma* phát triển là từ 35- 37^{0}C với pH từ 7,0-7,8.

Trong môi trường lỏng, vi khuẩn không làm đục môi trường. Trên môi trường đặc, vi khuẩn mọc thành khuẩn lạc điển hình: trung tâm khuẩn lạc tối và dày, mọc lấn xuống thạch, rìa khuẩn lạc mỏng và bẹt trông như một quả trứng rán mà trung tâm khuẩn lạc là phần lòng đỏ để nguyên. Khuẩn lạc của *Mycoplasma* nhỏ.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Quá trình nhân lên của các *Mycoplasma* rất phức tạp và lệ thuộc nhiều vào môi trường. Trong tế bào nuôi, hầu hết *Mycoplasma* phát triển trên bề mặt của tế bào.

1.4. Khả năng đề kháng

Mycoplasma tương đối bền vững khi dùng phương pháp đông băng và thoát băng. Trong huyết thanh, *Mycoplasma* có thể tồn tại ở 56°C trong hai giờ. *Mycoplasma* dễ bị phá hủy bởi siêu âm và bị tiêu diệt bởi dung dịch có pH acid hoặc kiềm cao. Tất cả các loài *Mycoplasma* đề kháng với penicillin.

1.5. Các loại kháng nguyên

Bằng phương pháp hóa học và sắc ký, người ta đã tách được ở *Mycoplasma* những thành phần hóa học mang tính kháng nguyên khác nhau. Mỗi thành phần hóa học có khả năng tham gia vào một phản ứng huyết thanh nhất định.

1.6. Phân loại

Theo Bergey, có 6 loài gây bệnh cho người, đó là:

M. hominis týp 1: gây bệnh cho người.

M. hominis týp 2: phân lập được ở đường sinh dục tiết niệu của đàn ông.

M. salivarium: phân lập được ở nước bọt và đường hô hấp trên.

M. fermentans: phân lập ở bộ phận sinh dục đàn ông.

M. pneumoniae: tác nhân gây viêm phổi không điển hình.

M. orale hoặc *M. pharyngis* phân lập được ở khí quản.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Mycoplasma có thể gây bệnh ở đường hô hấp, đường sinh dục tiết niệu và bao khớp. Bệnh xảy ra ở mọi lứa tuổi nhưng hay gặp nhất là ở trẻ em.

3. DỊCH TỄ HỌC

M. pneumoniae gây nên các vụ dịch nhỏ ở các tập thể như trường học, quân đội... vào mùa xuân và mùa thu. Một số týp lây qua đường sinh dục-tiết niệu do quan hệ tình dục.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

4.1. Bệnh phẩm

Chất ngoáy họng, chất bài tiết của cuống phổi, chất tiết cổ tử cung, mủ âm đạo, niệu đạo, ở nam giới có thể lấy chất mủ, chất nhầy giống nhựa chuối tiết vào buổi sáng sớm của niệu đạo.

4.2. Nuôi cấy

Nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường giàu chất dinh dưỡng, sau 18-48 giờ đã xuất hiện khuẩn lạc. Xác định có thể dựa vào hình dạng khuẩn lạc và các tính chất sinh hóa học.

Để định loại, xác định khả năng làm tan máu và hấp thụ hồng cầu, tính chất lên men glucose, tính chất khử oxy của tetrazolium và bằng các phương pháp miễn dịch học khác (ức chế sự phát triển, ức chế ngưng kết hồng cầu, miễn dịch huỳnh quang).

4.3. Chẩn đoán huyết thanh

Có thể dùng phản ứng kết hợp bổ thể (kháng nguyên thô hay lipid tinh khiết) tỷ lệ dương tính đạt khoảng 80% các trường hợp hoặc các phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu (1/80), ngưng kết hồng cầu thụ động v.v...

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

5.1. Nguyên tắc phòng bệnh chung

Đối với bệnh viêm phổi không điển hình, khi đã phát hiện cần cách ly bệnh nhân. Đối với những trường hợp bị bệnh đường sinh dục tiết niệu, cần điều trị dứt điểm, trong thời gian điều trị cần được cách ly, không quan hệ tình dục.

5.2. Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu

Có thể dùng vacxin: loại vacxin bất hoạt bằng formalin có hay không có aluminum hoặc tá dược dầu đều có kết quả phòng ngừa.

6. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

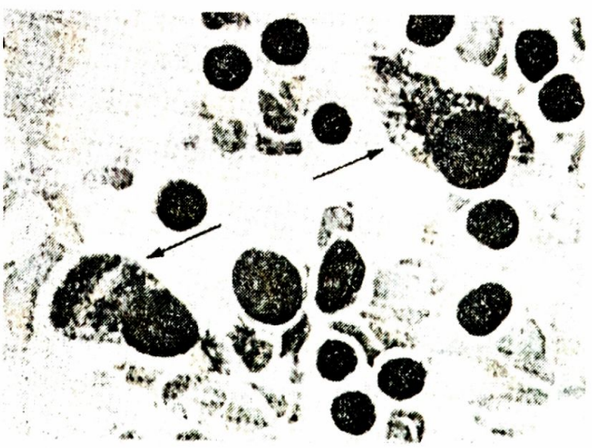
Trước đây hay dùng tetracyclin, chloramphenicol, spiramycin. Ngày nay có thể dùng doxycyclin, cefalotin, cefotaxim có hiệu quả rất tốt.

CHLAMYDIA

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Là những vi khuẩn nhỏ, không di động, có dạng hình cầu, có thể nhuộm bằng xanh methylen hoặc Macchiavello và quan sát dưới kính hiển vi quang học. Trên kính hiển vi điện tử, chúng biểu hiện một vùng hội tụ bên trong với một màng ranh giới. Hình ảnh trên kính hiển vi điện tử giống như các hình ảnh của *Rickettsia*.



Hình 81. *Chlamydia* xâm nhiễm tế bào nuôi cấy

Vòng đời của *Chlamydia* qua 2 dạng:

- Dạng cơ bản (elementary bodies): là những tế bào tròn (0,3 μm), nhân đậm. Thể này xâm nhập vào các tế bào theo kiểu thực bào.

– Dạng lưới (reticulate bodies): sau khi xâm nhập vào tế bào, *Chlamydia* chuyển hóa nhờ tế bào và tạo thành dạng lưới (1 μm), sinh sản theo kiểu song phân rồi giải phóng ra các dạng cơ bản rồi tiếp tục xâm nhập vào các tế bào mới.

1.2. Nuôi cấy

Chlamydia không thể nuôi cấy trên các môi trường nhân tạo bởi vì chúng ký sinh bắt buộc trong tế bào sống cảm thụ. *Chlamydia* được nhân lên trong tế bào của súc vật thí nghiệm như chuột nhắt trắng, trong bào thai gà... Chúng cũng có khả năng phát triển tốt trên các tế bào nuôi, tế bào lấy từ tổ chức ra (tế bào thận khỉ); trong trứng gà ấp, chúng phát triển ở màng niệu đệm, nhất là trong túi noãn hoàng.

1.3. Đặc điểm hóa sinh

Chlamydia bao gồm một phức hợp hóa học là glucid, lipid và protid và có mặt đồng thời cả hai loại acid nucleic (ADN và ARN) giống như các vi khuẩn khác và cũng có những thành phần giống như những thành phần của vách vi khuẩn. *Chlamydia* không có khả năng tạo ATP bằng hiện tượng oxy hóa, vì lẽ đó chúng lệ thuộc vào hệ thống năng lượng của tế bào túc chủ.

1.4. Khả năng đề kháng

Chlamydia khả năng qua lọc vi khuẩn kém, chúng rất yếu, dễ bị tiêu diệt bởi sức nóng, tia cực tím và các chất sát khuẩn. Glycerin không bảo tồn được *Chlamydia* mà chỉ có nhiệt độ lạnh trong máy đông lạnh mới có thể bảo tồn được chúng.

1.5. Các loại kháng nguyên

Chlamydia có kháng nguyên giống (genus) bản chất là gluco-lipid, là loại kháng nguyên chung của nhiều *Chlamydia* khác nhau. Loại kháng nguyên này gắn liền với thân. Ngoài ra còn có kháng nguyên loài, bản chất là protein, không chịu nhiệt và kháng nguyên của từng týp, bản chất là protein.

1.6. Phân loại

Theo Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, các *Chlamydia* được xếp thành một họ riêng, họ *Chlamydiaceae*; họ này có một giống duy nhất, *Chlamydia*.

Giống Chlamydia, hiện nay, có 4 loài: Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittasi, Chlamydia pecorum và Chlamydia pneumoniae.

Các loài *Chlamydia* khác nhau và các týp huyết thanh khác nhau của một loài thì gây ra các bệnh khác nhau cho người:

Chlamydia trachomatis týp A, B, Ba và C gây bệnh mắt hột (trachoma).

Chlamydia trachomatis týp D, E, F, G, H, I, J và K gây bệnh viêm đường sinh dục.

Chlamydia trachomatis týp L1, L2 và L3 gây bệnh lympho hạt, một bệnh viêm hạch bạch huyết hoa liễu ở bẹn (Lymphogranulomatose vénérienne).

Chlamydia psittaci gây bệnh sốt vẹt (Ornithose-psittacose).

Chẩn đoán vi sinh vật, phòng bệnh và điều trị tuỳ từng bệnh mà có cách xử lý khác nhau.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS

1. HÌNH THÁI

Dưới kính hiển vi quang học, vi khuẩn có hình cầu hoặc bầu dục, kích thước khác nhau. Dưới kính hiển vi điện tử là một vật thể nhân dày đặc gắn liền với màng bọc đặc trưng của vách tế bào.

1.1. Nuôi cấy

Nuôi cấy *Chlamydia trachomatis* trong túi lòng đỏ trứng gà, vi khuẩn nhân lên ở màng niệu đệm và nhất là ở túi noãn hoàng (Sac vitellin). Ngoài ra có thể nuôi cấy *C. trachomatis* vào tế bào thận khỉ, tế bào Hela hoặc tế bào thai người.

1.2. Khả năng đề kháng

Những hóa chất diệt khuẩn và ête có khả năng tiêu diệt nhanh chóng *C. trachomatis*. Nó cũng bị mất tác dụng bởi glycerin nhưng có khả năng tồn tại ở nhiệt độ lạnh.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH, DỊCH TỄ HỌC

Khả năng gây bệnh

C. trachomatis có khả năng gây nên hai bệnh chính cho người: bệnh mắt hột và bệnh nhiễm trùng sinh dục tiết niệu.

- *Bệnh mắt hột:* viêm kết mạc do mắt hột tiến triển qua 4 giai đoạn:
  + Giai đoạn một: Viêm kết mạc thể nang thường có kèm theo bội nhiễm vi khuẩn khác.
  + Giai đoạn hai: viêm kết mạc thể hạt (Conjunctivte granulaire).
  + Giai đoạn ba: giai đoạn biến chứng loét, bội nhiễm và sẹo.
  + Giai đoạn bốn: hồi phục kèm theo sẹo kết mạc, loét giác mạc và rất có thể bị mù lòa (nếu không được điều trị tích cực).

– *Bệnh viêm đường tiết niệu-sinh dục* lây nhiễm qua đường tình dục (Maladie sexuellement transmissibles): hiện nay bệnh này tăng nhanh về số lượng và gây rất nhiều phiền phức bởi vì dễ gây nên viêm niệu đạo, viêm vòi tử cung, buồng tử cung, viêm cổ tử cung dẫn đến vô sinh ở nữ giới.

Ở nam giới biểu hiện đầu tiên là viêm niệu đạo có mủ mà giới chuyên khoa gọi là viêm niệu đạo không do lậu, sau đó có thể dẫn đến viêm mào tinh hoàn. Trẻ mới sinh có thể bị lây nhiễm *Chlamydia trachomatis* từ người mẹ qua rau thai hoặc xảy ra sau khi đi qua cổ tử cung, âm đạo của người mẹ gây nên viêm kết mạc mắt sơ sinh.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

– Bệnh phẩm: đối với bệnh mắt hột, người ta lấy nang bằng cách nạo các nang. Đối với bệnh viêm sinh dục - tiết niệu: lấy mủ chất tiết niệu đạo (nam giới); chất tiết cổ tử cung, âm đạo (nữ giới).

+ Đối với bệnh phẩm mắt hột: cấy vào nuôi cấy tế bào để phát hiện các hạt vùi trong nguyên sinh chất của tế bào và nuôi cấy vào tế bào bào thai người.

+ Đối với bệnh phẩm sinh dục - tiết niệu: cấy vào tế bào McCoy hoặc Hela 229.

+ Quan sát tính chất xâm nhiễm bằng cách sau 48 giờ nuôi cấy, người ta xác định bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang (Immunofluorescence).

– Chẩn đoán nhanh:

+ Dùng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang gián tiếp để phát hiện *Chlamydia trachomatis* trên tiêu bản.

+ Phương pháp ELISA tự động để phát hiện mầm bệnh.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

Người ta dùng phản ứng vi lượng miễn dịch huỳnh quang (microimmunofluorescence) để xác định kháng thể, để chẩn đoán loài *Chlamydia trachomatis*, đây là một phản ứng đặc hiệu.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

4.1. Nguyên tắc phòng bệnh chung

– Đối với bệnh mắt hột: vì là bệnh lây từ người sang người do tình trạng vệ sinh của từng địa phương và từng gia đình. Vì vậy cần tăng cường các biện pháp vệ sinh như không dùng chung khăn mặt, chậu rửa mặt, bảo đảm nguồn nước sạch trong sinh hoạt hàng ngày...

– Đối với bệnh viêm đường tiết niệu - sinh dục: cần phát hiện sớm người mắc bệnh để điều trị kịp thời và có biện pháp phòng bệnh cho vợ hoặc chồng hoặc cả hai.

4.2. Nguyên tắc phòng bệnh đặc hiệu

Trước đây Collier và cộng sự đã nghiên cứu thành công một loại vacxin sống bằng cách dùng chủng đặc hiệu MRC/4/ON tiêm cho khỉ đột châu Phi gồm hai mũi dưới da cách nhau một tuần lễ và một mũi tiêm tĩnh mạch và thu được một loại kháng thể phức hợp tồn tại trong vòng một năm. Nhưng vacxin này vẫn chưa có tác dụng trên người. Các loại vacxin chết bởi sức nóng, formalin hay tia cực tím không có tác dụng gây miễn dịch. Vì vậy, việc phòng bệnh bằng vacxin cho đến nay vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu.

5. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Cho đến nay *Chlamydia trachomatis* vẫn còn chịu tác dụng của các doxycyclin, tetracyclin và erythromycin.

CHLAMYDIA PSITTACI

Vi khuẩn này được phát hiện vào năm 1930 bởi Bedson và cộng sự, chỉ có một loài của nhóm này gây nên nhiễm trùng huyết.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thái

Kích thước của vi khuẩn rất bé, siêu lọc, và có thể quan sát chúng bằng kính hiển vi điện tử. Có thể nhuộm vi khuẩn bằng xanh methylen hoặc bằng phương pháp Machiavello.

1.2. Nuôi cấy

C. psittaci có thể nuôi cấy được trong nuôi cấy tế bào như tế bào thận khỉ, trong màng niệu đệm trứng gà ấp (đặc biệt là trong túi noãn hoàng).

1.3. Khả năng đề kháng

Vi khuẩn có khả năng đề kháng kém với sức nóng: ở nhiệt độ 60°C trong 10 phút đã ngừng hoạt động. Nhậy cảm với các hóa chất như formol, phenol và ête. Nó không tồn tại được trong glycerin, nhưng có khả năng đề kháng với nhiệt độ lạnh. Vi khuẩn có thể tồn tại ở nhiệt độ lạnh của máy đông lạnh.

1.4. Các loại kháng nguyên

Vi khuẩn có kháng nguyên kết hợp bổ thể gắn với thân vi khuẩn, được cấu tạo bởi hai thành phần:

- Kháng nguyên đặc hiệu nhóm: bản chất là glucid, đề kháng với các enzym phân hủy protein.
- Kháng nguyên đặc hiệu týp: kháng nguyên chịu nhiệt, bản chất là protein bị phân hủy bởi các enzym tiêu protein, phenol và các acid.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Thời kỳ ủ bệnh từ 2-3 tuần lễ, bệnh thể hiện nhiều dạng khác nhau: thương hàn, cúm, viêm phổi. Đối với phụ nữ có thai thường tiếp xúc với loài vẹt bị bệnh, có thể bị nhiễm bệnh và gây sảy thai.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH HỌC

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm là đờm và nước súc họng. Muốn phân lập mầm bệnh, người ta tiêm bệnh phẩm vào túi lòng đỏ trứng gà hay vào màng bụng chuột nhắt trắng hoặc có thể nuôi cấy vào tế bào nuôi.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

Lấy máu của người bệnh hoặc người khỏi bệnh để tìm kháng thể bằng phản ứng kết hợp bổ thể, thường hay dùng kháng nguyên nhóm (kháng nguyên Frei) trong chẩn đoán bệnh Nicolas - Favre.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

4.1. Nguyên tắc phòng bệnh chung

Cần tăng cường công tác kiểm tra sức khỏe động vật của ngành thú y, lưu ý đến việc xuất nhập cảnh động vật, các loài chim đặc biệt chú ý là các loài vẹt.

4.2. Nguyên tắc phòng đặc hiệu

Hiện nay vẫn chưa có vacxin phòng bệnh sốt vẹt cho người, mặc dù đã có thí nghiệm thành công vacxin cho vẹt.

5. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ

Cho đến nay, nhóm tetracyclin và macrolid vẫn còn có tác dụng đối với bệnh sốt vẹt; có hai loại biệt dược, người ta khuyên nên dùng, là doxycyclin và rovamycin.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. So sánh những đặc điểm sinh học giống nhau và khác nhau giữa *Rickettsia, Chlamydia*, *Mycoplasma*, vi khuẩn và virus?
2. Kể tên 6 nhóm *Rickettsia* gây bệnh cho người và môi giới truyền bệnh của mỗi nhóm?
3. Trình các phương pháp chẩn đoán vi sinh học đối với *Rickettsia* nói chung?
4. Trình bày khả năng gây bệnh các loại *Rickettsia* thường gặp?
5. Trình bày nguyên tắc phòng và điều trị các bệnh do *Rickettsia* gây ra ?
6. Trình bày đặc điểm sinh học, khả năng gây bệnh và chẩn đoán vi sinh học đối với *Chlamydia*? Nguyên tắc phòng và điều trị các bệnh do *Chlamydia* gây ra?
7. Trình bày đặc điểm sinh học, khả năng gây bệnh và chẩn đoán vi sinh học đối với *Mycoplasma*? Nguyên tắc phòng bệnh do *Mycoplasma* gây ra?

PHẦN III

CÁC VIRUS GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

MYXOVIRUS

MỤC TIÊU

1. *So sánh được những đặc điểm sinh học của Orthomyxovirus và Paramyxovirus.*
2. *Trình bày được cấu trúc và các đặc điểm sinh học của virus cúm.*
3. *Trình bày được một số đặc điểm lâm sàng, dịch tễ học, nguyên tắc phòng và điều trị bệnh cúm.*
4. *Nêu được các phương pháp chẩn đoán virus cúm trong phòng thí nghiệm*

Myxovirus - nguồn gốc từ tiếng Hy Lạp "*Myxa*" có nghĩa là viêm niêm mạc tiết nhầy - là các virus có khả năng gây bệnh ở niêm mạc đường hô hấp, bao gồm các virus cúm, sởi, quai bị, hợp bào. Ngày nay, do những đặc điểm cấu trúc và khả năng gây bệnh nên *Myxovirus* được chia làm hai nhóm chính: *Orthomyxovirus* và *Paramyxovirus*. Sự khác biệt giữa hai nhóm được trình bày ở bảng sau:

Đặc điểm sinh học	Orthomyxovirus	Paramyxovirus
Genom của virus	ARN một sợi	ARN một sợi
Cấu trúc ARN	Chia 8 đoạn	Không cắt đoạn
Nơi tổng hợp ARN*	Nhân tế bào	Bào tương tế bào
Cấu trúc nucleocapsid	Chứa Lipid	Chứa Lipid
Protein cấu trúc bề mặt**	Hai	Hai
Hemagglutinin***	Có	Có
Neuraminidase***	Có trên mọi virus như protein cấu trúc	Chỉ có trên một số virus
Quá trình giải phóng virus	Nẩy chồi	Nẩy chồi
Thành viên virus	Cúm A, B, C	Quai bị, sởi, RSV, á cúm và một số virus gây bệnh cho động vật

Đặc điểm sinh học	Orthomyxovirus	Paramyxovirus
Trọng lượng ARN	2 - 4 x 10^6	5 - 8 x 10^6
Envelop	Màng sinh chất tế bào	Màng sinh chất tế bào
Đối xứng nucleocapsid	Xoắn ốc	Xoắn ốc
Kích thước vòng xoắn ribonucleo-protein	8 nm	18 nm
Kích thước virion	80 -120 nm	150 - 300 nm

*Thí dụ: cúm và virus sendai; ** ở cúm C chỉ có một protein cấu trúc bề mặt;

*** Không phải tất cả mọi Paramyxovirus.

VIRUS CÚM

(Influenza virus)

Virus cúm là thành viên chính của nhóm *Orthomyxovirus* và đó là căn nguyên gây bệnh cúm: nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính tạo dịch do virus. *Orthomyxovirus* bao gồm 3 týp miễn dịch: Cúm A, B, C.

Virus cúm được phân lập lần đầu năm 1933, chúng có thể gây những vụ dịch làn tràn khắp thế giới. Năm 1918-1919 đại dịch cúm đã gây bệnh cho 20 triệu người. Trên cơ sở ý nghĩa y học đó, vào những năm cuối thập kỷ 40, việc nghiên cứu về cúm được tiến hành khẩn trương. Người ta đã xác định vai trò gây bệnh của virus cúm trên người và động vật rất rộng rãi.

1. CẤU TRÚC VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

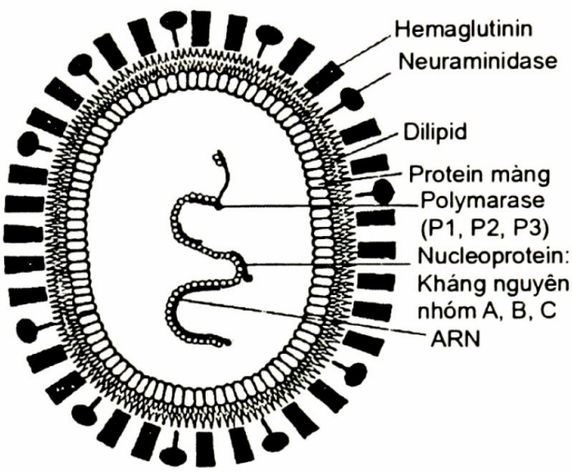
1.1. Cấu trúc

Các virus cúm được phân chia thành 3 nhóm khác nhau (A, B, C) do một số cấu trúc kháng nguyên bề mặt khác nhau, nhưng phần lớn có cấu trúc kháng nguyên giống nhau. Dưới kính hiển vi điện tử thấy virus cúm hình cầu. Đường kính khoảng 100-120 nm. Các hạt virus cúm có cấu trúc phức tạp. Các protein capsid virus cúm, cùng với ARN, tạo thành nucleocapsid đối xứng xoắn. Bao ngoài của virus cúm được cấu tạo bởi 2 lớp lipid, trên bề mặt hai lớp lipid đó có những điểm chồi lên (spike) giống như "lông". Các điểm chồi đó cấu tạo bởi glycoprotein, tạo nên bởi các kháng nguyên hemagglutinin và neuraminidase ký hiệu là H và N. Mỗi sợi H và N dài 8-10 nm, cách nhau 8 nm. Kháng nguyên hemagglutinin có chức năng giúp virus bám trên bề mặt tế bào cảm thụ và xuyên thủng màng tế bào. Chức năng của neuraminidase chưa được rõ, nhưng chúng cũng bổ sung chức năng của hemaglutinin và ngoài ra chúng còn thúc đẩy sự lắp ráp và chín muồi của virus trong tế bào cảm thụ. Hai cấu trúc

glycoprotein H và N xác định kháng nguyên đặc hiệu của từng thứ týp virus. Kháng nguyên H và N là những kháng nguyên quyết định khả năng ngưng kết hồng cầu động vật.

Virus cúm phân lập từ bệnh nhân ở giai đoạn nguyên thuỷ (original phase) có thể gây ngưng kết hồng cầu người nhóm máu O và hồng cầu chuột lang. Virus cúm nuôi cấy trong phòng thí nghiệm có thể ngưng kết được hồng cầu gà và hồng cầu ngỗng (derivative phase). Kháng nguyên H đặc trưng cho týp, kháng nguyên N đặc trưng thứ týp. Các cấu trúc H và N của virus cúm có thể thay đổi trong từng thứ týp. Hiện nay có 13 cấu trúc kháng nguyên H và 9 cấu trúc kháng nguyên N khác nhau đặc hiệu cho từng thứ týp của các týp cúm A, B và C: ký hiệu kháng nguyên H1 đến H13, N1 đến N9. Cấu trúc ARN của cúm A và B phân làm 8 đoạn gen, còn cúm C phân làm 7 đoạn, trên mỗi đoạn gen virus, có thể ghi dấu cho nhiều mật mã di truyền.

Các thứ týp H và N khác nhau của các virus cúm có thể gây bệnh cho người và nhiều động vật khác nhau, nhất là những động vật mới sinh. Ví dụ: H1N1 gây bệnh cho người và cũng gây bệnh được cho lợn, H1N3 có thể gây bệnh cho cá voi; H3N2 gây bệnh cho người; H4N5 gây bệnh cho hải cẩu,...



Hình 82. Cấu trúc virus cúm

1.2. Khả năng thay đổi cấu trúc kháng nguy

Cấu trúc hemaglutinin (H) có thể thay đổi tạo thành các H mới. Sự thay đổi cấu trúc kháng nguyên H của virus tạo thành một týp cúm mới. Như vậy kháng thể kháng H của týp virus mới chưa xuất hiện trong quần thể dân chúng và, vì vậy, týp virus mới có thể gây nên dịch mới. Các kháng nguyên N cũng có thể thay đổi, đặc biệt thường xẩy ra với virus týp A và B. Do vậy virus cúm A và cúm B có nhiều thứ týp (Subtype) do sự thay đổi cấu trúc kháng nguyên H và N.

1.3. Cách gọi tên virus cúm

Ví dụ: A/Swine/NewJersety/8/76/H_1N_1;

A/BangKok/7/79/H_3N_2..... B/Singapore/7/79/H_1N_2....

Trước hết gọi týp virus, động vật cảm thụ (nếu là động vật), địa danh phân lập virus, số bệnh phẩm phân lập được virus, năm phân lập virus và cấu trúc H và N.

1.4. Phản ứng lý hóa của virus cúm

Virus cúm tương đối vững bền với nhiệt độ; ở 0°C đến 4°C, sống được vài tuần; ở -20°C và đông khô virus cúm sống hàng năm. Dễ diệt virus cúm ở 56°

C. Dễ diệt với các dung môi hoà tan lipid: Ether, β-propiolacton, formol,... Các tia tím bất hoạt virus cúm nhưng không phá huỷ kháng nguyên nhiễm khuẩn hô hấp, nhiễm khuẩn bào thai và hoạt tính của H và N. Với pH thì vững bền từ 4 đến 9.

2. LÂM SÀNG

Đối tượng cảm thụ với bệnh là những người khỏe mạnh không có kháng thể kháng virus cúm. Triệu chứng của một bệnh cảm lạnh: sốt nhẹ, hắt hơi, đau đầu, ho, xuất tiết nhiều lần sau thời gian ủ bệnh từ 1 đến 5 ngày. Với trẻ em nhiễm virus cúm cũng có dấu hiệu lâm sàng như trên, nhưng ở trẻ em nhỏ nhiễm trùng có thể sốt cao, co giật, viêm dạ dày-ruột. Bệnh ở trẻ sơ sinh còn nặng hơn với các triệu chứng: viêm cơ tim, viêm phổi và có thể có những biến chứng khác: viêm tai, viêm phổi, thậm chí tới viêm não-dẫn tới tử vong. Bệnh ở đường hô hấp do virus cúm thường có kèm bội nhiễm vi khuẩn; do đó, bệnh nặng lên gấp bội.

Virus cúm týp A thường gây đại dịch với chu kỳ 7 đến 10 năm; cúm týp B thường chỉ gây dịch nhỏ hơn với chu kỳ 5 đến 7 năm. Riêng virus cúm týp C chỉ gây các triệu chứng lâm sàng không điển hình và tạo các vụ dịch nhỏ ở những tập thể mới hình thành. Sau mỗi vụ dịch thường xuất hiện kháng thể trong quần thể và gây miễn dịch đặc hiệu với thứ týp virus. Sau những thời gian thích hợp, các cấu trúc kháng nguyên H hoặc N có thể thay đổi, kháng thể miễn dịch cũ không còn tác dụng với kháng nguyên mới.

3. DỊCH TỄ HỌC

Virus cúm lan truyền từ người sang người qua đường hô hấp. Virus nhân lên trong đường hô hấp sau 4 đến 6 ngày nhiễm trùng. Virus đạt hiệu giá tối đa sau 48 giờ. Bệnh thường xảy ra vào mùa đông xuân từ tháng giêng đến tháng 4. Trong những năm 1889-1890, 1918-1919, 1957 và 1968 đã có những đại dịch do virus A gỉusa. Viruss cúm cũng có thể lây từ động vật sang người.

4. CHẨN ĐOÁN TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm được lấy vào những ngày đầu của bệnh là nước xuất tiết đường mũi họng.
- Bệnh phẩm được nuôi cấy trong tế bào như tế bào bào thai gà, thận khỉ và phổi người hoặc tế bào thường trực Vero, LLC-MK2.
- Sự nhân lên của ARN virus xảy ra trong nhân tế bào, các thành phần khác xảy ra ở bào tương tế bào hoặc trong màng ối của bào thai gà từ 8 tới 12 ngày. Xác định sự có mặt của virus cúm bằng phản ứng ngưng kết hồng cầu.

– Định týp virus bằng phản ứng trung hòa trong tế bào hoặc ức chế ngưng kết hồng cầu với các kháng thể mẫu.

Cũng có thể chứng minh sự có mặt của virus bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp bằng kháng thể mẫu gắn huỳnh quang.

4.2. Tìm kháng thể kháng cúm

Kháng thể kháng cúm thường tìm được bằng phản ứng kết hợp bổ thể, ức chế ngưng kết hồng cầu, ELISA, và trung hoà.. Kháng thể cần phải tìm sớm, vào tuần lễ đầu và sau 10 ngày sau lần lấy máu để tìm động lực kháng thể. Kháng thể lần sau phải tăng gấp 4 lần so với lần đầu mới được xác định là bệnh nhân bị bệnh cúm. Kháng thể cúm thường giảm mất một nửa hiệu giá sau vài tuần, do vậy phản ứng phải làm đúng thời gian, nhất là với phản ứng kết hợp bổ thể.

5. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

Trong vụ dịch có thể dùng amantadin hydrochlorid để phòng bệnh có hiệu quả, nhất là với cúm A. Thuốc amantadin hydrochlorid còn được sử dụng để điều trị bệnh nhân đã nhiễm trùng có hiệu quả ở đường hô hấp. Tuy vậy, đáng tiếc amantadin không điều trị được các biến chứng của bệnh cúm. Interferon chưa có hiệu quả điều trị với virus cúm.

Tiêm phòng: vacxin virus bất hoạt týp A và týp B được sử dụng cho những người kháng thể âm tính. Tuy vậy, kháng thể được hình thành chỉ kháng lại virus vacxin, không miễn dịch chéo với thứ týp mới và không tồn tại lâu dài.

Ngoài các phương pháp phòng bệnh đặc hiệu kể trên trong vụ dịch cần cách ly bệnh nhân, xử lý các chất thải từ đường hô hấp của bệnh nhân và vô trùng các dụng cụ, quần áo của bệnh nhân.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày những đặc điểm sinh học của Orthomyxovirus và Paramyxovirus.
2. Vẽ sơ đồ và giải thích cấu trúc và kháng nguyên của virus cúm.
3. Nêu các phương pháp chẩn đoán virus cúm trong phòng thí nghiệm.
4. Trình bày đặc điểm lâm sàng, dịch tễ học, nguyên tắc phòng và điều trị bệnh cúm.
5. Vì sao virus cúm dễ biến dị, và từ virus cúm gia cầm có thể trở thành virus cúm người.

VIRUS CÚM GIA CẦM

MỤC TIÊU

1. Trình bày các mối liên quan giữa virus cúm gia cầm và cúm người.

1. SƠ LƯỢC TÌNH HÌNH DỊCH CÚM GIA CẦM XUẤT HIỆN CUỐI 2003 VÀ ĐẾN 2005

Cuối năm 2003 và đầu 2004, ở nhiều nước châu Á và Bắc Mỹ xuất hiện đại dịch cúm gia cầm, mà chủ yếu là cúm gà. Các nước có dịch là: Việt Nam, Thái Lan, Indonesia, Lào, Campuchia, Myanma, Trung Quốc (Đại lục, Hồng Công, Đài Loan), Hàn Quốc, Nhật Bản, Mỹ, Canada... Đến năm 2005 dịch cúm này đã lan sang tất cả các nước Đông Nam Á và lây lan sang Nga và các nước vùng Trung Á. Dịch có nguy cơ lan rộng sang châu Âu do các đàn chim di cư. Tổ chức Y tế Thế giới đã cảnh báo dịch cúm gia cầm có thể trở thành dịch cúm người (như giai đoan 1918-1919). Do vậy việc tiêm phòng vacxin cúm cho gia cầm và chuẩn bị thuốc điều trị cúm cho người đã sẵn sàng.

Theo thông báo của Tổ chức Y tế Thế giới đến ngày 21/07/2005. Trên toàn cầu đã có 109 người bị bệnh cúm gia cầm H5N1, chết 55 người (Việt Nam 39 người, Thái Lan 12 người và Campuchia 4 người). Dịch cúm đã giết hại hàng trăm triệu gia cầm, chủ yếu là gà, gây thiệt hại nhiều triệu đô la Mỹ. Có một con hổ và một con báo cũng bị cúm chết do ăn phải gà cúm (Thái Lan và Myanma).

Việt Nam là một trong những nước có dịch nặng nề nhất. Dịch xảy ra từ tháng 12-2003 đến 2005 ở 57/61 tỉnh thành, giết hại 100 triệu gà, vịt, gây thiệt hại hàng tỷ USD.

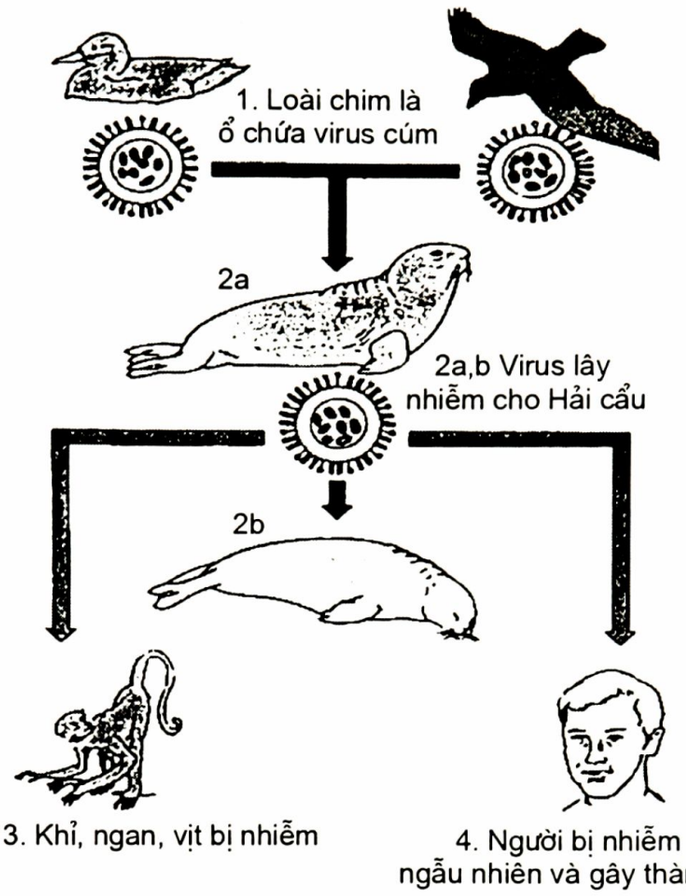
2. VIRUS GÂY DỊCH CÚM GIA CẦM

Gây ra vụ dịch cúm gia cầm này là do Avian influenzae virus nhóm A, ở châu Á là týp H5N1, còn ở Bắc Mỹ là do các týp: H7N3, H7N7 và H9N2.

H5N1 là týp có độc lực cao, bắt đầu gây dịch cúm gà ở Hồng Công cuối các năm 1997 và 1998, lây sang gần hết các nước châu Á, lây sang châu Âu (Nga và Phần Lan) gây chết hàng tỷ con gà, vịt và có 54 người châu Á chết vì cúm. Các týp thuộc H7, H2,H3 có độc lực thấp hơn và gần như không lây sang người.

3. SỰ LIÊN QUAN GIỮA CÚM GIA CẦM VÀ CÚM NGƯỜI

Gây ra dịch cúm gia cầm và cúm người đều do virus cúm nhóm A hoặc nhóm B, nhưng gây đại dịch thường do nhóm A. Sự khác nhau giữa virus cúm gia cầm và cúm người là do kháng nguyên H và N, mà chủ yếu là do kháng nguyên H. Vì đây là những phân tử hemaglutinin bám đặc hiệu lên trên các receptor của các loài động vật cảm nhiễm, quyết định gây nên cúm người hoặc cúm các loại gia cầm nào đó. Sự biến dị của các kháng nguyên H và N dẫn đến sự thay đổi loài động vật bị cảm nhiễm virus cúm.



Hình 83. Quá trình biến dị (có thể) của virus cúm

Virus cúm lây nhiễm từ chim sang hải cẩu và biến dị, một số lây nhiễm được cho người và khỉ. Từ người lây nhiễm cho người thành dịch

Theo các số liệu thống kê từ các vụ dịch cúm 1918-1978 trên toàn cầu có 4 vụ dịch lớn. Các týp virus đã gây dịch cúm cho loài người là H1N1, H2N2 và H3N2. Các týp gây dịch cúm cho gia cầm là H7N7, H7N3 và H5N1.

Sự biến dị kháng nguyên H và N là đặc tính của virus cúm, thường 10 năm thì xuất hiện một týp virus mới. Sự biến dị này xảy ra ở hai mức độ:

- Đột biến gen, có thể do đột biến điểm (drift), thường là những thay đổi nhỏ và ít nguy hiểm.
- Biến dị do trao đổi chéo các đoạn ARN giữa các týp virus cúm người và gia cầm (shift), làm xuất hiện các týp virus cúm mới, lây nhiễm được cho người, mà loài người chưa hề có miễn dịch. Đây là những điều kiện thuận lợi để xuất hiện đại dịch cúm ở người. Trong lịch sử loài người, vụ dịch cúm 1918-1919 có hơn một tỷ người bị bệnh và khoảng 40 triệu người chết. Đây là đại dịch cúm lớn nhất.

H5N1 có thể gây bệnh cho nhiều loại gia cầm: gà, gà tây, vịt, ngan, ngỗng, đà điểu và các loại chim... Gà là loại cảm nhiễm nhất. Chim hoang dại và thuỷ cầm thường mang virus, nhưng ít bị bệnh cúm và là nguồn lây nguy hiểm từ vùng này qua vùng khác theo sự di cư của chúng.

Câu hỏi quan trọng với chúng ta là H5N1 có thể gây thành dịch ở người không? Qua một số công trình của tác giả nước ngoài, H5N1 tuy có độc lực cao, nhưng khó có khả năng gây thành dịch cúm ở người. Vì tế bào đích của H5N1 và các týp virus cúm người là khác nhau. H5N1 bám và xâm nhập vào các tế bào có lông chuyển ở đường hô hấp (ciliated cell) và receptor là 2-3 lined sialic acid. Còn các týp virus cúm người thì không xâm nhập vào các tế bào này và receptor 2-6 lined sialic acid. Do vậy virus cúm gà gây thành dịch ở người là khó có thể. Trừ trường hợp H5N1 biến dị thành một týp virus cúm mới gây nhiễm dễ dàng cho các tế bào niêm mạc đường hô hấp người. Điều này có thể xảy ra khi H5N1 lưu hành một thời gian dài ở các gia cầm, đặc biệt với các loài có hệ thống miễn dịch gần giống như người và dễ dàng xuất hiện biến chủng lây cho người. Đây là vấn đề mà chúng ta rất cần cảnh giác, nhất là khi týp virus cúm gà H5N1 có độc lực cao và lưu hành trên nhiều nước châu Á bắt đầu từ 1997 ở Hồng Công. Ngày 18/5/2005, WHO cảnh báo, cúm gia cầm H5N1 có nhiều khả năng gây dịch ở người vì các chủng H5N1 ở miền Bắc Việt Nam có nhiều dấu hiệu biến dị ở gần các phân tử bám (H), nhưng những biến dị này ở mức độ thấp (drift).

Tuy vậy H5N1 đã lây lan sang lợn, chó, mèo và cầy hương. Đây là những động vật rất gần người về hệ miễn dịch và là những động vật được nuôi trong nhà. Do vậy chúng rất dễ dàng biến dị thành những virus cúm lây sang người.

Nhưng tại sao H5N1 đã lây và gây thiệt mạng cho một số bệnh nhân? Theo các điều tra thì tất cả những người bị lây đều có tiếp xúc với gà bị cúm (do chăn nuôi, do làm thịt gà hoặc do ăn thịt gà cúm...). Vì vậy, họ đã bị nhiễm một số lượng rất lớn virus cúm gà và cũng có thể, khả năng đề kháng của họ bị suy giảm? Nhưng thực tế là có 40 người Việt Nam và Thái Lan chết do bị cúm gà H5N1, được xét nghiệm virus học xác nhận. Tuy vậy, chưa có công bố H5N1 lây từ người sang người (trừ một trường hợp ở Thái Lan).

4. TRIỆU CHỨNG CỦA BỆNH NHÂN BỊ CÚM GIA CẦM

- Các dấu hiệu nhiễm trùng đường hô hấp: sốt cao liên tục có thể rét run; ho và viêm long đường hô hấp, đau ngực, khó thở.
- Triệu chứng tuần hoàn: sốc tiến triển nhanh.
- Triệu chứng khác: đau đầu, đau cơ, tiêu chảy (+/-), rối loạn ý thức (+/-).
- X quang: viêm phổi kẽ lan toả từ một sang hai bên phổi.

5. CHẨN ĐOÁN VIRUS HỌC

- Nuôi cấy phân lập virus cúm hoặc làm PCR từ bệnh phẩm dịch khí phế quản, dịch mũi họng bệnh nhân, hoặc phổi của tử thi.
- ELISA hoặc kỹ thuật ngăn ngưng kết hồng cầu để xác định týp virus.
- Có thể xác định kháng thể bằng kỹ thuật ELISA.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

6.1. Phòng bệnh

- Vacxin phòng bệnh cúm gia cầm đã có ở Trung Quốc và Tổ chức Y tế Thế giới công bố là, đến tháng 05/2004, một vacxin mới có thể được phép lưu hành. Đây là biện pháp phòng bệnh quan trọng nhất.
- Phòng bệnh không đặc hiệu bao gồm các biện pháp:
  + Diệt các gia cầm trong vùng có dịch với bán kính 3 km; ngăn cấm lưu thông gia cầm giữa các vùng có dịch và vùng không có dịch; không ăn thịt gia cầm bị cúm; tiệt trùng trang trại gia cầm.
  + Cách ly bệnh nhân, bảo hộ cán bộ y tế.

6.2. Điều trị

Dùng thuốc chống virus cúm: Tamiflu (oseltamivir), Amantadin hoặc Ribavirin (hai loại thuốc sau đã bị virus cúm kháng).

- Kháng sinh chống bội nhiễm.
- Corticoid chống sốc.
- Điều trị triệu chứng, cho thở oxy...

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Các điều kiện để virus cúm gia cầm có thể lây sang người?
2. Các phương pháp chẩn đoán bệnh cúm gia cầm?
3. Nguyên tắc phòng bệnh và điều trị cúm gia cầm lây sang người?

PARAMYXOVIRUS

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm sinh học chung của các Paramyxovirus.*
2. *Mô tả được đặc điểm sinh vật học của virus quai bị, sởi, RSV, và á cúm.*
3. *Giải thích được cơ chế bệnh sinh và mô bệnh học của virus quai bị, sởi, RSV.*
4. *Mô tả được đặc điểm lâm sàng, phương pháp chẩn đoán, dịch tễ học và nguyên tắc phòng bệnh quai bị, sởi, RSV và á cúm gây ra.*

Paramyxovirus bao gồm những virus quan trọng gây bệnh cho người như quai bị, sởi, á cúm týp 1, 2, 3, 4, virus hợp bào và một số virus gây bệnh cho động vật. Rubella virus giống Togavirus về mặt cấu trúc hóa học, nhưng lại phù hợp với *Paramyxovirus* về cơ sở dịch tễ.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH VẬT HỌC CỦA PARAMYXOVIRUS

1.1. Cấu trúc

Đặc điểm đặc trưng là hạt virus được bao bọc bởi 2 lớp vỏ lipid với các gai glycoprotein mang tính kháng nguyên. *Paramyxovirus* chứa ARN sợi đơn với các protein capsid tạo thành nucleocapsid đối xứng xoắn. Mỗi vòng xoắn có đường kính 18 nm. Trọng lượng phân tử của ARN là $5\text{-}8.10^6$.

Phần bao ngoài (envelope) của *Paramyxovirus* bao gồm hai cấu trúc glycoprotein: H-N và F. Chúng tạo nên các gai trên bề mặt của hạt virus. Các glycoprotein lớn H, N có vai trò của neuraminidase và hemagglutinin là men ngưng kết hồng cầu động vật lông vũ và giúp sự hấp phụ (adsorbtion) của virus trên tế bào cảm thụ. Cấu trúc protein khác, ký hiệu F, có vai trò kết dính các thành phần của hạt virus trong tế bào và giúp virus xâm nhập qua màng tế bào cảm thụ. Hoạt động xâm nhập của yếu tố F là nhờ sự hoạt hóa bởi phân giải protein (proteolytic) làm cho men sớm của tế bào chủ tạo F thành F_0 rồi cắt thành F_1 và F_2. F_1, F_2 hoạt động để có sự hoà nhập của virus vào màng tế bào do đó ARN virus xâm nhập vào được tế bào.

1.2. Đặc điểm sinh học

1.2.1. Sự xâm nhập vào tế bào

Trong quá trình gây nhiễm trùng, *Paramyxovirus* xâm nhập vào tế bào tạo tế bào khổng lồ. Khả năng xâm nhập tế bào này được sử dụng như một đặc điểm quan trọng để chẩn đoán bệnh.

1.2.2. Nhiễm trùng duy trì (persistent)

Hầu hết các Paramyxovirus đều có thể gây nhiễm trùng chậm, không gây huỷ hoại tế bào nuôi. Về lâm sàng, quan trọng nhất là trạng thái viêm xơ chai bán cấp của não (subacute sclerosing panencephalitis-SSPE) do vius sởi gây nên.

1.2.3. Đặc điểm kháng nguyên

Sởi và các virus gây nhiễm trùng ở chó, (Staupe - Canine distemper) và virus nhiễm trùng trâu bò (rindepest) có cấu trúc kháng nguyên giống nhau. Còn các kháng nguyên của các virus khác như quai bị, á cúm và NDV (newcastle disease virus) có những yếu tố giống nhau.

2. SỰ SAO CHÉP

ARN của nhóm virus này không có chức năng gây nhiễm trùng, cũng không có chức năng truyền tin (messenger). Thay vào đó, ARN sẽ phiên mã (transcription) ARN thành những ARN phân tử ngắn hơn để truyền tin và là dạng bổ trợ di truyền. Những *Paramyxovirus* có ARN phụ thuộc ARN polymerse, đó là một cấu trúc những thành phần của hạt virus và sản sinh ra ARN truyền tin ban đầu.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các đặc điểm sinh học chung của các Paramyxovirus.
2. Trình bày đặc điểm sinh vật học của virus quai bị, sởi, RSV và á cúm.
3. Giải thích cơ chế bệnh sinh của virus quai bị, sởi, RSV và á cúm.
4. Trình bày phương pháp chẩn đoán virus học, nguyên tắc phòng bệnh và điều trị quai bị, sởi, RSV và á cúm.
5. Mô tả đặc điểm lâm sàng và biến chứng của sởi, quai bị, RSV và á cúm.

VIRUS QUAI BỊ

(Mump virus, Virus gây viêm tuyến mang tai thành dịch)

MỤC TIÊU

1. *Quai bị là một bệnh nhiễm trùng cấp tính có đặc điểm là không làm mủ, lan rộng của một hoặc cả hai tuyến nước bọt mang tai. Các tổ chức khác cũng có thể bị tổn thương.*

1. ĐẶC ĐIỂM CỦA VIRUS

Quai bị là một virus đặc trưng của nhóm *Paramyxovirus.*

1.1. Hình thể và đặc điểm sinh học

Quai bị là virus đặc trưng của *Paramyxovirus*. Yếu tố ngưng kết hồng cầu (hemagglutination) gây ngưng kết hồng cầu gà và ngỗng có thể bị ức chế bởi huyết thanh đặc hiệu kháng quai bị và tính chất ức chế này có thể sử dụng để đo lường sự đáp ứng (responses) tạo kháng thể ức chế ngưng kết hồng cầu của người bị bệnh. Tương tự như vậy, phần nucleocapsid của hạt virus là phần chính thứ hai của kháng nguyên hòa tan "S", đây là kháng nguyên kết hợp bổ thể.

1.2. Phản ứng lý hóa học

Thành phần cấu trúc: hemagglutinin, hemolysin, ARN của virus bị phá huỷ bởi 56°C trong 20 phút. Riêng kháng nguyên test da và kháng nguyên kết hợp bổ thể thì vững bền với nhiệt độ cao hơn.

1.3. Khả năng gây bệnh cho động vật và tế bào nuôi

Trên khỉ, virus quai bị có thể gây bệnh gần giống với người, bằng cách bơm virus vào ống stenon hoặc tiêm trực tiếp vào tuyến. Dùng phương pháp kháng thể gắn huỳnh quang thấy virus được khu trú ở bào tương tế bào tuyến.

Virus quai bị nuôi được trên tế bào bào thai gà và cấy truyền qua bào thai gà thì virus giảm khả năng gây bệnh cho người, đó chính là phương pháp được dùng để sản xuất vacxin quai bị. Khi nuôi trong tế bào, virus quai bị tạo nên tế bào nhiều nhân (khổng lồ).

1.4. Thử nghiệm trong da

Kháng nguyên làm thử nghiệm trong da quai bị xác định tính nhậy cảm với virus. Một thử nghiệm (+) là quầng đỏ lớn hơn 15 mm sau 24 giờ tiêm. Thử

nghiệm da không có giá trị chắc chắn để xác định tình trạng miễn dịch của quai bị - chỉ đạt giá trị 50%.

2. CƠ CHẾ SINH BỆNH VÀ MÔ BỆNH HỌC

Hai lý thuyết về cơ chế sinh bệnh của quai bị được quan tâm:

2.1. Virus từ miệng qua ống tuyến stenons vào tuyến mang tai

Ở tuyến mang tai, chúng sinh sản và phát triển; tiếp theo, chúng gây nhiễm trùng huyết và các tuyến khác: tinh hoàn, buồng trứng, tuyến tụy, tuyến giáp hoặc não.

2.2. Cơ chế sự xâm nhập của virus

Ban đầu sự sao chép nhân lên của virus xảy ra ở bề mặt tế bào biểu mô đường hô hấp. Tiếp theo, nhiễm virus huyết đồng thời nhiễm các cơ quan khác kể cả tuyến nước bọt. Ở ống tuyến mang tai, tế bào biểu mô bị bong ra và tế bào hạt xuất hiện trong lòng ống. Một số cơ quan có khả năng bị virus quai bị gây biến chứng như hiện tượng phù kẽ và thâm nhiễm tế bào lympho. Tinh hoàn nếu bị virus xâm nhập có thể bị viêm nặng: xung huyết, từng đám xuất huyết nhỏ cũng như sự thoái hóa tế bào biểu mô ống dẫn tinh trùng. Hệ thống thần kinh trung ương có thể thay đổi từ phù mao mạch tới phản ứng thâm nhiễm, phản ứng thần kinh đệm xuất huyết hoặc mất bao myelin.

Hình ảnh lâm sàng: thời gian ủ bệnh vào khoảng 18 đến 21 ngày. Thời kỳ tiền triệu, bệnh nhân khó chịu, biếng ăn kèm theo sốt rồi chuyển nhanh tới giai đoạn sưng tuyến mang tai cũng như các tuyến nước bọt khác. Sự sưng tuyến có thể xảy ra ở một tuyến hoặc một tuyến sưng trước vài ngày rồi mới sưng tuyến tiếp theo. Sự sưng tuyến có liên quan với triệu chứng đau nhất là khi ăn chua. Viêm tuyến nước bọt thường kèm theo sốt nhẹ, kéo dài khoảng một tuần.

Tinh hoàn và buồng trứng cũng có thể bị bệnh nhất là sau tuổi dậy thì. 20% trẻ em trai 13 tuổi trở lên bị quai bị có viêm tinh hoàn nhưng thường ở một bên và như vậy không phải bao giờ cũng dẫn tới vô sinh. Nguyên nhân là do thiếu đàn hồi của vỏ bao, không cho phép tinh hoàn viêm sưng, dẫn tới teo và hoại tử tinh hoàn thứ phát. Vô sinh thứ phát ít xảy ra ở phụ nữ vì buồng trứng không có vỏ bao như tinh hoàn, nó có thể sưng khi viêm.

Quai bị là căn nguyên của 10 tới 15% viêm màng não vô trùng ở Mỹ và thường gặp ở nam giới nhiều hơn ở phụ nữ. Viêm não và màng não thường gặp xảy ra sau 5-7 ngày sau khi viêm tuyến nước bọt, nhưng chúng cũng có thể xảy ra đồng thời hoặc đơn độc không kèm theo viêm tuyến nước bọt. Nếu kiểm tra nước não tuỷ sẽ thấy nhiều bạch cầu, nhiều nhất là lympho bào, hiện tượng này có thể kéo dài sau khi triệu chứng lâm sàng đã qua.

Đôi khi bệnh nhân quai bị có biểu hiện viêm đa khớp. Quai bị cũng có thể liên quan tới viêm tụy làm tăng đường huyết, có thể dẫn tới bệnh đái đường.

Ngoài ra, virus quai bị cũng có thể gây viêm thận, viêm tuyến giáp và viêm thần kinh thính giác dẫn tới điếc. Quai bị cũng có thể là nguyên nhân gây nên não úng thủy (hydrocephalie) của trẻ em. Nếu tiêm virus quai bị vào chuột đất vàng hamster mới sinh sẽ gây ra tổn thương tương tự.

3. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Phân lập virus

Việc phân lập virus ở những bệnh cảnh lâm sàng không điển hình rất khó thực hiện. Ở những bệnh nhân điển hình, có thể lấy bệnh phẩm là nước bọt, máu hoặc nước tiểu để phân lập virus. Vì virus là loại kém vững bền, do vậy bệnh phẩm cần được bảo quản trong dung dịch riêng. Bệnh phẩm được phân lập trong bào thai gà, hoặc trong tế bào nuôi (tế bào sơ non bào thai gà hoặc tế bào thường trực vero).

3.2. Xác định kháng thể

Các phản ứng huyết thanh được dùng trong xác định kháng thể quai bị là: kết hợp bổ thể, ức chế ngưng kết hồng cầu hoặc trung hòa. Có thể dùng phản ứng ELISA tìm IgM hoặc IgG đặc hiệu kháng quai bị. Kháng thể kết hợp bổ thể giảm ngay trong thời kỳ bình phục của bệnh; ngược lại, kháng thể ức chế ngưng kết hồng cầu, kháng thể trung hòa và ELISA lớp IgG tồn tại trong nhiều năm. Sau khi bị quai bị, trẻ giữ được miễn dịch vững bền.

4. DỊCH TỄ HỌC

Quai bị truyền trực tiếp từ người bệnh sang người lành qua hạt nước bọt nhiễm trùng. Virus có trong hạt nước bọt khoảng 5 ngày kể từ khi có triệu chứng lâm sàng đầu tiên. Sau một tuần, virus không còn có trong nước bọt người bệnh. Trong nước tiểu, virus có thể tồn tại vài tuần lễ. Quai bị không hại cho trẻ em. Bệnh quai bị xảy ra quanh năm, nhưng tỷ lệ cao hơn vào cuối đông và đầu mùa xuân; 30 tới 40% nhiễm quai bị không có triệu chứng lâm sàng và đó là nguồn lây khó tránh nhất.

5. PHÒNG BỆNH

- Cách ly bệnh nhân, xử lý các chất thải để tránh lây lan.
- Phòng bệnh thụ động bằng cách dùng globulin kháng quai bị tiêm cho trẻ em trong vụ dịch. Tác dụng phòng bệnh này chỉ tồn tại ngắn.
- Phòng bệnh chủ động: có thể dùng vacxin chết hoặc vacxin sống giảm độc.

Vacxin sống giảm độc có hiệu quả cao hơn (90 tới 95% trẻ em được bảo vệ). Các kháng thể tồn tại trong huyết thanh lâu dài bảo vệ chống virus quai bị, tối thiểu là sau 8 năm. Kháng thể quai bị có thể truyền từ mẹ qua rau thai. Trẻ chỉ hết kháng thể một năm sau khi sinh, vì vậy chỉ cần tiêm phòng quai bị cho trẻ em ở lứa tuổi mẫu giáo, cấp một.

VIRUS SỞI

MỤC TIÊU

1. *Bệnh sởi là một bệnh nhiễm trùng thường gặp ở trẻ em. Sởi có thể lan tràn khắp thế giới và nó là nguy cơ cho một phần ba số trẻ em dưới 12 tuổi khắp thế giới có thể mắc bệnh với tỷ lệ tử vong khá cao.*

1. ĐẶC ĐIỂM VIRUS HỌC

Virus sởi có cấu trúc và đặc điểm sinh học giống các *Paramyxovirus* khác và có nhiều đặc điểm gần rindepest, Staupe là thành viên trong *Paramyxovirus* gây bệnh cho động vật. Vì vậy, thường có phản ứng chéo giữa các virus trên. Virus sởi là loại virus đồng nhất, ít biến đổi.

Hình thể: virus sởi hình cầu, đường kính 120 đến 250 nm, chứa ARN sợi đơn, vỏ capsid đối xứng xoắn và có bao ngoài. Trong cấu trúc có thể có 6 protein cấu trúc.

Cấu trúc vỏ bao ngoài có các hemagglutinin. Có vai trò giúp virus bám vào receptor của tế bào cảm thụ, sau đó protein hòa màng và xâm nhập phức hợp tái tổ hợp, thực hiện sự nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ. Sau khi virus được nhân lên, giai đoạn giải phóng của virus thực hiện theo phương thức nẩy chồi. Virus sởi là virus đồng nhất, không có sự biến dị của mọi cấu trúc virus, do vậy sau khi nhiễm virus sởi, kháng thể sởi sẽ duy trì suốt đời. Virus sởi chỉ gây bệnh cho người. Hemagglutinin của virus sởi mang tính kháng nguyên ngưng kết hồng cầu khỉ.

Virus sởi xâm nhập vào đường mũi họng và đường mắt. Virus nhân lên ở hệ bạch huyết nơi xâm nhập và tế bào đường hô hấp trên rồi đi qua máu.

2. LÂM SÀNG BỆNH SỞI VÀ BIẾN CHỨNG

2.1. Đặc điểm bệnh sởi

Thời gian ủ bệnh từ 10 tới 12 ngày. Sau đó là thời kỳ khởi phát với các dấu hiệu viêm long của đường hô hấp trên: chảy nước mũi, ho, hắt hơi, đỏ mi mắt... kèm theo sốt nhẹ. Sau đó xuất hiện nốt Koplik trong niêm mạc má. Tiếp theo là bệnh sởi điển hình, thể hiện bằng phát ban theo thứ tự từ trên xuống dưới sau 5 - 7 ngày. Rồi từ trên xuống mất dần các nốt ban. Sau khi bị sởi, người bệnh sẽ có miễn dịch vĩnh viễn suốt đời.

2.2. Bệnh cảnh lâm sàng ở trẻ em còn kháng thể

Trong năm đầu của cuộc đời, do tiếp nhận kháng thể kháng sởi qua rau thai nên nếu bị nhiễm virus sởi thì triệu chứng sẽ không điển hình. Các dấu hiệu viêm đường hô hấp, các triệu chứng khác đều nhẹ và trong thời gian ngắn, ban xuất hiện không điển hình. Trong các trường hợp này, chỉ có thể chẩn đoán sởi bằng các phản ứng huyết thanh tìm kháng thể kháng sởi.

Bệnh sởi cũng có thể xuất hiện hình ảnh lâm sàng nặng: viêm não cấp do sởi hoặc viêm xơ chai bán cấp tính do sởi (SSPE). Các biểu hiện viêm não đều phần lớn dẫn tới tử vong.

2.3. Sởi thể không điển hình

Thường xảy ra ở những trẻ em được tiêm vacxin sởi chết hoặc trẻ lớn nhiễm virus sởi. Triệu chứng của những người này là sốt cao, đau đầu, đau ngực, cơ và khớp. Sau hai đến bốn ngày, xuất hiện các nốt ban không điển hình ở tứ chi. Đôi khi có biểu hiện viêm phổi khối kèm tràn dịch màng phổi. Thể không điển hình này cũng chỉ có thể chẩn đoán bằng các phản ứng huyết thanh.

2.4. Biến chứng của bệnh sởi

Sởi có thể gây nhiều biến chứng:

- Viêm phổi do sởi: thường có triệu chứng sốt cao và viêm phế quản do bội nhiễm vi khuẩn. Nguy hiểm thường xảy ra với trẻ em sơ sinh và trẻ nhỏ.
- Viêm não cấp do sởi (acute measle encephalitis): bệnh thường xảy ra với tỷ lệ 0,05 tới 0,1% trong các trường hợp bị sởi và gây tử vong 10-40%.
- Viêm tai giữa do sởi.
- Viêm xơ chai não bán cấp do sởi (SSPE): đây là bệnh mạn tính ở não do sởi. Bệnh có thể xuất hiện sau sởi từ 7 đến 10 năm. Trong trường hợp này có thể tìm thấy kháng thể kháng sởi ở nồng độ cao. SSPE là một biểu hiện lâm sàng điển hình của nhiễm trùng chậm. Trong dịch não tuỷ, có thể tìm thấy protein cấu trúc và kháng nguyên bề mặt của virus sởi.
- Ngoài ra trong khi bị sởi sức đề kháng của trẻ em suy giảm miễn dịch tạm thời nhiều nên trẻ có thể mắc nhiều bệnh nhiễm trùng cơ hội khác như tiêu chảy, viêm giác mạc dẫn tới mù loà...

3. CHẨN ĐOÁN SỞI TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Trong thời kỳ tiến triển, có thể lấy dịch mũi họng hoặc kết mạc để nuôi cấy trong tế bào nguyên phát hay thường trực một lớp của người hoặc khỉ, có thể tìm thấy tiểu thể trong tế bào hoặc tế bào trở thành tế bào khổng lồ, tạo

các ổ hoại tử (các đơn vị plaque). Cũng có thể chẩn đoán trực tiếp bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang trên tế bào nhiễm virus.

3.2. Tìm kháng thể

Kháng thể tìm thấy trong huyết thanh người bị sởi là kháng thể kết hợp bổ thể, ức chế ngưng kết hồng cầu khỉ, hoặc phản ứng trung hoà. Ngoài ra còn có thể làm phản ứng ELISA tìm kháng thể IgM hoặc IgG. Cách lấy bệnh phẩm, thời gian lấy, xử lý và đọc kết quả như các virus đường hô hấp khác.

4. DỊCH TỄ HỌC BỆNH SỞI

- Sởi lây lan trực tiếp qua đường hô hấp do tiếp xúc với dịch mũi, họng, kết mạc cuả người nhiễm trùng ngay từ giai đoạn cuối thời kỳ ủ bệnh.
- Đối tượng lây nhiễm: 90-98% những người chưa miễn dịch với sởi ở mọi lứa tuổi nhưng nhiều nhất ở trẻ em mẫu giáo, cấp 1.

5. PHÒNG BỆNH

Hiện tại có hai loại vacxin sởi: vacxin sởi chết và vacxin sởi sống giảm độc. Vacxin sởi sống giảm độc rất có hiệu quả phòng bệnh sởi, do vậy nó được tiêm cho trẻ em 12 tháng tuổi để phòng bệnh sởi ở mọi hình thái lâm sàng.

Vacxin chết, trong quá trình sản xuất đã phá hủy protein kháng nguyên hòa màng. Do vậy, kháng thể hình thành sau khi tiêm vacxin virus sởi chết không đủ để kháng lại mọi kháng nguyên của virus sởi. Vì vậy, nếu nhiễm virus sởi hoang dại, người đã tiêm vacxin có thể bị sởi không điển hình, đó là nguồn lây không biết rõ nên khó phòng.

Ngoài phương pháp phòng đặc hiệu thì xử lý chất thải của bệnh nhân, cách ly bệnh nhân là cần thiết.

VIRUS HỢP BÀO ĐƯỜNG HÔ HẤP

(Respiratory Syncytial Virus = RSV)

RSV lần đầu tiên phân lập được năm 1956. RSV là căn nguyên thường gặp nhất của viêm nhiễm hô hấp trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ. Chính vì hậu quả gây nhiễm tế bào đặc biệt, tạo thành hợp bào, nên virus được gọi tên là virus hợp bào đường hô hấp.

1. CẤU TRÚC VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

RSV hình cầu, đường kính từ 150-300 nm, chứa sợi ARN sợi đơn. Ngoài nucleocapsid, virus cũng có bao ngoài, cấu trúc bao ngoài có vai trò giải phóng virus ra ngoài tế bào theo phương thức nẩy chồi. Sự khác biệt của RSV với các *Paramyxovirus* khác thể hiện ở protein cấu trúc. RSV có 10 protein cấu trúc.

Trên bao ngoài của RSV cũng có hai glycoprotein thực hiện chức năng bám của virus trên các receptor của tế bào cảm thụ và thực hiện quá trình nảy chồi để giải phóng virus ra khỏi tế bào sau quá trình virus nhân lên trong tế bào cảm thụ. Sự khác biệt là RSV không có cấu trúc hemagglutinin và neuraminidase, do vậy không gây được ngưng kết hồng cầu động vật. Trong thành phần cấu trúc glycoprotein trên bao ngoài của RSV, có khoảng 60% trọng lượng phân tử là thành phần đường, đó là cấu trúc O-glycoside, thành phần này không tìm thấy trong các virus *Myxo* hay *Paramyxovirus* khác.

2. LÂM SÀNG

Thời kỳ bắt đầu có thể nhiễm RSV của trẻ em là từ 6 tuần tuổi đến 6 tháng tuổi. Hầu hết những người nhiễm RSV ban đầu có dấu hiệu viêm nhiễm đường hô hấp trên. Sau đó, 25-40% có bệnh cảnh lâm sàng của đường hô hấp dưới. Bệnh thể hiện với các triệu chứng viêm phế quản, phế quản phế viêm. Ở trẻ lớn hoặc người trưởng thành, nhiễm RSV thường có bệnh cảnh của cảm lạnh hoặc rất ít triệu chứng, do vậy rất khó chẩn đoán lâm sàng. Ngay cả có dấu hiệu viêm nhiễm đường hô hấp dưới cũng khó chẩn đoán phân biệt với á cúm, Adenovirus, Rhinovirus hoặc khó phân biệt với *Chlamydia trachomatis*. Mặt khác, sau nhiễm RSV, kháng thể miễn dịch kháng RSV không tồn tại lâu, do vậy, thường trẻ em dễ tái nhiễm RSV.

Đây là virus quan trọng nhất gây viêm phổi và viêm tiểu phế quản ở trẻ em dưới 1 tuổi. RSV gây nhiễm trùng rộng lớn ở trẻ nhỏ toàn cầu. RSV gây nhiễm 50% trẻ em dưới 1 tuổi và số còn lại sẽ bị nhiễm ở thời niên thiếu.

3. CHẨN ĐOÁN RSV TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm là nước tiết mũi họng hoặc sinh thiết phổi. Bệnh phẩm được nuôi trong tế bào cảm thụ là tế bào phôi gà hoặc tế bào vero tìm tế bào khổng lồ. Có thể chẩn đoán xác định bằng miễn dịch huỳnh quang và nuôi cấy tế bào gây tổn thương tạo thành hợp bào.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tìm kháng thể kết hợp bổ thể, hoặc kháng thể trung hòa. Các kháng thể phát hiện được bị thoái hóa nhanh chóng nên việc tìm động lực kháng thể là

khó khăn. Ngoài ra kháng thể không có vai trò bảo vệ kháng RSV hoang dại. Trên những bệnh nhân nhiễm RSV còn có thể tìm thấy IgE và histamin, do vậy ngoài dấu hiệu bị nhiễm trùng còn thấy dấu hiệu dị ứng ở trẻ em nhiễm RSV. Phản ứng dị ứng dẫn tới viêm thận, gan và cơ tim là những tai biến khó lường.

4. DỊCH TỄ HỌC

RSV lây lan qua đường hô hấp do hít phải các hạt nhiễm trùng. Chúng nhân lên ở niêm mạc thượng bì đường hô hấp rồi tràn vào máu dẫn tới nhiễm virus máu rồi xuống đường hô hấp dưới. Bệnh thường xảy ra vào mùa đông, xuân. Dịch thường kéo dài 5 tháng. Dịch tự lui khi khối cơ thể cảm thụ có sức đề kháng chống được dịch.

5. PHÒNG BỆNH

Chưa có phương thức phòng bệnh có hiệu quả. Hiện nay có vacxin chết, nhưng hiệu giá kháng thể dịch thể không cao và giá trị bảo vệ thấp. Hiện đang nghiên cứu vacxin RSV sống giảm độc với hy vọng có cả kháng thể dịch thể và kháng thể tại chỗ chống nhiễm RSV từ giai đoạn đầu.

VIRUS Á CÚM

(Parainfluenza Virus)

Virus á cúm bao gồm 4 týp, được gọi là á cúm týp 1, 2, 3, 4; trong đó á cúm týp 1 còn có tên là virus cúm D hoặc virus cúm Sendai. Các virus á cúm là thủ phạm của nhiều bệnh nhiễm trùng đường hô hấp trên ở trẻ em và người lớn.

1. CẤU TRÚC VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

Á cúm là những virus đa hình thái, hạt virus có kích thước từ 150-200 nm. Á cúm mang ARN một sợi âm, mã hóa cho 6 protein cấu trúc là: hemagglutinin, neuraminidase protein (H, N), protein hòa màng (protein: F), protein capsid (nucleocapsid protein: NC), phospho protein (P), protein màng (M) và protein lớn (large protein - L).

Sau khi nhân lên trong tế bào cảm thụ, virus á cúm sẽ giải phóng bằng phương thức nảy chồi trên màng tế bào - giai đoạn chín muồi của virus á cúm có lấy một phần màng tế bào cảm thụ thực hiện sự sắp xếp tạo hạt virus hoàn chỉnh.

Cấu trúc H và N trên bề mặt hạt virus á cúm có chức năng cho virus bám vào tế bào cảm thụ và thúc đẩy sự chín muồi của virus và giải phóng virus ra

khỏi tế bào cảm thụ sau quá trình nhân lên. Protein hoà màng có vai trò ly giải màng tế bào cảm thụ để giúp sự xâm nhập của ARN virus vào trong tế bào cảm thụ. Các cấu trúc H và N cùng protein F có vai trò kháng nguyên đặc hiệu, kích thích cơ thể sinh kháng thể kháng virus. Kháng thể kháng H, N trong cơ thể xuất hiện giúp việc chẩn đoán á cúm được dễ dàng. Kháng nguyên H và N có khả năng ngưng kết được hồng cầu động vật lông vuxgaf, do vậy kháng thể kháng H và N sẽ ức chế hiện tượng ngưng kết hồng cầu. Tuy vậy kháng thể kháng á cúm có khả năng phản ứng chéo với quai bị và NDV.

2. LÂM SÀNG

Bệnh do á cúm thường gặp ở trẻ em với triệu chứng: sốt, viêm không điển hình đường hô hấp dưới, viêm thanh quản, viêm khí quản, phế quản hoặc phế quản phế viêm; đôi khi, bệnh cảnh giống như ho gà nên còn gọi là giả ho gà, bệnh còn có biểu hiện dị ứng bởi có thể tìm thấy IgE và histamin trong máu. Biến chứng có thể gặp là viêm tai giữa và bội nhiễm các vi khuẩn: phế cầu, liên cầu, *Haemophilus influenzae*... Khi bội nhiễm, hình ảnh lâm sàng sẽ nặng lên, có thể dẫn tới tử vong.

3. CHẨN ĐOÁN TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

3.1. Phân lập virus

Bệnh phẩm: chất tiết họng mũi, nuôi cấy trên tế bào cảm thụ như bào thai gà, thận khỉ, vero... Cũng có thể chứng minh sự có mặt của virus bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang với kháng thể mẫu gắn huỳnh quang.

3.2. Tìm kháng thể

Các kháng thể kết hợp bổ thể, ức chế ngưng kết hồng cầu tìm được sớm. Kháng thể có thể phản ứng chéo giữa các týp á cúm khác nhau. Kháng thể kết hợp bổ thể mang tính đặc hiệu cao hơn.

4. DỊCH TỄ HỌC

Lây lan bệnh do nhiễm các hạt nước mũi họng nhiễm virus. Các týp virus á cúm 1, 2, 3 lan truyền rộng, riêng týp 4 chủ yếu gây bệnh ở châu Phi. Thời gian lây bệnh từ giai đoạn ủ bệnh tới hết thời gian mắc bệnh, lây lan trực tiếp giữa người với người qua đường hô hấp.

5. PHÒNG BỆNH

- Vacxin chết có khả năng hình thành kháng thể trung hòa nhưng không chống được nhiễm bệnh, điều này dễ giải thích vì vacxin virus á cúm đòi hỏi phải tạo được kháng thể lớp IgA, hiện chưa thực hiện được. Do vậy, việc cách ly bệnh nhân và xử lý chất thải của bệnh nhân cần được quan tâm.

Bảng tóm tắt đặc điểm sinh học của các *Paramyxovirus* gây bệnh cho người:

Đặc điểm của virus	Sởi	Quai bị	Á cúm	RSV
Số lượng týp huyết thanh	1	1	4	1
Phản ứng kháng nguyên chéo với	Staupe, Rinde pest	Parainfluenza	Quai bị	-
Hemagglutimin	+	+	+	-
Neuraminidase	-	+	+	-
Hemolysin	+	+	+	-
Hoà hợp tế bào (cell fusion)	+	+	+	-
Hấp phụ hồng cầu	+	+	+	-
Tạo tiểu thể ở	K và Z	Z	Z	Z
Nhân lên trong bào thai gà	+	+	+	-
Động vật cảm thụ	Người - Khỉ	Người - Khỉ	Người - Khỉ - chuột - chó - lợn - bò	Người - tinh tinh

K: nhân tế bào; Z: bào tương.

VIRUS RUBELLA

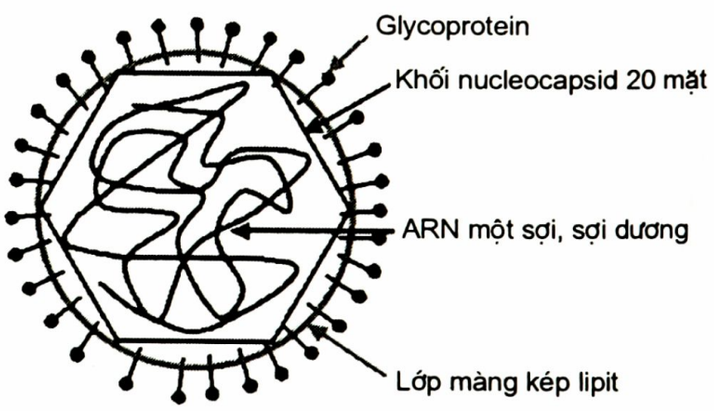
MỤC TIÊU

1. *Trình bày được đặc điểm sinh học của virus rubella, cơ chế bệnh sinh và miễn dịch của bệnh rubella.*
2. *Nêu được đặc điểm lâm sàng và dịch tễ học của bệnh rubella.*
3. *Trình bày được phương pháp chẩn đoán, phòng và điều trị bệnh rubella.*

Virus rubella gây bệnh "Sởi Đức". Bệnh đặc trưng bởi sốt, nổi ban, và tổn thương hạch bạch huyết. Bệnh ảnh hưởng chủ yếu đến trẻ em, thiếu niên và những người trẻ tuổi. Phụ nữ mang thai trong những tháng đầu, nếu bị rubella, virus có thể truyền sang thai nhi và gây rubella bẩm sinh. Bệnh thường nhẹ, tự khỏi. Hiện chưa có thuốc điều trị đặc hiệu, nhưng phòng bệnh bằng vacxin rất có hiệu quả.

1. ĐẶC ĐIỂM VIRUS HỌC

Virus rubella là thành viên duy nhất của giống *Rubivirus*, thuộc họ *Togaviridae*. Cho đến nay, mới chỉ có một týp huyết thanh được xác định. Virus hình cầu, đường kính từ 40 đến 80 nm, chứa ARN một sợi (sợi dương), phần nhân của virus là một cấu trúc đậm đặc khi nhìn bằng kính hiển vi điện tử, đường kính 30 đến 35 nm được bao bọc bởi lớp vỏ bao lipoprotein. Hạt virus chứa 3 cấu trúc polypeptid: 2 glycoprotein màng E1 và E2 và một protein capsid (protein C) gắn với ARN không bị glycosyl hóa. Protein vỏ bao E1 có khả năng gây ngưng kết hồng cầu và tạo kháng thể trung hoà hạt virus. E2 có hai dạng, E2a và E2b. Sự khác nhau giữa các chủng virus rubella là do sự khác biệt về mặt kháng nguyên của E2. Bề mặt của virus có những yếu tố gây ngưng kết hồng cầu trông giống như hình những gai nhọn.



Hình 84. Sơ đồ hình thái virus Rubella

2. CƠ CHẾ BỆNH SINH

Người là nguồn truyền bệnh duy nhất. Bệnh lây truyền qua tiếp xúc trực tiếp giữa người với người hoặc hít phải những giọt nhỏ trong chất tiết của đường hô hấp. Virus nhân lên trong các tế bào của đường hô hấp, rồi lan tràn đến các hạch lympho và vào máu. Nhiễm virus rubella ở phụ nữ mang thai dễ dẫn đến nhiễm trùng ở thai nhi do virus có khả năng xâm nhập qua rau thai. Tuy nhiên, tần suất xuất hiện những bất thường ở thai nhi do virus rubella gây ra phụ thuộc vào giai đoạn mang thai của mẹ.

3. MIỄN DỊCH

Nhiễm virus rubella sau khi sinh tạo ra miễn dịch đặc hiệu. Miễn dịch này tồn tại suốt đời kháng thể trung hoà và kháng thể ức chế ngưng kết hồng cầu xuất hiện ngay sau khi có ban đỏ và đạt mức cao nhất sau 1 đến 4 tuần. Nhìn chung, người đã nhiễm rubella hoặc được tiêm vacxin ít bị nhiễm lại hoặc có bị, nhưng biểu hiện thường nhẹ.

4. LÂM SÀNG

4.1. Rubella sau khi sinh

Với hầu hết mọi người, rubella là một bệnh nhẹ, diễn biến lành tính, tỷ lệ tử vong và biến chứng rất thấp.

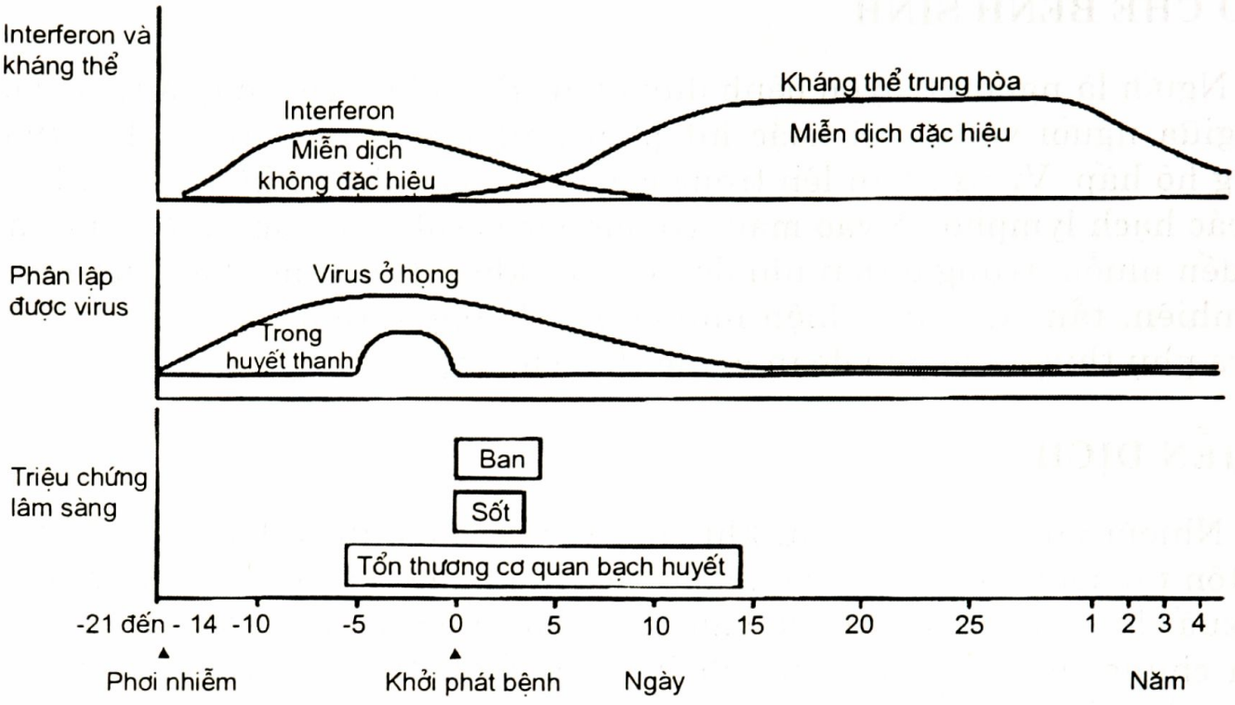
Thể nhẹ thường biểu hiện bằng sốt nhẹ, ban đỏ và biểu hiện ở cơ quan bạch huyết giống như nhiều trường hợp nhiễm virus khác. Người lớn biểu hiện bệnh thường nặng hơn trẻ em. Các triệu chứng ban đầu thường là đau đầu, mệt mỏi và sốt.

Dấu hiệu điển hình của rubella là ban dát sần, xuất hiện ban đầu ở mặt, cổ, sau đó lan xuống toàn thân, chi trên, rồi chi dưới. Triệu chứng đặc trưng và thường gặp của rubella là tổn thương hạch bạch huyết sau tai, vùng chẩm và vùng cổ sau. Ở người lớn, rubella gây sốt và phát ban nhiều hơn, kèm đau khớp, mệt mỏi, biếng ăn.

4.2. Rubella bẩm sinh

Phụ nữ khi mang thai bị rubella có nguy cơ bị xảy thai, đẻ non, hoặc thai mắc các dị tật bẩm sinh. Tam chứng cổ điển của rubella bẩm sinh là đục thuỷ tinh thể, thiểu năng tim và điếc bẩm sinh. Các biến chứng khác cũng có thể gặp như chậm phát triển trí tuệ, viêm não màng não, chậm phát triển, tổn thương gan, lách, tổn thương các cơ quan nội tiết...

Các biểu hiện có thể đơn thuần hoặc phối hợp, tổn thương có thể tạm thời hoặc vĩnh viễn.



Hình 85. Triệu chứng lâm sàng, sự xuất hiện của virus, và đáp ứng miễn dịch ở bệnh nhân rubella sau khi sinh

5. DỊCH TỄ HỌC

Rubella gặp ở nhiều khu vực trên thế giới, cả nam và nữ, trẻ em cũng như người lớn. Số các trường hợp mắc bệnh tăng vào mùa đông và cao nhất vào mùa xuân, sau đó giảm đáng kể vào mùa hè và mùa thu. Bệnh xuất hiện cũng như lan tràn ở những nơi đông người (trường học, khu công nghiệp...).

Nguồn chứa virus là người bị nhiễm trùng, khả năng lây nhiễm cao nhất là 3 ngày trước và sau khi ban đỏ xuất hiện. Người nhiễm virus rubella không có triệu chứng là nguồn lây nhiễm quan trọng.

6. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

6.1. Chẩn đoán lâm sàng

Ban đỏ điển hình cùng với tổn thương cơ quan lympho là triệu chứng của bệnh rubella.

6.2. Chẩn đoán trong phòng thí nghiệm

6.2.1. Chẩn đoán trực tiếp

Phát hiện virus từ chất tiết của đường hô hấp, máu, dịch não tuỷ, nước tiểu qua nuôi cấy tế bào thông qua tổn thương do virus rubella gây ra, hoặc nhuộm hóa miễn dịch. Các kỹ thuật sinh học phân tử có thể được dùng trong chẩn đoán virus rubella.

6.2.2. Chẩn đoán gián tiếp

Chẩn đoán trong phòng thí nghiệm chủ yếu dựa vào xét nghiệm huyết thanh học với sự xuất hiện của IgM đặc hiệu và/hoặc sự gia tăng hiệu giá kháng thể trên 4 lần. Đối với rubella bẩm sinh, phát hiện IgG từ mẹ truyền sang (tồn tại trong 6 tháng đầu sau khi trẻ ra đời) hoặc IgM do cơ thể trẻ sản xuất có ý nghĩa trong chẩn đoán.

Các phương pháp phát hiện kháng thể: phương pháp trung hoà (ít dùng vì đắt và phức tạp), ức chế ngưng kết hồng cầu, ELISA, miễn dịch huỳnh quang gián tiếp.

7. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

7.1. Phòng bệnh

7.1.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

Cách ly tốt những người nhiễm rubella, tránh lây nhiễm cho những người khác qua tiếp xúc. Hạn chế tiếp xúc tối đa với người bị bệnh và khu vực lây nhiễm. Dùng những biện pháp cá nhân tránh lây nhiễm virus như đeo khẩu trang, găng tay, vệ sinh nơi làm việc, sinh hoạt...Khi có biểu hiện sốt, ban đỏ, sống trong vùng dịch hoặc có tiếp xúc với người bệnh cần phải đến ngay cơ sở y tế để được khám và cách ly.

7.1.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Phòng bệnh đặc hiệu với rubella là tiêm vacxin. Loại vacxin phòng bệnh này hiện nay có rất nhiều trên thị trường và là loại kết hợp phòng cả 3 bệnh: Rubella, sởi và quai bị.

7.2. Điều trị

Hiện chưa có thuốc điều trị đặc hiệu cho rubella. Cách chữa chủ yếu vẫn là cho bệnh nhân nghỉ ngơi, tĩnh dưỡng, sử dụng các thuốc nâng cao thể trạng đặc biệt là vitamin, để tăng khả năng chống đỡ của cơ thể. Bệnh thường khỏi trong vòng vài ngày. Sử dụng globulin miễn dịch có tác dụng phòng nhiễm rubella cho phụ nữ có thai, nhưng hiệu quả không cao.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày đặc điểm của virus rubella, cơ chế bệnh sinh và miễn dịch của bệnh rubella.
2. Nêu đặc điểm lâm sàng và dịch tễ học của bệnh rubella.
3. Trình bày phương pháp chẩn đoán, nguyên tắc phòng và điều trị bệnh rubella.

CÁC VIRUS ĐƯỜNG RUỘT

(Enterovirus)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm sinh học chính của các virus đường ruột.*
2. *Trình bày và giải thích được cơ chế gây bệnh của virus bại liệt.*
3. *Trình bày được các phương pháp chẩn đoán bệnh bại liệt.*
4. *Trình bày được nguyên tắc phòng bệnh bại liệt.*

1. ĐỊNH NGHĨA

Enterovirus là các virus gây xâm nhiễm ở ống tiêu hóa, vì vậy có thể phân lập được chúng từ họng hay phân. Hiện nay có 72 virus được xếp vào nhóm virus đường ruột, những virus này có nhiều tính chất sinh học giống nhau.

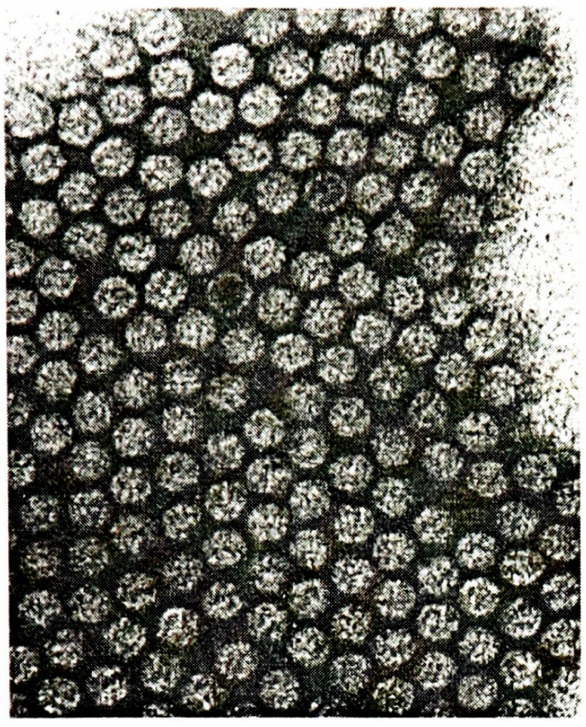
2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

2.1. Đặc điểm về cấu trúc

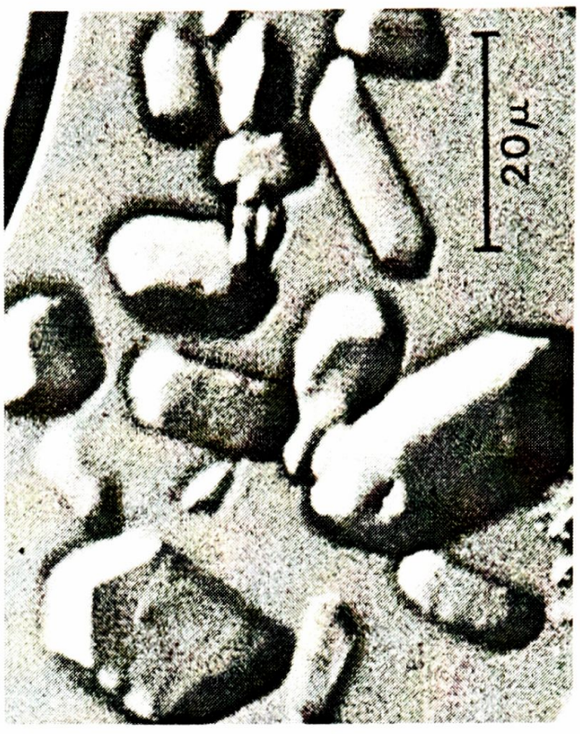
- Virus có đối xứng hình khối đa diện đều.
- Kích thước khoảng 20 - 30 nm.
- Acid nucleic là ARN một sợi, bao bọc bên ngoài là vỏ capsid được hợp bởi 32 capsome.
- Thành phần: acid nuleic chiếm 20 - 30% khối lượng hạt virus, còn lại 70 - 80% là protein, không có glucid, không có lipid.

Tính chất đề kháng

- Đề kháng với ether, cồn, natri desoxycholat (các dung môi hoà tan lipid).
- Bền vững ở pH dao động từ 2-10.
- Ở nhiệt độ 50°C bị bất hoạt nhanh chóng, nhưng bền vững hơn khi có mặt của cation (nếu cho thêm 1 mol $MgCl_2$ thì các virus tồn tại được ở 50°C / 1 giờ).
- Bị bất hoạt bởi formol, chất oxy hóa mạnh (Cl, $KMnO_4$, H_2O_2).



Hình 86. Hạt Poliovirus nhìn bằng kính hiển vi điện tử



Hình 87. Hạt Poliovirus kết tinh

2.2. Xếp loại

Dựa trên cơ sở những tính chất sinh hóa và lý sinh học, người ta xếp các *Enterovirus* và các virus có liên quan vào họ *Picornaviridae*.

Picornaviridae

Picornavirus ở người *Picornavirus* ở động vật

Enterovirus Rhinovirus Các virus không xếp hạng

- Poliovirus (Týp 1- týp 3)
- Coxsackie virus → Coxsackie virus A (týp 1- týp 24)
  Coxsackie virus B (týp 1- týp 6)
- ECHO virus (týp 1- týp 31)
- Các Enterovirus khác (týp 68-71)
- Virus viêm gan A (týp 72)

VIRUS BẠI LIỆT

(Poliovirus)

1. ĐẠI CƯƠNG

Bệnh bại liệt đã được mô tả sớm, khoảng 1600 năm trước công nguyên, nhưng mãi tới năm 1840, Hein mới chứng minh và xếp thành một bệnh riêng biệt. Năm 1949, Bodian, Sessel và Pait chứng minh được virus bại liệt có 3 týp huyết thanh:

Týp 1: giống điển hình là Brunhilde.

Týp 2: giống điển hình là Lansing.

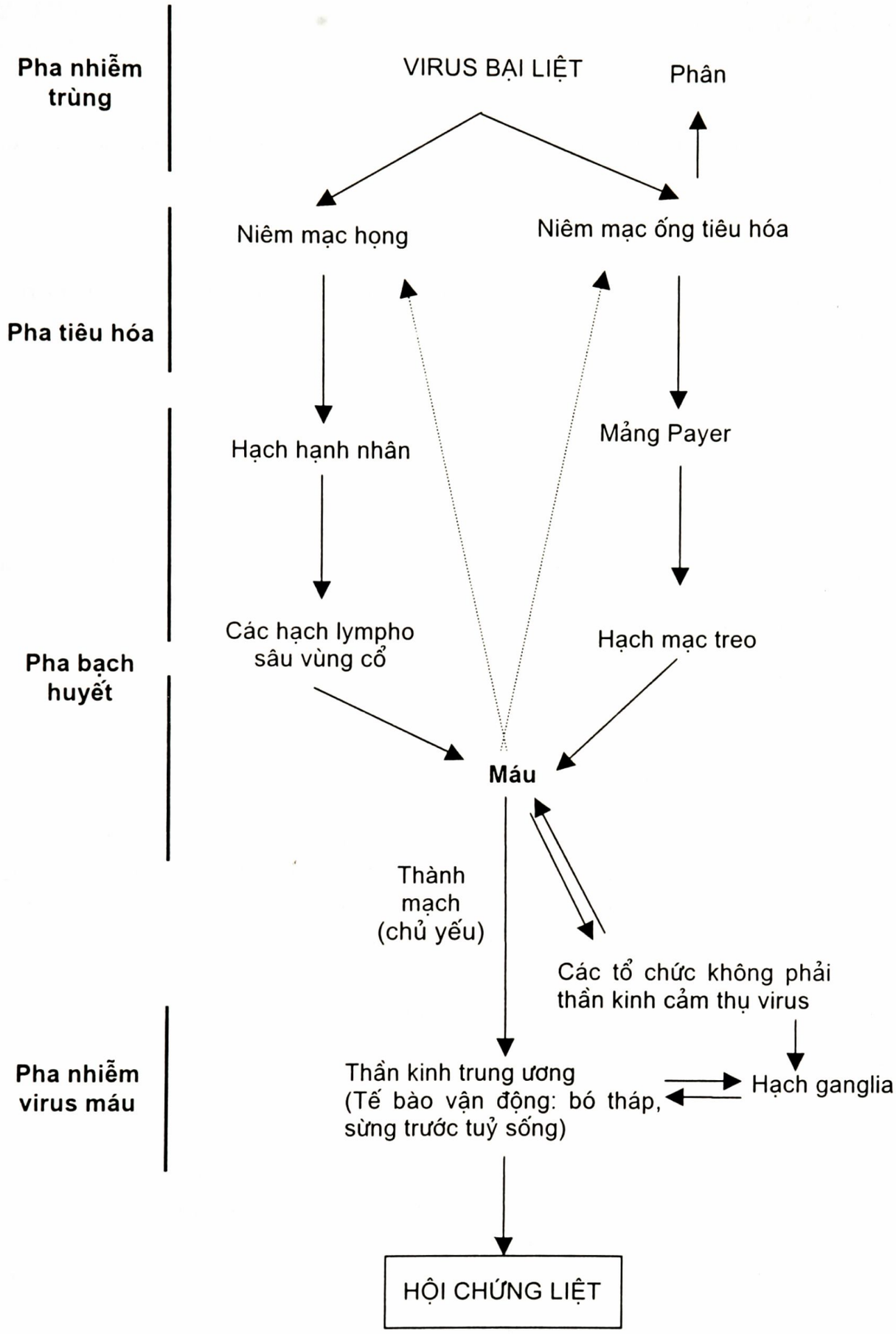
Týp 3: giống điển hình là Leon.

Cũng năm 1949, Ender, Weller và Robbins đã phát hiện được virus bại liệt có thể nhân lên trên tế bào bào thai người và tế bào thận khỉ.

Bệnh bại liệt là một bệnh nhiễm trùng đường ruột cấp tính do virus gây ra. Virus bại liệt đặc biệt gây tổn thương các tế bào sừng trước tuỷ sống và các tế bào vận động của thần kinh trung ương. Trong vụ dịch, đa số là mắc bệnh nhẹ với các triệu chứng đường ruột và hô hấp, chỉ có một phần nhỏ có hội chứng liệt.

2. CƠ CHẾ GÂY BỆNH

Sơ đồ cơ chế gây bệnh của virus bại liệt (Hình 88).



Hình 88. Sơ đồ cơ chế gây bệnh của virus bại liệt

3. THỂ LÂM SÀNG

3.1. THỂ ĐIỂN HÌNH

3.1.1. Nung bệnh: thời gian khoảng 5-6 ngày. Thời kỳ này không có triệu chứng gì rõ rệt.

3.1.2. Khởi phát: trung bình 2 - 3 ngày.

- Bệnh nhân có thể sốt 38 - 40°C nhưng không có co giật và rét run.
- Đau ở vùng sắp bị liệt.

3.1.3. Toàn phát

- Bệnh nhân xuất hiện liệt tối đa 48 giờ.
- Đặc điểm: liệt mềm.

3.1.4. Di chứng: bệnh bại liệt thường để lại di chứng tuỳ mức độ khác nhau:

- Cơ thoái hóa, teo nhỏ.
- Xương nhỏ không phát triển.
- Tàn tật vĩnh viễn.

3.2. Thể không điển hình

Thể này không biểu hiện liệt, bệnh nhân chỉ có triệu chứng nhẹ về tiêu hóa, hô hấp, dễ bỏ qua. Đây là thể rất quan trọng về mặt dịch tễ học, vì là nguồn lây lan khó phát hiện để phòng ngừa. Số người bị thể này trong vụ dịch có thể gấp 100 lần thể có triệu chứng lâm sàng.

4. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

4.1. Phân lập và xác định virus

4.1.1. Bệnh phẩm

- Phân: lấy phân ở trực tràng bệnh nhân bằng sông Nelaton hoặc dùng tăm bông lấy phân khi bệnh nhân đi ngoài ra bô sạch. Thời gian virus được đào thải ra phân tương đối dài, tuy nhiên lấy bệnh phẩm càng sớm càng tốt và nên lấy vài ngày liên tiếp thì tỷ lệ dương tính sẽ cao hơn.
- Tử thi: lấy não vùng bó tháp.

Bệnh phẩm được bảo quản trong dung dịch đệm và giữ trong điều kiện lạnh để chuyển về phòng xét nghiệm.

4.1.2. Phương pháp phân lập: hiện nay phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất là phương pháp nuôi cấy trên tế bào.

- Tế bào nguyên phát: tế bào thận khỉ (Macacus Rhesus), tế bào thận người, tế bào màng ối người.
- Tế bào thường trực: tế bào Hela, tế bào Hep-2.
- Tiêu chuẩn để xác định sự có mặt của virus trong bệnh phẩm là những đám huỷ hoại tế bào. Định týp virus bằng phản ứng trung hoà trên nuôi cấy tế bào.

4.2. Phản ứng huyết thanh

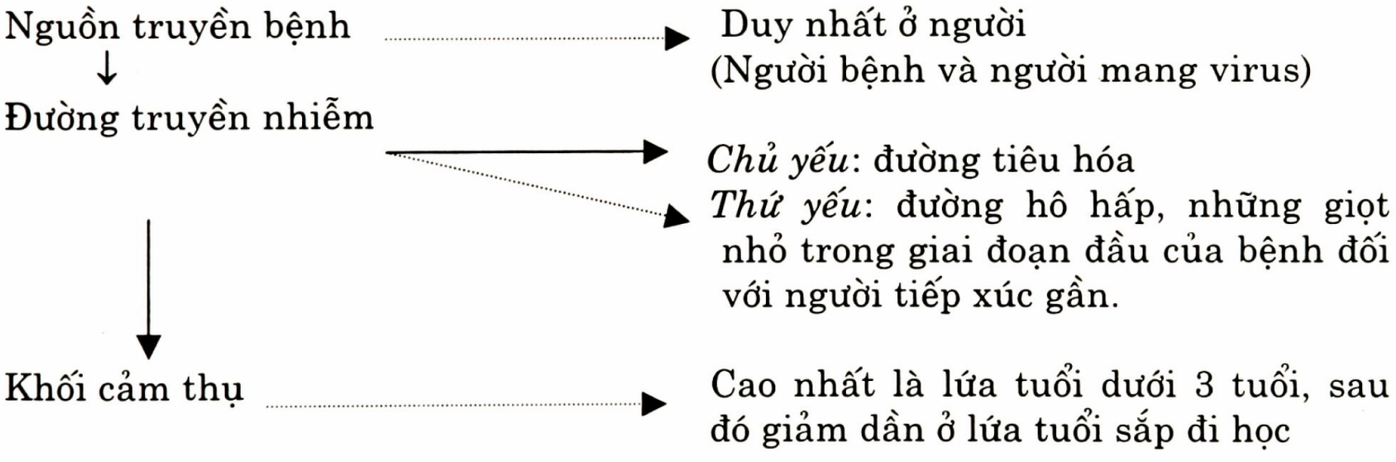
4.2.1. Bệnh phẩm

Lấy máu tĩnh mạch bệnh nhân và chắt huyết thanh. Máu phải được lấy 2 lần cách nhau 7-10 ngày để tìm động lực kháng thể.

4.2.2. Các phản ứng huyết thanh: phản ứng kết hợp bổ thể, phản ứng trung hoà và phản ứng ELISA.

5. DỊCH TỄ HỌC VÀ NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH

5.1. Dịch tễ học: dây chuyền dịch tễ học



5.2. Nguyên tắc phòng bệnh

5.2.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

- Đối với nguồn truyền nhiễm: phải chẩn đoán phát hiện kịp thời. Cách ly bệnh nhân và tẩy uế, khử trùng những chất thải, đồ dùng có liên quan tới bệnh nhân bằng chloramin 1% trong 1 giờ.
- Đối với đường truyền nhiễm: thực hiện ăn chín, uống sôi, đảm bảo các chỉ tiêu thực phẩm, vệ sinh nguồn nước, vệ sinh cá nhân, xử lý nguồn chất thải, ruồi,...

5.2.2. Phòng bệnh đặc hiệu (đối với cảm thụ)

Hiện nay có hai loại vacxin phòng bệnh bại liệt trên thế giới: đó là vacxin Salk và vacxin Sabin. Hiện nay Việt Nam vẫn đang sử dụng vacxin Sabin trong chương trình tiêm chủng mở rộng. Việt Nam đã thanh toán được bệnh bại liệt từ năm 2000

6. NGUYÊN TẮC ĐIỀU TRỊ: nâng cao thể trạng và điều trị các di chứng.

COXSACKIE VIRUS

Coxsackie virus được phát hiện năm 1948. Dựa vào đặc điểm tổn thương bệnh lý ở chuột, người ta chia Coxsackie virus thành hai nhóm: A và B.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

- Coxsackie virus mang đầy đủ các đặc điểm sinh học chung của nhóm virus đường ruột.
- Kích thước 28 nm.
- Sự nhân lên của virus: các virus có thể nhân lên trên tế bào thận khỉ, một số týp của nhóm A nhân lên trên tế bào màng phôi bào thai người.

Các týp B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B9, B16 gây nhiễm cao cho chuột bạch mới đẻ. Týp A14 gây viêm tuỷ xám ở chuột trưởng thành và khỉ, chuột mới đẻ gây co đồng tử. Týp A7 gây tổn thương hệ thống thần kinh ở khỉ. Coxsackie virus nhóm A gây viêm cơ toàn phát và liệt mềm. Coxsackie virus nhóm B gây viêm cơ cục bộ.

2. CƠ CHẾ GÂY BỆNH VÀ CÁC THỂ LÂM SÀNG

2.1. Cơ chế gây bệnh

Virus xâm nhập vào cơ thể qua đường tiêu hóa và hô hấp, sau đó virus vào máu. Giai đoạn này có thể tìm thấy virus ở họng và máu trong vài ngày đầu biểu hiện bệnh. Sau đó virus được đào thải ra phân trong vòng 2 đến 5 tuần. Ngoài ra, virus gây tổn thương thần kinh trung ương, cơ tim và các cơ quan khác. Bệnh thường gặp vào mùa hè và đầu mùa thu.

2.2. Lâm sàng

Giai đoạn ủ bệnh từ 2 đến 9 ngày. Sau đó tuỳ thuộc từng týp virus mà có biểu hiện tổn thương và các triệu chứng lâm sàng khác nhau.

2.2.1. Bệnh viêm họng mụn nước (Herpangina)

- Nguyên nhân do virus nhóm A (týp 2, 4, 5, 6, 8 và 10).
- Biểu hiện lâm sàng: bệnh nhân bị sốt đột ngột, đau họng, chán ăn, nôn hoặc đau bụng. Xung huyết ở họng mũi, amiđan và lưỡi. Bệnh thường gặp ở trẻ nhỏ.

2.2.2. Viêm màng não vô khuẩn và liệt nhẹ

- Nguyên nhân do virus Coxsackie nhóm B và Coxsackie virus týp A7, A9 và A24.
- Biểu hiện lâm sàng: bệnh nhân có thể sốt, đau đầu, buồn nôn, đau bụng. Sau đó 1-2 ngày có hội chứng màng não và có thể dẫn đến đau cơ và liệt nhẹ.
- Xét nghiệm nước não tuỷ: nước não tuỷ trong, trên 500 tế bào/ml, 50% là bạch cầu trung tính.

2.2.3. Bệnh đau nhói ngực (Pleurodynia)

- Nguyên nhân: do virus nhóm B
- Biểu hiện lâm sàng: thường sốt và đau ngực đột ngột, đôi khi sốt rét. Đau ngực, có thể đau tại chỗ hoặc lan xuống phía dưới xương ức, đau dữ dội chốc lát hoặc có thể kéo dài 2 ngày đến 2 tuần.

2.2.4. Bệnh ở trẻ sơ sinh (Neonatal disease)

- Nguyên nhân: do virus Coxsackie B.
- Biểu hiện lâm sàng: bệnh nhân ngủ nhiều, nuốt khó, nôn, có sốt hoặc không, có thể ỉa chảy nặng.

2.2.5. Viêm nội và ngoại tâm mạc: bệnh có thể xảy ra 8 ngày đầu sau đẻ.

2.2.6. Các bệnh khác

Coxsackie nhóm B có thể gây viêm cơ tim, Coxsackie B4 gây bệnh đái tháo đường, Coxsackie A24 gây viêm kết mạc chảy máu cấp. Coxsackie A4, A5, A7, A9, A10, A16 có thể gây viêm loét miệng, họng, phát ban lòng bàn tay, lòng bàn chân, cũng có thể phát ban ở cánh tay, cẳng chân, v.v...

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

- Bệnh phẩm:
  + Nước súc họng lấy trong vài ngày đầu của bệnh.
  + Phân: lấy trong hai tuần đầu của bệnh.

+ Ngoài ra viêm màng não có thể lấy dịch não tuỷ, viêm kết mạc lấy nước rửa mắt...

– Phương pháp:

+ Nuôi cấy tế bào: có thể nuôi cấy trên tế bào thận khỉ, tế bào màng ối người, tế bào Hela. Tế bào sẽ bị huỷ hoại trong vòng 5-14 ngày.

+ Tiêm bệnh phẩm vào chuột nhắt trắng mới đẻ: nếu có virus Coxsackie A, sau 3-8 ngày chuột ốm, Coxsackie B sau 5-14 ngày chuột ốm.

+ Chẩn đoán huyết thanh: có thể sử dụng phản ứng miễn dịch huỳnh quang, phản ứng trung hoà trên nuôi cấy tế bào.

4. PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

Hiện nay chưa có vacxin phòng bệnh đặc hiệu vì vậy phòng bệnh chủ yếu là các biện pháp phòng bệnh chung không đặc hiệu như các virus đường ruột khác.

Điều trị: chưa có thuốc điều trị đặc hiệu.

ECHO VIRUS

(Enteric Cytopathogenic Human Orphan virus)

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC: gồm toàn bộ các đặc điểm chung của nhóm virus đường ruột.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Týp 4, 6, 9, 16 và 18 có thể gây viêm màng não. Týp 9, 16, 18 và 4 thường gây phát ban ở trẻ em. Týp 6, 9 có thể gây viêm kết mạc, cơn co thắt. Týp 18 và 20 gây ỉa chảy ở trẻ em. Týp 18 gây viêm đường hô hấp trên.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

Có thể phân lập virus trên tế bào thận khỉ, một số trường hợp có thể phân lập trên tế bào màng ối và tế bào liên kết của người. Phản ứng huyết thanh học ít sử dụng trong chẩn đoán.

Các Enterovirus khác:

Trong những năm gần đây, người ta đã phát hiện được một số virus đường ruột mới sau đây:

Týp 68 gây viêm phế quản và viêm phổi ở trẻ em.

Týp 70 là nguyên nhân chủ yếu trong viêm màng tiếp hợp chảy máu cấp.

Týp 71 gây viêm tuỷ sống, màng não, não.

Týp 68-71 có thể phân lập được trên tế bào thận khỉ.

Bệnh xảy ra từ năm 1969-1971 ở châu Phi và vùng đông nam châu Á, nhưng vẫn chưa xác định được virus. Cho tới năm 1981 mới phát hiện được virus ở Florida (Hoa Kỳ).

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Kể tên các virus thuộc nhóm virus đường ruột?
2. Trình bày các đặc điểm sinh học chính của nhóm virus đường ruột?
3. Vẽ sơ đồ và giải thích cơ chế gây bệnh của virus bại liệt?
4. Trình bày các phương pháp chẩn đoán bệnh bại liệt?
5. Kể các biện pháp phòng bệnh bại liệt? Việt Nam hiện nay đang sử dụng vacxin gì để phòng bệnh? Trình bày lịch sử dụng vacxin này?
6. Kể các thể lâm sàng do coxsackie virus gây ra?

ROTAVIRUS

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được đặc điểm sinh học của Rotavirus.*
2. *Trình bày và giải thích được cơ chế gây bệnh của Rotavirus.*
3. *Trình bày được phương pháp chẩn đoán Rotavirus.*
4. *Trình bày được nguyên tắc phòng và điều trị bệnh.*

1. ĐẠI CƯƠNG

Năm 1972, Kapikian và cộng sự lần đầu tiên phát hiện ra một virus có liên quan đến các bệnh ỉa chảy và đặt tên là Norwalk.

Đến năm 1973, Bishop quan sát dưới kính hiển vi điện tử mảnh sinh thiết ruột non từ một em bé chết vì bệnh ỉa chảy cấp, thấy có virus giống như Reovirus (reovirus-like) và ông đặt tên virus này là *Rotavirus*. Sau đó, Flewett, Bryden, Midleton cũng đề cập tới vai trò của *Rotavirus* trong bệnh viêm dạ dày-ruột. Sau này, những nghiên cứu về hình thái học bằng nhuộm âm bản những lát cắt cực mỏng các tổ chức nhiễm virus Rota, quan sát dưới kính hiển vi điện tử đã cho phép xác định virus Rota thuộc họ *Reoviridae*.

Ở Việt Nam, tới năm 1980 mới xác định được virus Rota là căn nguyên của viêm dạ dày-ruột cấp tính, gây ỉa chảy ở trẻ em. Đây là một bệnh rất phổ biến, đứng hàng thứ hai sau nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính ở trẻ em. Theo một số công trình nghiên cứu đã công bố trong nước, bệnh ỉa chảy do *Rotavirus* chiếm khoảng 27% trong số các căn nguyên gây ỉa chảy ở trẻ em. Ở những nước phát triển, tỷ lệ ỉa chảy do *Rotavirus* chiếm khoảng 50% trong tổng số các căn nguyên gây ỉa chảy ở trẻ em.

2. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

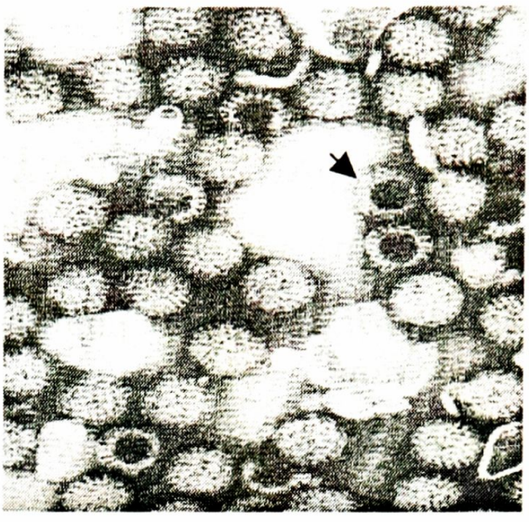
2.1. Đặc điểm về cấu trúc

Virus có hình khối tròn, đường kính trung bình 65-70 nm. Acid nucleic là ARN hai sợi, nằm ở trung tâm hạt virus, đường kính 38 nm và được bao bọc bởi hai lớp capsid. Các capsome của lớp trong xếp theo hình nan hoa và kéo nối với các capsome của lớp ngoài tạo nên hình vòng. Do vậy, các virus này mới có tên là Rota (rota = wheel, bánh xe) (Hình 89).

2.2. Đặc điểm về kháng nguyên

Hai lớp capsid mang đặc điểm kháng nguyên riêng biệt: lớp capsid ngoài mang kháng nguyên đặc hiệu týp. Lớp capsid trong mang kháng nguyên đặc hiệu nhóm. Nhân không mang kháng nguyên.

Rotavirus gây bệnh cho người và các *Rotavirus* gây bệnh cho động vật có kháng nguyên tương tự nhau nhưng không có mối liên quan về mặt kháng nguyên với các virus thuộc họ *Reoviridae*.



Hình 89. Rotavirus trong phân (đầu mũi tên), nhìn dưới kính hiển vi điện tử

2.3. Đặc điểm nhân lên và khả năng gây bệnh

Virus vào cơ thể nhân lên chủ yếu ở niêm mạc tá tràng. Người ta đã cấy truyền virus trên hàng loạt các loại tế bào tiên phát như: tế bào ruột và bào thai người, thận bào thai lợn... nhưng tỷ lệ virus gây nhiễm giảm dần và bị mất đi sau 2 đến 5 lần cấy truyền.

2.4. Sức đề kháng

Virus bị bất hoạt nhanh chóng khi bị xử lý bằng EDTA (ethylendiamintetracetic acid). Chúng dễ bị bất hoạt ở pH nhỏ hơn 3 hoặc lớn hơn 10, nhưng có sức đề kháng tốt đối với Clo và ether; chúng bền vững sau nhiều ngày trong phân ở nhiệt độ thường.

3. CƠ CHẾ GÂY BỆNH

Rotavirus là căn nguyên thường gặp nhất trong bệnh ỉa chảy ở trẻ em dưới 2 tuổi, đặc biệt là dưới 12 tháng. Virus độc lực xâm nhập vào cơ thể qua đường tiêu hóa và nhân lên chủ yếu ở niêm mạc tá tràng, chúng phá huỷ lớp tế bào trụ, làm lớp tế bào này bị biến dạng. Vì vậy dẫn đến quá trình hấp thu của ruột bị giảm, do đó làm ứ đọng các chất trong lòng ruột, đặc biệt là carbohydrat; làm áp suất thẩm thấu tăng, kéo nước ra ngoài, gây ỉa chảy nhiều lần trong ngày và phân rất nhiều nước.

4. TRIỆU CHỨNG LÂM SÀNG

Giai đoạn ủ bệnh ngắn, chỉ 1-2 ngày kể từ khi virus xâm nhập vào cơ thể. Sau đó chuyển sang giai đoạn toàn phát với các triệu chứng sau: ỉa chảy nhiều lần trong ngày, phân nhiều nước; rất hiếm khi có máu và đây là đặc điểm quan trọng để chẩn đoán phân biệt với ỉa chảy do vi khuẩn. Đôi khi, bệnh nhân có

nôn, trên lâm sàng biểu hiện mất nước nặng. Bệnh nhân thường sốt nhẹ. Bệnh thường gặp ở trẻ dưới 12 tháng và bệnh thường xảy ra vào mùa thu đông.

5. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

5.1. Xác định virus

5.1.1. Bệnh phẩm: lấy phân bệnh nhân trong tuần lễ đầu của bệnh hoặc hút dịch tá tràng.

5.1.2. Phương pháp xét nghiệm

Quan sát trực tiếp dưới kính hiển vi điện tử để phát hiện độ lớn, hình thái và cấu trúc của hạt virus. Để phát hiện virus trực tiếp từ bệnh phẩm, người ta dùng các kỹ thuật miễn dịch như miễn dịch enzym (ELISA), miễn dịch phóng xạ, miễn dịch huỳnh quang, ngưng kết hồng cầu thụ động, ngưng kết hạt latex.

5.2. Chẩn đoán huyết thanh học

5.2.1. Bệnh phẩm: lấy máu tĩnh mạch bệnh nhân và chắt lấy huyết thanh.

5.2.2. Các phản ứng

- Phản ứng ELISA, phản ứng huỳnh quang, miễn dịch phóng xạ và phản ứng kết hợp bổ thể đã được dùng để tìm kháng thể trong máu bệnh nhân.

Tuy vậy, bệnh ỉa chảy do *Rotavirus* là một bệnh cấp tính, nếu không chẩn đoán và điều trị kịp thời, bệnh nhân có thể tử vong do mất nước và điện giải. Vì vậy, chỉ có phương pháp xác định virus trực tiếp từ bệnh phẩm là có giá trị nhất đối với bệnh nhân.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG BỆNH VÀ ĐIỀU TRỊ

6.1. Nguyên tắc phòng bệnh

Virus xâm nhập vào cơ thể bằng đường tiêu hóa, vì vậy, người ta sử dụng các biện pháp sau đây:

- Vệ sinh ăn uống: sữa cho trẻ phải đảm bảo đủ các chỉ tiêu vệ sinh. Dụng cụ đựng đồ ăn của trẻ phải được khử trùng cẩn thận, người mẹ phải giữ gìn vệ sinh tốt trong thời kỳ cho con bú.
- Xử lý và tẩy uế những chất thải và đồ dùng có liên quan tới bệnh nhân.

Cho tới nay đã thử nghiệm một số loại vacxin phòng bệnh, và xu hướng hiện nay là nghiên cứu sản xuất một loại vacxin sống, giảm độc lực. Vì người ta đã chứng minh được rằng IgAs được hình thành ở đường tiêu hóa sau khi

bệnh nhân bị bệnh có vai trò quyết định trong miễn dịch bảo vệ. Mặt khác, những thử nghiệm ở bê đã cho thấy miễn dịch bảo vệ được hình thành sau khi cho chúng uống virus sống giảm độc lực.

6.2. Nguyên tắc điều trị

Phải bồi phụ nước và điện giải cho bệnh nhân. Thường sau một tuần, bệnh nhân hồi phục hoàn toàn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các đặc điểm sinh học của rotavirus?
2. Trình bày cơ chế gây bệnh của rotavirus?
3. Trình bày các phương pháp chẩn đoán rotavirus?

CÁC VIRUS VIÊM GAN

(Hepatitis viruses)

MỤC TIÊU

1. *So sánh cấu trúc của 5 loại virus viêm gan.*
2. *Nêu các bệnh phẩm cần lấy để chẩn đoán các bệnh viêm gan do virus.*
3. *Trình bày đường lan truyền của từng virus gây viêm gan, thời gian ủ bệnh, diễn biến lâm sàng chính của từng bệnh viêm gan.*
4. *Trình bày phương pháp phòng bệnh không đặc hiệu và đặc hiệu, các hành vi cần chú ý để không lây lan các bệnh viêm gan.*

Định nghĩa: virus gây viêm gan là những virus có ái tính với tế bào gan. Sau khi virus viêm gan xâm nhập vào cơ thể thì các tế bào khác tổn thương là thứ yếu, tế bào đích mà virus hướng tới và xâm nhập, nhân lên, gây tổn thương chủ yếu là tế bào gan. Các virus viêm gan đều có tế bào đích chung là tế bào gan, nhưng chúng có cấu trúc, đường xâm nhập, cơ chế lan truyền... khác nhau. Do vậy, cho đến nay, các virus viêm gan chính được chia ra 5 loại là A, B, C, D, E.

VIRUS VIÊM GAN A

Virus viêm gan A (Hepatitis A virus: HAV) thuộc nhóm Picornavirus, là týp thứ 72 của *Enterovirus*.

1. HÌNH THỂ VÀ CẤU TRÚC

Viêm gan A là virus chứa ARN một sợi, protein capsid được tạo bởi 32 capsomers tạo đối xứng khối đa giác đều. Kích thước khoảng 27 nm. ARN của virus được cấu tạo bởi 8000 đến 8100 nucleotid, trọng lượng phân tử khoảng $2,8 \times 10^6$ dalton. Protein cấu trúc được cấu tạo từ VP_0 đến VP_4. Virus viêm gan A không có cấu trúc lipid nên chúng đề kháng với ether, acid và các dung môi hoà tan lipid khác.

Sức đề kháng của virus:

- Virus viêm gan A vững bền ở nồng độ ether 20% và ở 4°C trong 18 giờ, ở 37°C sau 72 giờ, 60°C/1 giờ. Ở -20°C virus viêm gan A có thể sống hàng năm.
- Virus bị bất hoạt ở 100°C/5 phút đun sôi, formalin nồng độ 1/4000 ở nhiệt độ 37°C virus có thể tồn tại 3 ngày.
- Hấp ướt 121°C/20 phút, sấy khô 180°C/1 giờ.
- Ở pH từ 0 đến 8, virus không bị bất hoạt.

Tính sinh miễn dịch: virus viêm gan A chỉ có một týp đồng nhất. Các kháng thể lớp IgM và IgG kháng virus viêm gan A không phản ứng chéo với các virus viêm gan khác. Kháng thể IgG có thể tồn tại nhiều năm tới suốt đời. Các kháng thể kháng HAV xuất hiện sớm ngay từ giai đoạn tiền triệu và giai đoạn sớm của bệnh. Kháng thể kháng HAV lớp IgM chỉ tồn tại 3 tới 4 tháng.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Virus viêm gan A chỉ gây bệnh cho người, nhưng có thể gây bệnh thực nghiệm trên khỉ mũi nhỏ, có vuốt ở nam Mỹ và tinh tinh.

Quá trình gây bệnh ở người: đường lây truyền của HAV qua đường tiêu hóa khi ăn phải các thức ăn có nhiễm phân chứa HAV. Thời kỳ ủ bệnh thường từ 20 tới 30 ngày nhưng sớm nhất là 15 ngày, dài nhất 45 ngày. Sau đó, các triệu chứng thường xuất hiện không rầm rộ với sốt nhẹ (dễ bỏ qua): vàng da, mệt mỏi, chán ăn, đi tiểu vàng, phân nhạt màu trong thời gian ngắn hay không rõ ràng. Khoảng 60% các trường hợp HAV triệu chứng không điển hình. Bệnh thường gây thành dịch.

Cơ chế gây bệnh:

Virus xâm nhập qua đường tiêu hóa, nhân lên trong bào tương tế bào biểu mô đường tiêu hóa rồi vào máu gây nhiễm virus huyết thoáng qua; sau đó vào gan, mật, đôi khi cả lách, gây tổn thương tế bào, làm tăng men transaminase trong máu. Virus đào thải qua phân suốt thời kỳ tiền vàng da và vàng da. Virus viêm gan A không có trạng thái người lành mang virus và không tạo thành bệnh mạn tính. Rất hiếm khi gây bệnh thể cấp tính nặng. Tỷ lệ tử vong thấp.

3. DỊCH TỄ HỌC

Đường lây truyền viêm gan A là đường phân-miệng: các hạt nhiễm trùng từ phân bệnh nhân, người bị bệnh thể ẩn từ giai đoạn tiền vàng da tới giai đoạn vàng da được lan truyền vào thức ăn, nước uống không nấu kỹ. Đối tượng nhiễm trùng chủ yếu là trẻ em và những người sống thiếu vệ sinh, bệnh nhân tâm thần. Bệnh thường xảy ra ở khu vực nhiệt đới và các nước nghèo, trình độ vệ sinh kém. Điều quan trọng của HAV là giai đoạn lây truyền xảy ra từ thời kỳ ủ bệnh và 40 - 60% những người nhiễm HAV thể hiện bệnh không điển hình và đó là nguồn lây không quản lý được.

Những trẻ em nhiễm HAV thường chỉ cần theo dõi tại nhà, không cần nằm viện. Nếu nằm viện cũng không cần cách ly quá chặt chẽ. Điều quan trọng là xử lý phân của bệnh nhân và nhất là những người bị bệnh có tổn thương tâm thần. Về mặt địa lý, rõ ràng dịch HAV thường ở vùng nhiệt đới hoặc cận nhiệt đới và vùng bán đảo Scandinavi.

4. CHẨN ĐOÁN

4.1. Phân lập tìm virus

Bệnh phẩm là phân và mảnh sinh thiết gan được nuôi cấy trên tế bào lưỡng bội của người hoặc vượn tinh tinh (chimpanzee), khỉ mũi nhỏ, nhưng chỉ phân lập được trên 50% người bệnh. Cũng có thể chứng minh sự có mặt của HAV bằng kính hiển vi điện tử hay miễn dịch huỳnh quang hoặc miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay - RIA).

4.2. Tìm kháng thể

Có thể tìm thấy IgM từ giai đoạn tiền triệu bằng phản ứng ELISA. IgG cũng tìm được sớm và khó tìm được sự gia tăng 4 lần của IgG trong máu lần thứ hai. Vì ngay từ những ngày đầu hiệu giá kháng thể kháng HAV lớp IgM cũng đã rất cao, do vậy, người ta thường dùng phản ứng ELISA tìm IgM. Tìm IgG bằng các phản ứng kết hợp bổ thể, trung hòa, miễn dịch phóng xạ, miễn dịch điện di, ELISA...

5. PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

Phòng bệnh: cách ly bệnh nhân, xử lý dụng cụ bệnh nhân dùng và phân của bệnh nhân bằng thuốc sát trùng.

Phòng bệnh thụ động: dùng globulin người bình thường hoặc dùng globulin kháng HAV tiêm cho trẻ em ở vùng có dịch: 0,02 - 0,12 ml/kg cân nặng cơ thể, pha loãng 16% và tiêm bắp. Chỉ dùng vào giai đoạn đầu vụ dịch, dùng globulin không có giá trị nếu người dùng đã nhiễm HAV sau 15 ngày.

Vacxin phòng bệnh đang được nghiên cứu là vacxin sống giảm độc. Các vacxin sống giảm độc có hiệu quả với khỉ nhỏ mũi, tinh tinh và trên một số người tình nguyện. Vacxin HAV có thể sản xuất được trên tế bào nuôi hoặc vacxin tái tổ hợp. Bởi vì hầu như các mật mã di truyền của HAV đã được ghi nhận rõ ràng, các mật mã về cấu trúc protein, về kháng nguyên trung hòa trên tế bào đã được biết rõ. Những protein và kháng nguyên trung hòa đó có thể làm cơ sở cho một vacxin mới.

Điều trị: dùng globulin kháng HAV cho những người đã nhiễm giai đoạn đầu để điều trị dự phòng. Globulin chỉ có giá trị bất hoạt virus từ 7 - 10 ngày. Chăm sóc bệnh nhân cẩn thận, cho chế độ ăn uống thích hợp không mỡ, giàu vitamin và đạm là những biện pháp hỗ trợ quan trọng.

VIRUS VIÊM GAN B

(Hepatitis B virus = HBV)

ĐẠI CƯƠNG

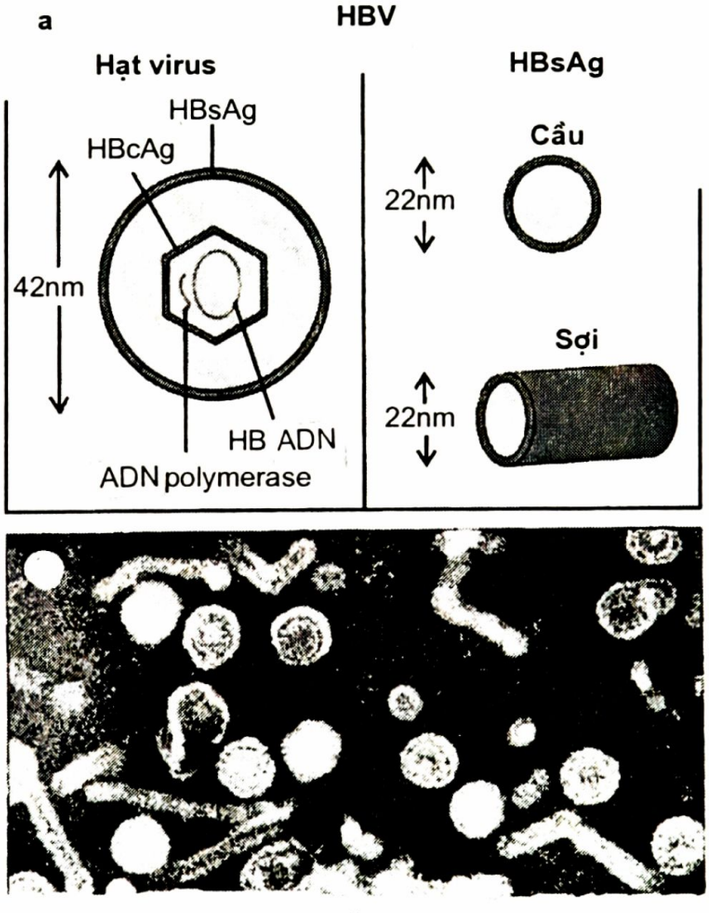
Baruch, Blumberg và cộng sự đã phát hiện kháng nguyên Australia vào năm 1970. Sau đó kháng nguyên này được xác định là kháng nguyên bề mặt của hạt virus và năm 1976 được gọi là HBsAg (*Hepatitis B surface antigen*) kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B.

Năm 1970, Dane đã phát hiện dưới kính hiển vi điện tử các hạt nhỏ, đường kính khoảng 42 nm, chúng được gọi tên là các hạt Dane. Về sau các tác giả nghiên cứu về HBV đã xác định hạt Dane là những hạt virus hoàn chỉnh.

1. HÌNH THỂ VÀ CẤU TRÚC, CÁC ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Cấu trúc

HBV được xếp trong họ *Hepadnaviridae*. HBV là virus mang ADN hai sợi không khép kín, có trọng lượng phân tử 2 x 10^6 dalton, được cấu tạo bởi 3200 nucleotid, capsid có đối xứng hình khối, kích thước khoảng 27 nm, bao capsid dày khoảng 7 nm được cấu tạo bởi 3 protein cấu trúc: P lớn, P trung bình và P nhỏ; bao tạo cho virus có hình cầu đường kính 42 nm (đó là hạt Dane).



b Virion và các thú cầu sợi

Hình 90. Virus viêm gan B

Trên phần capsid có cấu trúc HBcAg và HBeAg. Trên bao ngoài có kháng nguyên bề mặt HBsAg. Cấu trúc HBsAg có thể thay đổi để tạo thành nhiều thứ týp (subtypes) khác nhau. Trong cấu trúc HBsAg của mọi HBV đều có thành phần "a" là giống nhau còn các thành phần cấu trúc khác "y" hoặc "d" v "w" hoặc "r" của các thứ týp là khác nhau. Các thành phần cấu trúc khác nhau của HBsAg trong bốn thứ týp HBV (adr, adw, ayr, ayw) không có ý

nghĩa gì về lâm sàng, chúng chỉ cho thấy sự khác biệt về gen và có ý nghĩa khi nghiên cứu dịch tễ học.

- HBV còn có cấu trúc ADN polymerase và nó có thể mang chức năng của phosphokinase.
- Sự nhân lên các thành phần cấu trúc của HBV có thể thực hiện trên tế bào người, động vật là khỉ, vượn và một số động vật mới sinh. Sự nhân lên của HBV có qua giai đoạn tạo ARN trung gian (ADN → ARN → ADN).

Nhờ ADN polymerase, HBV tổng hợp được đầy đủ ADN 2 sợi không khép kín (vòng) ở nhân tế bào, ADN tích hợp vào nhiễm sắc thể của tế bào gan một phần, còn một phần tự do làm khuôn mẫu tổng hợp mARN. Dựa vào mARN này, các protein được tổng hợp và cả phần khiếm khuyết của ADN virus cũng được tổng hợp. Phần ADN khiếm khuyết này lại được dùng làm khuôn mẫu để tổng hợp nên sợi bổ sung ADN genom virus.

1.2. Cấu trúc kháng nguyên

HBV có ba loại kháng nguyên chính:

- HBsAg: có sự thay đổi giữa các thứ týp, có trọng lượng phân tử thay đổi từ 23.000 đến 29.000 dalton, giúp cho sự bám của virus vào tế bào gan.
- HBcAg có trọng lượng phân tử từ 18.000 tới 19.000 dalton. HBcAg chỉ tồn tại trong tế bào gan, không tìm được trong máu người nhiễm HBV.
- HBeAg có cấu trúc thay đổi ở các thứ týp. Trọng lượng phân tử từ 16.000 đến 19.000 dalton. Kháng nguyên này cũng như HBsAg có thể tìm được trong máu, huyết tương bệnh nhân.

1.3. Sức đề kháng

HBV vững bền với ether 20%, natri desoxycholat; ở 4°C vững bền 18 giờ; 50°C/ 30' không bất hoạt HBV; 60°C/1giờ cũng không bất hoạt nhưng 60°C/10 giờ chỉ bất hoạt một phần. HBV bị bất hoạt ở 100°C/5phút, Formalin 1/4000 và 37°C/72 giờ. Riêng kháng nguyên HBsAg ở -20°C tồn tại 20 năm.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

HBV gây bệnh cho người lây lan bởi đường máu qua nhiều phương thức: truyền máu, tiêm chích, tình dục, mẹ truyền cho con.

Sau nhiễm trùng, thời gian ủ bệnh trung bình là 50 tới 90 ngày, có thể 30 tới 120 ngày. Bệnh cảnh lâm sàng thường cấp tính, nhưng không tạo dịch mà chỉ tản mạn với sốt, vàng da, vàng mắt, mệt mỏi. Người ta thường tìm thấy virus trong máu từ hàng tháng đến hàng năm. Bệnh có thể trở thành mạn tính từ 5 đến 10%. Cũng có người lành mang HBsAg. Tỷ lệ tử vong trong giai đoạn cấp tính khoảng 1% nhưng tai biến lâu dài là xơ gan hay ung thư gan. HBV không lây qua đường tiêu hóa. Thai nhi thường bị lây truyền với tỷ lệ cao qua những bà mẹ có HBsAg và HBeAg dương tính.

3. CHẨN ĐOÁN BỆNH

Sự xuất hiện các dấu ấn của HBV ở các giai đoạn bệnh khác nhau:

Giai đoạn bệnh	HBsAg	HBeAg	ADN Polyme-rase	Anti HBsAg	Anti HBcAg	Anti HBcAg (IgM)	Anti HBeAg	Nhiễm virus máu
Ủ bệnh	+	±	±	-	-	-	-	+++
Cấp tính	+	+	+	-	+C	+T	-	+++
Chuyển sang mạn tính hoạt động	+	+	+	-	+C	+ T/V	-	+++
Mạn tính trung gian	+	-	-	-	+T	+T	±	++
Mang HBsAg không lâm sàng	+	-	-	-	+V/T	±T	±	+
Bắt đầu hồi phục	+	-	-	+	+V/T	+C/V	±	+
Hồi phục hoàn toàn	-	-	-	+	+V	+V/T	±	?
Sau hồi phục	-	-	-	+	+T	+T	±	-
Một năm sau hồi phục	-	-	-	+	+T	-	-	-
Sau tiêm phòng hoặc nhiều năm sau nhiễm trùng	-	-	-		-	-	-	-

Ghi chú: C: Hiệu giá cao (10^{-1} -> 10^{-6}); V: Hiệu giá trung bình (vừa) (10^{-3} -> 10^{-4}); T: Hiệu giá thấp (10^{-2} -> 10^{-3}).

Phác đồ chẩn đoán phân biệt tối thiểu các bệnh viêm gan:

Viêm gan cấp tính	Viêm gan mạn tính
HBsAg	HBsAg
Anti HBcAg (IgM) (có thể chuẩn độ)	Chuẩn độ Anti HBcAg (có thể IgM hoặc IgG)
HBeAg (+), Anti- HBeAg (-)	Khi HBsAg dương tính có thể ở giai đoạn cấp hoặc mạn nhưng đây là giai đoạn lây truyền mạnh

Ghi chú: Ag = kháng nguyên

4. DỊCH TỄ HỌC

Bệnh viêm gan virus B trước đây thường gặp sau truyền máu. Ngày nay, việc kiểm tra HBsAg của những người cho máu, nguyên nhân nhiễm HBV vẫn luôn luôn là vấn đề thời sự. Đường lây truyền hiện nay do tiêm chích, nghiện ma tuý, qua đường tình dục, qua gia đình, qua các đường cắt tóc, nhổ răng,

châm cứu... Việc lây lan HBV có nhiều con đường, do vậy trách nhiệm của người thầy thuốc rất lớn, trong tuyên truyền cho mọi người hiểu rõ để tự điều chỉnh hành vi để phòng bệnh.

5. PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

Phòng bệnh không đặc hiệu: vấn đề phòng không đặc hiệu là rất quan trọng, nó phụ thuộc vào nhận thức của từng người để tự điều chỉnh hành vi, tránh nguy cơ lây truyền. Phòng bằng tiêm huyết thanh người bình thường không có hiệu quả với HBV, có thể dùng globulin đặc hiệu có anti HBV phòng bệnh đặc hiệu.

Phòng bệnh đặc hiệu: vacxin HBsAg được sản xuất bằng cách tinh chế huyết tương của người nhiễm HBV và hiện có vacxin HBV sản xuất bằng tái tổ hợp. Điều cần suy nghĩ là vacxin HBsAg của một thứ týp có thể phòng bệnh cho các thứ týp khác được hay không?.

Những sự khác biệt chính giữa virus viêm gan A, B và C

Đặc điểm phân biệt	Viêm gan A	Viêm gan B	Viêm gan C
Thời kỳ ủ bệnh	15 - 45 ngày	20 - 240 ngày (25 - 30)	35 - 70 ngày (có thể 14-120)
Tuổi gặp	15 - 19	Mọi lứa tuổi	Mọi lứa tuổi
Mùa gặp	Quanh năm, mùa thu↑	Quanh năm	?
Đường lây truyền	Chủ yếu tiêu hoá	Máu và ngoài tiêu hóa	Chủ yếu ngoài tiêu hóa (sau truyền máu)
Virus máu	2 tuần trước tới < 1 tuần sau vàng da	Hàng tháng tới hàng năm	Hàng tháng tới hàng năm
Virus trong phân	2 tuần trước + 2 tuần sau vàng da	Không có	Rất ít
Virus nước tiểu	?	Không có	?
Nước bọt + tinh dịch	?	Thường có	?
Lâm sàng	Đột ngột - tạo dịch	âm thầm - tản mạn	âm thầm (95%)
Transaminase ↑	1 - 3 tuần	1 - 6 tháng	1 - 6 tháng
Tăng IgM	↑	Không hoặc không đáng kể	?
Biến chứng	Không mạn tính	5 - 10% mạn tính	40-60% mạn
Tử vong	<0,1%	<1%	?
HBsAg máu	Không	++	Không
Miễn dịch tương ứng	Có	Có	?

VIRUS GÂY VIÊM GAN C

Trước đây nhóm virus "non A", "non B" ("không A", "không B") gây viêm gan được mô tả. Căn nguyên gây bệnh viêm gan không A, không B gây nên các trường hợp bệnh lẻ tẻ và phần lớn xuất hiện sau các trường hợp bệnh nhân có truyền máu hoặc các sản phẩm của máu. Rất hiếm gặp các trường hợp lây qua đường tiêu hóa. Cũng có thể virus lây lan qua đường quan hệ chặt chẽ giữa người với người (tình dục ?).

Mãi đến năm 1988, Shikata mới xếp virus viêm gan "không A, không B" ra thành một virus riêng biệt gọi là virus gây viêm gan C (HCV). HCV thuộc họ *Flaviviridae* cùng với virus Dengue, viêm não... Mặc dù vậy, virus gây viêm gan C vẫn chưa được hiểu biết đầy đủ.

1. CẤU TRÚC

Người ta cho rằng HCV là virus chứa ARN sợi đơn, xoắn; được cấu tạo bởi khoảng 9033 nucleotid. ARN của HCV có khoảng 3 đoạn gen.

Vỏ bao capsid của HCV được cấu tạo bởi protein và lớp bao ngoài cấu tạo bởi lipid do đó dễ bị bất hoạt bởi ether và chloroform. HCV có thể được phân biệt với nhau bởi các nucleotid khác nhau: có ít nhất là 2 týp có cấu trúc kháng nguyên khác nhau và không có phản ứng chéo giữa kháng nguyên của 2 týp.

2. LÂM SÀNG

Thời gian ủ bệnh, sau khi nhiễm virus chủ yếu qua đường truyền máu, rất khác nhau. Thời gian từ 14 ngày tới 3 - 4 tháng, dài nhất 21 tuần và ngắn nhất 4, 5 ngày. Sau khi nhiễm virus thì 95% số người có triệu chứng lâm sàng không rõ ràng. Chỉ khoảng 5% bệnh nhân có rối loạn tiêu hóa và chủ yếu là mệt mỏi với các tổn thương ở tế bào gan, ở cả bào tương và ở nhân.

Đối tượng bị bệnh ở mọi lứa tuổi và trở thành mạn tính từ 50% đến 70%. Từ khi nhiễm virus tới khi có kháng thể kháng HCV khoảng 10 - 15 tuần (50%); có thể sớm hơn hoặc muộn hơn. Hầu hết có tăng men transaminase. Sau khi bị bệnh, thể mạn tính có thể dẫn tới xơ gan hoặc ung thư gan.

3. DỊCH TỄ HỌC

Đường lây truyền chủ yếu liên quan đến truyền máu: ở Đức, 45% trường hợp bệnh sau truyền máu, Ý 90%, Pháp 50%, Nhật 52%. Ở Nhật, trong một vụ dịch có 231 trường hợp nhiễm HCV thì 96 người bị bệnh mạn tính, 81 người bị xơ gan, 54 người bị ung thư gan.

Hiện nay, tỷ lệ nhiễm HCV ở từng khu vực có khác nhau: Hoa Kỳ 1,4%, Nhật 1,15%, Ai Cập 10,9%. Ở Việt Nam, chưa có nhiều nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm HCV, nhưng theo Lã Thị Nhẫn, tỷ lệ đó là 13,9% sau truyền máu một lần, sau nhiều lần thì tỷ lệ nhiễm HCV lên tới 70,5%. Virus gây viêm gan C chỉ gây bệnh cho người và có thể gây bệnh thực nghiệm cho tinh tinh.

4. CHẨN ĐOÁN TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

Hiện nay chưa phân lập được virus mà chủ yếu phải tìm kháng thể kháng HCV bằng kỹ thuật ELISA hoặc RIBA (kỹ thuật thấm miễn dịch) và nhiều kỹ thuật khác, có thể sinh thiết tế bào gan để tìm tổn thương ở bào tương hoặc nhân tế bào cùng với dấu hiệu tăng men transaminase.

5. PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

- Tiêm IgG của người bình thường rất ít tác dụng bảo vệ.
- Không sản xuất được IgG đặc hiệu.
- Vacxin: hiện chưa có.

Chủ yếu giải quyết bằng thái độ kiểm tra kỹ trước khi sử dụng máu hoặc các sản phẩm của máu trước khi sử dụng truyền cho bệnh nhân. Ngoài ra, đề phòng những đường lây truyền khác bằng ăn sạch, tránh những quan hệ tình dục không lành mạnh và sử dụng các phương pháp phòng bệnh như HBV.

VIRUS GÂY VIÊM GAN D

(Hepatitis Delta Virus = HDV)

Năm 1977, Mariorizetto (Ý), khi tìm kháng thể trong bệnh phẩm sinh thiết gan ở người mang HBsAg mạn tính bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang, đã tìm thấy HDV. Ông gọi đó là tác nhân δ, xếp vào loại "viroid satellite virus". Điều đó có nghĩa là HDV là virus vệ tinh: HDV có ARN mã hóa cho kháng nguyên HDV, nhưng phần capsid lại phải sử dụng HBsAg của virus viêm gan B.

HDV chỉ gây nhiễm trùng cho tế bào gan khi có sự hỗ trợ của HBsAg. HDV không tự gây nhiễm mà phải có sự cộng sinh (symbiosis) của HBV. Vì vậy không có nhiễm HDV đơn thuần. Virus gây viêm gan D chỉ gây bệnh đồng thời với viêm gan B hoặc ở người đã mang HBsAg.

Cấu trúc HDV:

HDV chứa ARN một sợi, vỏ bao ngoài là HBsAg của HBV, hình cầu, kích thước 36 nm. ARN của HDV mang tính kháng nguyên đặc hiệu của nó.

Lâm sàng:

Không có nhiễm HDV đơn thuần mà kèm theo nhiễm HBV, do vậy bệnh cảnh lâm sàng thường nặng hoặc mạn tính và không hiếm trường hợp dẫn đến tử vong.

Chẩn đoán:

Tìm kháng thể bằng ELISA hoặc Western - Blot.

VIRUS GÂY VIÊM GAN E

(Hepatitis E virus = HEV)

Năm 1983, Balayan là người đầu tiên thực nghiệm bằng cách cho người tình nguyện uống dịch siêu lọc phân ở người viêm gan không do HBV hoặc HAV. Năm 1985, người ta đã xác định được virus qua kính hiển vi điện tử.

HEV chứa ARN sợi đơn xoắn, xếp trong họ *Caliciviridae*. Họ này, ngoài HEV còn có các thành viên khác là *Nowark* gây viêm dạ dày-ruột ở người, cùng với virus gây ban đỏ phỏng ở lợn. Virus HEV chứa ARN có kích thước đường kính trung bình 32-34 nm. Đặc điểm sinh học giống như các Calicivirus khác.

HEV chưa được nghiên cứu nhiều nhưng đây là virus gây bệnh qua đường tiêu hóa ở những nước trình độ vệ sinh kém. Có thể chứng minh sự có mặt của virus bằng kính hiển vi điện tử hoặc tìm kháng thể kháng HEV.

Vai trò của virus viêm gan E được thể hiện rõ ràng năm 1955 khi vụ dịch xẩy ra ở New Delhi Ấn Độ với 29.000 người mắc với dấu hiệu vàng da sau một bữa tiệc có uống nước ngọt. Khoảng 20% phụ nữ mang thai nhiễm HEV có thể dẫn tới tử vong. Những năm sau nhiều vụ dịch xảy ra ở các nước đông nam Á, châu Phi, và châu Mỹ, các nước trong Liên Xô cũ với hàng ngàn người mắc.

Virus viêm gan E có thể làm lây truyền sang động vật khi tiếp xúc với phân của người. Người ta lại phát hiện được HEV khi phân lập virus từ động vật bị nhiễm.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Phân biệt cấu trúc cơ bản của 5 loại VR viêm gan thường gặp?
2. Trình bày về đường lây truyền chủ yếu của 5 VR viêm gan đã học?
3. Trình bày cách phòng bệnh không đặc hiệu của VR viêm gan A, B và C?
4. Các đối tượng tiêm phòng viêm gan B, vì sao?
5. Cách lấy bệnh phẩm để chẩn đoán virus viêm gan A, B, C?
6. Kể các loại KN của VR viêm gan B, những bệnh phẩm cần lấy để phát hiện các KN đó?
7. Ghi tên 3 xét nghiệm tìm kháng nguyên trong giai đoạn viêm gan B cấp.
8. Ghi tên 3 xét nghiệm tìm kháng thể kháng HBV.

ARBOVIRUS

(Arthropod Borne)

MỤC TIÊU

1. *Phát biểu được định nghĩa Arbovirus*
2. *Kể được tên 5 nhóm chính của Arbovirus*
3. *Mô tả được 4 đặc điểm sinh học của virus Dengue và virus viêm não Nhật Bản.*
4. *Trình bầy được khả năng và cơ chế gây bệnh của virus Dengue và virus viêm não Nhật Bản.*
5. *Mô tả được phương pháp chẩn đoán vi sinh vật virus Dengue và virus viêm não Nhật Bản.*
6. *Nêu được nguyên tắc phòng và điều trị bệnh sốt xuất huyết Dengue và viêm não Nhật Bản.*

1. ĐỊNH NGHĨA

Các Arbovirus là những virus có thể nhân lên được trong các tổ chức của các động vật có xương sống (người, động vật có vú, chim) cũng như một số động vật không có xương sống (ve, muỗi, dĩn...). Các virus này muốn truyền bệnh từ động vật có xương sống này tới động vật có xương sống khác phải thông qua môi giới trung gian là côn trùng tiết túc. Các Arbovirus đều nhân lên được trong các tổ chức của côn trùng tiết túc nhưng không gây bệnh cho côn trùng tiết túc đó.

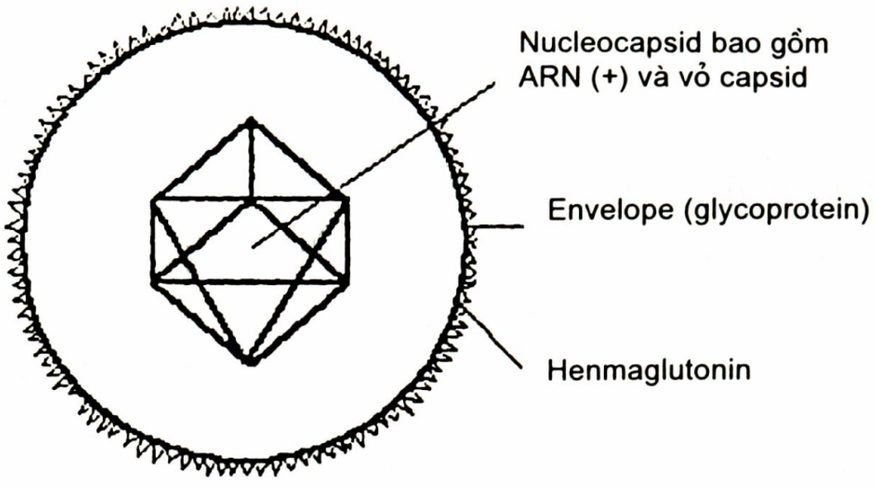
Do vậy, những virus chuyên gây bệnh cho côn trùng tiết túc và những virus chỉ được chuyển vận bởi côn trùng tiết túc (Poliovirus chuyển vận bởi ruồi nhà, hay gây nhiễm một cách cơ học do miệng của côn trùng bị dính virus), đều không phải là Arbovirus.

Cũng có những trường hợp đặc biệt: các Arbovirus có thể truyền sang người mà không cần qua côn trùng tiết túc (như viêm não châu Âu), người bị nhiễm do ăn phải sữa tươi của dê cừu đã bị nhiễm virus.

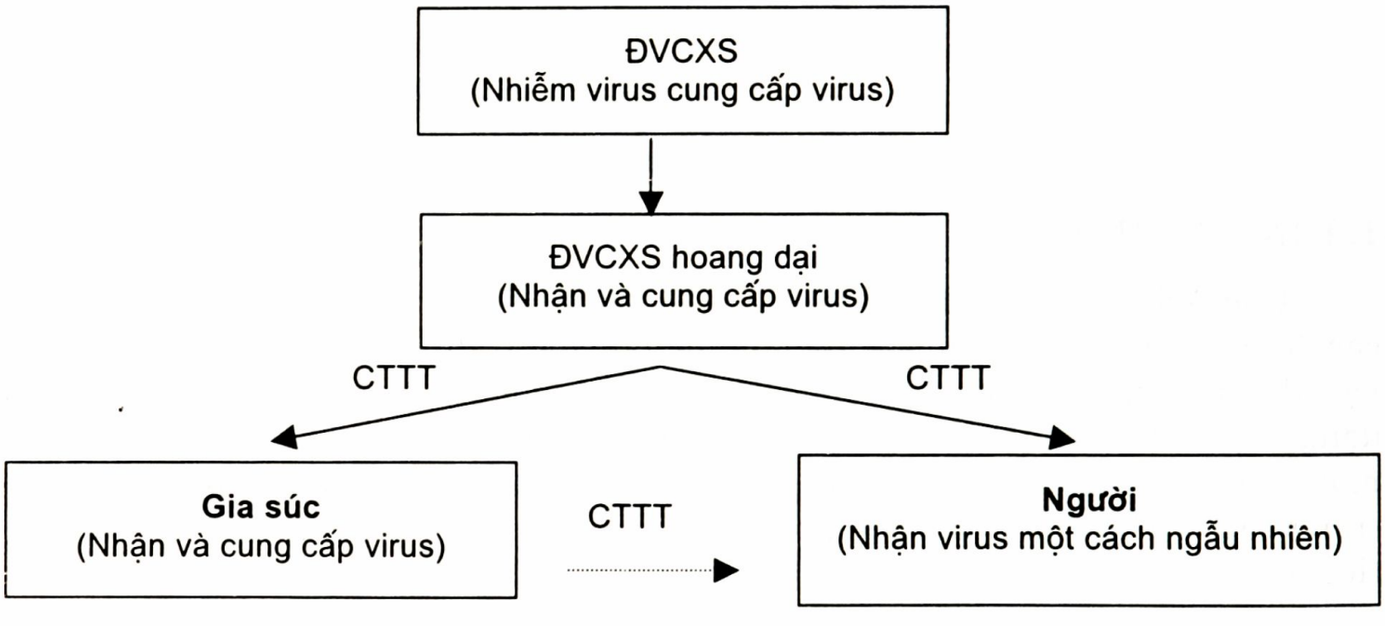
2. DÂY CHUYỀN DỊCH TỄ HỌC

Các Arbovirus lưu hành rộng rãi trên khắp thế giới. Sự tuần hoàn của các virus trong tự nhiên được thực hiện qua côn trùng tiết túc (CTTT) hút máu

và động vật có xương sống hoang dại: động vật có xương sống (vật chủ) → Vật trung gian → Động vật có xương sống (ĐVCXS). Từ đó truyền sang người một cách ngẫu nhiên cũng thông qua côn trùng tiết túc (muỗi, ve..). Dây chuyền dịch tễ học như sau:



Hình 91. Sơ đồ cấu trúc virus thuộc họ Flaviviridae



Ở vùng nhiệt đới, các côn trùng tiết túc phát triển rất thuận lợi, gây ra các vụ dịch lớn. Ở vùng ôn đới, các mùa phân biệt rõ ràng, bệnh xảy ra theo mùa, tản phát hoặc dịch nhỏ. Những virus mang truyền bởi ve, ví dụ viêm não do ve, có chu kỳ phức tạp hơn. Người ta đã xác nhận được ve truyền virus không những cho động vật có xương sống qua nốt đốt mà còn cho cả đời sau của nó qua trứng. Môi giới côn trùng tiết túc muốn truyền bệnh được phải qua các bước:

- Phải có lượng virus cần thiết để xâm nhiễm được ở côn trùng tiết túc.
- Virus nhân lên và tới tuyến nước bọt của côn trùng tiết túc.
- Côn trùng tiết túc đốt động vật và truyền cho động vật đó.

3. PHÂN LOẠI

Việc xếp loại Arbovirus đã được thực hiện dựa trên cơ sở huyết thanh học nhờ công trình nghiên cứu của Jordi Casals (1963). Theo tính chất kháng nguyên mà không chú ý tới khả năng gây bệnh, nguồn gốc địa lý hay bản chất của véctơ, chúng được chia thành hơn 21 nhóm, trong đó quan trọng nhất là các nhóm:

- Nhóm A (Alfavirus)
- Nhóm B (Flavivirus)
- Nhóm C
- Nhóm Bunyamwera
- Nhóm California

Ở Việt Nam chủ yếu lưu hành nhóm B, trong đó hay gặp nhất là virus Dengue và virus viêm não Nhật Bản.

VIRUS DENGUE

Bệnh sốt xuất huyết Dengue đã được nói đến cách đây hơn 200 năm, nhưng mãi tới năm 1944 căn nguyên gây bệnh mới được phát hiện bởi Sabin, đó là virus Dengue. Gần đây các vụ dịch xuất hiện càng nhiều không những ở các nước Đông Nam Á mà còn lan sang các nước khác như Polynnesia, Brazil, Venezuela và Trung Quốc, gây thiệt hại lớn cả về người lẫn kinh tế.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Cấu trúc

Virus Dengue hình cầu, đối xứng hình khối, chứa một sợi ARN dương với khối lượng phân tử là $3,8.10^6$ Dalton. Vỏ envelop là lipoprotein, capsid được cấu thành bởi 32 capsomer. Đường kính có kích thước khoảng 35-50 nm. Tỷ lệ ARN/Protein/lipid/glucid bằng 6/66/17/9, tỷ lệ này có thể thay đổi chút ít do kỹ thuật tinh chế và loại tế bào virus xâm nhiễm.

1.2. Nuôi cấy

Có thể nuôi virus Dengue trên các tế bào nuôi như Hela, KB, đặc biệt là tế bào muỗi C6/36. Virus Dengue dễ dàng nhân lên trong não chuột nhắt trắng 1-3 ngày tuổi, virus phát triển làm cho chuột bị liệt từ ngày thứ 3 trở đi. Người ta còn nuôi cấy virus vào cơ thể muỗi *Toxorhynchites* hoặc *Aedes aegypti*.

1.3. Khả năng đề kháng

Virus Dengue nhậy cảm với các dung môi hoà tan lipid như ether, natri desoxycholat, formalin... dưới tác dụng của tia cực tím, virus bị phá huỷ dễ dàng. Ở 60°C, virus bị tiêu diệt sau 30 phút, ở 4°C bị tiêu diệt sau vài giờ, nhưng nếu ở trong dung dịch glycerol 50% hay đông lạnh bảo quản ở -70°C thì virus có thể sống được vài tháng tới vài năm.

1.4. Tính chất kháng nguyên

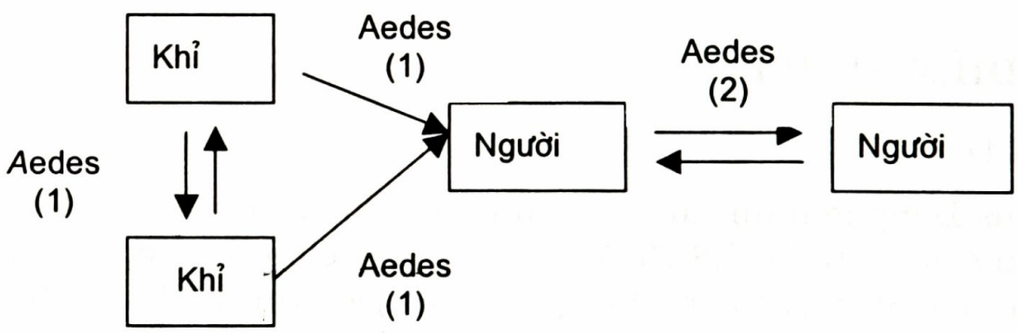
Virus Dengue có kháng nguyên kết hợp bổ thể, trung hoà và ngăn ngưng kết hồng cầu. Dựa vào sự khác biệt giữa các điểm quyết định kháng nguyên, người ta chia virus Dengue ra làm 4 týp khác nhau, được ký hiệu là: D1, D2, D3 và D4.

Mặc dù 4 týp Dengue có tính chất kháng nguyên khác nhau nhưng chúng có một số quyết định kháng nguyên chung, nhất là các kháng nguyên ngăn ngưng kết hồng cầu, nên chúng có hiện tượng ngưng kết chéo giữa các týp. Trong phản ứng ngưng kết hồng cầu, pH 6,4 là thích hợp nhất cho virus ngưng kết với hồng cầu ngỗng hoặc gà.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Dây chuyền dịch tễ

Ổ chứa virus Dengue là người và khỉ nhiễm virus. Virus truyền sang người lành qua muỗi đốt. Muỗi truyền bệnh chủ yếu là *Aedes aegypti* có trong nhà, *Aedes albopictus* có trong rừng. Sau khi hút máu nhiễm virus từ 8 đến 11 ngày hoặc có thể kéo dài hơn, tuỳ theo số lượng virus mà muỗi hút được và tuỳ theo nhiệt độ môi trường, muỗi có khả năng gây nhiễm. Chu trình nhiễm virus như sau:



Muỗi Aedes 1: Aedes albopictus; Muỗi Aedes 2: Aedes aegypti

Muỗi *Aedes aegypti* có nhiều ở châu Á , châu Phi, châu Mỹ và châu Úc. Ở Việt Nam, muỗi *Aedes* phân bố rộng rãi từ Bắc tới Nam, phát triển quanh năm, nhiều nhất vào mùa mưa. Do đó, bệnh sốt xuất huyết Dengue là bệnh lưu hành rộng rãi trên toàn thế giới, đặc biệt ở một số vùng như tây Thái Bình Dương, New Guinea, Indonesia, Ấn Độ, vùng Caribe và các nước dọc bờ biển miền Nam Trung Quốc, trong đó có Việt Nam.

2.2. Khả năng gây bệnh cho động vật

Virus Dengue nhân lên rất tốt ở chuột nhắt trắng mới đẻ (1-3 ngày tuổi) khi gây nhiễm vào não và ổ bụng. Nhiễm trùng thể ẩn có thể gây được ở một số loài khỉ.

2.3. Khả năng gây bệnh cho người

Khi muỗi mang virus Dengue đã đủ thời gian nung bệnh đốt người, virus xâm nhập qua vết đốt vào máu gây bệnh sốt xuất huyết. Tuỳ theo số lượng virus vào cơ thể mà thời gian nung bệnh khác nhau (từ 2 đến 15 ngày). Bệnh khởi phát đột ngột, nổi cơn rét run, sốt cao 39-40°C, đau đầu, đau mình mẩy, đặc biệt đau nhiều ở vùng lưng, các khớp xương, cơ và nhãn cầu... ban dát sần hoặc thể tinh hồng nhiệt có thể xuất hiện vào ngày thứ 3 hoặc thứ 5, từ ngực thân mình rồi lan ra các chi và mặt.

Bệnh sốt xuất huyết Dengue có thể mắc ở mọi lứa tuổi, tuy tỷ lệ khác nhau theo từng vùng. Sau khi khỏi bệnh, sức khỏe bệnh nhân lâu mới trở lại bình thường (vài tuần đến vài tháng). Bệnh nhân có dấu hiệu suy nhược thần kinh. Biến chứng có thể là viêm tuỷ, viêm nhiễm dây thần kinh, viêm kết mạc... Miễn dịch tồn tại 3-6 tháng.

2.4. Cơ chế gây bệnh

Virus Dengue xâm nhập vào tế bào bạch cầu. Hoạt lực của virus tác động vào nơron ở não và tuỷ sống, gây thoái hóa các tế bào gan, thận, tim, tạo nên các thương tổn tại nội tâm mạc, ngoại tâm mạc, dạ dày, niêm mạc ruột, màng bụng, cơ, da và hệ thống thần kinh trung ương. Các tổn thương hệ tuần hoàn thể hiện ở các mạch máu nhỏ làm giãn mao mạch, phù nề quanh mạch máu, thâm nhiễm nhiều bạch cầu đơn nhân. Các nhà khoa học cho rằng phức hợp miễn dịch (kháng nguyên-kháng thể) xuất hiện sau khi nhiễm virus Dengue thứ phát vài ngày, gây vón tụ tiểu cầu, hoạt hóa bổ thể và các yếu tố đông máu, giải phóng yếu tố tăng tính thấm thành mạch gây nên choáng (shock) phản vệ.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Phân lập và xác định virus

3.1.1. Bệnh phẩm

- Bệnh nhân: lấy 2-4 ml máu trong giai đoạn sốt chưa quá 4 ngày kể từ cơn sốt đầu, có chất chống đông.
- Tử thi, lấy tổ chức gan, lách, hạch lympho... cần lấy ngay sau khi chết chưa quá 6 giờ, được bảo quản trong glycerin 50%.
- Vectơ: bắt 20-40 con muỗi *A. aegypti*.

Bệnh phẩm được bảo quản lạnh, riêng muỗi giữ cho sống, ghi rõ tên, tuổi, giới tính, số bệnh phẩm, địa chỉ, ngày phát bệnh, ngày vào viện, ngày lấy bệnh phẩm và những dấu hiệu lâm sàng chính rồi gửi ngay tới phòng xét nghiệm.

3.1.2. Phân lập virus

Hiện nay người ta thường dùng 3 kỹ thuật để phân lập virus Dengue:

- *Kỹ thuật phân lập trên chuột nhắt trắng 1-3 ngày tuổi:* bệnh phẩm được tiêm vào não chuột 1-3 ngày tuổi, theo dõi hàng ngày. Nếu chuột bị bệnh, chuột sẽ liệt 2 chi sau. Mổ lấy não để tiêm tiếp hai lần nữa. Sau khi gây nhiễm 1 tuần, nếu chuột không ốm cũng mổ để lấy não phát hiện virus. Dùng kỹ thuật này, người ta đã phân lập được cả 4 týp virus Dengue, nhưng kỹ thuật này đòi hỏi nhiều thời gian, độ nhậy thấp, lại tốn kém, do đó ít được dùng.
- *Kỹ thuật phân lập trên muỗi sống:* bệnh phẩm tiêm vào ngực muỗi *Toxorhynchites*. Sau khi tiêm, nuôi muỗi trong lồng ở 28°C trong 14 ngày, bắt những con muỗi còn sống, giữ trong - 70°C để xác định virus. Phương pháp này có độ nhậy cao nên được dùng trong các trường hợp quan trọng như: xuất huyết nặng, hoặc những trường hợp nguy kịch có thể dẫn đến tử vong.
- *Kỹ thuật phân lập trên tế bào nuôi:* cho bệnh phẩm vào tế bào nuôi một lớp C6/36. Sau 7 ngày, thu hoạch tế bào để xác định virus. Phương pháp này giúp cho việc phân lập virus được nhanh hơn và ít tốn kém hơn, tuy nhiên nó không nhậy bằng phương pháp gây nhiễm trực tiếp vào muỗi.

3.1.3. Định loại virus

Sau khi nuôi cấy phân lập được virus, chúng ta phải định loại virus. Hiện nay có 4 kỹ thuật thường dùng:

- Kỹ thuật kết hợp bổ thể.
- Kỹ thuật trung hoà giảm mảng hoại tử:

Kỹ thuật này dựa trên nguyên tắc: khi virus nhiễm vào tế bào thì virus sẽ tạo ra những mảng hoại tử (plaque) trên các tế bào nuôi cấy một lớp cảm thụ. Những mảng hoại tử này bị trung hoà bởi sự có mặt của các kháng thể đặc hiệu đã biết.

- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp.
- Kỹ thuật khuếch đại chuỗi gen (PCR).

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

3.2.1. Bệnh phẩm

Người ta lấy máu bệnh nhân ngay từ khi bệnh nhân mới vào viện, gọi là máu 1; sau đấy 7 ngày, lấy máu lần 2, gọi là máu 2. Để máu đông, chắt lấy phần huyết thanh; huyết thanh được bảo quản ở -20°C cho tới khi làm xét nghiệm.

3.2.2. Các kỹ thuật chẩn đoán

Hiện nay người ta thường dùng các kỹ thuật sau:

- Kỹ thuật ngăn ngưng kết hồng cầu.
- Kỹ thuật kết hợp bổ thể.
- Kỹ thuật trung hoà.
- Kỹ thuật ELISA.
- Kỹ thuật huỳnh quang gián tiếp.

Dựa vào kháng nguyên đã biết, người ta tìm hiệu giá kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân. Trừ kỹ thuật Mac-ELISA tìm kháng thể IgM không cần làm 2 lần, các kỹ thuật còn lại đều phải làm 2 lần trong cùng điều kiện. Chỉ khi nào hiệu giá kháng thể của máu 2 lớn hơn hiệu giá kháng thể của máu lần 1 bốn lần trở lên, mới được coi là mắc bệnh.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh không đặc hiệu

4.1.1. Tiêu diệt côn trùng tiết túc: là diệt môi giới trung gian truyền bệnh bằng mọi hình thức như:

- Khơi thông cống rãnh, phát quang bụi rậm để muỗi không còn nơi trú ẩn và đẻ trứng.
- Phun thuốc diệt muỗi theo định kỳ.

4.1.2. Tránh và hạn chế muỗi đốt

Khi ngủ phải nằm màn, những nơi có nhiều muỗi có thể thấm màn bằng permethrin 0,2 g/m^2.

4.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Vacxin phòng bệnh sốt xuất huyết Dengue hiện nay vẫn chưa có.

4.3. Điều trị

Cần chú ý chống choáng, chống hạ nhiệt đột ngột và xuất huyết ồ ạt. Nâng cao thể trạng bệnh nhân, cho bệnh nhân ăn nhiều đạm, hoa quả và tăng lượng vitamin nhất là vitamin C.

VIRUS VIÊM NÃO NHẬT BẢN

(Japanese Encephalitis Virus)

Bệnh viêm não Nhật Bản đã được mô tả từ năm 1871, nhưng cho mãi tới năm 1934 virus viêm não Nhật Bản mới được Hayshi phát hiện tại Nhật Bản. Virus viêm não Nhật Bản được xếp vào nhóm B (Flavivirus) của Arbovirus, do vậy người ta còn gọi là virus viêm não Nhật Bản B.

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Cấu trúc

Virus viêm não Nhật Bản hình cầu, đối xứng hình khối, chứa ARN một sợi dương chiếm 6% trọng lượng của virion, kích thước virus vào khoảng 40 - 50nm, có vỏ envelop, hằng số lắng là 44S, trọng lượng phân tử là 4.10^6 Dalton.

1.2. Nuôi cấy

Có thể nuôi cấy virus viêm não Nhật Bản trên tế bào nuôi như: tế bào thận khỉ, tế bào thận lợn, đặc biệt virus phát triển tốt ở tế bào muỗi C6/36. Người ta còn nuôi cấy virus vào não chuột nhắt trắng 1-3 ngày tuổi, virus phát triển làm cho chuột bị liệt. Cũng có thể nuôi cấy virus vào lòng đỏ trứng gà ấp được 8-9 ngày, sau 48-96 giờ, virus phát triển làm cho bào thai chết.

1.3. Khả năng đề kháng: tương tự như virus Dengue.

1.4. Tính chất kháng nguyên

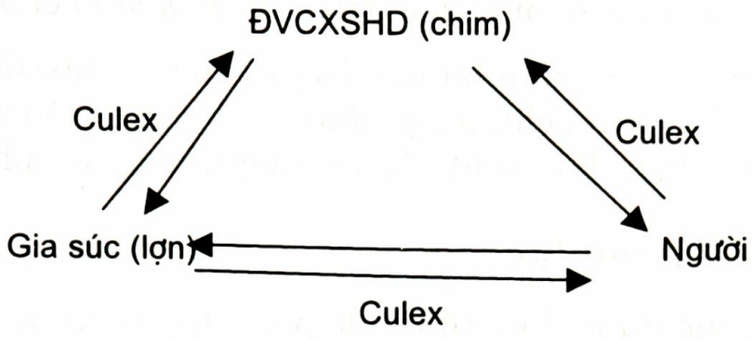
Virus viêm não Nhật Bản có kháng nguyên chung với những virus cùng nhóm Flavivirus, chính vì vậy trong phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu, nó có phản ứng chéo với các virus cùng nhóm, nhưng trong phản ứng ELISA thì ít có phản ứng chéo hơn. pH 6,2 là thích hợp nhất cho việc ngưng kết hồng cầu của virus.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Dây chuyền dịch tễ học

Virus viêm não Nhật Bản lưu hành rộng rãi ở châu Á. Trong khi Nhật Bản hiện nay đã căn bản thanh toán được bệnh này thì các nước như Ấn Độ, Banglades, Nepal, Thái Lan, Việt Nam..., số người bị bệnh viêm não Nhật Bản lại tăng. Các vụ dịch thường xẩy ra vào mùa hè. Virus được duy trì ở động vật có xương sống hoang dại (ĐVCXSHD), một số loài chim (chim liếu diếu) và gia súc (GS) như lợn, chó bò, ngựa...

Vật trung gian truyền bệnh là muỗi thuộc giống *Culex* và *Aedes* trong đó muỗi *Culex tritaeniorhynchus* là vectơ chính, truyền virus qua các động vật có xương sống và từ đó truyền sang người. Chu trình nhiễm virus như sau:



2.2. Khả năng gây bệnh cho động vật

Virus viêm não Nhật Bản phát triển tốt trên chuột nhắt trắng mới đẻ và trưởng thành, khi gây nhiễm vào não và ổ bụng. Các loại chim như cò, diệc, gà.... cũng bị nhiễm virus. Điều này có ý nghĩa lớn trong việc lan truyền của virus.

2.3. Khả năng gây bệnh cho người

Khi bị muỗi nhiễm virus viêm não Nhật Bản đốt, người có thể mắc bệnh viêm não Nhật Bản. Bệnh thường mắc ở trẻ em, tập trung ở lứa tuổi dưới 10 tuổi, phần lớn là thể ẩn, thể điển hình gặp rất ít, thời kỳ ủ bệnh từ 6-16 ngày. Ở các trường hợp nhẹ thì lâm sàng biểu hiện nhẹ như nhức đầu, sốt nhẹ, khó chịu trong vài ngày.

Thể điển hình là viêm não có thể từ thể nhẹ hoặc bắt đầu đột ngột như: nhức đầu nặng, sốt cao, cứng cổ và thay đổi cảm giác, ở trẻ em có thể bị co giật. Bệnh nhân thường tử vong trong giai đoạn toàn phát. Bệnh nhân có thể bị di chứng, thường là biến loạn tinh thần, giảm trí tuệ, thay đổi cá tính, cũng có khi di chứng sau 2 năm mới xuất hiện.

2.4. Cơ chế gây bệnh

Virus nhiễm qua vết đốt vào máu. Sau thời kỳ nhiễm virus huyết, virus gây thương tổn ở não, viêm tế bào thần kinh, hạch thần kinh đệm và viêm quanh mạch. Những biến đổi thường xảy ra ở chất xám và ảnh hưởng trước tiên lên não trung gian và não giữa, làm cho bệnh nhân rối loạn ý thức, hôn mê ở nhiều mức độ khác nhau, có kèm theo liệt vận động.

3. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

3.1. Phân lập và định loại virus

3.1.1. Bệnh phẩm

Máu: lấy từ 2 - 4 ml máu bệnh nhân sau khi phát bệnh 1-3 ngày.

Nước não tuỷ: lấy 2 - 4 ml nước não tuỷ bệnh nhân sau khi phát bệnh 1-3 ngày.

Não tử thi: lấy trước 6 giờ kể từ khi chết, lấy ở các phần khác nhau của não: đại não, tiểu não, các nhân xám.

Vectơ: bắt 20-40 con muỗi *Culex tritaeniorhynchus* cho vào ống nghiệm.

Bệnh phẩm được bảo quản lạnh, riêng muỗi giữ cho sống, ghi rõ tên, tuổi, giới tính, số bệnh phẩm, địa chỉ, ngày phát bệnh, ngày vào viện, ngày lấy bệnh phẩm và những dấu hiệu lâm sàng chính rồi gửi ngay tới phòng xét nghiệm.

3.1.2. Các kỹ thuật phân lập

Người ta thường dùng 2 kỹ thuật để phân lập virus viêm não Nhật Bản:

- Kỹ thuật phân lập trên chuột nhắt trắng 1-3 ngày tuổi.
- Kỹ thuật phân lập trên tế bào muỗi C6/36.

3.1.3. Xác định virus

Thông thường người ta xác định virus viêm não Nhật Bản bằng 3 kỹ thuật:

- Kỹ thuật ngưng kết hồng cầu.
- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp.
- Kỹ thuật ELISA.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh: áp dụng như ở virus Dengue.

4. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

4.1. Phòng bệnh chung: áp dụng như ở virus Dengue.

4.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Hiện nay người ta dùng vacxin tiêm phòng cho trẻ em dưới 10 tuổi để phòng bệnh, nhất là vùng có dịch lưu hành. Khi xảy ra dịch, cần tiêm nhắc lại cho trẻ em trong lứa tuổi cảm thụ (dưới 15 tuổi).

4.3. Điều trị

Hiện nay chưa có thuốc điều trị đặc hiệu. Trong thời kỳ khởi phát và toàn phát, phải tập trung giải quyết các vấn đề sau:

- Chống phù nề não.
- Chống co giật.
- Bù dịch, dinh dưỡng tốt.
- Chống bội nhiễm, nhất là đường hô hấp.

– Hạn chế di chứng: thời kỳ lui bệnh cần xoa bóp nhiều, vật lý liệu pháp, hoặc châm cứu đồng thời luyện tập lại chức năng nói, viết....

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Định nghĩa và kể tên 5 nhóm chính của Arbovirus?
2. Mô tả 4 đặc điểm sinh học của virus Dengue?
3. Trình bày khả năng và cơ chế gây bệnh của virus Dengue?
4. Nêu các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật virus Dengue?
5. Trình bày nguyên tắc phòng và điều trị bệnh sốt xuất huyết Dengue?
6. Mô tả 4 đặc điểm sinh học của virus viêm não Nhật Bản?
7. Trình bày khả năng và cơ chế gây bệnh của virus viêm não Nhật Bản?
8. Nêu các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật virus viêm não Nhật Bản?
9. Trình bày nguyên tắc phòng và điều trị bệnh viêm não Nhật Bản?

VIRUS DẠI

(Rabies virus)

MỤC TIÊU

1. *Mô tả được 4 đặc điểm sinh học của virus dại.*
2. *Giải thích được khả năng và cơ chế gây bệnh của virus dại.*
3. *Nêu được nguyên tắc phòng và điều trị dự phòng bệnh dại.*
4. *Trình bầy đúng cách xử lý khi bị chó nghi dại cắn.*

1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Cấu trúc

Virus dại thuộc nhóm Rhabdovirus, nhóm này đều có chung đặc điểm về hình thể: hình gậy giống như hình đầu viên đạn, cấu trúc đối xứng hình xoắn, chứa ARN một sợi âm có hình dáng lượn sóng, bao quanh có lớp capsid và lớp envelop chứa protein. Chiều dài của hạt virus dao động trong khoảng 140-300 nm, đường kính khoảng 70 nm. Virus dại cố định ngắn hơn virus dại hoang dại và thường có hình cầu, đường kính khoảng 60 nm.



Hình 92: Virus dại
(Chụp dưới kính hiển vi điện tử)

1.2. Nuôi cấy

Có thể nuôi cấy virus dại trên các tế bào nuôi tiên phát như: tế bào thận chuột đất, tế bào xơ phôi gà và trên các tế bào thường trực như: tế bào vero, tế bào thận chuột đất BHK-21. Khi cấy virus vào phôi gà ấp 7 ngày, vào túi lòng đỏ hay túi niệu đệm, hiệu giá tối đa của virus được nhận thấy vào ngày thứ 9, các phôi chậm phát triển nhưng ít khi chết. Nhiều động vật máu nóng như chuột nhắt, thỏ, chuột lang... cũng có thể được dùng để nuôi cấy virus.

1.3. Khả năng đề kháng

Virus có thể bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipid như: ether, natri desoxycholat, trypsin, formalin. Ánh sáng mặt trời, tia cực tím nhanh chóng

làm bất hoạt virus. Môi trường kiềm cao hoặc acid mạnh cũng tác dụng tiêu diệt virus. Virus bị chết ở nhiệt độ 56°C trong 30 phút, ở 80°C sau 3 phút.

Virus dại bền vững ở môi trường có glycerol, phenol 0,5%. pH tối ưu của môi trường để bảo quản virus là 7,4-9,0. Với nhiệt độ -40°C trong các mẫu não, virus tồn tại vài tháng và ở -70°C có thể tồn tại hàng năm mà vẫn không mất tính chất gây bệnh.

1.4. Đặc điểm kháng nguyên

Virus có kháng nguyên V là kháng nguyên kích thích cơ thể sinh kháng thể trung hoà. Kháng nguyên S không gắn liền với hạt virus, nó được tách ra từ khi hạt virion tách ra khỏi màng tế bào. Kháng nguyên S kích thích cơ thể sinh kháng thể kết hợp bổ thể. Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu, đặc biệt là hồng cầu ngỗng, có khả năng ngưng kết hồng cầu nhanh ở 4°C với pH 6,4.

2. PHÂN LOẠI

Theo tính chất sinh học, có thể chia thành 2 loại virus dại:

2.1. Virus dại hoang dại

Tồn tại ở 3 dạng sinh học: cổ điển, cường độc, nhược độc.

2.2. Virus dại cố định

Năm 1884 L. Pasteur tiêm truyền virus từ chó cho thỏ. Qua nhiều lần tiêm truyền, ông đã thu được một chủng virus dại không độc đối với người khi tiêm qua đường ngoại thần kinh ông gọi virus này là virus dại "cố định". Virus có thời kỳ ủ bệnh ngắn (7 ngày), "ủ bệnh cố định". Virus được bảo tồn bằng nuôi cấy trong phòng thí nghiệm, không thể tồn tại trong điều kiện tự nhiên bởi virus không đào thải ra theo tuyến nước bọt và không thể truyền qua vết cắn. Trong tế bào não của súc vật bị nhiễm virus dại cố định, không hình thành tiểu thể Negri.

3. MIỄN DỊCH

Khi tiêm vacxin phòng dại vào cơ thể, sau 10 ngày sẽ có kháng thể trung hoà trong máu; kháng thể này sẽ tồn tại trong cơ thể khoảng 7 tháng. Kháng thể trung hoà không những có trong máu mà có cả trong tế bào, điều này giúp chúng ta giải thích được cơ chế tác dụng của vacxin phòng dại đối với người bị chó dại cắn.

Kháng thể kết hợp bổ thể cũng được hình thành sau 4 tuần tiêm vacxin nhưng hiệu giá thấp hơn so với kháng thể trung hoà, kháng thể kết hợp bổ thể tồn tại trong cơ thể khoảng 6 tháng.

4. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

4.1. Dịch tễ

Virus được lưu hành khắp thế giới, nhưng tập trung chủ yếu vẫn là các nước vùng nhiệt đới: châu Á, châu Phi, Trung và Nam Mỹ. Ổ chứa virus dại là các động vật máu nóng bị dại như chó, mèo. Virus truyền từ động vật sang động vật và người một cách ngẫu nhiên qua vết cắn hoặc vết cào. Ở nước ta, bệnh thường gặp vào mùa nóng. Chó, mèo đều có khả năng mang bệnh nhưng chủ yếu là chó.

4.2. Khả năng gây bệnh cho người

Thời kỳ ủ bệnh: thay đổi từ 1-3 tháng, nhưng cũng có trường hợp chỉ có 10 ngày hoặc lâu tới 8 tháng. Thời kỳ ủ bệnh dài hay ngắn là tuỳ thuộc vào vị trí và mức độ vết cắn: vết cắn càng gần thần kinh trung ương, vết cắn càng sâu thì thời gian ủ bệnh càng ngắn. Thời kỳ ủ bệnh nói chung yên lặng, đôi khi sốt nhẹ, nhức đầu, khó chịu, buồn nôn hoặc chảy nước mắt nước mũi. Dấu hiệu có giá trị chẩn đoán nhất ở thời kỳ này là dấu hiệu kiến bò tại vết cắn.

Thời kỳ toàn phát: người bệnh bị kích thích trên mọi giác quan dẫn đến kết quả là sợ nước, sợ gió, sợ tiếng động và ánh sáng. Các cơ co thắt mạnh dẫn đến đau đớn, trong đầu bệnh nhân có cảm giác bị đè nén, sợ hãi, lo âu sau đó hưng phấn và cuối cùng đến giai đoạn liệt. Tất cả các bệnh nhân dại khi lên cơn đều bị chết trong tình trạng bị liệt cơ hô hấp và tuần hoàn.

4.3. Cơ chế gây bệnh

Virus dại thường xuyên có mặt trong hệ thống thần kinh trung ương và hệ thống thần kinh ngoại biên của động vật bị dại. Các tế bào thần kinh ở hạch giao cảm bị bong ra làm tuyến nước bọt bị nhiễm virus. Khi bị các động vật dại cắn, virus từ nước bọt vào cơ thể qua vết cắn, nhiễm vào máu, từ đó virus đi tới các nơi như phổi, gan, thận... Ngoài ra virus tiến dọc theo dây thần kinh hướng tâm tới tuỷ sống rồi lên thần kinh trung ương. Virus dại nhân lên trong tế bào thần kinh, tuỷ sống và thần kinh trung ương. Không phải lúc nào các tế bào ở hạch giao cảm cũng bị bong ra, sự bong ra có tính chất không liên tục, điều này giải thích sự lây lan virus không liên tục khi bị chó dại cắn. Sự nhân lên của virus trong tế bào đã xuất hiện một vật thể ưa acid trong bào tương của tế bào, đó là tiểu thể Negri, bản chất là các nucleocapsid tự do trong bào tương tập trung lại.

5. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

Về chẩn đoán vi sinh vật bệnh dại đối với người, người ta ít làm bởi vì việc lấy bệnh phẩm rất khó khăn, mặt khác nó cũng không có ý nghĩa cho việc điều trị. Người ta chỉ dùng chẩn đoán vi sinh vật trên súc vật bị nghi dại. Thường dùng 3 phương pháp để chẩn đoán.

5.1. Tìm tiểu thể Negri

Não của động vật được phết lên lam kính, nhuộm theo phương pháp Seller hay Mann, soi lên kính hiển vi chúng ta thấy tiểu thể Negri thường khu trú trong tế bào thần kinh sừng Amon có kích thước khoảng 0,25-25 μm, bắt màu Eosin.

5.2. Phân lập virus

Lấy nước dãi trong khi đang mắc bệnh hoặc não tử thi và não chó tiêm vào não chuột nhắt trắng 2-3 ngày tuổi. Từ ngày thứ 7 trở đi chuột xuất hiện liệt mềm.

5.3. Chẩn đoán huỳnh quang tìm kháng nguyên

Lấy nước dãi hoặc não cần xét nghiệm phết lên lam kính, nhuộm huỳnh quang với kháng thể đã biết.

6. NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

6.1. Phòng bệnh

Cần tiêu diệt những động vật bị dại hoặc nghi dại. Trong số những động vật máu nóng thì chó là động vật bị nhiễm dại nhiều, mặt khác chó lại sống gần người do đó cần:

- Hạn chế nuôi chó.
- Nuôi chó phải xích hoặc nhốt không cho chạy rông ra đường.
- Tiêm vacxin phòng dại cho chó, mỗi năm 1 lần vào mùa xuân trước khi bệnh dại có thể phát triển mạnh.

6.2. Điều trị dự phòng

Đối với người bị chó dại cắn hoặc mèo dại cắn, cào chúng ta phải:

- Tiêm kháng huyết thanh chống dại (SAR) dưới da, phía trên vết cắn trong vòng 72 giờ với liều lượng 0,2-0,5 ml, tương đương với 40 đơn vị cho 1 kg cân nặng.
- Sau đó 1-2 ngày, tiêm vacxin phòng dại. Tuỳ vacxin mà có cách tiêm và liều lượng khác nhau.

Hiện nay ở Việt Nam có 2 vacxin dại đang được dùng là Fuenzalida và Verolab

6.3. Cách xử lý trường hợp bị chó nghi dại cắn

Khi bị chó nghi dại cắn, chúng ta phải bình tĩnh thực hiện đầy đủ các bước sau:

- Nhốt chó lại cho ăn uống đầy đủ, theo dõi trong vòng 10 ngày.
- Xử lý vết cắn ở người bằng cách: rửa sạch vết thương bằng nước xà phòng đặc 20% hoặc dung dịch Bensal konium clorua 20% hoặc dung dịch β-propiolacton 20%. Không khâu vết thương. Gây tê tại chỗ bằng procain.
- Nếu vết cắn ở vào chỗ nguy hiểm (gần đầu, sâu) thì tiêm ngay huyết thanh kháng dại rồi tiếp tục tiêm vacxin phòng dại.
- Nếu vết cắn bình thường (xa đầu, nông) thì theo dõi chó: nếu sau 10 ngày chó vẫn sống, ăn uống bình thường, thì không cần tiêm vacxin; nếu trong vòng 10 ngày, chó bị chết thì phải tiêm huyết thanh và vacxin ngay.
- Trường hợp chó chạy mất tích, bị đánh chết hoặc bị chó con cắn thì phải tiêm huyết thanh và vacxin ngay vì dấu hiệu dại ở chó con không rõ ràng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Mô tả 4 đặc điểm sinh học của virus dại?
2. Giải thích khả năng và cơ chế gây bệnh của virus dại?
3. Nêu cách phòng và điều trị dự phòng bệnh dại?
4. Khi bị chó nghi dại cắn chúng ta phải xử lý như thế nào?

MỘT SỐ VIRUS GÂY SỐT XUẤT HUYẾT LÂY TRUYỀN TỪ ĐỘNG VẬT CÓ XƯƠNG SỐNG HOẶC CHƯA RÕ NGUỒN GỐC

MỤC TIÊU

1. Trình bày các virus và các bệnh sốt xuất huyết do chúng gây ra.

Ngày nay các bệnh do virus lan truyền từ động vật sang người có vị trí rất quan trọng, như SARS do Coronavirus, cúm gia cầm do Avian influenzae virus... Vì vậy trong bài này chúng tôi xin giới thiệu một số loại virus gây bệnh sốt xuất huyết (không phải do Dengue virus).

Một số virus gây sốt xuất huyết lây truyền từ động vật có xương sống hoặc chưa rõ nguồn gốc.

Tên virus	Họ virus	Bệnh	Từ động vật	Gây chết	Khu vực nhiễm
Lymphocytic choriome-ningitis (LCM)	Arenaviridae	LCM	Chuột nhắt, chuột túi (hamster)	-	Toàn cầu
Sốt Lasa	Arenavirus	Sốt Lasa	Chuột rừng châu Phi	+	Tây Phi
Machupo	Arenavirus	Sốt xuất huyết Bolivia	Chuột nhắt rừng	+	Bolivia
junin	Arenaviđiae	Sốt xuất huyết Argentina	Chuột nhắt	+	Argentina
Hantaan	Bunyaviridae	Sốt xuất huyết với hội chứng thận (Sốt XH Hàn quốc)	Chuột , chuột nhắt	+	Đông Âu và Scandinavia
Marburg	Filovidiae	Bệnh Marburg	Chưa rõ	++	Châu Phi, lây cho nhân viên labo Marburg Đức
Ebola	Filoviridae	Bệnh Ebola	Chưa rõ	++	Châu Phi (Sudan, Zaire)

Dưới đây chúng tôi xin điểm qua một số virus đáng chú ý:

1. LASAVIRUS

Bệnh được ghi nhận đầu tiên ở vùng Lasa, Mỹ năm 1969, nên gọi sốt Lasa, do nhiễm virus Lasa truyền từ chuột rừng Tây Phi. Virus này thuộc họ Arenaviridae: chứa ARN, đối xứng hình xoáy chôn ốc, có envelope, kích thước 80 x100 nm.

Người tiếp xúc với chuột bị nhiễm hoặc nước tiểu của chúng dẫn đến bị sốt, bệnh thường không nặng. Hàng năm có 300 000 ca bệnh và tử vong khoảng 500 người. Triệu chứng phổ biến nhất là sốt. Nhân viên y tế bị nhiễm virus từ máu hoặc tổ chức của bệnh nhân, biểu hiện thường nặng hơn: xuất huyết, tổn thương mao mạch. Ủ bệnh từ 7-18 ngày, người bị nhiễm mang virus đi khắp thế giới.

2. HANTAVIRUS GÂY SỐT XUẤT HUYẾT HÀN QUỐC

Hantavirus, thuộc họ Bunyaviridae: chứa ARN, đối xứng hình xoáy chôn ốc, có envelope, đường kính 100nm, gây bệnh viêm não California và sốt Scandivinia (sốt xuất huyết Hàn Quốc).

Virus gây nhiễm trùng duy trì cho chuột và chuột nhắt. Sau khi tiếp xúc với nước tiểu của chuột bị nhiễm. Biểu hiện bệnh ở người là sốt, tăng huyết áp, xuất huyết kèm theo biểu hiện hội chứng thận.

Trong chiến tranh Triều Tiên, một số lính Mỹ bị nhiễm bệnh này tại Hàn Quốc. Bệnh biểu hiện ở mức độ trung bình. Bệnh này cũng gặp ở Đông Âu và Scandinavia. Việt Nam đã có một vài công trình nghiên cứu và khẳng định là có Hantavirus lưu hành, khoảng 5% bệnh nhân sốt xuất huyết là do virus này (dễ nhầm với sốt xuất huyết do Dengue virus).

Virus này được phát hiện ở chuột, nhưng gây bệnh nặng cho người. Chẩn đoán phòng thí nghiệm bằng phát hiện IgM hay IgG.

3. VIRUS EBOLA VÀ VIRUS MARBURG

Cả hai loại virus này thuộc họ Filoviridae: có hình sợi dài, đối xứng hỗn hợp, chứa ARN, có envelope, kích thước 80 x 800 nm.

Các bệnh này lưu hành ở miền Đông và Trung châu Phi. Bệnh nhân có triệu chứng sốt, xuất huyết, nổi ban. Chưa có vacxin và thuốc đặc trị cho virus này. Chưa rõ ổ chứa và dây truyền dịch tễ của virus, mặc dù đã thấy một số khỉ có mang Filovirus.

1967 một số nhân viên phòng thí nghiệm ở Marburg, Đức bị nhiễm virus này khi tiếp xúc với khỉ xanh của Uganda. Những con khỉ này không phải là túc chủ tự nhiên của virus và nguồn gốc gây nhiễm cuối cùng của virus này vẫn chưa rõ. Tỷ lệ tử vong khoảng 20%, cũng như với nhiễm Ebola, virus có trong tinh dịch của bệnh nhân đã bình phục và là nguồn lây bệnh sau một số tháng. Do vậy một bệnh nhân đã bình phục vẫn có thể truyền bệnh này cho vợ.

Năm 1976 đã xảy ra một vụ dịch ở nam Sudan và ở vùng sông Ebola của Zaire. Có trên 500 người bị bệnh, dịch đã xẩy ra trong các bệnh viện địa phương và truyền trực tiếp từ người sang người qua bơm kim tiêm. Tỷ lệ tử vong của vụ dịch kinh khủng này là 70%. Hàng năm vẫn xảy ra dịch bênh do virus Ebola ở châu Phi.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Mô tả đặc điểm virus và khả năng gây bệnh của Lasa và Hantavirus?
2. Trình bày đặc điểm virus học và khả năng gây bệnh của các virus Ebola và Marburg?

HERPESVIRIDAE

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm chung của* Herpesviridae *và phân loại.*
2. *Trình bày được khả năng gây bệnh của HSV, thuỷ đậu, Zona, và EBV.*

1. CÁC ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA HỌ HERPESVIRIDAE

1.1. Các tính chất đặc trưng

Acid nucleic là ADN hai sợi thẳng, capsid có đối xứng hình khối bao gồm 162 capsomer. Có envelop (vỏ ngoài), virus đã lấy từ màng nhân tế bào. Có dạng hình cầu, đường kính từ 120-200 nm. Lắp ráp trong nhân tế bào. Nhậy cảm ether. Gây nhiễm nhiều loại động vật và người.

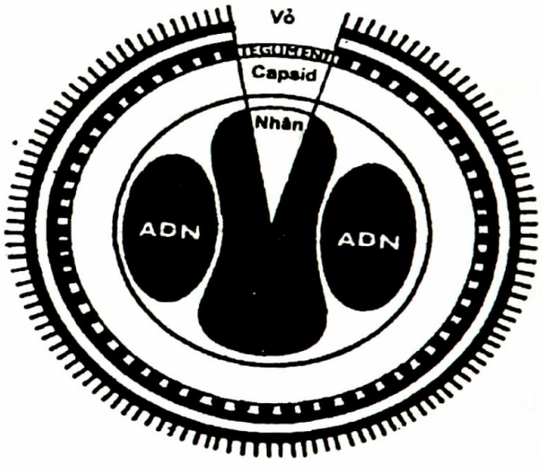
1.2. Sự nhân lên của virus

Hấp phụ vào bề mặt tế bào cảm thụ nhờ receptor của tế bào. Virion xâm nhập vào nguyên tương tế bào do sự hoà màng, sau đó là sự cởi vỏ và phức hợp ADN-protein di chuyển vào nhân tế bào. ADN sao mã thành mARN trong nhân tế bào, còn protein tổng hợp ở nguyên tương. Sự lắp ráp xảy ra trong nhân tế bào. Envelop được tạo thành do màng nhân tế bào khi chui ra khỏi nhân.

1.3. Các hình thái của nhiễm virus

Sau khi bị nhiễm virus này có thể xuất hiện các hình thái sau:

- Có biểu hiện lâm sàng do virus nhân lên và phá huỷ tế bào.
- Nhiễm virus thể ẩn (latent infection).
- Nhiễm virus duy trì (persistent infection).
- Gây thành các ung bướu.



Hình 93. Cấu trúc Herpesvirus

1.4. Phân loại

Các Herpes virus gây nhiễm cho người bao gồm:

- Herpes simplex virus gây nhiễm khuẩn đường tiết niệu và môi.
- Varicella-zoster virus gây bệnh thuỷ đậu và zona.
- Epstein-Barr virus gây các bệnh: tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng, Burkitt lymphoma (u tế bào lympho B) và ung thư hầu họng.
- Cytomegallovirus có thể tồn tại trong máu và gây ra nhiều hình thái lâm sàng ở các bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch.

2. HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV)

HSV gây nhiễm cho tế bào người bởi đặc trưng gây tổn thương lớp niêm mạc và xuất hiện các tiểu thể nội bào. Sự xuất hiện của virus ở nhân và chất nguyên sinh đã được chứng minh bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang. HSV có hai serotype là HSV-1 và HSV-2. Chúng có kháng nguyên rất giống nhau, nhưng vẫn tách biệt được bằng kỹ thuật trung hoà hoặc huỳnh quang. Hai týp này cũng gây nhiễm những cơ quan khác nhau:

HSV-1 thường gây nhiễm phần trên lưng như mồm, môi và da.

HSV-2 thường gây nhiễm phần dưới lưng, đặc biệt là nhiễm virus đường sinh dục, tiết niệu.

Hai týp này cũng khác nhau về tính chất gây bệnh lý tế bào nuôi cấy và phôi gà. Chúng cũng khác nhau về đường lây nhiễm: HSV-1 lây theo đường tiêu hóa, hô hấp hoặc môi-môi. HSV-2 gây nhiễm theo đường tình dục. Nhưng tính chất này không tuyệt đối, HSV-1 có thể gây nhiễm tiết niệu, ngược lại HSV-2 có thể gây nhiễm đường mồm. Nhiễm HSV ở người thường biểu hiện thành hai giai đoạn:

Nhiễm HSV lần đầu (sơ nhiễm) bệnh thường nặng, biểu hiện toàn thân và có thể tử vong. Sơ nhiễm thường xảy ra với người chưa bị nhiễm hoặc chưa có kháng thể trung hoà. HSV gây sơ nhiễm thường không thể loại trừ ra khỏi cơ thể mà nó tồn tại tiềm ẩn. Tái nhiễm HSV có thể với serotýp khác. Với các cá thể đã có kháng thể trung hoà chỉ bị nhiễm HSV khư trú mà không bị nhiễm toàn thân. Vai trò gây ung thư cổ tử cung của HSV-2 đã được đề cập tới ở bài virus gây khối u.

3. VIRUS THUỶ ĐẬU VÀ ZONA (Varicella and zoster)

Thuỷ đậu và zona là những bệnh ở người với sự xuất hiện của những mụn nước ngoại ban và sự hiện diện của những thể vùi ưa toan trong nhân các tế bào bị nhiễm. Cùng một loại virus gây ra cả hai bệnh này và virus zona

được coi là sự tái hoạt của virus thuỷ đậu. Hình thái của virus này cũng giống như HSV, được nhìn thấy trong dịch của mụn nước và ở các thể vùi trong nhân tế bào nuôi cấy bị nhiễm.

3.1. Thuỷ đậu

Bệnh thuỷ đậu thường xảy ra với trẻ em, tỷ lệ mắc cao trong các vùng dịch tễ. Bệnh nhẹ với trẻ em nhưng có thể rất nặng với người lớn yếu kém miễn dịch. Sau giai đoạn ủ bệnh từ 2 đến 3 tuần, có phản ứng sốt, xuất hiện các nụm nước rồi thành mụn mủ. Tổn thương này có thể quan sát được trong tất cả các giai đoạn của bệnh.

Trong giai đoạn sớm, thuỷ đậu thường chỉ bắt đầu từ một điểm, khác với đậu mùa có nhiều điểm tổn thương. Thuỷ đậu gây viêm phổi cho người lớn lần đầu, còn đậu mùa gây viêm phổi rất nặng và biến chứng nguy hiểm. Kháng thể có tác dụng phòng bệnh khẳng định rằng miễn dịch bảo vệ là do kháng thể.

3.2. Zona

Zona cũng giống thuỷ đậu là có các mụn nước, nhưng khác với thuỷ đậu là zona chỉ gặp ở người lớn và rất lác đác. Zona là viêm thần kinh, thường là cột sống hoặc một dây thần kinh nào đó, kèm theo triệu chứng đau thần kinh bị viêm, nổi mụn nước dọc theo dây thần kinh bị viêm mà thường là ở vùng cột sống lưng. Bệnh bắt đầu bằng phản ứng sốt, khó chịu, mệt mỏi. Các mụn nhú lên sau 3-4 ngày, sau đó là các mụn nước xuất hiện và thành mụn mủ khi bị nhiễm khuẩn.

3.3. Liên quan giữa thuỷ đậu và zona

Thuỷ đậu và zona là những bệnh có mối liên quan rất chặt chẽ. Thuỷ đậu xảy ra ở trẻ em với tỷ lệ cao, còn zona chỉ xảy ra với một số người lớn. Virus zona người lớn có thể lan truyền tới trẻ em gây ra thuỷ đậu. Zona thường xảy ra với một số người lớn mà lúc bé đã bị thuỷ đậu. Zona được coi là sự tái hoạt động của virus thuỷ đậu tiềm tàng trong các hạch giao cảm sau khi bị bệnh thuỷ đậu. Kiểu cách xâm nhập vào hạch giao cảm và nơi chúng tồn tại thì chưa rõ, nhưng người ta đã phân lập được virus từ hạch giao cảm.

Sự tái hoạt của virus thuỷ đậu thường gặp ở những người bị rối loạn miễn dịch tế bào, hay bị suy giảm miễn dịch, ức chế miễn dịch. Zona rất hay xảy ra với những người bị bệnh ác tính, mạn tính, AIDS. 80-90% bệnh nhân AIDS ở Việt Nam có biểu hiện zona. Miễn dịch tế bào và có thể cả kháng thể được coi là có tác dụng bảo vệ chống lại nhiễm virus thể tiềm tàng. Điều trị với adenin arabinosid hoặc movinyl deoxyuridic làm giảm bệnh.

4. EPSTEIN-BARR VIRUS (EBV)

EBV phát hiện lần đầu tiên năm 1960 từ các tế bào lymphoma loại Burkitt được nuôi cấy liên tục. EBV đã rất được quan tâm nghiên cứu vì nó liên quan rất chặt chẽ với bệnh ung thư người. EBV có hình thái và cấu trúc như các virus herpes khác, chỉ có thể phân biệt bằng kháng nguyên, mặc dù giữa chúng cũng rất giống nhau. Sau khi xâm nhập vào các tế bào cảm nhiễm, ADN của EBV thông tin và tồn tại trong nhân tế bào như là thể bổ sung, thường gồm nhiều mảnh copy. Các tế bào cảm nhiễm này thể hiện kháng nguyên bề mặt mới do gen của EBV phiên dịch mã. Đặc tính này liên quan đến vai trò gây ung thư của virus.

Đặc điểm nổi bật nhất của EBV là nó có thể trở thành hình thái tiềm tàng trong các tế bào nó gây nhiễm. Đa số người lớn hoặc trẻ em bị nhiễm EBV nhưng không có biểu hiện lâm sàng, hoặc có xuất hiện bệnh tăng bạch cầu đơn nhân ở giai đoạn muộn hơn.

Gần như tất cả người trưởng thành đều mang EBV ở dạng tiềm tàng trong các tế bào lympho B. Các tế bào mang EBV tiềm tàng này bị chuyển dạng nên có được khả năng phát triển được trong các nuôi cấy tế bào, ngược lại các tế bào lympho B không mang EBV tiềm tàng nhanh chóng bị già cỗi và chết.

4.1. U lympho loại Burkitt

Bệnh này hay gặp ở trẻ em. Vùng dịch tễ của chúng ở trung tâm châu Phi và Tân Ghi Nê, nhưng tản phát khắp thế giới. Tuy vậy trong vùng dịch tễ, tỷ lệ trẻ em bị bệnh cũng không cao. Lymphoma dịch tễ và tản phát giống nhau về lâm sàng và bệnh học. Nhưng đa số lymphoma dịch tễ các tế bào này có chứa ADN của EBV, hơn là lymphoma tản phát, có thể do nhiều tiểu loại lympho B.

4.2. Ung thư biểu bì mũi hầu (nasopharyngeal carcinoma)

Đây là loại ung thư thường gặp trong một số nhóm người dân tộc của Trung Quốc. Các bệnh nhân thường có kháng thể chống EBV với hiệu giá cao, trên niêm mạc xuất hiện nhiều tế bào lympho thẩm lậu. Người ta cũng tìm thấy genom của EBV từ các tế bào trên. Các tế bào biểu bì cũng mang kháng nguyên nhân của EBV.

4.3. Tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng (infectious mononucleosis)

Tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng là một bệnh cấp tính xảy ra ở trẻ em và những người trẻ. Đặc điểm của bệnh này là tăng số lượng tế bào đơn nhân và tế bào lympho trong máu và hệ bạch huyết, đồng thời với sự xuất hiện của kháng thể đa đặc hiệu trong huyết thanh.

5. CYTOMEGALLOVIRUS (CMV)

Đặc điểm cơ bản của bệnh do CMV gây ra là những thể vùi khổng lồ trong nhân tế bào bị nhiễm, bệnh có thể gặp ở nhiều người và cả các loài động vật. CMV có hình thái và cấu trúc tương tự như các nhóm virus herpes khác của người, mặc dù genom của chúng lớn hơn. CMV cũng có 3 hình thái nhiễm trùng là gây huỷ hoại tế bào (bệnh cấp tính), tiềm tàng và nhiễm virus duy trì. Về kháng nguyên, chúng khác với các virus herpes khác là không đồng nhất. CMV không bền vững, bị mất khả năng gây nhiễm ở -20°C tới 37°C.

5.1. Gây bệnh cho người

Đa số người bị nhiễm CMV không có triệu chứng lâm sàng. Các cá thể có biểu hiện lâm sàng thường là các đối tượng có nguy cơ cao nhất, như bị nhiễm ở thời kỳ chu sinh, bị đàn áp miễn dịch, phải nhận máu hoặc bị ghép cơ quan. Nhiễm CMV chu sinh thường là nguyên nhân của thai nhi không bình thường.

5.2. Nhiễm CMV thai nhi (congenital infection):

Trong tử cung mẹ, thai nhi có thể nhiễm CMV, do virus truyền từ mẹ qua rau thai. Tỷ lệ nhiễm CMV thai nhi khoảng 1%. Trẻ em dưới 1 tuổi bị nhiễm CMV khoảng 90%, nhưng không có triệu chứng. Muộn hơn trong số này, khoảng 17% có biểu hiện triệu chứng thần kinh như kém thính giác.

5.3. Nhiễm CMV khi sinh

Khoảng 20% trẻ em bị nhiễm CMV khi sinh do dịch tiết hoặc sữa của mẹ mang và đào thải CMV thường bắt đầu sau đẻ một số tuần. Cũng giống như với các nhóm virus herpes khác tuyệt đại đa số không có biểu hiện lầm sàng. Những biểu hiện lâm sàng có thể của nhóm này là viêm phổi, nổi ban, viêm đường bạch huyết.

5.4. Nhiễm CMV ở người lớn

Huyết thanh học và nuôi cấy phân lập đã chứng minh rằng nhiễm CMV ở người lớn là rất phổ biến. Tuyệt đại đa số là nhiễm virus không triệu chứng, hoặc là nhiễm virus tiềm tàng virus không nhân lên, hay nhiễm virus duy trì (có sự tổng hợp và giải phóng virus ở mức độ thấp). Tỷ lệ nhiễm CMV tăng dần từ thời thơ ấu đến tuổi thành niên. Tỷ lệ huyết thành CMV dương tính ở các nước phát triển là 40%, nhưng ở các nước nghèo là 100%. Sự lây nhiễm virus dễ dàng do tiếp xúc gần gũi các cá thể, chủ yếu qua đường tình dục đồng hoặc khác giới.

Triệu chứng đầu tiên của nhiễm CMV là tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng giống như EBV cả về lâm sàng và miễn dịch. Các dấu hiệu lâm sàng có thể gặp là sốt, mệt mỏi, tiếp theo là viêm gan nhẹ.

5.5. Nhiễm CMV do thầy thuốc (iatrogenic infection):

Nhiễm CMV có thể xảy ra bởi truyền máu, đặc biệt khi nhận với một khối lượng lớn máu, thường là nhiễm virus không triệu chứng. Nếu có xuất hiện thì thường gặp là tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng. Tỷ lệ bị nhiễm CMV cao cũng xảy ra ở người được ghép thận, đặc biệt khi dùng thuốc đàn áp miễn dịch. Thận của người cho được coi là nguồn lây của CMV. Các bệnh có thể xuất hiện là tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng, viêm gan và bệnh phổi. Những người điều trị bằng thuốc đàn áp miễn dịch cũng là những đối tượng có nguy cơ cao nhiễm CMV.

5.6. Chẩn đoán phòng thí nghiệm

Các phương pháp chẩn đoán phòng thí nghiệm có ý nghĩa là tế bào, nuôi cấy phân lập CMV và huyết thanh học.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Các đặc điểm cơ bản của họ Herpesviridae là gì?
2. Trình bày phân loại họ Herpesviridae?
3. Khả năng gây bệnh của các nhóm virus Herpes?
4. Vì sao thuỷ đậu thường xảy ra với trẻ em và bệnh zona xảy ra với bệnh AIDS với cùng một loại virus?

VIRUS GÂY HỘI CHỨNG SUY GIẢM MIỄN DỊCH Ở NGƯỜI

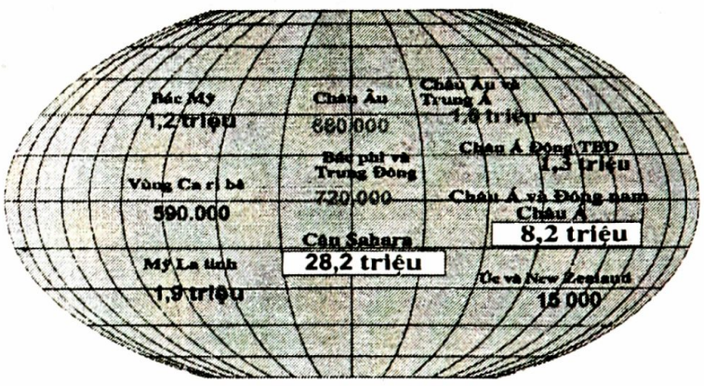
(HIV = Human Immunodeficency virus)

MỤC TIÊU

1. *Giải thích được các đặc điểm cơ bản của HIV.*
2. *Trình bày được miễn dịch, bệnh sinh của HIV/AIDS và hậu quả.*
3. *Giải thích được các giai đoạn từ nhiễm HIV đến AIDS và các phương pháp chẩn đoán.*
4. *Giải thích được các đường xâm nhập của HIV và các phương pháp phòng bệnh?*
5. *Giải thích được các nguyên tắc điều trị HIV/AIDS.*
6. *Trình bày được mối liên quan giữa HIV/AIDS và các bệnh khác.*

HIV/AIDS đang là căn bệnh thế kỷ, đang gây đại dịch toàn cầu. Tính đến 6/2006, trên toàn thế giới đã có 43 triệu người bị nhiễm HIV còn sống và 30 triệu người đã chết vì AIDS.

Việt Nam tính đến 6/2006, có khoảng 105.172 người bị nhiễm virus này, 17.604 chuyển thành AIDS và trên 10.000 người đã đã tử vong, nhưng con số thật sự nhiễm cao hơn nhiều. Các nước đang phát triển, đặc biệt là các nước châu Phi (sa mạc Sahara) và châu Á (Nam và Đông Nam Á) là khu vực có tỷ lệ nhiễm HIV rất cao. Đại dịch HIV đang gây ra hao người, tốn của cho toàn thế giới, nhất là các nước có tỷ lệ bị HIV/ AIDS cao.



Phân bố số người nhiễm HIV/AIDS trên thế giới cuối năm 2005

1. LỊCH SỬ PHÁT HIỆN

Năm 1981, ở Los-Angeles, California và New York phát hiện một số người đồng tính luyến ái đều bị suy giảm miễn dịch mắc phải nên tên bệnh

"AIDS" (hay SIDA) xuất hiện. Đến tháng 5 năm 1983, nhóm virus học của viện Pasteur Paris (L. Montagnier. I. Barre - Sinonssi) và 1984, nhóm tác giả của Viện Ung thư quốc gia Bethesh, Hoa Kỳ (M. Popovic, P.C. Gallo) cũng phân lập được virus từ bệnh nhân AIDS. Tháng 10/1984, khi phân tích genom của hai virus trên người ta thấy chúng cơ bản giống nhau và đều là tác nhân gây AIDS.

Năm 1986, Hội nghị quốc tế đã thống nhất gọi virus gây bệnh AIDS là HIV (Human Immunodeficiency Virus - virus gây hội chứng suy giảm miễn dịch ở người).

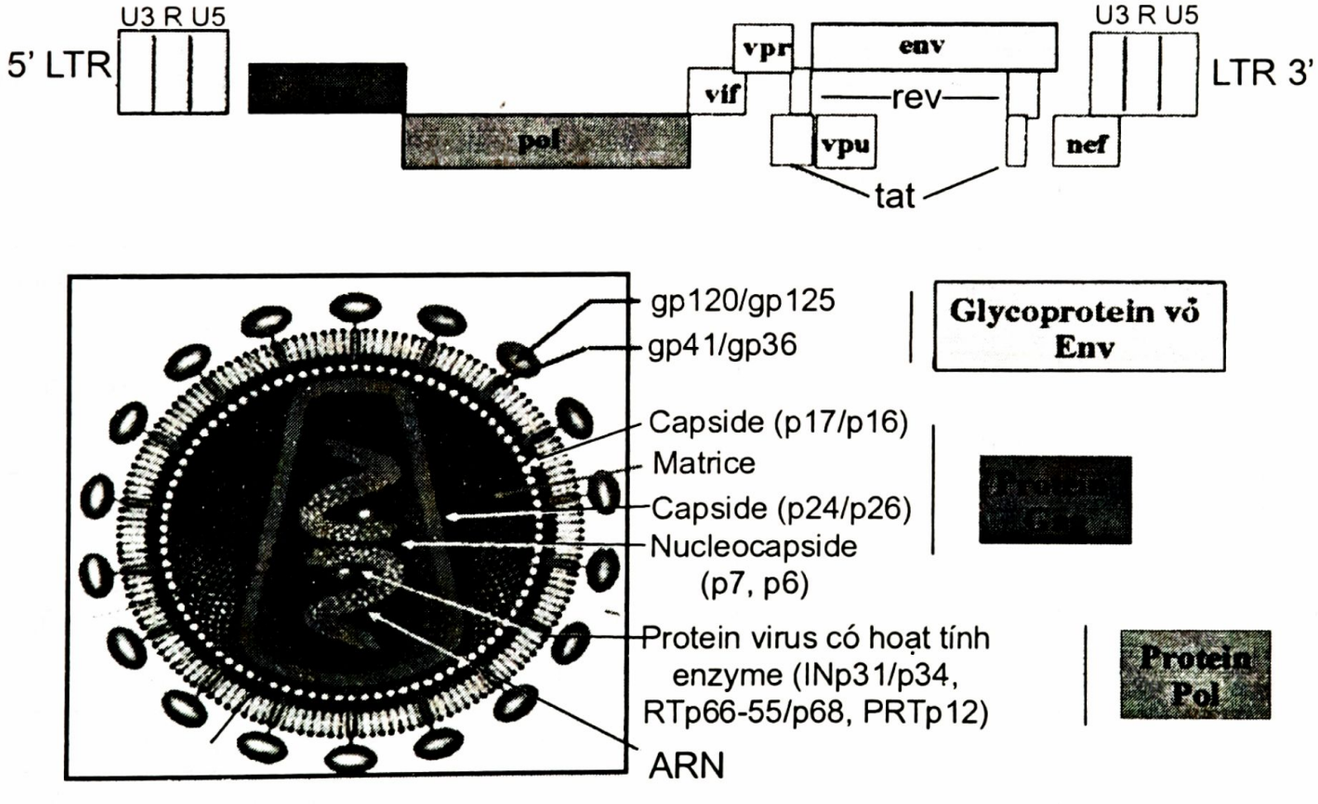
2. PHÂN LOẠI HIV

HIV thuộc họ *Retroviridae*. Họ virus này là tác nhân gây ung bướu ở động vật và người gọi chung là *Oncovirinae*, trong đó có nhóm *Lentivirus* gây nhiễm trùng chậm, gồm 3 loại: HIV-1, HIV-2 gây AIDS ở người và SIV gây suy giảm miễn dịch ở khỉ.

3. ĐẶC ĐIỂM VIRUS HỌC

3.1. Hình dạng và cấu trúc

HIV có đặc điểm chung của họ *Retroviridae*. Hạt virus hoàn chỉnh (virion) có cấu trúc gồm 3 lớp:



Hình 94. Cấu trúc phân tử của HIV1/HIV2

Lớp vỏ ngoài (vỏ envelop):

Lớp này là một màng lipid kép có kháng nguyên chéo với màng sinh chất tế bào. Gắn lên màng này là các gai nhú. Đó là các phân tử glycoprotein có trọng lượng phân tử 160 kilodalton (viết tắt: gp 160). Gai nhú bao gồm hai phần:

Glycoprotein màng ngoài có trọng lượng phân tử là 120 kilodalton (gp 120). Gp120 là kháng nguyên dễ biến đổi nhất, gây khó khăn cho phản ứng bảo vệ cơ thể và chế vacxin phòng bệnh.

Glycoprotein xuyên màng có trọng lượng phân tử 41 kilodalton (gp 41).

– *Vỏ trong (vỏ capsid),* vỏ này bao gồm 2 lớp protein:

Lớp ngoài hình cầu, cấu tạo bởi protein có trọng lượng phân tử là 16 kilodalton (p16) với HIV-2 và p17 với HIV-1.

Lớp trong hình trụ không đều, cấu tạo bởi các phân tử protein có trọng lượng phân tử là 24 kilodalton (p 24). Đây là kháng nguyên rất quan trọng để chẩn đoán HIV/AIDS sớm và muộn.

– *Lõi của HIV*: gồm genom và các enzym.

3.2. Genom và enzym của HIV

Là những thành phần bên trong lớp capsid trong, bao gồm:

Hai phân tử ARN đơn, đó là bộ gen di truyền của HIV (genom). Genom của HIV chứa 3 gen cấu trúc và 6 gen điều hòa. Lớp tối là capsid được bao quanh bởi màng dilipid envelop mà HIV thu được khi nẩy chồi qua bề mặt tế bào nhiễm virus.

Các gen trong genom của HIV: Các loại protein cấu trúc và điều hòa của HIV:

Tên	Trọng lượng phân tử Kilodal)	Chức năng
Protein cấu trúc: Gag	p55/p17/p24/p7	Kháng nguyên đặc hiệu nhóm hoặc protein capsid
Pol	p66/p51/p32	Các enzym của virus: protease, RT, intergrase
Env	gp160/gp120/gp41	Các glycoprotein của gai nhú
Protein điều hoà: Tat	p16/p14	Làm tăng sự phiên mã virus
Rev	p19	Hỗ trợ mARN vận chuyển qua nhân và bền vững
Nef	p25	Làm tăng thời kỳ nhiễm HIV ẩn in vivo
Vif	p23	Làm tăng sự chín và giải phóng của HIV
Vpu	p16	Làm tăng sự chín và giải phóng HIV và tạo envelop
Vpr	p10 - 15	Làm tăng sự tổng hợp mARN virus

3.3.1. Các gen cấu trúc

- *Gag* (group specific antigen) là các gen mã hóa cho các kháng nguyên đặc hiệu nhóm của capsid của virus (Hình 92).
- *Pol* (Polymerase) mã hóa cho các enzym: reverse transcriptase (RT: enzym sao mã ngược), protease và ADN nuclease (còn gọi là enzym intergrase).
- *Env* (envelop) mã hóa cho các glycoprotein lớp vỏ peplon của HIV (Hình 93).
- *RT*: là enzym ADN polymerase phụ thuộc ARN (ARN-dependent ADN polymerase), dạng hoạt động của nó là p 66/51 ở HIV - 1 và p 68 ở HIV - 2, đảm nhiệm sao mã bộ gen virus thành ADN trung gian. Người ta đã dùng các loại thuốc như Zidovudin (ZDV), ddI và Nevirapin để ức chế RT dẫn tới ngăn chặn sự nhân lên của HIV. Để đề kháng lại các thuốc trên, HIV đã biến dị các acid amin là nơi tác động của các loại thuốc trên (ví dụ: acid amin số 215 cho ZDV, số 74 cho ddI và số 181 cho Nevirapin). Gen của RT cũng được ứng dụng để phát hiện HIV trong phương pháp PCR, rất có ý nghĩa trong chẩn đoán HIV ở giai đoạn cửa sổ hoặc bệnh nhi trong 15 tháng tuổi đầu tiên.

Protease (p.12) của HIV có tác dụng tách các polyprotein được mã hóa bởi gen *Gag* và *Pol* thành các phân tử hoạt động.

Endonuclease (p.31 ở HIV-1 và p.34 ở HIV-2) đảm nhiệm sự tích hợp ADN của virus vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ.

3.3.2. Các gen điều hòa sự nhân lên của HIV

Ngoài 3 gen mã hóa cấu trúc của HIV, virus này còn có hệ thống gen điều hòa sự nhân lên của nó, bao gồm: *Tat*, *Rev*, *Vif*, *Vpu* và *Vpr* thúc đẩy tổng hợp HIV. *Nef* (Negative factor gene): Gen này ức chế quá trình dịch mã của HIV, nó tạo thuận cho nhiễm HIV tiềm tàng.

3.4. Nuôi cấy

HIV nuôi cấy tốt trên tế bào lympho người (đã được kích thích phân bào) và tế bào thường trực Hela có CD4+.

3.5. Sức đề kháng

Cũng giống như các virus khác có lớp vỏ ngoài là lipid, HIV dễ dàng bị bất hoạt bởi các yếu tố vật lý, hóa chất và nhiệt độ. Trong dung dịch nó bị phá hủy ở 56°C sau 20 phút, ở dạng đông khô nó bị mất hoạt tính ở 68°C sau 2 giờ. Với các hóa chất như hypoclorit, glutaraldehyd, ethanol, hydrogen peroxid, phenol, paraformaldehyd, HIV nhanh chóng bị bất hoạt (nó dễ bị mất khả năng gây nhiễm hơn HBV).

3.6. Phân loại HIV

3.6.1. Theo týp huyết thanh: Có 2 týp: HIV - 1 và HIV - 2

Hai loại virus này đều gây nên AIDS. Với bệnh cảnh lâm sàng không thể phân biệt được và đường lây hoàn toàn giống nhau, nhưng chúng khác nhau ở khía cạnh sau đây:

- Về di truyền, genom của chúng khác nhau, HIV - 2 gần với SIV hơn. Do vậy có ý kiến cho rằng nó biến dị từ SIV.
- Về kháng nguyên, hai virus này cũng khác nhau, lớp capid ngoài của HIV-1 là p17, còn HIV-2 là p16.
- Trọng lượng phân tử của các thành phần cấu trúc cũng có nhiều khác biệt.
- Thời gian nung bệnh của HIV - 2 dài hơn HIV - 1.
- Hiệu quả gây nhiễm của HIV - 1 cao hơn HIV - 2.

Vùng lưu hành của HIV - 2 chủ yếu ở Tây và Nam Phi (ngoài ra còn xuất hiện ở mức độ thấp ở những vùng khác của thế giới), còn HIV - 1 lưu hành toàn cầu.

3.6.2. Dưới týp (Subtype)

Dựa theo sự khác nhau của gen chi phối gp120, chủ yếu ở vùng V3:

- HIV có 9 subtype ký hiệu từ A đến I.
- Các nước Asean có 2 subtype chính là A (E) và B, không có HIV-2.
- Việt Nam gần hết là subtype A (81%), subtype B thường phối hợp với subtype A, bắt đầu xuất hiện subtype không A và không B (non A non B) ở bệnh nhân luyến ái đồng giới.
- HIV-2 có một subtype gần với subtype C của HIV-1.

Ngoài hai kiểu phân loại trên, HIV còn được phân loại theo genotype (dựa theo sự biến dị của gen chi phối RT) và phenotype dựa vào sự tạo thành các liên hợp của các TCD4 (+).

4. SỰ XÂM NHẬP VÀO TẾ BÀO VÀ NHÂN LÊN CỦA HIV

4.1. Sự hấp phụ lên bề mặt tế bào

HIV bám vào bề mặt tế bào cảm thụ nhờ sự phù hợp giữa receptor tế bào với gp120 của nó. Trong đa số các trường hợp, các receptor này là các phân tử CD4(+) của lympho T hỗ trợ hoặc một số tế bào khác như bạch cầu đơn nhân lớn, đại thực bào và một số dòng lympho B.

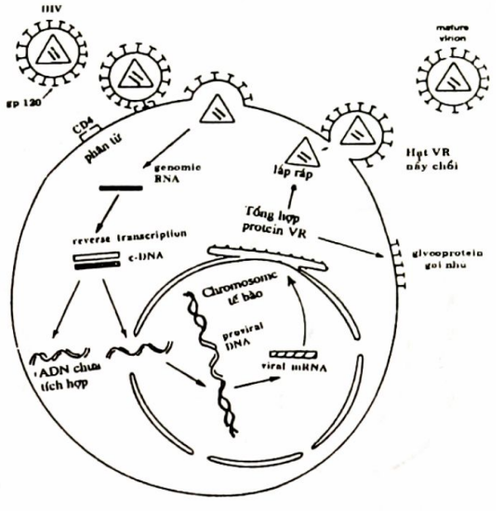
4.2. Sự xâm nhập vào tế bào

Sau khi bám được vào receptor của tế bào chủ, phân tử gp41 của HIV cắm sâu vào màng tế bào tạo nên sự hòa nhập của envelop HIV với màng tế bào. Nhờ đó genom của HIV chui vào bên trong tế bào. Vì vậy, giai đoạn này còn gọi là "cắm neo và hòa màng". Với một số tế bào không có CD4 (như tế bào thần kinh đệm và nguyên bào sợi) gp41 đã thay cho gp120, giúp cho HIV xâm nhập vào tế bào có tác dụng liên hợp các tế bào làm tăng nhiễm HIV, đồng thời tránh được tác dụng của kháng thể.

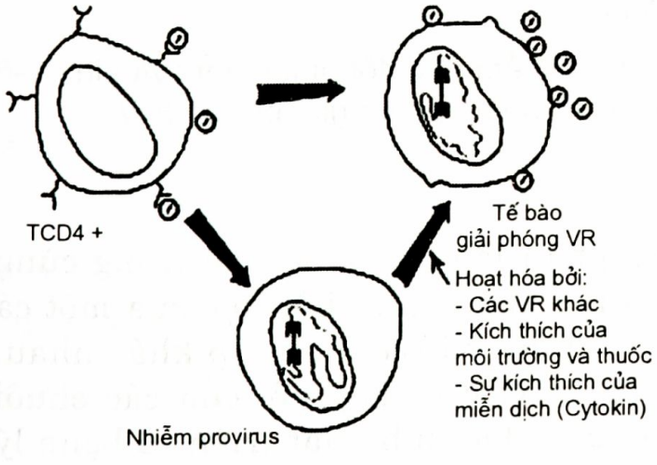
4.3. Sự nhân lên trong tế bào

Sau khi đã chui được vào tế bào, ADN trung gian của HIV được tổng hợp từ khuôn mẫu ARN nhờ xúc tác của RT. ADN của HIV tích hợp vào nhiễm sắc thể tế bào nhờ intergrase. Do tích hợp, HIV đã tránh được sự bảo vệ của cơ thể, tác dụng của thuốc và gây bệnh chậm. Sau khi đã tích hợp, ADN của HIV có thể tồn tại ở hai trạng thái:

- Không hoạt động và nằm im như tiền virus (provirus). Trạng thái tiềm tàng (latent state) có thể trở thành hoạt động như những virus độc lực dưới các tác dụng của môi trường, virus khác hoặc interleukin.
- ADN bổ sung của HIV được sao chép thành các hạt virion mới. Đây là trạng thái nhân lên của HIV (productive state) với các bước tiếp theo như sau các virus khác.
- Cuối cùng các hạt HIV mới được hình thành và giải phóng theo kiểu nẩy chồi. Khi chui qua màng sinh chất tế bào, HIV đã lấy màng này tạo nên envelop và cắm thêm các gai nhú.



Hình 95. Các giai đoạn nhân lên của HIV



Hình 96. Sơ đồ hoạt hóa T_{CD4} (+) bởi các yếu tố khác nhau, bao gồm các virus khác, sự kích thích của môi trường và các cytokin, có thể là chìa khóa trong sự tổng hợp HIV ở tế bào nhiễm provirus.

4.4. Ba kiểu hình nhân lên của HIV

4.4.1. Kiểu hình 1

Đây là kiểu hình phổ biến nhất trên đa số người bị nhiễm HIV, có quá trình diễn biến qua 3 giai đoạn:

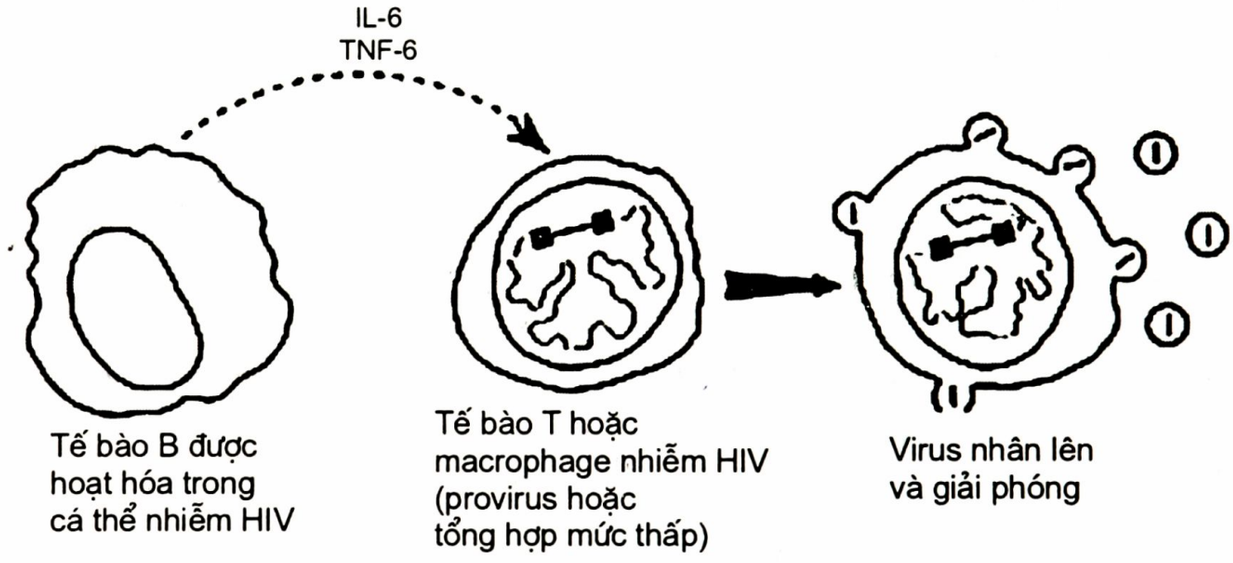
- Sơ nhiễm: 3 đến 6 tuần (còn gọi là giai đoạn nhiễm virus cấp hoặc giai đoạn cửa sổ).
- Không triệu chứng (carrier): kéo dài từ 2 đến 10 năm, có kháng thể trong máu.
- Tiền phát và AIDS: kéo dài 1 năm rưỡi đến 2 năm rồi bệnh nhân chết.

4.4.2. Kiểu hình 2

Đây là kiểu hình rất ít gặp từ nhiễm HIV mạn tính chuyển sang nhiễm virus thầm lặng.

4.4.3. Kiểu hình 3

Là trạng thái nhiễm HIV thầm lặng (silent infection), kéo dài và không có kháng thể xuất hiện.



Hình 97. Sơ đồ tế bào B được hoạt hóa trong cá thể nhiễm HIV đột nhiên tiết cytokin (IL-6 và TNF-6: tumor necrosis factor) kích thích sự nhân lên và giải phóng HIV

4.5. Sự đa dạng của HIV in vivo

Có thể có sự khác nhau của các HIV phân lập từ các cá thể trong cùng cộng đồng bị nhiễm virus, từ các lần phân lập khác nhau liên tục của một cá thể và ngay cả từ cùng một người nhưng ở những vị trí phân lập khác nhau. Những sự khác nhau này có thể đánh giá trong các thay đổi của các chuỗi nucleotid, các kháng nguyên, hướng tính tế bào, đặc tính phát triển và bệnh lý tế bào.

Như vậy HIV đã tránh được tác dụng của hệ thống miễn dịch. Sự đa dạng của HIV có thể phản ánh qua sự phiên mã ngược. Điều này cho phép biến chủng tập trung và tái tổ hợp.

5. MIỄN DỊCH

5.1. Sự tạo thành các kháng thể

Các loại kháng thể sau đây đã hình thành:

- Tạo kháng thể trung hòa.
- Tạo kháng thể độc sát tế bào (hiện tượng ADCC: Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity).
- Kháng thể tăng cường. Các kháng thể loại này làm tăng sự nhiễm HIV, do chúng kết hợp với các kháng nguyên virus tạo thành phức hợp miễn dịch.
- Tăng globulin máu và hình thành các tự kháng thể.

5.2. Miễn dịch tế bào

- Hình thành các tế bào lympho Tc (độc sát tế bào). Các tế bào này đã kết hợp đặc hiệu kháng nguyên của HIV (xuất hiện trên tế bào đích) và tiêu diệt các tế bào này và giải phóng các hạt HIV.
- Giảm số lượng TCD4(+), do HIV đã xâm nhập và nhân lên trong các tế bào có CD4(+).

5.3. Sự né tránh hệ thống miễn dịch của HIV

Để chống lại sự đáp ứng miễn dịch bảo vệ của cơ thể HIV đã lẩn trốn hệ miễn dịch bằng các cách sau đây:

5.3.1. HIV biến dị kháng nguyên

Thường xảy ra kháng nguyên envelop, ít nhất 25% acid amin của phân tử gp160 có thể thay đổi. Nên mặc dù cơ thể có kháng thể trung hòa, nhưng tác dụng sẽ hạn chế. Sự thay đổi kháng nguyên nhanh chóng sẽ làm giảm tác dụng miễn dịch.

5.3.2. Che lấp bởi các "tấm màng" của các phân tử đường với các đoạn ưu thế miễn dịch của các gp160.

5.3.3. Các tế bào đại thực bào và monocyte bị nhiễm HIV di chuyển tới vị trí ẩn đáp ứng miễn dịch, như mào tinh hoàn hay não.

5.3.4. HIV tồn tại ở dạng provirus nên tránh được đáp ứng miễn dịch

5.3.5. HIV đánh vào các tế bào miễn dịch, đặc biệt là TCD4 (+) và đại thực bào, gây suy giảm miễn dịch nghiêm trọng

6. BỆNH SINH

6.1. Các loại tế bào có thể bị nhiễm HIV

Các loại tế bào bị nhiễm HIV dẫn đến các thể lâm sàng khác nhau. Các týp HIV khác nhau cũng gây nhiễm các loại tế bào khác nhau.

Các loại tế bào sau có thể bị nhiễm HIV: HIV có thể xâm nhập và nhân lên ở nhiều loại tế bào. Các tế bào này đều có phân tử tiếp nhận HIV như CD4. Các loại tế bào đích của HIV được chia làm 5 nhóm lớn:

- Các tế bào máu, bạch huyết và tuỷ xương: lympho CD4(+), monocyt, macrophage, lympho B (thường đã có một virus khác gây nhiễm như Epstein - Barr), tế bào đệm gai (dendritic cell), tiền tủy bào và tế bào nguồn.
- Các tế bào não: macrophage và đại thực bào trung bì, tế bào dạng sao và tế bào thần kinh đệm ít nhánh.
- Dạ dày, ruột: tế bào trụ và biểu mô lát, các tế bào ưa chrom, carcinoma đại tràng, đại thực bào tổ chức đệm.
- Da: tế bào Langerhans, tế bào xơ non.
- Các tế bào khác: tế bào sarcoma xương và cơ, tế bào biểu mô mao mạch, tế bào nhung mao đệm bào thai.

Sự lây truyền HIV giữa các tế bào:

- Các tế bào monocyt và lymphocyt đã làm lây truyền HIV trong cơ thể, có thể monocyt đã giúp cho HIV xâm nhập vào não.
- Các tế bào monocyt, macrophage, đại thực bào bạch tuộc và Langerhans bắt được HIV (nhiễm HIV) và thực hiện hai chức năng miễn dịch là xử lý và trình bày kháng nguyên cho lympho có CD4(+) (T-helper).

6.2. Các cơ chế gây rối loạn miễn dịch

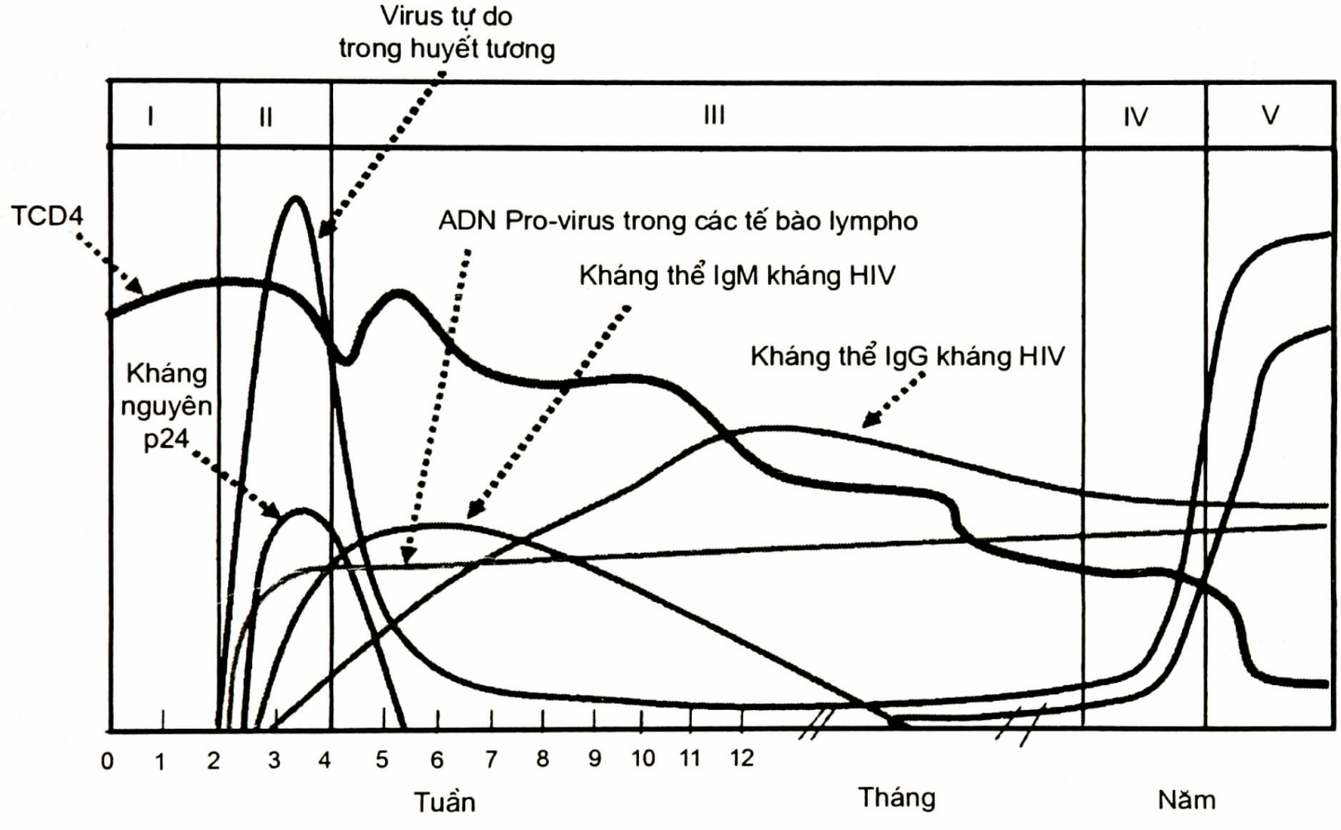
- Làm giảm các tế bào lympho TCD4(+) (tế bào hỗ trợ lympho B trong sản xuất kháng thể và lympho Tc trong miễn dịch tế bào) nhanh chóng dẫn tới sự suy giảm miễn dịch.
- Làm giảm bộc lộ một số thụ thể bề mặt có vai trò nhận dạng trong việc hình thành đáp ứng miễn dịch như CD4 hoặc thụ thể interleukin-2.
- Làm suy giảm chức năng nhiều loại tế bào miễn dịch - đó là những tế bào bị nhiễm HIV: lympho B, T, monocyt và đại thực bào, bạch cầu nhân đa hình.
- Làm giảm số lượng các tế bào miễn dịch, do HIV diệt cả tế bào trưởng thành và tế bào non.
- Gây tự miễn dịch do kháng nguyên chéo giữa lớp envelop với màng tế bào.

6.3. Các rối loạn chính của đáp ứng miễn dịch

6.3.1. Miễn dịch tế bào

- Lympho T bị giảm, đặc biệt là T có CD4(+), tỷ lệ CD4/CD8 đảo ngược (dưới 1). Bình thường CD4/CD8 = 1,4 - 2,2 và số lượng TCD4(+) là 450 - 1250/mm^3 và TCD8(+) là 250 - 500/mm^3.
- Giảm chức năng của tế bào miễn dịch, do vậy làm giảm phản ứng quá mẫn muộn da, giảm khả năng phân bào trước kích thích kháng nguyên, giảm khả năng diệt của Tc.

Miễn dịch dịch thể



Sơ đồ 98. Diễn biến huyết thanh của người nhiễm HIV

- Tăng gamma globulin máu mà chủ yếu là IgG và IgM.
- Giảm đáp ứng kháng thể với các kháng nguyên lần đầu tiên xâm nhập vào cơ thể bị nhiễm HIV.
- Tăng phức hợp miễn dịch, tăng các tự kháng thể và một số protein huyết thanh khác.

6.4. Hậu quả của rối loạn miễn dịch

Hai hậu quả thường gặp là nhiễm trùng cơ hội và ung thư đặc biệt (Sarcoma Kaposi).

Các bệnh nhiễm trùng:

- Nhiễm lao: từ lao phổi đến lao các cơ quan khác. Mantoux thường âm tính. Bệnh này rất hay gặp ở người nhiễm HIV trong các nước đang phát triển. Ở Việt Nam gần 50% người nhiễm HIV có biểu hiện bệnh lao.
- Nhiễm *Mycobacterium* không điển hình rải rác toàn thân.
- Nhiễm *Cytomegalovirus*: nhiễm trùng đường hô hấp, tiêu hóa hoặc hệ thần kinh trung ương.
- Nhiễm virus herpes simplex: nhiễm trùng da niêm mạc mạn tính với những nốt loét kéo dài nhiều tháng, đặc biệt là Zona.

Các bệnh ung thư:

- Sarcoma Kaposi: một bệnh ung thư có giá trị chỉ điểm cao cho AIDS. Những vết sưng tấy từ màu hồng đến màu tím, phẳng hoặc nổi lên, không đau, cứng và lan rộng. Có thể gặp ở bất cứ nơi nào trên da, ở niêm mạc mũi, miệng, mi mắt hoặc trực tràng. Bệnh này thường rất hiếm, chỉ gặp ở Trung Phi và Đông Âu, chỉ xảy ra ở người già và lành tính. Nhưng ở AIDS, sarcoma Kaposi hay gặp ở người trẻ và di căn.
- U lympho giới hạn ở não: gây biến đổi nhân cách, các dấu hiệu thần kinh khu trú, co giật.

6.5. Bệnh lý hệ thống thần kinh: gây rối loạn trí nhớ và tâm thần.

6.6. Bệnh lý dạ dày - ruột: các chủng HIV, qua gây nhiễm trực tiếp ruột, thường gây ra rối loạn hấp phụ và đi lỏng mạn tính gặp ở nhiều bệnh nhân bị nhiễm.

7. CHẨN ĐOÁN HIV/AIDS

Chẩn đoán HIV/AIDS phụ thuộc vào giai đoạn tiến triển từ nhiễm HIV đến AIDS. Người ta có thể chia nó thành 3 giai đoạn:

- Nhiễm HIV cấp: kéo dài khoảng 2-3 tháng, không có triệu chứng đặc hiệu, chưa có kháng thể nhưng đã có HIV và kháng nguyên P24 trong máu. Trong giai đoạn này, người ta có thể phát hiện HIV bằng PCR hoặc kháng nguyên P24.
- Nhiễm trùng không triệu chứng (carrier hoặc ủ bệnh): kéo dài từ 7-10 năm. Trong giai đoạn này, tất cả các loại kháng thể kháng và kháng nguyên đặc hiệu của HIV đều xuất hiện. Nhưng lượng virus rất ít. Trong giai đoạn này, thường phát hiện kháng thể bằng ELISA, Serodia hoặc bằng Western blot. Western blot thường dùng để xác chẩn
- Giai đoạn tiền AIDS và AIDS: kéo dài 2-3 năm. Bệnh nhân xuất hiện các triệu chứng nhiễm trùng cơ hội (Lao, zona, nhiễm nấm...). Người ta chẩn đoán bệnh bằng các phương pháp của hai giai đoạn trên tuỳ theo yêu cầu.

Các xét nghiệm sàng lọc thường dùng kết hợp ELISA và serodia

Chẩn đoán HIV/AIDS cũng có nhiều khó khăn vì bệnh cảnh AIDS rất đa dạng và cũng giống một bệnh nhiễm trùng khác, mặt khác xét nghiệm HIV cũng có dương tính giả. Vì vậy, việc chẩn đoán này nên đi từ các dấu hiệu lâm sàng đến xét nghiệm labo, đi từ thấp đến cao. Dưới đây là chẩn đoán HIV trong phòng thí nghiệm.

7.1. Phát hiện kháng thể của HIV

7.1.1. Kỹ thuật ngưng kết Latex nhanh (Serodia)

Kỹ thuật ngưng kết Latex nhanh được dùng cho những nơi không có đủ ngân sách để chi phí cho kỹ thuật ELISA, không đủ thiết bị lạnh để bảo quản sinh phẩm, đồng thời lại cần có kết quả nhanh. Kỹ thuật này dùng một kháng nguyên tái tổ hợp là CBre3, một polypeptid thu được tự bộc lộ một phần gen Eny của HIV. Kháng nguyên này được phủ lên bề mặt các viên bi Latex. Bất lợi của kỹ thuật này là việc đánh giá phản ứng bằng mắt thường ít nhiều mang tính chủ quan. Tuy nhiên, nếu như kỹ thuật ngưng kết nhanh được làm bởi các cán bộ kỹ thuật được đào tạo tốt thì độ nhạy và tính đặc hiệu có thể so sánh với kỹ thuật ELISA và Western Blot.

7.1.2. Kỹ thuật miễn dịch enzym pha rắn (ELISA)

Kỹ thuật được dùng đầu tiên và hiện phổ biến nhất để chẩn đoán HIV là kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể HIV. Kỹ thuật này tương đối đơn giản và dễ thực hiện ở các labo lâm sàng có đội ngũ cán bộ kỹ thuật được đào tạo tốt. Do vậy, ELISA được dùng rất rộng rãi ở các nước phát triển để sàng lọc những người cho máu và bệnh nhân.

Kỹ thuật này rất đáng tin cậy do có độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Một mẫu huyết thanh chỉ được coi là dương tính khi thử lại các lần sau vẫn dương tính và cho kết quả dương tính với kỹ thuật xác chẩn.

7.1.3. Kỹ thuật thấm miễn dịch của Western Blot (WB)

Kỹ thuật thấm miễn dịch của Western được dùng để xác chẩn kết quả dương tính của kỹ thuật ELISA, do WB có độ nhạy và tính đặc hiệu cao. Đây là phương pháp rất có ý nghĩa nhưng đắt tiền và khó thực hiện. Vì vậy chỉ làm các kỹ thuật này khi thật sự cần thiết.

7.2. Phát hiện HIV

7.2.1. Phát hiện kháng nguyên protein p24 của HIV-1 (HIV-1 p24 Assay)

Bệnh phẩm để phát hiện kháng nguyên này là huyết thanh, huyết tương hoặc dịch não tủy. Kháng nguyên p24 thường thấy sớm (1 tuần sau nhiễm

HIV-1) và tồn tại khoảng 5-6 tháng, sau đó nó không còn trong máu và dịch não tủy và xuất hiện vào giai đoạn gần có biểu hiện lâm sàng. Kỹ thuật ELISA hoặc RIA thường được dùng để phát hiện kháng nguyên này, cho kết quả dương tính khá cao.

7.2.2. Phản ứng khuyếch đại chuỗi Polymerase (PCR: polymerase chain reaction)

Phương pháp này dùng hai đoạn ADN (một sợi) làm mồi để xác định ADN đích, nó có độ nhậy rất cao. PCR xác định được một tế bào bị nhiễm HIV-1 giữa 100.000 đến 1.000.000 tế bào bình thường. Kỹ thuật này rất tốt để phát hiện nhiễm HIV-1 thầm lặng, nhưng không xác định được chính xác vị trí tế bào bị nhiễm virus.

Có hai loại kỹ thuật PCR: ADN-PCR phát hiện provirus và ARN-PCR phát hiện HIV nhưng ADN-PCR thì khẳng định chắc chắn hơn.

7.2.3. Phương pháp hóa miễn dịch tổ chức

Trong kỹ thuật này người ta đã dùng kháng thể đơn dòng chống lại các kháng nguyên của virus để xác định HIV-1 trong tổ chức. Do đó ta có thể quan sát được provirus trong tế bào, nhưng kỹ thuật này không nhạy bằng PCR.

7.2.4. Phân lập HIV

HIV có thể phân lập trên tế bào lympho tươi ngoại vi của người hoặc tế bào thường trực Hela có CD4+. Để phân lập được, các tế bào lympho cần phải ở dạng lymphoblast nhờ kích thích của các yếu tố phân bào (như phytohaemagglutinin). Phương pháp này rất nhạy (phát hiện được một tế bào bị nhiễm trong 1 triệu tế bào bình thường). Nhược điểm của kỹ thuật này là chậm (phải chờ 7-25 ngày mới có kết luận), tỷ lệ thành công cũng chỉ 50-70% và đắt tiền. Nó chỉ dùng khi cần phát hiện HIV cuối hoặc nghiên cứu về HIV, xác định HIV ở trẻ em.

7.3. Các xét nghiệm huyết học và miễn dịch khác

- Lympho TCD4 giảm dưới 400/ml (bình thường 800/ml - 1200/ml).
- Tỷ lệ: lympho TCD4/ lympho TCD8 dưới 1 (bình thường bằng 2).

8. DỊCH TỄ HỌC

8.1. Đường lây truyền của HIV

Hiểu biết đường lây nhiễm của HIV là những kiến thức trung tâm của dịch tễ học. Đến hiện nay nhờ những nghiên cứu về labo và dịch tễ học người ta biết HIV có 3 cách truyền bệnh qua đường tình dục, đường máu và từ mẹ qua con.

- HIV truyền qua đường tình dục chiếm khoảng 70% tổng số nhiễm HIV trên thế giới. Nói một cách khác nhiễm HIV là bệnh của đường tình dục. Phần lớn sự nhiễm HIV của thế giới xảy ra qua đường tình dục giữa nam và nữ hoặc đồng giới. Sự nhiễm HIV theo đường này tiếp tục tăng lên. Sự lây nhiễm qua luyến ái đồng giới nam có ở phần lớn các nước trên thế giới, mặc dù ở các nước phát triển, sự nhiễm HIV theo đường này đã ít xảy ra do các biện pháp an toàn của luyến ái đồng giới nam.
- HIV cũng có thể lây truyền theo đường máu, ví dụ như do sự truyền máu hoặc các sản phẩm của máu. HIV có thể truyền qua các dụng cụ tiêm chích không vô trùng, vấn đề này xảy ra ở các cơ quan y tế (chủ yếu là nhiễm trùng bệnh viện từ bệnh nhân tới bệnh nhân). Vấn đề nguy hiểm hơn cả ở các nước đã và đang phát triển là HIV lây truyền qua các dụng cụ tiêm chích bị nhiễm trùng do dùng các chất ma tuý. Việt Nam số người bị nhiễm HIV do tiêm chích ma tuý chiếm từ 60-70%.
- Đường lây truyền HIV từ mẹ qua con xảy ra cả ở trong lúc có mang, đẻ và nuôi con. Khoảng 1/3 trẻ sơ sinh của các bà mẹ nhiễm HIV đã bị nhiễm virus này. Phần lớn sự nhiễm HIV từ mẹ qua con xảy ra trong giai đoạn có thai và đẻ, mặc dù một số các trường hợp bị nhiễm virus này do bú sữa mẹ.

Các kết quả nghiên cứu của labo và dịch tễ học khẳng định rằng HIV không lây nhiễm bởi sự tiếp xúc hàng ngày như bắt tay, hôn, hắt hơi. HIV cũng không lây qua nước và thực phẩm hoặc muỗi đốt.

8.2. Sự tương tác giữa nhiễm HIV với các bệnh khác

Cách lây lan của các bệnh đường sinh dục như lậu, giang mai và hạ cam cũng là cách lây nhiễm HIV và cuối cùng đến AIDS. Hơn nữa những bệnh lây theo đường tình dục, đặc biệt là hạ cam và giang mai đã gây ra những tổn thương, làm thuận lợi cho sự nhiễm và lây truyền HIV. Vì hai lý do trên việc chẩn đoán và điều trị sớm cùng với giáo dục là cách để tránh sự nhiễm trùng phối hợp nguy hiểm và ngăn ngừa AIDS.

Khoảng 30% đến 50% người lớn ở phần lớn các nước đang phát triển bị nhiễm lao thể tiềm tàng, nghĩa là họ bị nhiễm vi khuẩn lao ở một lúc nào đó trong cuộc đời nhưng không biểu hiện thành bệnh lao. Bệnh lao là một trong những nguyên nhân dẫn đến tử vong ở người lớn, ở các nước đang phát triển (mỗi năm khoảng 3 triệu người). Bệnh nhân lao đã tăng lên đáng kể cùng với AIDS ở nhiều nước. Sự nhiễm HIV là yếu tố thuận lợi rõ nhất cho bệnh lao. Những người bị lao thể tiềm tàng dễ dàng thành bệnh lao khi hệ thống miễn dịch của họ đã bị tổn hại bởi HIV. 5%-10% những người bị lao ấy sẽ tiến triển thành lao bệnh mỗi năm. Những bằng chứng gần đây ở Mỹ đã gợi ý rằng những người bị lao lại dễ dàng bị nhiễm HIV do họ đã tăng sự nhạy cảm với HIV.

9. PHÒNG BỆNH

– Phòng đặc hiệu bằng vacxin:

Là biện pháp quan trọng nhất để chống lại dịch bệnh HIV/AIDS. Đây là hướng đang tập trung rất nhiều cố gắng của các nhà khoa học và đã có một số vacxin được thử nghiệm trên người (vacxin công nghệ sinh học hoặc dùng SIV). Hy vọng trong một thời gian không xa sẽ có được một vacxin hữu hiệu.

– Phòng bệnh không đặc hiệu:

Hiện nay người ta rất coi trọng vấn đề này và được coi đây là những biện pháp cơ bản để ngăn chặn đại dịch HIV/AIDS.

+ Đẩy mạnh tuyên truyền về HIV/ AIDS và biện pháp phòng chống.
+ Quan hệ tình dục lành mạnh, dùng bao cao su khi cần.
+ An toàn truyền máu và sản phẩm của máu.
+ Chống sử dụng ma tuý, đặc biệt là không tiêm chích ma tuý.
+ An toàn tiêm chích thuốc và sự can thiệp y tế.
+ Với các bà mẹ nhiễm HIV: có mang và đẻ khi rất cần và nên mổ đẻ.

10. ĐIỀU TRỊ

– Chống Retrovirus (ART = antiretrovirrus therapy). Hiện nay có 4 nhóm thuốc điều trị.

+ Hai nhóm thuốc ức chế enzym RT :
+ Nhóm thứ nhất ức chế vào nucleosid "NRTI": zidovuin, lamivudin...
+ Nhóm thứ 2 ức chế vào protein "NNRTI": nevirapin, efaviren...
+ Nhóm thứ 3 ức chế enzym protease "PI", ngăn cản tạo thành capsid và envelop: indinavir, ritonavir...
+ Nhóm thứ 4 ức chế hoà màng: enfuvirtid, fuzeon. Hiện nay ít dùng nhóm này

Thường kết hợp điều trị 3 loại thuốc (nhóm1+nhóm 2+nhóm 3)

– Tăng cường miễn dịch bằng dùng gamma globulin và các thuốc kích thích miễn dịch.

– Chống các bệnh nhiễm trùng cơ hội và điều trị triệu chứng.

– Dùng interferon alpha hoặc beta ngăn cản sự nhân lên của HIV.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. HIV thuộc nhóm và họ virus nào? Vì sao HIV được xếp vào loại gây bệnh chậm?
2. Cấu trúc và các thành phần kháng nguyên quan trọng của HIV?
3. Các bước nhân lên của HIV? Provirus là gì?
4. Vì sao HIV gây ra suy giảm miễn dịch và hậu quả?
5. Các đường xâm nhập của HIV và các biện pháp phòng bệnh?
6. Phân loại HIV?
7. Các phương hướng điều trị bệnh nhân nhiễm HIV/AIDS?
8. Vì sao ở các bệnh nhân AIDS thường xuất hiện bệnh lao, zona và một số nhiễm trùng cơ hội khác?
9. Các loại xét nghiệm virus học xác định người bị nhiễm HIV/AIDS?

CÁC VIRUS ADENO

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được các đặc điểm sinh học chính của virus Adeno.*
2. *Trình bày được khả năng gây bệnh của các virus Adeno.*
3. *Trình bày được các phương pháp chẩn đoán virus Adeno.*

Năm 1953, hai nhóm nghiên cứu đồng thời phân lập được *Adenovirus* từ các mảnh hạch hạnh nhân và tổ chức tuyến được cắt bỏ sau khi phẫu thuật. Chúng tạo thành một nhóm có đặc điểm chung là có kháng nguyên hòa tan và các týp huyết thanh khác nhau bởi phản ứng trung hòa chéo. Chúng thuộc họ *Adenoviridae* và loài *Mastadenovirus* (gây bệnh cho người). Người ta đã phân lập được trên 100 týp virus Adeno. Các virus Adeno ở động vật có khoảng 60 týp. Các virus Adeno của người có trên 40 týp, được chia thành 5 nhóm: A, B, C, D và E.

Các virus Adeno ngày càng được quan tâm vì chúng hay gây nhiễm trùng cấp tính thành dịch, ngoài ra một số týp có thể gây nhiễm trùng tiềm tàng ở người và gây ung thư thực nghiệm trên động vật. Bài này chỉ trình bày về các virus Adeno của người.

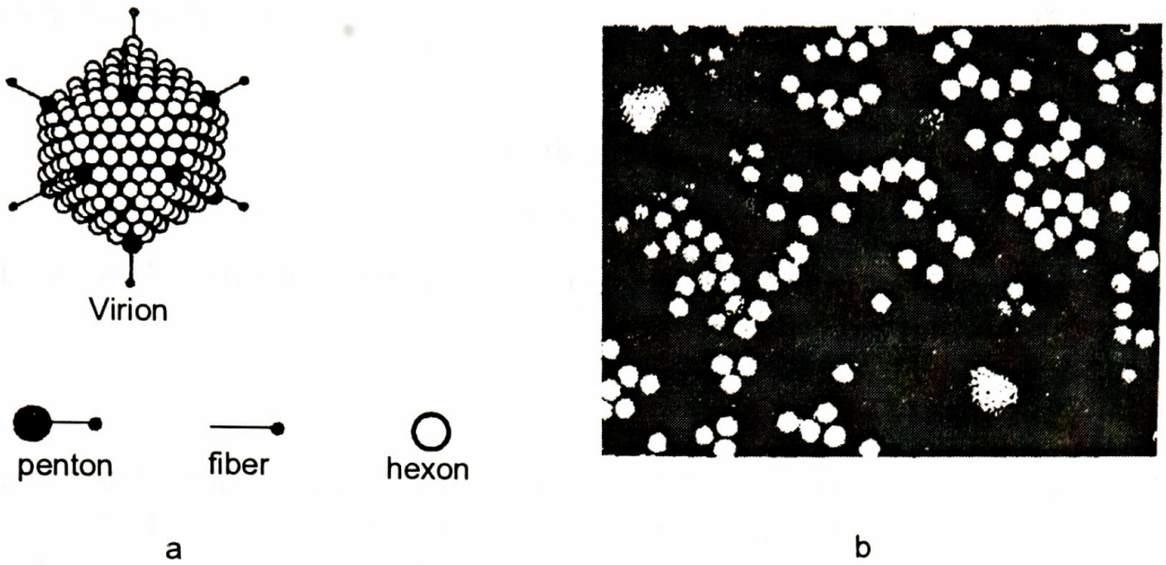
1. ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

1.1. Hình thể

Hình khối đa diện đều: 30 cạnh, 20 mặt, 12 đỉnh, kích thước đường kính 70-90 nm (Hình 99).

1.2. Cấu tạo

Virus chỉ chứa protein và ADN 2 sợi thẳng, virus trần không có vỏ. Vỏ capsid gồm 252 capsome, sắp xếp đối xứng hình khối hộp (Hình 99a). Nhiều Adeno virus gây bệnh cho người có hemagglutinin và một số có enzym phá huỷ các receptor (receptor - destroying enzyme: RDE). Hemagglutinin kết hợp với Fiber và được chia thành 4 nhóm (HA), trên cơ sở sự ngưng kết hồng cầu khỉ và chuột, nó song song với sự phân nhóm theo miễn dịch.



Hình 99. Adenovirus

a. Sơ đồ: Hexon là các capsome nằm ở cạnh và mặt Penton là các capsome nằm ở 12 đỉnh, Fiber là các sợi nhỏ gắn vào các đỉnh là một phần của Penton.

b. Hình chụp kính hiển vi điện tử của Adenovirus khiếm khuyết.

1.3. Nuôi cấy

Virus chỉ nuôi được trên các tế bào in vitro có nguồn gốc từ người như: tế bào thận phôi người, Hela, Hep 2... Tế bào Hela là thích hợp nhất và được dùng phổ biến nhất. Chưa tìm thấy các động vật cảm thụ đối với virus Adeno của người.

1.4. Sức đề kháng

Virus có thể giữ được khả năng gây nhiễm trùng trong 1 tháng ở nhiệt độ trong phòng, 15 ngày ở 37°C, 6 tháng ở 4°C, nhiều năm ở -20°C, 5-10 phút ở 56°C - 60°C. Kháng sinh và ether không diệt được virus. Nước sôi, tia cực tím và chloramin 1% diệt được virus.

1.5. Cấu tạo kháng nguyên

Có ít nhất 3 kháng nguyên quan trọng của vỏ capsid:

- Kháng nguyên kết hợp bổ thể là các Hexon, đặc hiệu chung cho tất cả các týp.
- Kháng nguyên trung hòa: đặc hiệu cho từng týp, nằm trên Penton và Fiber.
- Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu: đặc hiệu týp, nằm trên Penton và Fiber.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

2.1. Gây nhiễm trùng cấp tính

Thời gian ủ bệnh ngắn, sự đào thải virus kéo dài, bệnh thường nhẹ, trường hợp duy nhất có thể gây tử vong là viêm phổi ở trẻ nhỏ. Thường gặp nhất là:

- Viêm kết mạc thành dịch.
- Viêm kết - giác mạc tản phát.
- Viêm kết mạc - họng - hạch thành dịch.
- Một số nhiễm trùng đường hô hấp cấp.
- Ngoài ra có thể gặp viêm dạ dày ruột, viêm bàng quang chảy máu, viêm cổ tử cung, viêm niệu đạo ở nam giới.

2.2. Nhiễm trùng tiềm tàng

Một số týp virus có thể gây nhiễm trùng tiềm tàng sau một nhiễm trùng cấp tính hoặc ngay từ khởi đầu. Virus không nhân lên mà tồn tại lâu dài trong tế bào, khi sức đề kháng của cơ thể giảm sút (sau một nhiễm trùng hay một stress nào đó) virus có thể sẽ nhân lên và gây bệnh như một nhiễm trùng cấp tính.

2.3. Khả năng gây ung thư

Khả năng này thể hiện trong việc gây chuyển dạng ác tính các tế bào nuôi in vitro và gây ung thư thực nghiệm trên động vật. Một số týp có khả năng này: 3, 7, 12, 14, 16, 18, 21 và 31. Đặc biệt là các týp 12, 18 và 31. Tuy vậy trong các tế bào khối u của người chưa bao giờ phân lập được virus Adeno cũng như các ADN hoặc mARN của chúng.

3. MIỄN DỊCH

Sau khi khỏi bệnh cơ thể có miễn dịch bảo vệ đặc hiệu týp (có thể không mắc bệnh lại với cùng týp đó nhưng vẫn có thể tái nhiễm với týp khác). Miễn dịch bảo vệ kéo dài nhiều năm và có liên quan đến kháng thể trung hòa. Khoảng 50% trẻ em 6 tháng đến 12 tháng tuổi có kháng thể trung hòa với týp 1, 2.

4. CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT HỌC

4.1. Phát hiện virus

a. Bệnh phẩm

Tuỳ thể bệnh, có thể lấy từ họng, mũi, mắt, trực tràng, phân... Cần lấy sớm và những ngày đầu của bệnh, riêng phân có thể lấy trong tuần đầu.

b. Phương pháp

- Đưa bệnh phẩm đã được xử lý vào các tế bào có nguồn gốc từ người nuôi in vitro. Phát hiện virus bằng phản ứng kết hợp bổ thể, xác định týp bằng phản ứng trung hòa.
- Một số týp huyết thanh mới không phân lập được có thể được phát hiện bằng kỹ thuật hiển vi điện tử hoặc ELISA.

4.2. Chẩn đoán huyết thanh học

- Phản ứng kết hợp bổ thể thường được dùng để chẩn đoán một nhiễm trùng do virus Adeno, kỹ thuật đơn giản, rẻ tiền.
- Phản ứng trung hòa chỉ được dùng trong nghiên cứu.

5.NGUYÊN TẮC PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

5.1. Phòng bệnh

- Các biện pháp phòng không đặc hiệu gặp nhiều khó khăn vì virus lây theo nhiều đường và sức đề kháng cao.
- Đã có một vài loại vacxin, một số nước hiện dùng vacxin sống với týp 4, 7 phòng bệnh cho tân binh.
- Một số vacxin mới chế từ Hexon đang được nghiên cứu áp dụng để loại trừ nguy cơ gây ung thư có chứa trong ADN của virus. Ở Việt Nam hiện chưa có vacxin.

5.2. Điều trị

- Chủ yếu cần điều trị triệu chứng và chống bội nhiễm.
- Đối với viêm kết mạc dùng IUDR (5-iodo-2-deoxyuridine), thuốc có tác dụng tốt ngăn cản sự tổng hợp ADN của virus Adeno.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày hình dạng, cấu trúc và kháng nguyên của Adenovirus?
2. Adenovirus có thể gây các bệnh gì?
3. Các phương pháp chẩn đoán virus học các bệnh do Adeno virus gây ra?
4. Nguyên tắc phòng và điều trị bệnh do Adenovirus?

CÁC VIRUS GÂY UNG BƯỚU

(Oncogen viruses)

MỤC TIÊU

1. *Giải thích được vai trò của oncogen virus trong gây ung bướu.*
2. *Trình bày được các bằng chứng về virus gây ung bướu ở người và một số loại ung thư do virus.*

1. SƠ LƯỢC LỊCH SỬ NGHIÊN CỨU

Đến hiện nay ung thư vẫn là một bệnh nguy hiểm vì gây ra tỷ lệ tử vong khá cao và tỷ lệ bị bệnh mỗi ngày một tăng. Vì thế bệnh này rất được quan tâm nghiên cứu. Virus cũng là một trong những nguyên nhân gây khối u và ung thư.

Các virus gây khối u được quan tâm nghiên cứu như là tác nhân ung thư bởi hai lý do chính: *thực nghiệm virus gây u rất hiệu quả* và tái hiện nhiều lần dễ dàng hơn bất cứ tác nhân gây ung thư vật lý, hóa học nào khác. Ví dụ, nhiều virus có thể gây nên các khối u ở tất cả những động vật nhạy cảm trong 1-2 tuần và có thể gây chuyển dạng ác tính tế bào ở các nuôi cấy in vitro trong vài ngày. Nếu so sánh với tế bào người, các virus gây u chỉ có một số ít gen (chỉ 3, 4 hoặc 5 ở nhiều Retrovirus); do đó vai trò của các gen trong gây u *dễ dàng được phân tích và đánh giá.* Ngày nay, nhiều gen của virus gây u đã được xác định, trình tự các nucleotid, số lượng gen và chức năng của nó cũng đã được xác định.

Năm 1908, virus gây u lần đầu tiên được phát hiện bởi Ellerman và Bang. Họ đã chứng minh được rằng, bệnh bạch cầu ở gà có thể truyền cho gà khác bởi dịch lọc của các tế bào máu. Năm 1911, Rous cũng đã phát hiện ra rằng ung thư tổ chức liên kết của gà có thể truyền bằng cách tương tự. Sau đó các virus gây u đã được nhiều các tác giả nghiên cứu như những vấn đề hiện đại của sinh học.

Các virus gây u có thể bị bỏ qua dễ dàng bởi một số nguyên nhân sau đây:

- U gây ra bởi nhiều loại virus thường gặp mà người ta dễ coi nó như những virus vô hại.
- Tỷ lệ người bị nhiễm virus gây u nhiều, nhưng số người bị u lại rất ít.
- U không xuất hiện sau một thời gian dài nhiễm virus.

Bệnh ung thư do virus hình như không truyền nhiễm vì tỷ lệ ung thư rất thấp so với tỷ lệ nhiễm và hình như cách truyền qua đường bào thai và sữa mẹ không hiệu quả. Sau khi phát hiện ra các virus gây u chứa ADN càng làm cho việc nghiên cứu mạnh mẽ hơn. Các virus gây u chứa ADN được phát hiện: polyoma gây lơxemi cấp ở chuột, SV40 như là những virus đi qua trong các nuôi cấy tế bào thận khỉ Rhesus, các virus adeno gây ung thư động vật và các virus herpes gây ung thư người. Hơn nữa sau đó người ta đã khám phá ra rằng ở các vi khuẩn lysogen (vi khuẩn sinh ra dung giải) các vật liệu di truyền của phage là ADN đã tích hợp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn. Sự phát hiện này làm cơ sở cho việc nghiên cứu virus gây u thuận lợi hơn. Ngay sau đó, người ta cũng gây được chuyển dạng ác tính tế bào in vitro, càng làm cho việc nghiên cứu trên lĩnh vực này dễ dàng hơn.

2. CÁC ĐẶC ĐIỂM CỦA SỰ CHUYỂN DẠNG ÁC TÍNH TẾ BÀO

Khái niệm chuyển dạng ác tính được coi là sự thay đổi các thuộc tính: phát triển quá mức, hình dạng tế bào thay đổi (thường tròn lại), nhiễm sắc thể thay đổi, tăng tổng hợp ADN.

3. PROVIRUS VÀ ONCOGEN

Nguồn gốc của các gen chuyển dạng ác tính tế bào do: *provirus và oncogen*.

Provirus là những gen xâm nhập vào tế bào bị nhiễm virus gây u (ADN của virus gây u hay ADN trung gian virus tích hợp nhiễm sắc thể tế bào).

Oncogen là những gen chuyển dạng ác tính có trong mọi tế bào của cơ thể khởi nguồn từ trứng và tinh trùng. Những gen này có chức năng bình thường trong quá trình phát triển của phôi, nhưng biểu hiện chức năng không bình thường ở giai đoạn tế bào đã biệt hóa.

Các tác nhân gây ung thư như hóa chất, tia xạ và virus đã kích hoạt oncogen tế bào (*C.onc*) tổng hợp các protein. Chúng bắt đầu cho sự chuyển dạng.

Cả *provirus* và *C.onc* có thể đóng vai trò trong chuyển dạng tế bào. Bằng chứng cho các provirus là người ta đã tìm được các ADN tích hợp của virus bên trong tế bào bị nhiễm virus chuyển dạng ác tính, mà không có ở tế bào không bị nhiễm virus.

Bằng chứng đầu tiên cho oncogen tồn tại trong các tế bào bình thường dựa trên kết quả thí nghiệm là oncogen của Rous sarcoma virus (RSV) được dùng như ADN lai. ADN của tế bào bào thai gà bình thường đã lai với ADN trung gian của RSV chỉ ra rằng những tế bào này đã chứa gen giống như gen của RSV. Người ta giả thiết rằng các *C.onc* có thể là tiền oncogen virus. Mặc dù *C.onc* và oncogen virus là tương tự nhau, nhưng chúng không hoàn toàn giống nhau. Chúng khác nhau ở chuỗi base: *C.onc* có exon và intron còn oncogen virus thì không có. Hình như các Retrovirus thiếu oncogen này và đã nhận được khi nó tích hợp vào *C.onc*. Retrovirus được coi là các virus chuyển nạp, mang *C.onc* từ tế bào này sang tế bào khác.

Từ khi ghi nhận được phát hiện này, hơn 20 *C.onc* đã được xác định bởi ADN lai của RSV, hoặc bởi ADN lai của các virus khác. Nhiều tế bào có mang một số *C.onc* khác nhau, và cùng loại *C.onc* đã được tìm thấy ở nhiều loài động vật khác nhau như ở các loài gậm nhấm và người.

Chức năng oncogen virus đã được xác định là khá đa dạng. Một số mã hóa protein kinase nó phosphoryl riêng biệt cho acid amin tyrosin, khác với tế bào bình thường phosphoryl cho serin. Những oncogen khác có những chuỗi base gần giống gen mã hóa cho các yếu tố phát triển tế bào nhất định, như yếu tố phát triển mô. Một số protein được mã hóa bởi các oncogen có tác dụng tại màng tế bào, nhưng một số tác động vào nhân bởi sự gắn vào ADN. Những quan sát này gợi ý rằng sự giám sát quá trình phát triển bao gồm nhiều bước, mà các yếu tố gây u có thể làm giảm sự giám sát này bởi sự tác động ở một hoặc nhiều bước.

Không phải tất cả các Retrovirus chứa oncogen. Vậy các virus này đã gây ra sự chuyển dạng ác tính như thế nào? Hình như là ADN trung gian của virus tích hợp gần *C.onc* và đã kích thích *C.onc* biểu hiện chức năng. Sự biểu hiện quá mức của chức năng *C.onc* đóng vai trò chìa khóa cho sự chuyển dạng ác tính bởi các virus. Mặc dù *oncogen virus đã được chứng minh gây ra sự chuyển dạng ác tính*, nhưng những bằng chứng trực tiếp của *C.onc* gây ra sự chuyển dạng này chưa được biết đầy đủ. Sau đây là các bằng chứng của *C.onc* gây khối u:

- ADN trong *C.onc* tách biệt từ tế bào u nhất định có thể gây chuyển dạng tế bào bình thường in vitro.
- Khi phân tích *C.onc*, người ta thấy có sự thay đổi của một base so với *C.onc* tế bào bình thường, hay nói cách khác là có sự đột biến. Người ta cũng thấy sự đột biến này ở một số tế bào khối u.
- Khi chuyển dịch *C.onc* tới một vị trí mới trên nhiễm sắc thể khác, dẫn tới những thay đổi ác tính, do sự tăng biểu hiện chức năng của gen. Trong

các tế bào u lympho Burkitt, khi chuyển dịch *C.onc* (tên riêng là C.myc) từ một vị trí bình thường của nó ở nhiễm sắc thể số 8 tới một vị trí mới ở trên nhiễm sắc thể số 14, sẽ dẫn đến sự tăng cường biểu hiện của chức năng gen C.myc (xem phần Epstein-Barr virus).

- Trong tế bào u, khi số lượng *C.onc* nhiều hơn trên cùng nhiễm sắc thể hoặc ở những nhiễm sắc thể khác, sẽ dẫn tới sự tăng lên của mARN và protein do nó phiên dịch mã.
- Khi tích hợp ADN trung gian của Retrovirus (proviral DNA) gần *C.onc*, sẽ kích thích sự biểu hiện chức năng *C.onc*. Khi tăng các gen kích hoạt, sẽ làm tăng sự biểu hiện của *C.onc* và sự chuyển dạng ác tính sẽ xảy ra.
- Tách biệt các *C.onc* nhất định từ những tế bào bình thường chuyển vào tế bào nhận có thể gây ra sự chuyển dạng ác tính trong các tế bào này nếu *C.onc* tăng cường chức năng.

Như vậy, có hai cơ chế *C.onc* gây khối u là đột biến hoặc sự hoạt động quá mức của *C.onc* gây ra hoạt hóa "tiền oncogen" im lặng trở thành oncogen hoạt động và tạo ra sự chuyển dạng ác tính tế bào. Provirus có thể đóng vai trò kích hoạt hoặc chuyển nạp *C.onc.*

Các tác nhân gây u (vật lý, hóa học, virus, và cả vi khuẩn như *H.pylory*) có thể kích thích *C.onc* hoạt động quá mức. Trong các tế bào chuyển dạng ác tính, các *C.onc* hoạt động ở mức độ cao.

Cơ chế khác của tác nhân gây u liên quan đến *C.onc* là đột biến gen ức chế gây u. Ví dụ điển hình cho cơ chế này là gen ức chế u nguyên bào lưới. Bình thường gen này hoạt động ức chế u nguyên bào lưới. Khi hai alen của "antioncogen" này bị đột biến (làm cho không hoạt động) u nguyên bào lưới hình thành. Các virus SV40 và Papilloma của người tạo ra một protein, mà protein này gắn vào protein được mã hóa bởi gen ức chế u nguyên bào, gây ra sự bất hoạt, dẫn tới u nguyên bào xuất hiện. Hai virus này đã tham gia vào bệnh sinh ung thư vú, ung thư đại tràng và các loại ung thư sarcom khác.

4. SỰ LAN TRUYỀN CỦA CÁC VIRUS GÂY U

Trong động vật thí nghiệm, các virus gây u có thể lan truyền bằng hai quá trình: đó là sự truyền dọc và sự truyền ngang. Truyền dọc (vertical transmission) là virus truyền từ bố mẹ sang con cái, còn truyền ngang (hoziontal transmission) là virus truyền giữa các động vật với nhau. Truyền dọc sinh ra bởi 3 cách:

- Vật liệu di truyền của virus ở trong trứng và phôi, do vậy được truyền đến thế hệ sau.
- Virus truyền qua rau thai sang thai nhi.

– Virus truyền cho con qua đường sữa mẹ.

Khi sự truyền dọc xảy ra sớm với cuộc sống (thời bào thai), sẽ dẫn đến sự dung nạp miễn dịch với kháng nguyên virus và hệ thống miễn dịch không ghi nhận được những kháng nguyên này. Do vậy một số lượng lớn virus gây nhiễm và ung thư xảy ra với tần suất cao hơn. Ngược lại, khi xảy ra sự truyền ngang, miễn dịch đã được tạo thành và tần suất ung thư thấp hơn. Nếu miễn dịch của động vật không đầy đủ, tần suất của ung thư sẽ tăng lên đáng kể.

Truyền ngang có thể không xảy ra với loài người. Dù có sự tiếp xúc chặt chẽ với bệnh nhân ung thư, như trong gia đình hoặc trong bệnh viện, thì tần suất ung thư cũng không tăng lên. Mặc dù có những thông báo về những vụ dịch bệnh leuxemi ở những trẻ em trong cùng trường học, nhưng đây là những thông báo có tính chất ngẫu nhiên hơn là những bằng chứng khoa học đầy đủ.

5. CÁC BẰNG CHỨNG VỀ VIRUS GÂY U Ở NGƯỜI

Hiện nay chưa một virus nào được khẳng định chắc chắn là virus gây ung thư ở người vì không thể làm thực nghiệm virus gây ung thư trên người. Tuy nhiên một số virus có những bằng chứng về dịch tễ học, huyết thanh học hoặc phát hiện được genom hay kháng nguyên của chúng từ các tế bào ung thư người.

5.1. Virus gây bệnh bạch cầu lympho T (Leuxemi)

Đến hiện nay người ta đã phân lập được hai loại virus gây leuxemi tế bào lympho người (HTLV: human T lympho leukemia virus) là HTLV-1 và HTLV-2. Cả hai virus này đều liên quan đến bệnh bạch cầu (leuxemi) và u lympho bào (lymphoma). HTLV-1 phân lập được năm 1980 từ tế bào của bệnh nhân u lympho bào. Virus này được giải phóng khi các tế bào u tiếp xúc với iododeoxyuridin. ARN và protein của nó không giống với các Retrovirus khác. Ngoài ung thư, HTLV-1 còn gây ra liệt nhẹ chi dưới co cứng nhiệt đới (tropical spastic paraparesis).

HTLV-1 có thể gây ra ung thư bởi cơ chế khác với các Retrovirus khác. Nó không có oncogen. Gen *tat* của nó (transactivation of transcription) đã mã hóa cho một protein, mà protein này kích thích sự phiên dịch mã các gen tế bào, liên quan đến sự phân bào.

HTLV-1 không phải là virus nội sinh, nghĩa là ADN trung gian của nó không tìm thấy trong ADN tế bào bình thường. Nó là virus từ bên ngoài xâm nhập. ADN của provirus này chỉ được tìm thấy trong các tế bào u lympho T. Một số (chứ không phải tất cả) bệnh nhân bị u lympho T có kháng thể chống

lại virus, chỉ ra rằng không phải mọi u lympho bào T đều do HTLV-1 gây ra. Tỷ lệ kháng thể chống HTLV-1 không cao trong cộng đồng, nói lên rằng sự nhiễm virus này không phải là phổ biến.

Cũng đồng thời với việc tìm ra HTLV-1, một virus tương tự đã được phát hiện từ bệnh nhân u lympho bào T ở Nhật Bản. Sau đó một số bệnh nhân loại này đã được tìm thấy ở vùng nông thôn bờ biển phía Tây của Kyushu. Huyết thanh của các bệnh nhân leuxemi và của 25% những người bình thường ở Kyushu có phản ứng dương tính với các HTLV-1 và với các HTLV-1 phân lập được từ những người Nhật. Bằng phương pháp huyết thanh học, người ta đã xác định được vùng dịch tễ của HTLV-1 là châu Phi và Caribe. Tỷ lệ người có kháng thể dương tính với HTLV-1 ở Mỹ rất thấp, trừ một số bang ở phía Đông Nam.

HTLV-2 cũng là Retrovirus và phân lập được từ bệnh nhân leuxemi lympho T năm 1982. Nó tương tự như HTLV-1 về kháng nguyên và trọng lượng phân tử protein.

5.2. Virus Epstein-Barr (EBV)

EBV là một loại virus Herpes. Nó được phân lập từ bệnh nhân u lympho bào Burkitt. EBV gây tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng, gây chuyển dạng lympho bào in vitro, gây u lympho bào khỉ marnoset. EBV cũng liên quan với ung thư biểu bì hầu họng. Loại ung thư này thường gặp ở người Trung Quốc. EBV cũng gây ung thư biểu mô tuyến ức ở Mỹ nhưng người ta không tìm thấy các bằng chứng của EBV ở các tế bào u lympho Burkitt ở nước này.

ADN và kháng nguyên nhân của EBV đã được tìm thấy ở những tế bào u lympho Burkitt các bệnh nhân Đông Phi. Chỉ một đoạn ngắn ADN của EBV tích hợp, còn phần lớn ADN của virus này ở dạng vòng kín và tồn tại ở nguyên sinh chất tế bào.

Điều khó khăn để chứng minh rằng EBV gây ung thư ở người là ở vùng dịch tễ của virus này tỷ lệ nhiễm EBV rất cao, nhưng tỷ lệ bệnh ung thư lại rất thấp. Giả thuyết hiện nay là sự nhiễm EBV làm tăng sinh lympho B hoặc hoạt hóa oncogen tế bào (*C.myc* gen), làm cho hoạt động sinh tổng hợp của gen này tăng lên. Trong các tế bào u lymphoma Burkitt, oncogen tế bào, C.myc bình thường nằm ở nhiễm sắc thể số 8, khi chuyển dịch C.myc tới nhiễm sắc thể số 14, ở bên cạnh gen chuỗi nặng của globulin miễn dịch. Sự chuyển dịch này đưa *C.* myc tới cạnh vị trí hỗ trợ hoạt động và một số lượng lớn ARN của C.myc được tổng hợp.

5.3. Herpes simplex virus týp 2 (HSV-2)

HSV-2 được coi là virus có thể gây ung thư cho người dựa trên hai loại bằng chứng chính:

Về dịch tễ học: những phụ nữ nhiễm trùng tiết niệu HSV-2 có tỷ lệ ung thư biểu mô vùng cổ tử cung cao hơn lô không nhiễm HSV-2. Những phụ nữ bị bệnh này có tỷ lệ kháng thể chống HSV-2 cao hơn lô không nhiễm HSV-2.

Về sinh học phân tử: người ta đã tìm được ADN và protein của HSV-2 trong các tế bào ung thư biểu mô cổ tử cung. HSV-2 có thể gây chuyển dạng ác tính một số loại tế bào in vitro. Phần lớn các phát hiện này có thể được giải thích bằng giả thuyết là HSV-2 gây nhiễm trùng tiết niệu ẩn ở những bệnh nhân có hoạt động tình dục sớm lúc tuổi nhỏ. Các serotype nhất định của virus papilloma người cũng liên quan tới ung thư biểu mô vùng cổ tử cung.

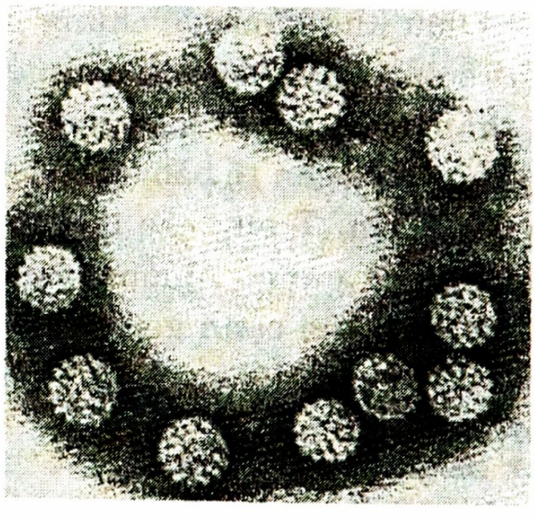
5.4. Virus viêm gan B (hepatitis B virus: HBV)

Ung thư biểu mô gan tiên phát (hepatoma) thường gặp nhiều ở những người nhiễm HBV hơn những người không nhiễm. Mối liên quan này rất rõ ở châu Phi và châu Á, nơi có tỷ lệ nhiễm HBV và ung thư gan tiên phát cao. HBV đã mở đường cho hepatoma, mặc dù một số bệnh nhân hepatoma không có bằng chứng của nhiễm HBV. Có thể tìm thấy ADN và kháng nguyên bề mặt của HBV ở các tế bào ung thư gan. Sự tích hợp ADN của HBV đã kích hoạt oncogen tế bào.

5.5. Virus papilloma người (human papilloma virus: HPV)

HPV được coi là virus chỉ gây ung thư người. U nhú lành tính nhưng có thể tiến triển thành ung thư biểu bì da, nhất là những người hệ thống miễn dịch bị tổn thương.

Papillomavirus là một thành viên của họ Papovavirus bao gồm Papilloma, Polyoma và Vacuolating (SV40) virus. Chúng có ADN hai sợi vòng, đối xứng hình khối. Papilloma virus lớn hơn về genom và đường kính so với hai nhóm kia. Ung thư cổ tử cung và biểu bì bởi HPV liên quan đến hai protein được mã hóa bởi gen HPV là E6 và E7. Những protein này đã ức chế hoạt động các protein được mã hóa bởi các gen ức chế



Hình 100. Papovavirus

ung thư là P53 và Rb (retinoplastoma), được tìm thấy trong các tế bào bình thường.

Có ít nhất 60 týp HPV khác nhau, nhiều týp gây ra các biểu hiện lâm sàng riêng biệt. HPV týp 16 và 18 được coi là gây ra ung thư cổ tử cung.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày về các bằng chứng virus gây khối u bướu ở người?
2. Vì sao một số virus có thể gây ra ung bướu?
3. Vì sao ở dạng provirus có thể kích thích gây ung bướu cho người?
4. Ung bướu là bệnh của virus?

VIRUS GÂY HỘI CHỨNG VIÊM ĐƯỜNG HÔ HẤP CẤP

(Virus gây SARS: Severe Acute Respiratory Syndrome= SARS-CoV.)

MỤC TIÊU

1. *Trình bày được tính chất nguy hiểm của SARS và cách phòng bệnh.*
2. *Trình bày được các đặc điểm của SARS-CoV, các phương pháp chẩn đoán virus học và nguyên tắc điều trị.*

Cuối năm 2002 và đầu năm 2003, ở nhiều nước trên thế giới đặc biệt là tỉnh Quảng Đông và Hồng Kông Trung Quốc xuất hiện một bệnh dịch mới cực kỳ nguy hiểm, gọi là SARS.

Tính đến ngày 28-05-2003 dịch này đã lan đến 28 nước và 8221 người bị bệnh, tử vong 735 người. SARS đã gây ảnh hưởng xấu tới nền kinh tế của các nước, đặc biệt là những nước có dịch. Việt Nam cũng là một trong những nước có dịch kéo dài từ 01-02-2003 đến 07-04-2003 với 63 người bị mắc bệnh và là nước đầu tiên dập được dịch SARS trên thế giới.

Đại dịch SARS đã được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) và chính phủ các nước quan tâm phòng chống và được đẩy lùi. Nhiều kết quả đã được công bố, nhưng chưa đầy đủ. Dưới đây là một số thông tin quan trọng.

1. VIRUS GÂY SARS (SARS-COV)

Qua nghiên cứu bằng các phương pháp virus học, như nuôi cấy, PCR và RT-PCR, huyết thanh học và miễn dịch tế bào, kính hiển vi điện tử, các kết quả thu được như sau:

- Nuôi cấy các bệnh phẩm viêm đường hô hấp trên và dưới của bệnh nhân SARS trên tế bào Vero E6, người ta thấy xuất hiện một loại virus gây huỷ hoại tế bào và quan sát bằng kính hiển vi điện tử đã ghi nhận được một loại virus giống với *Coronavirus*, có đường kính từ 80-120 nm, có gai nhú nhưng không có các glycoprotein loại haemagglutinin. Virus SARS chứa ARN.

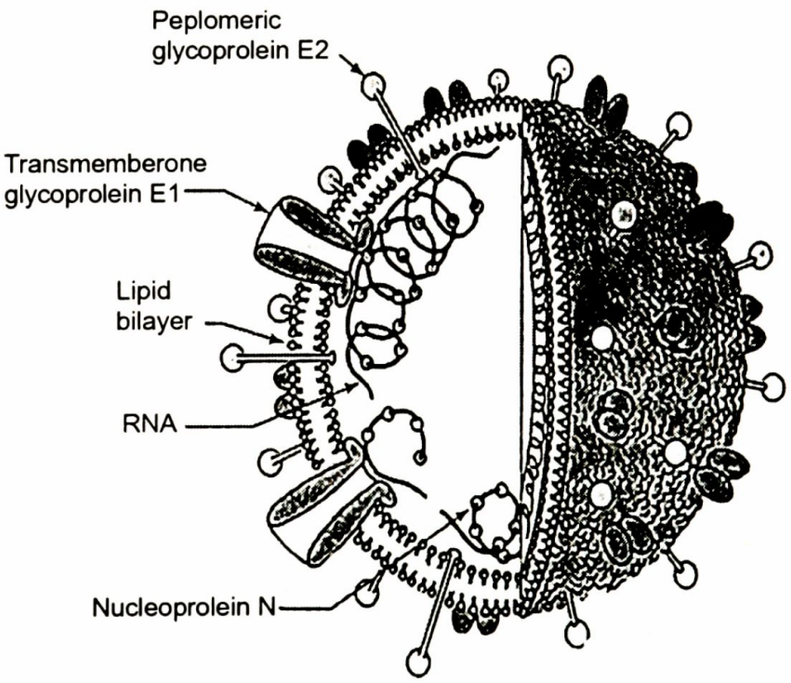
- Nghiên cứu đã thực hiện ở 19 bệnh nhân SARS ở Hồng Kông và Quảng Đông, Trung Quốc đều nhận thấy chuỗi nucleotid 1b polymerase của virus SARS (12/19 bệnh nhân), đều có 405 nucleotid hoàn toàn giống nhau và không thấy có nhiễm các virus khác.

Trong một nghiên cứu khác cũng trên gen chi phối tổng hợp polymerase của các virus SARS bằng RT-PCR, phân tích 300 nucleotid cho thấy, chúng hoàn toàn giống nhau. Virus này có nhiều đặc điểm của *Coronavirus* (có 40%-50% nucleotid gen của polymerase giống với *Coronavirus* khác) nhưng không giống hoàn toàn với một *Coronavirus* gây bệnh cho người và động vật nào đã biết.

- Bằng kỹ thuật giải trình tự gen, đã xác định được nó thuộc một *Coronavirus* mới và gọi là SARS-COV. SARS-COV là một loại *Coronavirus* riêng biệt so với ba nhóm *Coronavirus* đã biết. SARS-COV cũng được tìm thấy ở một số bệnh nhân Canada. SARS-COV càng được khẳng định là căn nguyên bệnh SARS khi nó được tìm thấy trong mô phổi, trong bệnh phẩm phế quản và trong đờm của bệnh nhân. ARN của SARS-COV cũng tìm thấy trong phân của bệnh nhân SARS bình phục và trong huyết thanh bệnh nhân SARS giai đoạn cấp tính.
- Bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch dùng kháng thể của một bệnh nhân SARS ở giai đoạn bình phục với các *Coronavirus* người và động vật thì phản ứng chỉ dương tính với SARS-CoV và âm tính với các *Coronavirus* khác.

Để tưởng niệm bác sĩ Carolo Urbani, chuyên gia của WHO, đã hy sinh vì nghiên cứu về bệnh SARS; một số nhà khoa học đã đề nghị đặt tên tác nhân gây bệnh là virus Corona gây hội chứng SARS Urbani (Urbani SARS-associated *Coronavirus*).

- Một số chuyên gia cho rằng, SARS-COV là một biến chủng của *Coronavirus* động vật và có độc lực cao. Tại Hồng Kông đã phân lập được *Coronavirus* ở cầy hương giống với SARS-COV.



Hình 101. Cấu trúc Cororonavirus người

E2: Gai nhú glycoprotein gắn vào màng tế bào và xâm nhập; E1: Envelope, protein qua màng

Tính biến dị nhanh của SARS-COV:

Việc định týp SARS-CoV đang được nghiên cứu, nhưng một số nhà khoa học ở Hồng Kông cho rằng gây bệnh SARS có thể do hai loại virus SARS khác nhau. Vì họ đã tìm được một SARS-CoV có trình tự gen khác. Vấn đề đặt ra là hai loại virus này liên quan như thế nào về di truyền, kháng nguyên và độc lực? Điều này quan trọng cho các kit chẩn đoán và vacxin phòng bệnh. Các nhà khoa học ở Hồng Kông cho rằng SARS-CoV biến dị kể cả hình dạng để né tránh hệ thống miễn dịch của cơ thể. Vấn đề này được sự đồng tình của một chuyên gia về *Coronavirus*, ông David Brian. Nhưng một số chuyên gia của WHO lại không coi trọng sự biến dị này, vì họ cho rằng đây là đặc điểm cố hữu của *Coronavirus*. Tuy vậy, nếu SARS-CoV biến dị nhanh thì gây khá nhiều khó khăn cho chẩn đoán (virus và lâm sàng), cho vacxin và cho sự đề kháng của cơ thể. Câu hỏi quan trọng là sự biến dị ấy xảy ra ở gen nào và nó chi phối như thế nào với tính trạng của virus.

Khả năng tồn tại của SARS-COV:

- Tồn tại được nhiều giờ ở bên ngoài cơ thể (mặt bàn, mặt thuỷ tinh, nhựa, tay vịn).
- Sống được 4 ngày trong phân, sống được 3 tuần lễ ở 0°C.
- Bị tiêu diệt bởi các hoạt chất ức chế có clo trong 5 phút.

2. TỔN THƯƠNG BỆNH LÝ CỦA ĐƯỜNG HÔ HẤP

Đến hiện nay cơ chế bệnh sinh của SARS vẫn chưa rõ, một số tổn thương đã được quan sát trên bệnh nhân và tử thi:

- Tổn thương viêm lan toả, thâm nhiễm đơn nhân phổi kẽ.
- Có xuất huyết ở trung tâm ổ viêm.
- Có các mảnh vỡ hoại tử đường hô hấp.
- Các tổn thương đường hô hấp có thể do SARS-CoV, nhưng cũng có thể do cytokin hoặc cả hai?

3. CHẨN ĐOÁN VIRUS HỌC

Dấu hiệu lâm sàng và X quang của bệnh nhân SARS là viêm đường hô hấp dưới, thường là nặng. Chẩn đoán virus có hai phương pháp lớn:

3.1. Phát hiện virus bằng nuôi cấy phân lập và/hoặc PCR

- Phân lập virus bằng tế bào Vero. SARS-CoV gây thoái hóa tế bào. Sau đó xác định bằng kính hiển vi điện tử hoặc PCR. Bệnh phẩm đường hô hấp hoặc đờm. Nếu kết quả âm tính chưa thể loại trừ SARS.

– Phản ứng chuỗi trùng hợp polymerase (PCR). Bệnh phẩm lấy từ đường hô hấp, tạng tổn thương và dụng cụ. Kết quả âm tính không loại trừ được SARS.

3.2. Phát hiện kháng thể bằng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (IFA) hoặc ELISA

Bệnh phẩm là huyết thanh. Có thể phát hiện IgM vào ngày thứ 10 hoặc IgG vào ngày 21 của bệnh. Có thể sử dụng phản ứng trung hoà virus, nhưng nguy hiểm hơn vì dùng trực tiếp virus.

4. ĐIỀU TRỊ: phác đồ điều trị bao gồm 3 hướng:

– Chống virus bằng biravirin. Nó tương tự như nucleosite purin phổ rộng, có tác dụng chống các virus ARN. Có thể dùng amatadin thay biravidin.

– Hạn chế tác dụng của cytokin bằng steroid (hydrocortison, methylprednisolon).

– Chống nhiễm khuẩn bằng kháng sinh phổ rộng, như levofloxacin hoặc macrolid, vì có thể kéo theo một bội nhiễm vi khuẩn.

5. PHÒNG BỆNH

Vì chưa có được vacxin, nên biện pháp phòng bệnh cơ bản là bao vây và dập tắt ổ dịch (nguồn lây). Đảm bảo vệ sinh môi trường. SARS có thể lây theo đường hô hấp, qua cả các dụng cụ và phân.

Những vấn đề tồn tại liên quan đến phòng bệnh SARS:

– Những người nhiễm SARS-CoV: virus này tồn tại trong bệnh nhân bao nhiêu lâu, ở đâu và lây lan theo những cách nào? Có hình thái nhiễm thể ẩn và người mang (carrier) không?

– Sự biến dị của SARS-CoV ở mức độ nào của genom và ảnh hưởng đến kháng nguyên, bệnh sinh, đề kháng của cơ thể và các kit chẩn đoán như thế nào?

– Ngoài cầy hương, SARS-CoV có tồn tại ở loài động vật nào khác hay không?

– Cơ chế bệnh sinh và miễn dịch của SARS ?

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Vì sao người ta gọi virus gây SARS là SARS - COV, nguồn gốc SARS-COV?
2. Vì sao khi bắt đầu xảy ra dịch SARS đã gây ra tỷ lệ mắc và tử vong khá cao?
3. Các phương pháp chẩn đoán SARS?
4. Cách phòng bệnh SARS và các nguyên tắc điều trị?

HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV)

MỤC TIÊU

1. *Mô tả các đặc điểm sinh học cơ bản của HPV.*
2. *Trình bày khả năng gây bệnh và cơ chế gây ung thư cổ tử cung của HPV.*
3. *Trình bày các phương pháp xét nghiệm HPV.*

HPV thuộc họ Papovaviridae. Họ này bao gồm hai tộc là papiplomavirus và polyomavirus.

Polyomavirus bao gồm các virus BK, JC (lưu hành ở người) và Simian virus (SV 40, lưu hành ở khỉ). Polyomavirus thường gây nhiễm trùng không triệu chứng và kết hợp với một số bệnh thận.

Papovavirus có thể gây nhiễm và phá vỡ tế bào, nhiễm trùng mạn tính, thể ẩn, thể duy trì và cũng có thể gây chuyển dạng tế bào. Các hình thái nhiễm virus này phụ thuộc vào tế bào cơ thể bị nhiễm.

Papillomavirus là những virus hiện nay rất được quan tâm, vì nó được coi là đóng vai trò quan trọng trong *gây ung thư cổ tử cung*.

1. SIÊU CẤU TRÚC VÀ NHÂN LÊN CỦA HPV

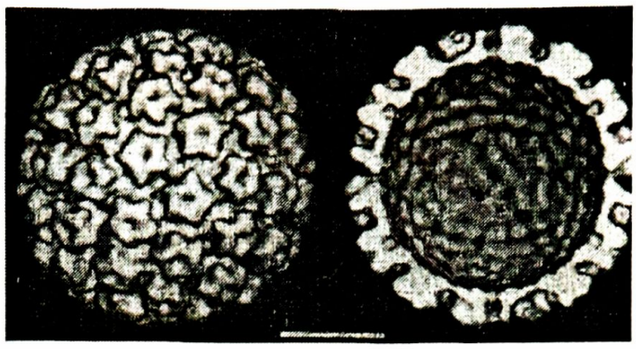
Virus có ADN hai sợi vòng, không có envelop, có đối xứng hình khối, đường kính: 50-55nm.

Do HPV rất khó nuôi cấy, vì vậy phân loại chúng chủ yếu trên phân tích ADN virus. HPV có ít nhất 140 typ và được chia thành 16 nhóm (ký hiệu từ A-P). HPV còn được phân loại chi tiết hơn dựa trên sự nhạy cảm của chúng với tế bào niêm mạc hoặc da. Đây cũng là vị trí HPV gây nhiễm và tạo nên tổn thương là những mụn cơm hoặc mụn cóc. Các HPV cùng nhóm gây tổn thương giống nhau.

Capsid HPV có đối xứng hình khối được tạo thành bởi hai protein cấu trúc và tạo nên 72 capsomer.

Genom của HPV là ADN vòng bao gồm khoảng 8000 bp. Genom này chứa khoảng 7 - 8 gen sớm (từ E1-E8), phụ thuộc vào virus, và chứa hai gen muộn (L1-L2) là những gen cấu trúc. Các gen này quyết định sự phiên mã và dịch mã trong quá trình nhân lên của virus. Các gen này đều nằm trên sợi ADN bổ sung.

Gen của HPV có thể tồn tại ở dạng plasmid tự do hoặc tích hợp vào ADN tế bào lớp đáy và tái hoạt động khi có điều kiện.



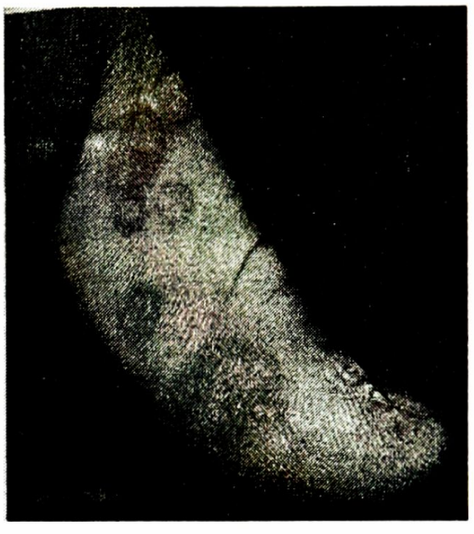
Mô hình siêu cấu trúc của HPV

Sự nhân lên của HPV phụ thuộc vào cơ chế phiên mã của tế bào biểu mô da hoặc niêm mạc

HPV bám vào bề mặt của tế bào biểu mô qua các receptor chưa được xác định, HPV phiên mã ở trong nhân của tế bào nhờ transcriptase. Gen sớm bắt đầu cho sự tổng hợp ADN của HPV phiên mã và chuyển thể, Gen muộn phiên mã cho các protein cấu trúc. Chỉ có các gen sớm gây chuyển thể tế bào và tạo nên kháng nguyên K.

2. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

HPV có thể gây ra các tổn mụn cóc và mụn cơm (wart) trên da và trên đường sinh dục.



Hình ảnh mụn cóc do HPV gây ra

HPV gây nhiễm theo đường niệu dục có thể gây tổn thương thanh quản trẻ em (nhiễm trùng theo đường sinh đẻ)

Các typ HPV 16, 18 thường đóng vai trò quan trọng trong ung thư cổ tử cung, dương vật, âm đạo.

Polyoma có thể gây nhiễm trùng đường hô hấp trên ở mức độ trung bình ở những bệnh nhân đã bị suy giảm miễn dịch

- PAPOVAVIRUS có vai trò quan trọng trong các loại ung thư sau đây:

  50% ung thư cổ tử cung- âm đạo,

  85% ung thư hậu môn,

  20% ung thư hầu họng,

  10% ung thư thanh quản và đường thở

- HPV có 40 týp gây bệnh cho đường sinh dục, trong đó có 15 týp gây khối u (oncogen) trong đó có các týp 6, 11, 16 và 18.

HPV chịu trách nhiệm 99,7 % ung thư cổ tử cung, trong đó HPV 16 và 18 chiếm 70%.

HPV týp 6 và 11 kết hợp với những tổn thương không bình thường và 9% những tổn thương ngoài đường sinh dục.

3. BỆNH SINH

- HPV gây nhiễm tế bào da hoặc niêm mạc và nhân lên gây ra tổn thương (mụn cóc hay mụn cơm) sau thời kỳ nung bệnh khoảng từ 1 đến 2 tháng. Các tiến triển của tổn thương qua nhiều tháng (3-4 tháng) và không lây nhiễm vào lớp tế bào sâu hơn. ADN của virus có thể tồn tại bên trong tế bào niêm mạc và có thể tái hoạt động. Trong những khối u lành và ác tính đường sinh dục, genom của HPV vẫn tồn tại bên trong tế bào và liên quan đến các yếu tố tương tác. HPV týp16 và týp 18 gây papilloma cổ tử cung, loạn sản và ung thư cổ tử cung, ít nhất có 85% ADN của HPV tích hợp vào gen tế bào.

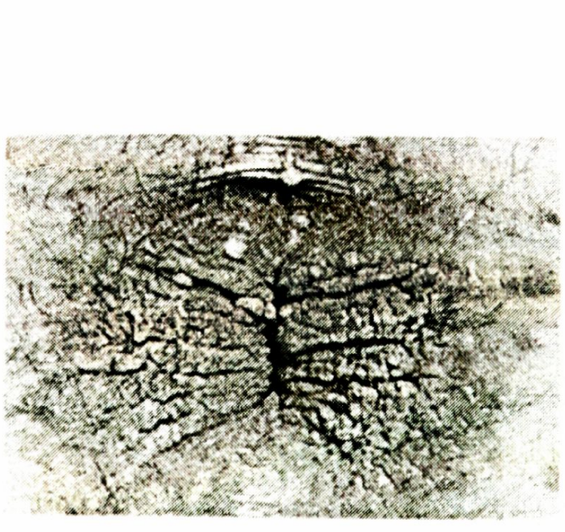
Ngoài dạng tích hợp, ADN HPV còn tồn tại dạng plasmid, nhưng dạng tích hợp nhiều hơn là dạng plasmid. Sự tích hợp này gây ra bất hoạt của các gen E1 và E2 và do vậy sự sao mã là giới hạn trong các gen E6 và E7. E6 và E7 là các *oncogen*, chúng tạo nên các protein gắn và bất hoạt protein p53 (E6) và p105RB (E7). Nếu các liên kết này không bị phá vỡ, nhiễm sắc thể dễ dàng đột biến và dưới sự tác động của một số yếu tố khác, tế bào sẽ dễ dàng chuyển thành ác tính.

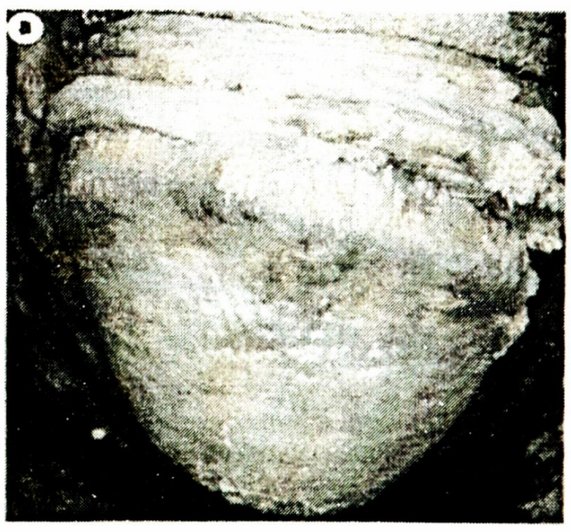
Cơ chế mà do đó dẫn đến sự khởi bệnh do papillomavirus hiện nay chưa rõ, nhưng người ta thấy rằng ở những người bị đàn áp miễn dịch, bệnh do papillomavius bị nặng hơn những người khác.

- Polyomavirus phát tán từ đường hô hấp trên, định vị ở trong các niêm mạc và có thể lây nhiễm theo đường niệu dục.

Đáp ứng miễn dịch khi mhiễm HPV: kháng thể được tạo ra nhưng ít vai trò bảo vệ mà miễn dịch qua trung gian tế bào mới đóng vai trò quyết định làm cho bệnh nhân có thể hồi phục, cơ chế bảo vệ này dẫn đến tình trạng kiểm soát nhiễm trùng HPV.

A





B

Hình ảnh tổn thương sinh dục(A: Nữ, B:Nam) do HPV gây ra

ADN của HPV tồn tại bên trong các tế bào đáy của da hoặc niêm mạc bị nhiễm, dưới dạng tích hợp hoặc plasmid, khi bị nhiễm HPV thể ẩn, hoặc duy

trì và nó sẽ tái nhân lên, biệt hóa và giải phóng các hạt virus lây nhiễm. Ở những bệnh nhân bị đàn áp miễn dịch (như sau ghép cơ quan...) các virus tái hoạt động và gây tổn thương tiếp tục.

4. ĐƯỜNG LÂY TRUYỀN

HPV có thể lây truyền trực tiếp qua đường da, đường tình dục thông qua các vết xước. Đường tình dục có thể là đường khác giới hoặc đồng giới và vì thế có thể lây trực tiếp từ đường sinh dục tới miệng hoặc hậu môn.

Polyomavirus từ đường hô hấp trên có thể lây nhiễm qua các giọt nước bọt và có thể cả nước tiểu. Những người bị suy giảm miễn dịch (hoặc bị đàn áp miễn dịch) có nguy cơ bị bệnh cao với các virus BK và JC.

Papovavirus khá vững bền và nó có thể tồn tại một thời gian ở môi trường bên ngoài, như: khăn mặt, máy tính, vịn cửa và gây ra lây nhiễm.

5. XÁC ĐỊNH HPV TRONG PHÒNG THÍ NGHIỆM

Phương pháp huyết thanh học thường không thể xác định một cách đầy đủ. Có thể sử dụng những phương pháp khác như kính hiển vi điện tử hoặc kỹ thuật gen, đặc biệt là PCR và lai tại chỗ rất có giá trị.

Loại xét nghiệm	Xác định
– Tế bào học	– Hình dạng tế bào bị tổn thương (Koilocytotic cells)
– PCR	– AND của virus
– Miễn dịch huỳnh quang hoặc peroxidase	– Kháng nguyên virus
– Kính hiển vi điện tử	– Virus
– Nuôi cấy	– Không có ý nghĩa

6. TỶ LỆ NHIỄM HPV

Nhiễm nhiễm HPV qua đường tình dục là rất phổ biến, do quan hệ tình dục có tới 70% phụ nữ bị nhiễm (có tài liệu công bố tỷ lệ này là 10-20%) chủ yếu ở những người trẻ.

HPV thường gây nhiễm trong một thời gian ngắn, nhưng tồn tại thể nhiễm HPV duy trì. Sự tồn tại của các týp oncogen là yếu tố quan trong kích hoạt tiền ung thư và ung thư.

Yếu tố nguy cơ cao lây nhiễm HPV là tiếp xúc trực tiếp theo đường tình dục, đường miệng, đường da. Bao cao su làm giảm tỷ lệ nhiễm HPV, nhưng không hoàn toàn ngăn chặn được lây nhiễm virus này.

Việt Nam chưa có số liệu đầy đủ nhưng theo nghiên cứu của PGS Lê Văn Phủng với số lượng mẫu chưa nhiều thì tỷ lệ nhiễm HPV ở phụ nữ đến khám bệnh lây nhiễm qua đường tình dục khoảng 17%. Theo số liệu của GS. Nguyễn Bá Đức Bệnh viện K Hà Nội, tỷ lệ nhiễm của phụ nữ ở cộng đồng Hà Nội là gần 1% và TP Hồ Chí Minh là 9%.

Tỷ lệ nhiễm HPV ở Úc:

Từ những tổn thương tiền ung thư CIN1, CIN2, CIN 3 (CIN: cervical intraepithelial neoplasia, loạn sản niêm mạc cổ tử cung, CIN1 loạn sản nhẹ, CIN2, CIN3 loạn sản vừa và nặng) đã xác định được:

- HPVtýp16 chiếm 29% ở CIN 1 , 39% ở CIN 2 và 27% ở CIN 3 .
- HPVtýp 18 chiếm 5% CIN1, 15% CIN2 và %5 CIN3.

Với ung thư cổ tử cung, nghiên cứu được tiến hành ở 186 phụ nữ và xác định được HPV là 91,9%, trong đó 54% của những trường hợp này là HPV týp 16 và 17% là HPV týp 18.

Ung thư cổ tử cung trên toàn cầu mỗi năm có 50.000 trường hợp bị bệnh mới và 274 000 người chết do ung thư này. Việt Nam năm 2000 phát hiện trên 5.600 người bị ung thư cổ tử cung mới, trong đó có 2.500 người chết.

7. ĐIỀU TRỊ VÀ PHÒNG BỆNH

Chưa có thuốc điều trị hiệu quả cao , tổn thương trên da có thể điều trị bằng nitrogen lạnh, những tổn thương cổ tử cung có thể điều trị bằng tia laser.

Hiện nay ở nhiều nước Âu-Mỹ đã lưu hành vacxin phòng bệnh của hãng Gardasil là vacxin công nghệ sinh học, hỗn hợp capsid của các týp HPV 6, 11, 16 và 18. Có tác dụng bảo vệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Bài giảng Vi sinh y học. Bộ môn Vi sinh y học, trường Đại học Y Hà Nội. 1991. Nhà xuất bản Y học,
2. Vi sinh vật học. Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty. 1997. Nhà xuất bản Giáo dục.
3. Vi sinh y học. Bộ môn Vi sinh y học, trường Đại học Y Hà Nội. 2001. Nhà xuất bản Y học.
4. Vi sinh y học. (Tái bản). Bộ môn Vi sinh y học, trường Đại học Y Hà Nội. 2003. Nhà xuất bản Y học.
5. Vi sinh y học. Bộ môn Vi sinh y học, trường Đại học Y Hà Nội. 2003. Trường Đại học Y Hà Nội.

TIẾNG ANH

1. Medical Microbiology. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, George S. Kobayashi, Michael A. Pfaller. Third Edition. 1998. Mosby.
2. Medical Mirobiology & Immunology, Examination & Board Review. Second edition. 1992. Appletion & lange.
3. Medical Microbiology. Mims, Playfair, Roitt, Wakelin, Williams. 1993. Mosby.
4. Microorganisms in our World. Ronald M. Atlas.1995. Mosby.

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

VI SINH VẬT Y HỌC

Chịu trách nhiệm xuất bản

HOÀNG TRỌNG QUANG

Biên tập:	BS. VŨ THỊ BÌNH
Sửa bản in:	BS. VŨ THỊ BÌNH
Trình bày bìa:	CHU HÙNG
Kỹ thuật vi tính:	BÙI THỊ THƯƠNG

In 1000 cuốn, khổ 19 x 27cm tại Xưởng in Nhà xuất bản Y học.

Số đăng ký kế hoạch xuất bản: 22 - 2007/CXB/105 - 151/YH

In xong và nộp lưu chiểu quý I năm 2007.


GT.0000004435

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

Địa chỉ: 352 Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội

Tel: 04.7625922 - 7625934 - 7.627819 - Fax: 04.7625923

E-mail: Xuatbanyhoc@fpt.vn

Website: www.cimsi.org.vn/nhaxuatbanyhoc

GIÁ: 72.000Đ

ĐẠI
TR

