

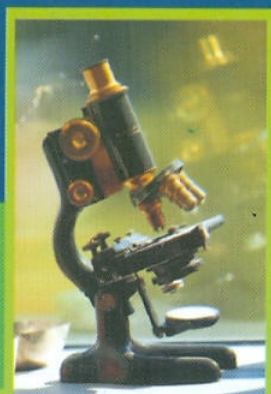
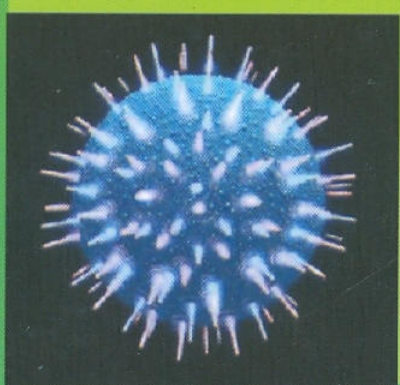
YH2.68

BỘ Y TẾ

VI SINH VẬT

(DÙNG CHO ĐỐI TƯỢNG KỸ THUẬT VIÊN CAO ĐẲNG XÉT NGHIỆM)

Chủ biên: ThS. ĐOÀN THỊ NGUYỄN



**THƯ VIỆN
HUBT**

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC VIỆT NAM
TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

BỘ Y TẾ

VI SINH VẬT

(DÙNG CHO ĐỐI TƯỢNG KỸ THUẬT VIÊN CAO ĐẲNG XÉT NGHIỆM)

MÃ SỐ: CK.01.Z.11/Z.12/Z.13

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC VIỆT NAM



HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chỉ đạo biên soạn:

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

Chủ biên:

ThS. ĐOÀN THỊ NGUYỄN

Những người biên soạn:

ThS. ĐOÀN THỊ NGUYỄN

TRẦN QUANG CẢNH

Tham gia tổ chức bản thảo:

ThS. PHÍ VĂN THÂM

TS. NGUYỄN MẠNH PHA

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

899 – 2009/CXB/3 – 1658/GD



**THƯ VIỆN
HUYT**

Mã số : 7K824Y9 – DAI

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

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 *Kỹ thuật viên cao đẳng xét nghiệm*. Bộ Y tế tổ chức biên soạn tài liệu dạy – học các môn cơ sở và chuyên môn theo chương trình trên nhằm từng bước xây dựng bộ sách đạt chuẩn chuyên môn trong công tác đào tạo nhân lực y tế.

Cuốn sách VI SINH VẬT được biên soạn dựa vào 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 có kinh nghiệm của Bộ môn Vi sinh vật Trường đại học Kỹ thuật y tế 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.

Cuốn sách VI SINH VẬT đã được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy – học chuyên ngành *Kỹ thuật viên cao đẳng xét nghiệm* của Bộ Y tế thẩm định năm 2009. Bộ Y tế quyết định ban hành là tài liệu dạy – học đạt chuẩn chuyên môn của ngành trong giai đoạn hiện nay. Trong thời gian từ 3 đến 5 năm, sách phải được chỉnh lý, bổ sung và cập nhật.

Bộ Y tế chân thành cảm ơn các tác giả và Hội đồng chuyên môn thẩm định đã giúp hoàn thành cuốn sách; cảm ơn GS.TSKH. Nguyễn Văn Dịp, GS.TS. Đinh Hữu Dung đã đọc và phản biện để cuốn sách sớm hoàn thành, 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 sách được hoàn thiện hơn.

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ



**THƯ VIỆN
HUBT**

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

MỤC LỤC

Lời giới thiệu	3
Phần I. ĐẠI CƯƠNG VI SINH VẬT	7
Lịch sử phát triển, vai trò của vi sinh vật y học	7
Hình thái và cấu trúc của vi khuẩn	16
Sinh lý của vi khuẩn	23
Di truyền vi khuẩn	30
Thuốc kháng sinh đối với vi khuẩn	37
Đại cương virus	44
<i>Bacteriophage</i>	53
Kháng nguyên – kháng thể	58
Các phản ứng miễn dịch dùng trong chẩn đoán vi sinh vật	67
Vaccin và huyết thanh miễn dịch	76
Vi sinh vật trong thiên nhiên và ảnh hưởng của các nhân tố ngoại cảnh đối với vi sinh vật	83
Nhiễm trùng và truyền nhiễm	91
Nhiễm trùng bệnh viện	98
Các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật bệnh nhiễm khuẩn	103
Các phương pháp chẩn đoán virus	108
Các tính chất sinh vật hoá học	112
Phần II. CÁC VI KHUẨN GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP	120
Các cầu khuẩn gây bệnh	120
Tụ cầu (<i>Staphylococcus</i>)	120
Tụ cầu vàng (<i>Staphylococcus aureus</i>)	121
Liên cầu khuẩn (<i>Streptococcus</i>)	128
Phế cầu khuẩn (<i>Streptococcus pneumoniae</i>)	136
Các <i>Neisseria</i>	142
Não mô cầu (<i>Neisseria meningitidis</i>)	142
Cầu khuẩn lậu (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)	147
Vi khuẩn <i>Haemophilus Influenzae</i>	152
Họ vi khuẩn đường ruột (<i>Enterobacteriaceae</i>)	158
Trực khuẩn thương hàn (<i>Salmonella</i>)	159
Trực khuẩn lỵ (<i>Shigella</i>)	166
Trực khuẩn <i>Escherichia coli</i>	172
Trực khuẩn <i>Proteus</i>	177
Trực khuẩn <i>Klebsiella</i>	182
Vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i>	187

Vi khuẩn <i>Campylobacter</i>	192
Phẩy khuẩn tả (<i>Vibrio cholerae</i>)	196
Trực khuẩn <i>Pseudomonas Pseudomallei</i>	203
Trực khuẩn mủ xanh (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	207
Trực khuẩn dịch hạch (<i>Yersinia pestis</i>)	213
Trực khuẩn bạch hầu (<i>Coryne bacterium Diptheriae</i>)	220
Trực khuẩn ho gà (<i>Bordetella pertussis</i>)	227
Trực khuẩn than (<i>Bacillus anthracis</i>)	231
Trực khuẩn lao (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>)	237
Trực khuẩn phong (<i>Mycobacterium leprae</i>)	244
Xcắn khuẩn giang mai (<i>Treponema pallidum</i>)	249
Xoắn khuẩn <i>Leptospira</i>	255
Phần III. CÁC VIRUS GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP	261
Virus cúm, virus sởi và virus quai bị	261
Virus cúm (<i>Influenza virus</i>)	261
Virus sởi (<i>Measle virus</i>)	265
Virus quai bị (<i>Mump Virus</i>)	268
Virus viêm não Nhật Bản	273
(Japanese Encephalitis Virus)	273
Virus Dengue xuất huyết	277
Virus dại (<i>Rabies virus</i>)	282
Virus bại liệt (<i>Poliovirus</i>)	286
Rotavirus	290
Các virus gây viêm gan (<i>Hepatitis viruses</i>)	293
Virus gây viêm gan A (<i>HAV</i>)	293
Virus gây viêm gan B (<i>HBV</i>)	295
Virus gây viêm gan C (<i>HCV</i>)	299
Virus gây viêm gan D và virus gây viêm gan E	300
Adenovirus	303
Virus thủy đậu (<i>Varicella zoster</i>)	307
Virus gây hội chứng suy giảm miễn dịch ở người	311
(HIV: Human Immuno deficiency virus)	311
Tài liệu tham khảo	327

ĐẠI CƯƠNG VI SINH VẬT

LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN, VAI TRÒ CỦA VI SINH VẬT Y HỌC (2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Nêu được vai trò của vi sinh vật đối với đời sống con người.
2. Trình bày đủ vai trò của Ngành Vi sinh vật học.

1. Đối tượng nghiên cứu

Vi sinh vật học (microbiology) là một môn khoa học nghiên cứu về sự sống của vi sinh vật (Từ tiếng Hy Lạp: *mikros* là nhỏ bé, *bios* là sự sống, *logos* là khoa học). Như vậy, vi sinh vật bao gồm cả vi khuẩn, động vật nguyên sinh và vi nấm. Nhưng động vật nguyên sinh và vi nấm là những tế bào có màng nhân (*Eukaryote*) và được xếp vào môn học Ký sinh trùng.

Vi khuẩn là những đơn bào không có màng nhân (*Procaryote*), vi khuẩn có đầy đủ tính chất của một sinh vật. Vi khuẩn quan sát được ở kính hiển vi quang học.

Virus là hình thái vật chất sống đặc biệt không có cấu trúc tế bào, kích thước rất nhỏ, phải quan sát ở kính hiển vi điện tử mới nhìn thấy được. Genom chỉ có một trong hai loại acid nucleic, hoặc là ADN, hoặc là ARN. Ký sinh bắt buộc trong tế bào cảm thụ và không có đầy đủ enzym chuyển hoá, hô hấp tế bào.

Rickettsia, *chlamydia*, *mycoplasma* trước đây được xem là những vi sinh vật trung gian giữa vi khuẩn và *virus*. Kích thước nhỏ hơn vi khuẩn nhưng ký sinh bắt buộc vào tế bào cảm thụ. *Rickettsia* có nhiều tính chất giống vi khuẩn: có cấu trúc tế bào, hai loại acid nucleic nhưng thiếu một số men hô hấp năng lượng). *Chlamydia* có những đặc điểm giống *Rickettsia* nhưng nhỏ hơn, khoảng 450nm. *Mycoplasma* giống *Rickettsia* nhưng không có vách nên cũng phải ký sinh bắt buộc vào nội bào. Tuy nhiên, hiện nay được xếp vào nhóm vi khuẩn do chúng có đầy đủ enzym chuyển hoá và hô hấp tế bào.

Vi sinh y học là môn học chuyên nghiên cứu về các vi sinh vật ảnh hưởng tới sức khỏe con người, kể cả có lợi và có hại. Bao gồm các học phần về Đại cương, Vi khuẩn, *Virus*, Miễn dịch...

2. Sơ lược lịch sử phát triển của Ngành Vi sinh vật

Antoni van Loeuwenhoek (1632–1723) người Hà Lan đã phát minh ra kính hiển vi vào năm 1676. Khi đó, ông quan sát trong phân và nước có những sinh vật rất nhỏ. Việc tìm ra kính hiển vi là sự kiện quan trọng cho những nghiên cứu về vi khuẩn. Loeuwenhoek đã tìm ra cầu khuẩn, trực khuẩn và xoắn khuẩn.

Sau Loeuwenhoek, nhiều nhà khoa học đã tiếp tục nghiên cứu để có các loại kính hiển vi quang học hoàn thiện hơn. Ngày nay chúng ta đã có kính hiển vi điện tử có độ phóng đại lớn nhất.

Louis Pasteur (1822–1895), nhà Bác học người Pháp, ông có nhiều công lao đối với Ngành Vi sinh vật và được coi là người sáng lập Ngành Vi sinh vật và miễn dịch học. Đến thế kỷ XVII, có người vẫn cho rằng các sinh vật xuất hiện trên trái đất đều là tự sinh. Chính Pasteur là người đã đấu tranh chống lại thuyết này. Sau khi có kính hiển vi người ta nghiên cứu lấy một ít nước chiết xuất từ động vật hoặc thực vật để vào nơi ấm, sau một thời gian ngắn thấy xuất hiện nhiều vi sinh vật và cho rằng vi sinh vật đã tự sinh. Pasteur đã tiệt khuẩn nước chiết xuất và giữ rất lâu cũng không có vi sinh vật xuất hiện.

Sau đó, ông đã có nhiều nghiên cứu góp cho Ngành Vi sinh vật y học như:

- Năm 1854–1864: chứng minh nhiều quá trình lên men là do vi sinh vật gây ra.
- Năm 1863: chứng minh vi khuẩn là nguồn gốc của bệnh than.
- Năm 1877: phát hiện phẩy khuẩn tả gây bệnh.
- Năm 1880: phát hiện tụ cầu gây bệnh.
- Năm 1881, ông đã tìm ra vaccin phòng bệnh than.
- Năm 1885, ông đã thành công trong việc sản xuất vaccin phòng bệnh chó dại, mặc dù lúc đầu con người chưa phát hiện được virus. Ông đã chứng minh bệnh dại lây truyền qua vết cắn của chó dại và trong nước bọt chó dại có chứa mầm bệnh. Vì những đóng góp xuất sắc, L. Pasteur đã được xếp vào danh sách những nhà khoa học vĩ đại của loài người.

Robert Koch (1843–1910) người Đức, một bác sĩ thú y đã có nhiều đóng góp lớn và được coi là một trong những người sáng lập ra Ngành Vi sinh y học. Những nghiên cứu của ông là:

- Năm 1876 tìm ra vi khuẩn than (*Bacillus anthracis*).
- Năm 1878 phát hiện ra những vi khuẩn gây nhiễm khuẩn vết thương.
- Năm 1882, phân lập được vi khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*).

- Năm 1884, phân lập được vi khuẩn tả (*Vibrio cholerae*).
- Năm 1890, tìm ra cách sử dụng phản ứng tuberculin và hiện tượng dị ứng lao.

A.J.E. Yersin (1863–1943) người Thụy Sĩ, học trò xuất sắc của L.Pasteur. Đóng góp lớn nhất của ông với Ngành Vi sinh vật là tìm ra trực khuẩn dịch hạch và dây chuyền dịch tễ bệnh dịch hạch ở Hồng Kông. Yersin là Hiệu trưởng đầu tiên của trường Đại học Y Dược Hà Nội và mất ở Thành phố Nha Trang Việt Nam.

Edward Jenner (1749–1823), một bác sĩ thú y người Anh, người đã tìm ra vaccin phòng bệnh đậu mùa khi còn là một sinh viên thực tập ở trang trại chăn nuôi. Ông nhận thấy những người chăn nuôi trâu bò không bị mắc bệnh đậu mùa vì họ đã mắc bệnh đậu bò. Từ đó ông đã dùng vẩy đậu bò phòng bệnh đậu mùa.

Dimitri Ivanopxki (1864–1920) là một nhà thực vật người Nga. Ông là người đầu tiên phát hiện ra virus khi nghiên cứu trong nước lọc của lá cây thuốc lá bị đốm sau khi đã lọc hết vi khuẩn vẫn còn một loại mầm bệnh bé hơn vi khuẩn, nghiên cứu của ông đã đặt nền móng cho sự nghiên cứu về virus sau này. Sau phát hiện của ông, các nhà khoa học liên tiếp tìm ra virus gây bệnh ở người và động vật như virus gây lở mồm long móng ở trâu bò, virus sốt vàng, virus thủy đậu...

Người đầu tiên tìm ra virus ký sinh trên vi khuẩn là nhà sinh vật Anh F.W. Twort (1877–1950). Hai năm sau nhà vi khuẩn học Canada nghiên cứu thấy virus ký sinh trên vi khuẩn và gọi là thực khuẩn thể (*phage* hay *bacteriophage*, *phage* xuất phát từ chữ *phageen*, tiếng Hy Lạp nghĩa là ăn).

– Năm 1929, nhà vi khuẩn học người Anh Alexandre Fleming (1881–1955) lần đầu tiên phát hiện ra tác dụng ức chế vi khuẩn của một chất được sinh ra từ nấm *penicillium notatum* và đặt tên là penicillin. Từ đó mở ra một tương lai mới trong việc điều chế kháng sinh điều trị các bệnh nhiễm khuẩn.

Cùng với sự phát triển chung của khoa học, còn rất nhiều những nhà khoa học đã có đóng góp rất lớn trong lĩnh vực vi sinh vật, góp phần phát hiện mầm bệnh, chẩn đoán bệnh, phòng bệnh và điều trị bệnh có kết quả như việc tìm ra hàng loạt vi khuẩn, virus gây bệnh, phương pháp khử trùng, kháng sinh, miễn dịch... Đặc biệt, kỷ nguyên sinh học đang bắt đầu từ những năm cuối của thế kỷ XX, trong đó loài người đi vào bản chất của sự sống ở mức độ phân tử, dưới phân tử, thời kỳ tách chiết gen ở vi sinh vật và ứng dụng nó vào việc chữa bệnh.

3. Vai trò của vi sinh vật

3.1. Tác dụng có lợi của vi sinh vật

Vi khuẩn, virus không hoàn toàn là những mầm bệnh nguy hiểm, mà vi sinh vật nói chung là cần thiết cho sự sống. Những tác dụng tích cực của vi sinh vật chủ yếu trên một số lĩnh vực sau:

Trong thiên nhiên: vi khuẩn tham gia vào tuần hoàn CO_2 và chuyển hoá nitơ, hai chu trình có ý nghĩa quyết định cho sự sống của mọi sinh vật trên trái đất. Trong không khí có nhiều nitơ, động vật và thực vật không thể trực tiếp sử dụng chất đạm đó. Nhờ có vi khuẩn mà khí đạm được biến thành muối vô cơ mang đạm. Thực vật có thể hấp thu những chất này tạo nên những chất hoá hợp hữu cơ của thực vật, rồi tiếp đó là tạo thành albumin động vật, để sự sống tiếp diễn không ngừng. Khi động, thực vật chết, vi khuẩn làm thối rữa, các chất hữu cơ sinh vật lại được hoàn trả lại cho đất.

Trong công nghiệp: từ cổ xưa, khi loài người chưa hiểu biết về vi sinh vật nhưng đã biết muối dưa, muối cà, làm tương và làm mắm. Sau này người ta biết nấu rượu, làm bia, bánh mì, nem chua. Các sản phẩm này đều cần có quá trình lên men của vi sinh vật. Ngày nay công nghệ sinh học đã đem lại cho con người nhiều lợi ích và là cuộc cách mạng khoa học cách mạng kỹ thuật rất lớn. Vi sinh vật là một công cụ được sử dụng nhiều trong công nghệ sinh học.

Trong nông nghiệp: trong đất 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. Những khả năng này làm giàu dinh dưỡng cho đất, làm ải đất giúp cho cây trồng phát triển tốt.

Trên cơ thể người: trên da và một số bộ phận của cơ thể có khá nhiều loại vi sinh vật ký sinh. Với cơ thể chúng tạo nên mối quan hệ sinh thái và có tác dụng chống lại vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vì chúng đã chiếm được các thụ thể trên cơ thể, làm cho vi sinh vật gây bệnh không có chỗ bám để gây bệnh. Tất nhiên cũng có thể chúng sẽ gây bệnh cơ hội. Một số vi khuẩn đường ruột tham gia vào quá trình tiêu hoá cellulose, tiêu hoá thức ăn cung cấp chất dinh dưỡng cho người. Một số có khả năng tổng hợp được vitamin B_1 , B_{12} , K cho cơ thể. Một số vi khuẩn lại tiết ra những chất để ức chế, tiêu diệt các vi khuẩn khác trong quá trình cạnh tranh sinh tồn.

Trong y học: vi sinh vật được dùng để sản xuất kháng sinh, sản xuất vaccin và huyết thanh miễn dịch. Đó là những sản phẩm quan trọng được dùng trong việc phòng và điều trị các bệnh do vi sinh vật. Ngày nay, vi sinh vật còn là mô hình để nghiên cứu về di truyền phân tử, hoá sinh học... do vi sinh vật có số lượng gen ít, phát triển nhanh.

3.2. Tác dụng có hại của vi sinh vật

Mặc dù vi sinh vật có nhiều lợi ích đối với đời sống con người song tác hại của nó là rất đáng kể. Vi sinh vật là căn nguyên của các bệnh nhiễm khuẩn gây tổn hại đến sức khoẻ con người, thậm chí nguy hiểm đến tính mạng. Trên thế giới đã có nhiều bệnh dịch gây chết người hàng loạt như dịch tả, dịch hạch hoặc nhiều bệnh nguy hiểm do virus gây nên.

Ngày nay, vi sinh vật gây ô nhiễm môi trường như ô nhiễm nguồn nước, ô nhiễm không khí... đang là vấn đề bức xúc đối với xã hội. Vì vậy, mà các bệnh nhiễm khuẩn ngày càng gia tăng ở các nước kém phát triển.

Ngoài ra, vi sinh vật cũng gây ảnh hưởng lớn đối với đời sống sinh hoạt của con người như phân giải thức ăn, thực phẩm, lương thực, phá huỷ đồ dùng...

Hiện nay, những vấn đề của vi sinh vật y học đang được con người đặc biệt quan tâm và được coi là vấn đề toàn cầu như xuất hiện những vi sinh vật gây bệnh chết người hoặc ảnh hưởng đến tính mạng mà ít có biện pháp điều trị có hiệu quả như: HIV/AIDS, virus Ebola, bệnh bò điên, virus gây khối u, virus gây ung thư... Mặt khác, vi khuẩn kháng kháng sinh cũng là vấn đề nổi cộm của y tế các nước. Các vi khuẩn là căn nguyên gây bệnh thường gặp cũng là những vi khuẩn kháng thuốc mạnh nhất như: tụ cầu vàng, trực khuẩn mủ xanh, trực khuẩn đường ruột... Đây là một cản trở lớn trong điều trị các bệnh do vi khuẩn.

4. Vai trò của Ngành Vi sinh vật học

4.1. Chẩn đoán bệnh

Vai trò rất lớn của Ngành Vi sinh vật học là chẩn đoán chính xác các bệnh nhiễm khuẩn, truyền nhiễm. Đó là việc tìm vi sinh vật gây bệnh trong các bệnh phẩm như: đờm, máu, mủ, dịch, phân... hoặc lấy huyết thanh bệnh nhân chẩn đoán miễn dịch.

4.2. Dự phòng các bệnh truyền nhiễm

Các bệnh truyền nhiễm ngày nay đã được giảm rất nhiều và một số bệnh đã được thanh toán như: bại liệt, dịch hạch, đậu mùa... Đó là kết quả của việc đã sản xuất ra các loại vaccin phòng bệnh, góp phần đáng kể trong công tác phòng chống các dịch bệnh.

4.3. Điều trị bệnh

Ngành vi khuẩn học đã điều chế ra các kháng huyết thanh để điều trị bệnh như kháng độc tố bạch hầu, uốn ván hoặc tổng hợp ra các loại kháng sinh điều trị các bệnh do vi khuẩn.

5. Phân loại vi khuẩn

Phân loại vi sinh vật nói chung hay vi khuẩn nói riêng đều với mục đích là nhóm các sinh vật có đặc điểm giống nhau vào một nhóm và thông thường nhất là với đơn vị loài (species). Mục đích chính của việc phân loại sinh học là giúp cho con người có cái nhìn đơn giản hơn về sinh giới và mỗi khi nhắc đến tên một đơn vị nào đó trong phân loại sinh học thì chúng ta có thể biết ngay về những đặc điểm và tính chất của các đơn vị này mà không phải liệt kê ra.

5.1. Những khái niệm chung

5.1.1. Phân loại sinh học (Taxonomy)

Phân loại sinh học là ngành khoa học về phân loại, xác định và danh pháp trong ngành sinh học. Đối với các *Eukaryote* (tế bào có màng nhân), định nghĩa về các loài thường được dựa trên cơ sở chức năng và hình thức sinh sản, đó là những cá thể cùng loài phải có sự tương đồng về khả năng phát sinh giao tử, những giao tử đực và giao tử cái phải thụ tinh được với nhau để tạo thành hợp tử đa dạng trong sinh giới. Tuy nhiên, vi khuẩn là những tế bào *Procaryote* (không có màng nhân) thì phân loại học không phụ thuộc theo hướng sinh sản như *Eukaryote* mà dựa vào các tiêu chuẩn đặc trưng riêng để phân loại.

5.1.2. Phân loại vi khuẩn (Classification)

Phân loại vi khuẩn là sắp xếp những chủng vi khuẩn vào một số nhóm nhất định. Không có những tiêu chuẩn cố định về phân loại vi khuẩn mà cách phân loại có thể thay đổi theo từng giai đoạn và trình độ khoa học khác nhau.

5.1.3. Xác định, định loại vi khuẩn (Identification)

Định loại vi khuẩn là sử dụng các tiêu chuẩn phân loại để xác định vi khuẩn và phân biệt chúng với những loài khác. Bao gồm:

- Phân lập vi khuẩn, xác định đây là căn nguyên gây bệnh.
- Xác định chủng vi khuẩn phân lập được bởi một phản ứng đặc hiệu hoặc nhiều xét nghiệm quan trọng khác.

5.1.4. Danh pháp vi khuẩn (Nomenclature)

Danh pháp (tên vi khuẩn) được định nghĩa bởi những đặc điểm của loài và đôi khi có liên quan đến người đầu tiên phân lập (ví dụ: vi khuẩn dịch hạch – *Yersinia petis* do *Yersinia* tìm ra). Tên của một loài vi khuẩn nên có sự thống nhất chung đối với các nhà vi sinh, tuy nhiên trong một số trường hợp thì có thể một số vi khuẩn có tên khác nhau ở các quốc gia. Ví dụ: ở Mỹ vi khuẩn hoại thư được gọi là *Clostridium perfringens*, nhưng ở Anh thì gọi là *Clostridium welchii*.

5.1.5. Loài vi khuẩn (Species)

Loài vi khuẩn là bao gồm các vi khuẩn có đặc điểm đặc trưng giống nhau hoặc nhóm vi khuẩn có các đặc điểm quan trọng giống nhau. Trước đây, có rất ít quan điểm đồng tình về những tiêu chuẩn cũng như số lượng những tiêu chuẩn cần thiết dùng cho phân loại vi khuẩn. Các loài vi khuẩn thường được định nghĩa duy nhất bởi những tiêu chuẩn như: loại vật chủ kí sinh, khả năng gây bệnh, hoặc khả năng sinh hơi trong quá trình lên men một số đường nào đó. Hiện nay, phương pháp xác định loài vi khuẩn thường không nhất thiết cần sự nhất trí của cả cộng đồng, mà các tiêu chuẩn sử dụng trong phân loại chỉ cần phải phản ánh được những đặc điểm quan trọng mà các nhà nghiên cứu đưa ra khi họ đánh giá một loài vi khuẩn cụ thể.

5.2. Những phương pháp phân loại

5.2.1. Phân loại theo số học (Numerical)

Phương pháp phân loại số học (hay còn gọi là phân loại theo máy tính hoặc theo biểu hiện kiểu hình) thì những đặc điểm sinh hóa, hình thái, và nuôi cấy cũng như mức độ nhạy cảm với kháng sinh hay những chất vô cơ được sử dụng để xác định mức độ tương đồng (*degree of similarity*) giữa các vi khuẩn. Trong nghiên cứu phân loại số học, những nhà nghiên cứu thường tính hệ số tương đồng (*coefficient of similarity*) hay tỷ lệ tương đồng (*percentage of similarity*) giữa các chủng vi khuẩn phân lập được từ bệnh phẩm. Thông thường các chủng vi khuẩn được xếp chung vào một loài có mức độ tương đồng 90%, những chủng được xếp chung vào một giống có mức độ tương đồng ở 70% và các giống vi khuẩn khác nhau thì mức độ tương đồng ở 50% hoặc thấp hơn

5.2.2. 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 khuẩn khác nhau. Vì vậy, người ta sử dụng cách đo lường mức độ tương đồng của các đoạn ADN của nhiều nhóm vi khuẩn khác nhau để xác định mối tương quan về ADN giữa chúng, từ đó đưa ra phân loại vi khuẩn.

5.3. Các mức độ phân loại trên và dưới loài

5.3.1. Phân loại dưới loài

– **Định nghĩa:** phân loại dưới loài, đó là những chủng vi khuẩn cùng loài được sắp xếp vào các nhóm hoặc týp khác nhau dựa trên cơ sở các phản ứng huyết thanh hoặc sinh hoá, ly giải bởi phage, nhạy cảm với kháng sinh, đặc điểm gây bệnh hay dựa trên các đặc điểm khác.

– **Cách phân loại dưới loài:**

+ Về dịch tễ học: các nhà vi sinh lâm sàng thường phân loại các chủng vi khuẩn trong cùng một loài vào một số nhóm khác nhau dựa trên các đặc điểm cụ thể. Ví dụ: týp huyết thanh O157–H7 của *E. coli* được xác định từ phân bởi vì nó có liên quan đến khả năng gây tiêu chảy – phân có máu và theo sau là hội chứng ure huyết do tan máu.

+ Một số phương pháp phân loại dưới loài được chấp nhận và sử dụng rộng rãi hiện nay, như: định týp huyết thanh, định týp sinh học, định týp bằng phage đặc hiệu, định týp sinh học–huyết thanh (týp này bao gồm những vi khuẩn cùng loài và có các đặc điểm chung về sinh học và huyết thanh học), và phân loại theo đặc điểm gây bệnh (ví dụ: loại *Clostridium difficile* gây bệnh bằng độc tố, loại *E. coli* gây bệnh bằng cách xâm nhập).

5.3.2. Phân loại trên loài

Ngoài phân loại dưới loài thì các nhà vi sinh lâm sàng thường sắp xếp các loài vi khuẩn vào các giống (genera) hoặc họ (family) tùy theo mức độ giống nhau.

Một giống hoặc họ lý tưởng là được xác định dựa trên cả hai đặc điểm về kiểu hình (phenotype) và kiểu gen (genotype). Tuy nhiên, khi không thể đồng thời sử dụng được cả hai phương pháp này để phân loại thì người ta có thể dùng một trong hai đặc điểm này để phân loại. Ví dụ:

- Phân loại các giống theo đặc điểm ADN: *Citrobacter*, *Yersinia* và *Serratia*.
- Phân loại dựa theo đặc điểm kiểu hình (phenotype): *Bacillus*, *Clostridium* và *Legionella*.

5.4. Đơn vị phân loại

Đơn vị phân loại của vi khuẩn cũng nằm trong hệ thống phân loại sinh vật, bao gồm:

1) Giới (kingdom): ví dụ giới động vật, giới thực vật. Tên gọi của giới dựa trên đặc điểm chính của giới bằng tên Latinh.

2) Ngành (division): dưới ngành (subdivision)

3) Lớp (class): dưới lớp (subclass)

4) Bộ (order): tên gọi lấy họ chính và tận cùng bằng chữ *-ales*. Ví dụ: *Pseudomonadales*.

Bộ phụ (suborder) hay dưới bộ, tận cùng bằng chữ *-ineae*. Ví dụ: *Rhodobacterineae*.

5) Họ (family): tận cùng bằng *-aceae*. Ví dụ: *Enterobacteriaceae*.

Dưới họ (subfamily): tận cùng bằng *-oideae*.

6) Tộc (tribe): tận cùng bằng chữ *-eae*. Ví dụ: *Escherichieae*.

Dưới tộc (subtribe): tận cùng bằng *-inae*.

7) Giống (genus hoặc genera): Ví dụ *Salmonella*, *Proteus*, *Streptococcus*.

8) Loài (species): đây là đơn vị cơ bản nhất, tên khoa học của loài thường đặt kép, tên giống trước và tên loài sau. Ví dụ: *Pseudomonas aeruginosa*.

9) Thứ (variety): chỉ một nhóm nhất định trong loài. Ví dụ: *Mycobacterium tuberculosis var. hominis* – vi khuẩn lao người.

10) Dạng (Type), thường được gọi Việt hoá là tít để chỉ những nhóm nhỏ dưới thứ. Ví dụ: *Streptococcus pneumoniae* tít 14.

11) Chủng (strain): chỉ một chủng vi khuẩn của một loài mới được phân lập. Nó mang theo ký hiệu của giống loài và mã chủng. Ví dụ: *Staphylococcus aureus* ATCC 1259.

Nói chung, trong vi sinh y học chủ yếu dùng các đơn vị phân loại: họ, tộc, loài, tít và chủng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Vi khuẩn là những sinh vật chỉ có hại cho con người		
2	Vi khuẩn tham gia vào việc chuyển hoá nitơ trong không khí		
3	Những vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể người đều gây bệnh		
4	Vi khuẩn có thể gây dịch làm chết người hàng loạt		
5	Có thể sản xuất kháng sinh từ vi sinh vật		
6	Việc tìm thấy vi sinh vật trong bệnh phẩm có thể giúp cho chẩn đoán chính xác bệnh truyền nhiễm, nhiễm khuẩn		
7	Ngành Vi sinh vật có vai trò lớn trong phòng bệnh truyền nhiễm vì sản xuất được vaccin.		
8	Có thể dùng kháng huyết thanh để điều trị các bệnh do vi sinh vật		
9	Một số vi khuẩn có khả năng tổng hợp được vitamin cho cơ thể người		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

10. Những vi khuẩn trong cùng một loài có đặc điểm:

- A. Có những đặc điểm đặc trưng giống nhau
- B. Có ADN giống hệt nhau
- C. Có kích thước tế bào bằng nhau
- D. B + C. Tất cả đều sai

11. Theo phương pháp phân loại số học, các vi khuẩn trong cùng một loài thì có hệ số tương đồng là:

- A. 100%
- B. 90%–100%
- C. 70%–100%
- D. 50%–100%
- E. 95%–100%

12. Theo phương pháp phân loại số học, các vi khuẩn trong cùng một giống thì có hệ số tương đồng là:

- A. 100%
- B. 90%–100%
- C. 70%–100%
- D. 50%–100%
- E. 95%–100%

13. Theo phương pháp phân loại số học, những vi khuẩn ở các giống thì có hệ số tương đồng là:

- A. < 90%
- B. < 80%
- C. < 70%
- D. < 60%
- E. < 50%

HÌNH THÁI VÀ CẤU TRÚC CỦA VI KHUẨN

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm hình thể và kích thước của các loại vi khuẩn thường gặp.
2. Vẽ và mô tả đúng cấu trúc và chức năng của tế bào vi khuẩn.

1. Hình thể và kích thước

Vi khuẩn là những sinh vật đơn bào rất nhỏ có cấu trúc và hoạt động đơn giản hơn nhiều so với các tế bào khác. Mỗi loại vi khuẩn có hình dạng và kích thước nhất định. Với các phương pháp nhuộm soi thông thường có thể xác định được hình thể và kích thước của vi khuẩn. Khi xác định vi khuẩn, hình thể là tiêu chuẩn quan trọng đầu tiên.

Kích thước của vi khuẩn được đo bằng đơn vị micromet ($1\mu\text{m} = 1/1000\text{mm}$). Tùy theo từng loại vi khuẩn mà có kích thước khác nhau. Thường cầu khuẩn có kích thước nhỏ, xoắn khuẩn có kích thước dài. Tuy nhiên, ngay trong cùng một loại vi khuẩn cũng có kích thước khác nhau tùy thuộc vào điều kiện tồn tại của chúng. Về hình thể, người ta chia vi khuẩn làm 3 nhóm chính:

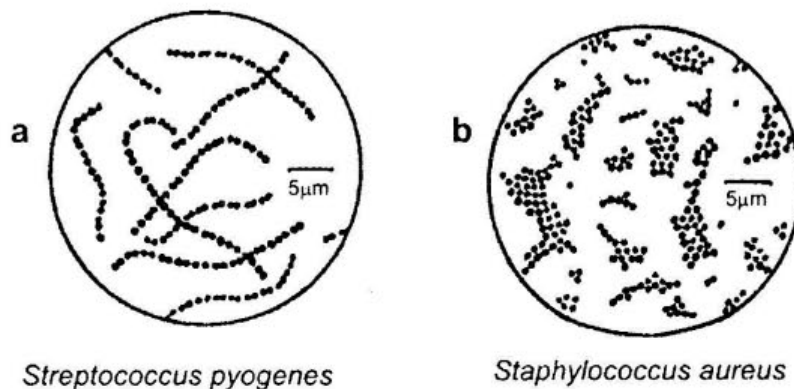
1.1. Cầu khuẩn (cocci)

Là những vi khuẩn hình cầu, cũng có thể hình hơi bầu dục hoặc hình ngọn nến. Khi có hai vi khuẩn hình cầu đứng giáp nhau thì thường không tròn nữa mà chỗ tiếp giáp thường dẹt lại như các song cầu. Đường kính trung bình của các cầu khuẩn khoảng $1\mu\text{m}$. Nhóm cầu khuẩn lại được chia làm một số loại:

Song cầu (*Diplococci*): là những cầu khuẩn đứng thành từng đôi. Những cầu khuẩn gây bệnh thường gặp là phế cầu (*Streptococcus pneumoniae*), lậu cầu (*Neisseria gonorrhoeae*) và não mô cầu (*Neisseria meningitidis*). Có thể gặp nhiều đôi song cầu đứng nối với nhau thành chuỗi.

Liên cầu (*Streptococci*): là những cầu khuẩn đứng liên tiếp với nhau thành từng chuỗi.

Tụ cầu (*Staphylococci*): là những cầu khuẩn đứng tụ lại với nhau thành từng đám như chùm nho.



Hình thể liên cầu (a) và tụ cầu (b)

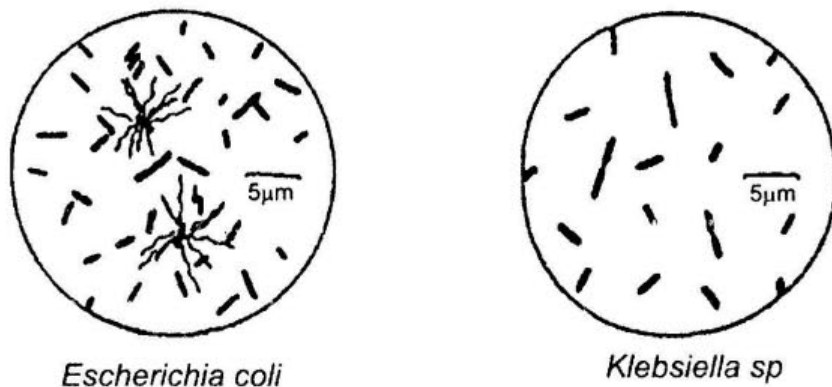
1.2. Trực khuẩn

Trực khuẩn là những vi khuẩn hình que, hai đầu tròn hoặc vuông, có thể một hoặc hai đầu phình to. Kích thước rộng khoảng $1\mu\text{m}$, dài $2-5\mu\text{m}$. Những trực khuẩn không gây bệnh có kích thước lớn hơn. Trực khuẩn được chia ba loại:

Bacteria: là những trực khuẩn không sinh nha bào. Đa số trực khuẩn gây bệnh thuộc loại này như nhóm trực khuẩn đường ruột.

Bacilli: là những trực khuẩn hiếu khí sinh nha bào. Trực khuẩn than là vi khuẩn quan trọng thuộc nhóm này.

Clostridia: là những trực khuẩn kỵ khí sinh nha bào. Các vi khuẩn gây bệnh quan trọng thuộc nhóm này như: trực khuẩn uốn ván, trực khuẩn gây bệnh ngộ độc thịt, trực khuẩn gây bệnh hoại thư sinh hơi.



Hình thể một số trực khuẩn

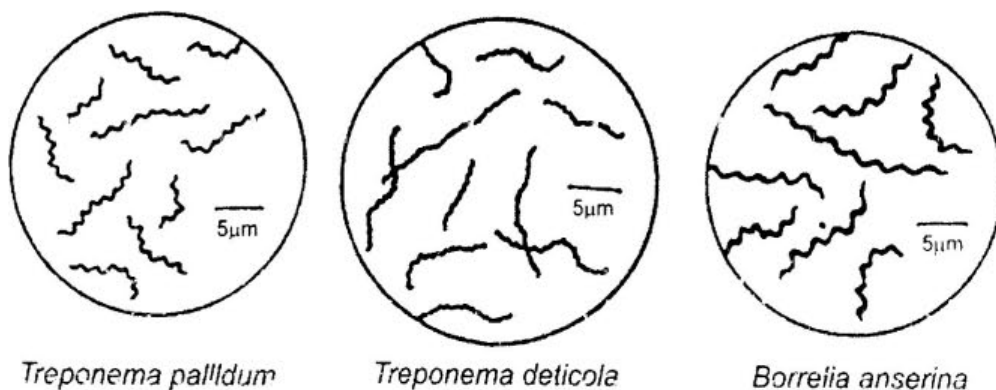
1.3. Xoắn khuẩn (Spirochaetales)

Xoắn khuẩn là những vi khuẩn hình sợi lượn sóng và di động, chiều dài trung bình từ $12-20\mu\text{m}$, có thể dài tới $30\mu\text{m}$, thường gặp ba loại:

– Xoắn khuẩn uốn thành từng khúc cong không đều nhau như xoắn khuẩn sốt hồi quy.

– Xoắn khuẩn với những vòng xoắn hình sin đều nhau như xoắn khuẩn giang mai.

– Xoắn khuẩn có những vòng xoắn không đều nhau và hai đầu cong luôn cử động như *Leptospira*.



Hình thể một số xoắn khuẩn

2. Cấu trúc và chức năng của tế bào vi khuẩn

2.1. Cấu trúc tế bào: dưới kính hiển vi điện tử, tế bào vi khuẩn được quan sát gồm các thành phần sau:

2.1.1. Nhân (nuclear body)

Nhân của tế bào vi khuẩn không có màng nhân, nhân có cơ quan chứa thông tin di truyền, đó là một nhiễm sắc thể độc nhất tồn tại trong nguyên sinh chất. Là một phân tử ADN nếu kéo dài có chiều dài khoảng 1mm chứa khoảng 3000gen. Vì nhân là một acid nên ưa kiềm với những loại thuốc nhuộm kiềm. Nhưng trong nguyên sinh chất cũng có nhiều ARN nên cũng ưa kiềm khi nhuộm và sau khi nhuộm thông thường sẽ không phân biệt được nhân và nguyên sinh chất.

Nhân có hình cầu, hình que, hình chữ V, nhân được sao chép theo kiểu bán bảo tồn dẫn đến sự phân bào. Tế bào vi khuẩn chỉ có một nhân nhưng vì vi khuẩn phân chia phát triển nhanh nên quan sát thường thấy có hai nhân.

Ngoài nhiễm sắc thể, một số vi khuẩn còn có di truyền ngoài nhiễm sắc thể như plasmid, transposon.

2.1.2. Nguyên sinh chất (cytoplasm)

Nguyên sinh chất của tế bào vi khuẩn thường đơn giản hơn so với các tế bào khác, không có dòng chuyển động nội bào. Nước chiếm 80% dưới dạng gel. Nguyên sinh chất bào gồm các thành phần hoà tan như protein, peptid, acid amin, vitamin, ARN, ribosom, muối khoáng...

Ribosom có rất nhiều trong nguyên sinh chất, khoảng 15.000–20.000 ribosom trong một tế bào đứng thành từng đám gọi là polyribosom với chức năng tổng hợp protein. Các enzym nội bào được tổng hợp đặc hiệu với từng loại vi khuẩn.

Ngoài các thành phần hoà tan, nguyên sinh chất 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 (ví dụ như trực khuẩn bạch hầu). Hạt vùi là kho dự trữ chất dinh dưỡng và các sản phẩm được tổng hợp quá nhiều.

2.1.3. *Màng nguyên sinh*

Màng nguyên sinh bao bọc quanh nguyên sinh chất và nằm trong vách tế bào vi khuẩn. Màng gồm 3 lớp: một lớp sáng (lớp lipid) ở giữa hai lớp tối (lớp phospho). Thành phần hoá học của màng gồm 60% protein, 40% lipid mà chủ yếu là phospholipid. Màng chiếm 20% trọng lượng của tế bào. Độ dày mỏng của màng phụ thuộc vào từng loại tế bào.

Chức năng của màng nguyên sinh:

- Là cơ quan hấp thụ và đào thải chọn lọc các chất nhờ vào hai cơ chế khuếch tán bị động và vận chuyển chủ động. Với cơ chế bị động, các chất được hấp thụ và đào thải là do áp lực thẩm thấu. Chỉ có những chất có phân tử lượng bé và hoà tan trong nước mới có thể vận chuyển qua màng. Vận chuyển chủ động phải cần tới enzym và năng lượng, đó là các permease và ATP.
- Màng nguyên sinh là nơi tổng hợp các enzym nội bào để thuỷ phân những chất dinh dưỡng có phân tử lượng lớn, biến các protein thành các acid amin, đường kép thành đường đơn...
- Màng nguyên sinh là nơi tổng hợp các thành phần của vách tế bào
- Màng nguyên sinh là nơi chứa men chuyển hoá, hô hấp.
- Màng tham gia vào quá trình phân bào nhờ mạc thể, mạc thể là chỗ cuộn vào nguyên sinh chất của màng, thường gặp ở vi khuẩn Gram dương. Khi tế bào phân chia, mạc thể tiến sâu vào nguyên sinh chất, gắn vào nhiễm sắc thể.

2.1.4. *Vách (cell wall)*

Vách có ở tất cả các loại vi khuẩn trừ *Mycoplasma*. Vách là màng cứng bao bọc xung quanh vi khuẩn ngoài màng nguyên sinh. Vách được cấu tạo bởi glycopeptid. Ở vi khuẩn Gram âm vách có cấu tạo đơn giản nhưng dày, ở vi khuẩn Gram âm vách mỏng hơn nhiều nhưng cấu tạo phức tạp.

Chức năng của vách

Vách giữ cho vi khuẩn có hình dạng nhất định. Bảo vệ vi khuẩn không bị ly giải và không bị phá vỡ do áp lực thẩm thấu.

Vách có vai trò quyết định tính chất bắt màu trong nhuộm Gram.

Vách tham gia gây bệnh: Ở vi khuẩn Gram âm, vách chứa nội độc tố, đó là lipopolysaccharid.

Vách quyết định tính chất kháng nguyên thân của vi khuẩn. Các thành phần hoá học của lớp ngoài cùng vách quyết định tính chất đặc hiệu của kháng nguyên này.

Vách là nơi mang các điểm tiếp nhận (receptor) đặc hiệu cho các thực khuẩn thể (phage) khi xâm nhập và gây bệnh cho vi khuẩn.

2.1.5. Vỏ (Capsule)

Một số vi khuẩn có khả năng hình thành vỏ trong những điều kiện nhất định. Vỏ của vi khuẩn là một lớp nhầy không rõ rệt bao bọc xung quanh vi khuẩn, vỏ có bản chất hoá học khác nhau tùy từng loại vi khuẩn. Đa số vi khuẩn có vỏ là polysaccharid như vỏ của *E.coli*, phế cầu. Một số vỏ là polypeptid như vi khuẩn dịch hạch, trực khuẩn than. Vỏ có thể dày hoặc mỏng tùy theo từng vi khuẩn.

Chức năng của vỏ

Bảo vệ vi khuẩn trong điều kiện không thuận lợi như thực bào, hoá chất...

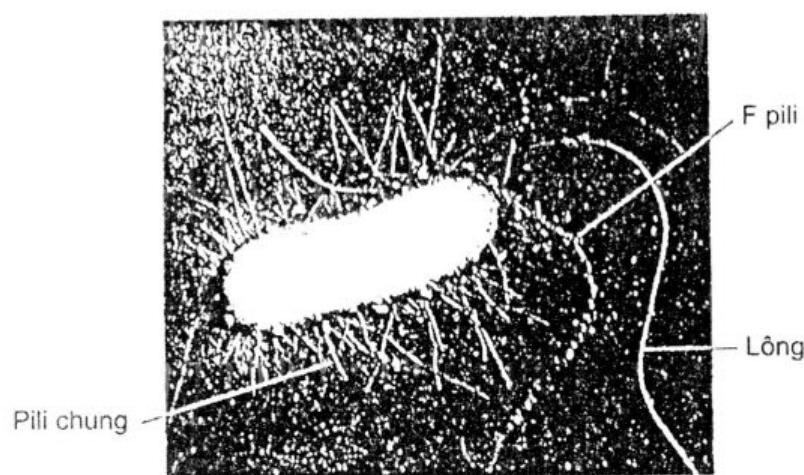
Vỏ đóng vai trò trong khả năng gây bệnh, một số vi khuẩn không có khả năng tổng hợp vỏ thì không gây bệnh được. ví dụ như phế cầu.

Vỏ có thể là yếu tố cần thiết để vi khuẩn bám vào tổ chức để gây bệnh. Ví dụ vỏ của liên cầu làm liên cầu bám vào răng, phá huỷ men răng, gây sâu răng.

Vỏ cũng mang tính kháng nguyên.

2.1.6. Lông (Flagella)

Chỉ có một số vi khuẩn mới có lông, lông là cơ quan vận động của vi khuẩn. Lông là những sợi protein dài xoắn tạo thành từ các acid amin và được xuất phát từ một hạt cơ bản trong nguyên sinh chất. Vị trí lông của các loại vi khuẩn rất khác nhau. Một số chỉ có một lông ở một đầu như phẩy khuẩn tả, nhiều vi khuẩn có lông ở xung quanh thân như: *E.coli*, *Salmonella*, một vài vi khuẩn có một chùm lông ở đầu. Trong công tác nuôi cấy phân lập vi khuẩn, xác định lông là một tiêu chuẩn phân biệt giữa các loại vi khuẩn. Lông của vi khuẩn cũng có tính kháng nguyên.



Lông và pili của vi khuẩn

2.1.7. Pili

Pili là một bộ phận gần giống như lông, nó có thể mất đi mà không ảnh hưởng tới sự tồn tại của vi khuẩn. Pili có cấu trúc như lông nhưng ngắn và mỏng hơn, pili có nhiều ở vi khuẩn Gram âm. Pili xuất phát từ vách vi khuẩn, có hai loại pili:

– Pili giới tính (pili F– fertility) chỉ có ở 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 vi khuẩn bám, là một sợi ngắn và thẳng cũng xuất phát từ vách. Mỗi vi khuẩn có hàng trăm pili này. Pili liên quan đến khả năng gây bệnh của vi khuẩn, mất pili vi khuẩn không thể gây bệnh như lậu cầu khuẩn. Pili còn là chỗ bám của một số phage để phage bơm vật liệu di truyền vào vi khuẩn.

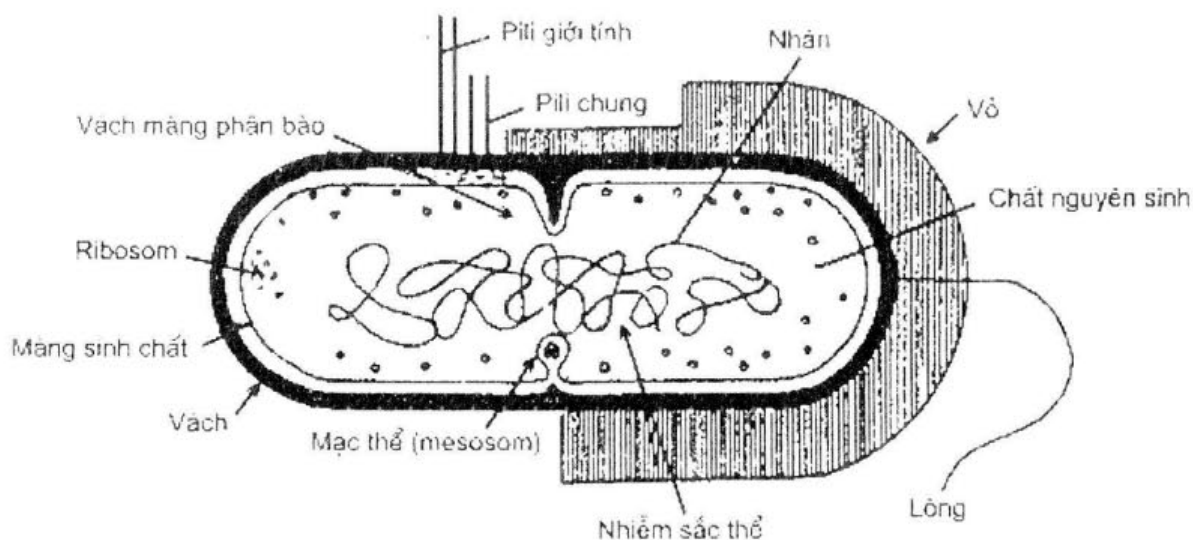
2.1.8. Nha bào

Ở một số loại vi khuẩn, trong điều kiện sống không thuận lợi vi khuẩn có khả năng tạo nha bào. Nha bào là hình thức tồn tại đặc biệt của vi khuẩn. Nha bào xuất hiện trong nguyên sinh chất nên nó mang các thành phần của nguyên sinh chất nhưng tỷ lệ nước chỉ chiếm 10–20% trọng lượng. Ở thể nha bào, vi khuẩn vẫn giữ hoàn toàn khả năng gây bệnh nhưng có sức chống đỡ rất cao với điều kiện sống không thuận lợi. Nha bào có thể hình tròn, hình vuông, hình bầu dục, có chiết quang nên không nhuộm được bằng phương pháp nhuộm thông thường.

Vị trí của nha bào cũng khác nhau tùy theo loại vi khuẩn. Có thể ở đầu thân, giữa thân hoặc cuối thân vi khuẩn. Nha bào chỉ hình thành ở ngoại cảnh. Khi điều kiện sống thuận lợi, nha bào lại trở về dạng hoạt động bình thường.



1. Nha bào trực khuẩn than; 2. Nha bào trực khuẩn thư; 3. Nha bào trực khuẩn uốn ván



Sơ đồ cấu tạo tế bào vi khuẩn



**THƯ VIỆN
HUBT**

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

2.2. Cấu tạo hoá học

Cấu tạo hoá học tế bào vi khuẩn cũng tương tự như những tế bào khác. Nó được cấu tạo bởi các nguyên tố C,H,O,N,P,K,Mg,Na, S, Cl... Những nguyên tố này làm cơ sở tạo nên những men và vitamin phức tạp. Tế bào vi khuẩn thường có:

- 75–85% trọng lượng là nước, riêng nha bào tỷ lệ nước thấp.
- 15–25% trọng lượng là các hắt hữu cơ, trong đó 1/2 là albumin, còn lại là các hợp chất khác như đường, mỡ.
- 1–2% trọng lượng là chất khoáng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

- Đơn vị thường dùng để đo kích thước của vi khuẩn là:
A. nm B. μm C. mm D. Cả A+B
- Loại vi khuẩn sau thường có kích thước lớn nhất:
A. Cầu khuẩn B. Trục khuẩn C. Phẩy khuẩn D. Xoắn khuẩn
- Thành phần hoá học chiếm nhiều nhất của màng vi khuẩn là:
A. Protein B. Lipid C. Phospho lipid D. Glucid
- Yếu tố sau quyết định tính kháng nguyên thân của tế bào vi khuẩn:
A. Màng B. Vách
C. Vỏ D. Nguyên sinh chất
- Lông của tế bào vi khuẩn được phân bố ở:
A. Xung quanh thân B. Một đầu vi khuẩn
C. Hai đầu vi khuẩn D. Tùy theo từng loại
- Nha bào của vi khuẩn trở về trạng thái hoạt động khi:
A. Vào cơ thể người B. Trên môi trường nuôi cấy thích hợp
C. Điều kiện khô hanh D. Nhiệt độ cao
- Các loại cầu khuẩn có tính chất nào sau đây:
A. Không di động B. Bắt màu Gr(+)
C. Bắt màu Gr(–) D. Có vỏ

SINH LÝ CỦA VI KHUẨN

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Nêu được đặc điểm dinh dưỡng, hô hấp và chuyển hoá của vi khuẩn.
2. Giải thích được sự phát triển của vi khuẩn.

1. Dinh dưỡng của vi khuẩn

1.1. Nhu cầu dinh dưỡng

Trong quá trình sinh sản và phát triển vi khuẩn cần nhiều loại thức ăn và cần số lượng thức ăn lớn. Vi khuẩn sinh sản và phát triển rất nhanh nên chúng cần thức ăn để tạo năng lượng và thức ăn để tổng hợp các thành phần của cơ thể. Mỗi ngày một con vi khuẩn cần một lượng thức ăn tương đương với trọng lượng cơ thể nó. Thức ăn của vi khuẩn được chia thành các nhóm sau:

Thức ăn cung cấp năng lượng: chủ yếu là các chất carbon hoá hợp, thường là các ose như đường glucose, lactose...

Thức ăn cấu tạo: chủ yếu là các chất dinh dưỡng chứa nitơ để tạo nên nhóm amin (NH_2) và imin (NH).

Các yếu tố phát triển: ngoài các chất dinh dưỡng cơ bản một số vi khuẩn phải có một số chất cần thiết mới phát triển được trong môi trường nuôi cấy. Những chất này gọi là yếu tố phát triển. Yếu tố này phần lớn là các acid amin, vitamin. Mỗi vi khuẩn cần những yếu tố phát triển khác nhau.

Muối khoáng: vi khuẩn rất cần các loại muối khoáng như Ca, P, Mg, S, Fe... nhưng chỉ cần một hàm lượng rất nhỏ. Trong môi trường tự nhiên điều chế từ thịt thì chỉ cần bổ sung NaCl là đủ. Ở các môi trường tổng hợp thì không thể thiếu các loại muối khoáng.

1.2. Màng bán thấm và các enzym

Vi khuẩn là những đơn bào, không có bộ máy tiêu hoá. Dinh dưỡng của vi khuẩn dựa vào quá trình thẩm thấu qua màng nguyên sinh chất. Do áp lực giữa, trong và ngoài màng nguyên sinh chất khác nhau và tính chất chọn lọc của màng tế bào, những chất dinh dưỡng nhất định từ ngoài thẩm vào trong tế bào và

những chất cặn bã được thải từ trong ra ngoài. Đối với những chất hoá học phức tạp không thể thẩm thấu qua màng tế bào được, vi khuẩn phải biến những chất ấy thành những chất đơn giản hơn rồi mới hấp thu được. Quá trình dinh dưỡng trên cần các loại enzym của vi khuẩn. Có hai loại enzym:

– **Ngoại enzym:** là enzym do vi khuẩn tiết ra ngoài có tác dụng phân giải những chất phức tạp trong môi trường thành chất đơn giản để hấp thu. Đối với mỗi chất cần phân giải, vi khuẩn tiết ra một loại enzym nhất định

– **Nội enzym:** là những enzym nằm bên trong tế bào vi khuẩn có tác dụng chuyển hoá các chất cần thiết của tế bào vi khuẩn.

Quá trình thẩm thấu chất dinh dưỡng của vi khuẩn có liên quan tới chủng loại vi khuẩn, tuổi vi khuẩn (vi khuẩn non thẩm thấu mạnh hơn), nồng độ thức ăn và độ hoà tan của thức ăn.

2. Hô hấp của vi khuẩn

Hô hấp là quá trình trao đổi chất tạo ra năng lượng cần thiết để tổng hợp nên các chất mới của tế bào. Mỗi vi khuẩn có nhu cầu năng lượng riêng. Vi khuẩn lấy năng lượng này từ một ose như glucose hoặc từ một chất chuyển hoá đơn giản như acid amin hoặc acid carbonic... các vi khuẩn lấy năng lượng từ một cơ chất carbon bằng cách oxy hoá. Tùy theo từng loại vi khuẩn, mức độ oxy hoá cơ chất cũng khác nhau. Vi khuẩn có các loại hô hấp sau:

2.1. Hô hấp hiếu khí hoặc oxy hoá

Những vi khuẩn sử dụng được oxy tự do của khí trời được gọi là vi khuẩn hiếu khí. Những vi khuẩn hiếu khí tuyệt đối có chuỗi cytocrom và cytocrom oxydase nên chúng phân giải được O_2 và sử dụng được các vật chất oxy hoá.

2.2. Hô hấp kỵ khí hay lên men

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 ở môi trường có oxy tự do vì oxy độc đối với chúng. Những vi khuẩn kỵ khí không có cytocrom oxydase và không có toàn bộ hay một phần của chuỗi cytocrom. Các vi khuẩn này oxy hoá lại NADH như trong các phản ứng oxy nghịch đảo của phản ứng. Ví dụ phản ứng khử pyruvat của acid carbonic. Những phản ứng oxy khử này không cần phân tử oxy gọi là phản ứng lên men.

2.3. Vi khuẩn hiếu khí kỵ khí tùy tiện

Một số vi khuẩn hiếu khí có thể sử dụng một chất điện tử cuối cùng không phải là oxy mà là ion, ví dụ: NO_3^- . Vậy nếu môi trường kỵ khí có các ion nitrat thì những vi khuẩn này phát triển được. Như vậy, vi khuẩn này có thể hô hấp kỵ khí và trong trường hợp sử dụng ion nitrat được gọi là hô hấp nitrat.

3. Chuyển hoá của vi khuẩn

Những phản ứng hoá học xảy ra trong và ngoài tế bào vi khuẩn là quá trình đồng hoá và dị hoá. Phân giải những thức ăn phức tạp thành chất đơn giản là dị hoá và tổng hợp những chất đơn giản thành những chất cần thiết để cấu tạo nên tế bào vi khuẩn là đồng hoá.

3.1. Dị hoá

Để phân giải các chất dinh dưỡng, vi khuẩn tiết ra các loại men tương ứng với từng chất. Tất cả các loại men trong quá trình dị hoá hay đồng hoá đều là protein, khối lượng phân tử lớn, dễ bị phá huỷ bởi nhiệt độ.

– *Chuyển hoá các chất đạm*: đạm được vi khuẩn chuyển hoá theo một quá trình phức tạp từ albumin đến acid amin: albumin → protein → pepton → polypeptid → acid amin.

Đa số vi khuẩn phân giải được protein đơn giản. Một số phân giải được protein phức tạp.

– *Chuyển hoá đường*: chuyển hoá đường theo một quá trình phức tạp từ polysaccharid → osid → glucose → pyruvat.

Mỗi vi khuẩn phân giải được một số loại đường nhất định. Có loại chỉ phân giải đường đơn, có loại phân giải được đường kép. Quá trình phân giải đường sản sinh ra các acid hữu cơ như acid lactic, acid acetic...

3.2. Đồng hoá

Những chất dinh dưỡng đơn giản sau khi đã thẩm thấu qua màng sẽ được tổng hợp thành những chất cần thiết của vi khuẩn nhờ nội enzym, đây là quá trình đồng hoá. Trong quá trình đồng hoá vi khuẩn sẽ sản sinh ra một số chất mới.

3.2.1. Độc tố

Đa số vi khuẩn gây bệnh trong quá trình sinh sản và phát triển tổng hợp nên độc tố. Có hai loại độc tố:

Ngoại độc tố: là độc tố được vi khuẩn tiết ra ngoài tế bào, thường có tính độc cao. Bản chất là protein tan được vào nước.

Nội độc tố: là độc tố nằm trong vách vi khuẩn, chỉ khi tế bào vi khuẩn bị phá vỡ mới giải phóng ra ngoài. Nội độc tố có tính độc yếu hơn ngoại độc tố. Bản chất là hỗn hợp lipopolysaccharid (LPS).

3.2.2. Kháng sinh

Một số vi khuẩn tổng hợp được kháng sinh có tác dụng ức chế hoặc tiêu diệt vi khuẩn khác loại. Ví dụ: *Bacillus subtilis* tổng hợp bacitracin, subtilin...

3.2.3. Chất gây sốt

Một số vi khuẩn có khả năng sản sinh ra chất gây sốt. Chất này tan trong nước nhưng không bị nhiệt độ cao phá huỷ. Để loại trừ phải lọc qua màng lọc amiăng.

3.2.4. Sắc tố

Một số vi khuẩn sinh ra sắc tố làm cho khuẩn lạc có màu như tụ cầu sinh sắc tố màu vàng, trực khuẩn mủ xanh sinh sắc tố màu xanh.

3.2.5. Vitamin

Một số vi khuẩn có khả năng tổng hợp được vitamin như *E.coli* tổng hợp được vitamin C, K.

4. Sự phát triển của vi khuẩn

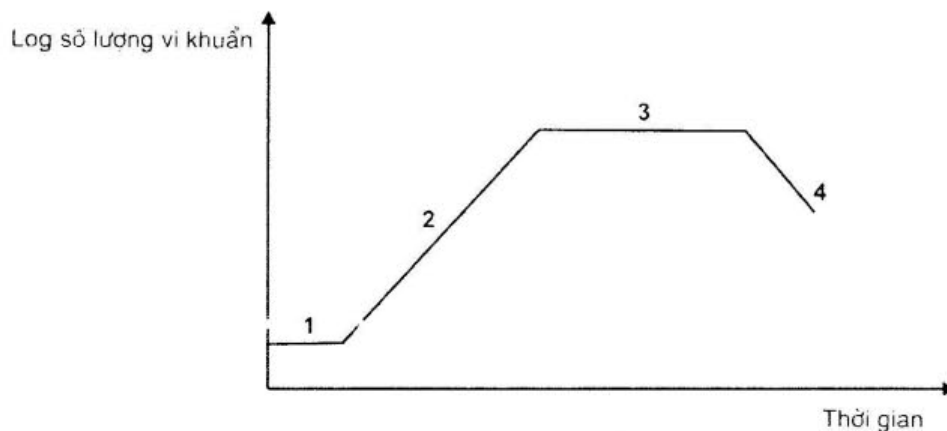
4.1. Môi trường nuôi cấy và điều kiện phát triển của vi khuẩn

– *Môi trường nuôi cấy*: khi nuôi cấy vi khuẩn, môi trường cần phải đủ các yếu tố dinh dưỡng (thức ăn, nguyên liệu tổng hợp, năng lượng) cần thiết cho đa số vi khuẩn. Môi trường như vậy gọi là môi trường cơ bản, trong đó canh thang là môi trường lỏng và thạch thường là môi trường đặc. Các yếu tố phát triển hầu hết có trong nước thịt, nếu các yếu tố này không đủ, người ta cho thêm vào môi trường một lượng cao men, huyết thanh hoặc máu.

– *Các điều kiện phát triển*: vi khuẩn chỉ phát triển được trong điều kiện nhiệt độ và pH giới hạn nhất định. Đa số vi khuẩn thích hợp ở nhiệt độ 37°C và pH 7,2–7,4, có thể phát triển ở 20–42°C. Một số vi khuẩn gây bệnh đôi khi phát triển được ở 4°C. Tùy theo từng loại vi khuẩn mà cần không khí hay không cần không khí, một số cần có CO₂ mới phát triển được.

4.2. Sinh sản

Vi khuẩn sinh sản bằng cách chia đôi. Ở điều kiện thích hợp vi khuẩn phát triển lớn dần lên, tế bào thắt lại ở giữa, nhân chia đôi, nguyên sinh chất cũng chia đôi rồi tạo thành hai tế bào. Tốc độ nhân lên của vi khuẩn phụ thuộc vào nhiều yếu tố như môi trường, nhiệt độ... Ở điều kiện thích hợp vi khuẩn phát triển rất nhanh, nhiều vi khuẩn, cứ 20–30 phút chia đôi một lần. Như vậy, từ một vi khuẩn ban đầu sau 24 giờ đã sinh sản ra hàng triệu vi khuẩn mới. Tuy nhiên, trên thực tế, dù ở môi trường nuôi cấy thích hợp, vi khuẩn cũng chỉ phát triển nhanh trong một số giờ rồi gặp những yếu tố bất lợi cản trở như hết dinh dưỡng, độc tố và các chất đào thải nhiều, môi trường biến hoá, vi khuẩn già cỗi... nên sự phát triển của vi khuẩn giảm dần rồi ngừng sinh sản, cuối cùng bị tiêu diệt. Sự sinh sản của vi khuẩn diễn biến qua các giai đoạn:



Các giai đoạn phát triển của vi khuẩn trong môi trường

1. Thích ứng; 2. Tăng theo hàm số mũ; 3. Dừng tối đa; 4. Suy tàn

– *Giai đoạn thích ứng*: trong vòng 2–4 giờ sau khi nuôi cấy vi khuẩn chưa sinh sản vì môi trường lạ vi khuẩn cần có thời gian để thích nghi.

– *Giai đoạn phát triển theo cấp số*: từ giờ thứ hai hoặc giờ thứ 4 đến giờ thứ 8 hoặc giờ thứ 12, tốc độ phát triển của vi khuẩn tăng dần theo cấp số nhân. Đây là thời kỳ số lượng vi khuẩn tăng nhiều nhất.

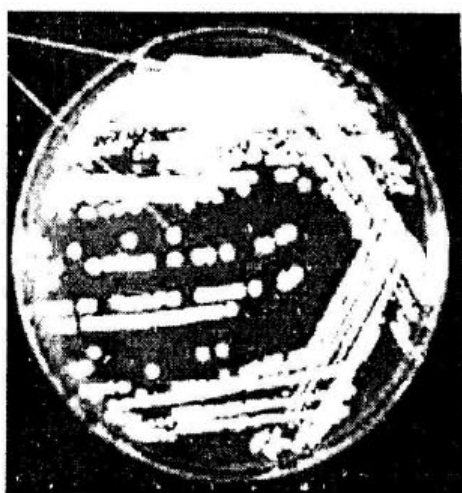
– *Giai đoạn dừng tối đa (giai đoạn ngừng phát triển)*: từ giờ thứ 12 đến giờ thứ 15, số lượng vi khuẩn giữ nguyên ở mức độ cao, số vi khuẩn phát triển thêm tương đương với số vi khuẩn chết.

– *Giai đoạn suy tàn*: sau giờ thứ 15, số lượng vi khuẩn hầu như không tăng thêm. Môi trường nuôi cấy dần hết chất dinh dưỡng, chất độc tăng lên ảnh hưởng đến vi khuẩn, vi khuẩn già cỗi do đó vi khuẩn bị chết dần.

4.3. Khuẩn lạc

Khi nuôi cấy trên môi trường đặc thích hợp, từ một vi khuẩn ban đầu phát triển thành bộ lạc vi khuẩn gọi là khuẩn lạc. Mỗi khuẩn lạc đều thuần nhất từ một chủng vi khuẩn. Có ba dạng khuẩn lạc chính.

Khuẩn lạc



Hình ảnh khuẩn lạc

– *Dạng S* (từ tiếng Anh: Smooth: nhẵn) khuẩn lạc thường nhỏ, màu trong, mặt lồi, bờ đều, bóng.

– *Dạng M* (từ tiếng Anh: Mucous: nhầy) khuẩn lạc đục, tròn lồi hơn dạng S, quánh hoặc dính.

– *Dạng R* (từ tiếng Anh: Rough: xù xì) khuẩn lạc thường dẹt, bờ đều hoặc nhẵn nheo, mặt xù xì, khô.

Thường những vi khuẩn có khuẩn lạc dạng S và M thuộc những vi khuẩn có vỏ hay kháng nguyên vỏ hoặc kháng nguyên bề mặt. Các vi khuẩn gây bệnh đa số có khuẩn lạc dạng S và M. Những vi khuẩn có khuẩn lạc dạng R thường không gây bệnh (trừ trực khuẩn lao và trực khuẩn than).

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Thành phần nào sau đây giúp vi khuẩn chống lại hiện tượng thực bào:

- A. Lông B. Vỏ C. Vách D. Pili

2. Hầu hết vi khuẩn có thể phát triển được ở nhiệt độ:

- A. 5–20°C B. 37°C C. 20–42°C D. 58°C

3. Ngoại độc tố của vi khuẩn có tính chất sau:

- A. Được tiết ra ngoài khi vi khuẩn sống
B. Ít độc
C. Là một glycoprotein
D. Không dùng sản xuất vaccin

4. Môi trường cơ bản để nuôi cấy vi khuẩn có tính chất sau:

- A. Phải có đủ các yếu tố dinh dưỡng
B. Phải có các yếu tố phát triển
C. Phải có máu hoặc huyết thanh
D. Phải có đường glucose

5. Khuẩn lạc dạng S có tính chất sau:

- A. Thường dẹt, xù xì B. Dính quánh, nhầy
C. Nhỏ, mặt lồi, bờ đều D. Đục, mặt nhẵn nheo

6. Giai đoạn dừng tối đa của vi khuẩn thường ở thời điểm:

- A. Giờ thứ 2–4 B. Giờ thứ 8–15
C. Giờ thứ 15–24 D. Sau giờ thứ 24

7. Thức ăn cung cấp năng lượng cho vi khuẩn chủ yếu là:
- A. Các loại đường
 - B. Các loại lipid
 - C. Các loại protid
 - D. Các loại vitamin
8. Nội độc tố của vi khuẩn có tính chất sau:
- A. Bản chất là protein
 - B. Tính độc yếu hơn ngoại độc tố
 - C. Tính kháng nguyên mạnh
 - D. Được tiết ra khi vi khuẩn còn sống
9. Ở môi trường sau vi khuẩn sẽ phát triển thành khuẩn lạc:
- A. Môi trường lỏng
 - B. Môi trường đặc
 - C. Môi trường sinh vật hoá học
 - D. Môi trường đặc thích hợp
10. Trên môi trường nuôi cấy, sau 24 giờ vi khuẩn dần bị tiêu diệt vì:
- A. Vi khuẩn già cỗi
 - B. Chất độc trong môi trường tăng
 - C. Chất dinh dưỡng hết
 - D. Tất cả các lý do trên

DI TRUYỀN VI KHUẨN

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày cơ sở di truyền của vi khuẩn
2. Trình bày các hình thức thay đổi chất liệu di truyền.

1. Cơ sở di truyền

Vi khuẩn là sinh vật đơn bào không có màng nhân (Procaryote). Cơ quan chứa thông tin di truyền để bảo tồn đặc tính của loài qua các thế hệ là nhiễm sắc thể (Chromosom) độc nhất tồn tại trong chất nguyên sinh. Ngoài ra, một số vi khuẩn còn có các yếu tố di truyền ngoài nhiễm sắc thể là plasmid và transposon.

1.1. Nhiễm sắc thể

Là một phân tử ADN sợi kép, hình vòng khép kín có kích thước $0,6 - 13 \times 10^6$ bp (cặp base) và có trọng lượng phân tử vào khoảng 2×10^9 dalton.

Đặc điểm của ADN này là hầu như tất cả các vùng nằm trên nó đều có chức năng hoạt động (exons) và không có những vùng không hoạt động (introns). Vì vậy, chỉ cần một nhiễm sắc thể duy nhất vi khuẩn vẫn có đầy đủ các gen điều khiển, chi phối tất cả hoạt động của chúng.

Sự nhân đôi của ADN (nhiễm sắc thể) theo nguyên tắc bán bảo tồn của Crick và Watson. Tuy nhiên, trong quá trình nhân lên của vi khuẩn thì ADN thường nhân đôi trước sự phân chia của màng nguyên sinh và vách tế bào. Do vậy, người ta có thể thấy mỗi tế bào có 2 – 4 nhiễm sắc thể.

1.2. Plasmid

Là yếu tố di truyền độc lập ngoài nhiễm sắc thể cũng ở dạng ADN sợi kép, hình vòng nhưng kích thước thì nhỏ hơn nhiễm sắc thể rất nhiều (vào khoảng $10^4 - 10^5$ lần). Plasmid được tìm thấy ở nhiều loại vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Một tế bào vi khuẩn có thể chứa một hoặc nhiều plasmid khác nhau. Giống như nhiễm sắc thể plasmid có thể tự nhân đôi nhờ sự điều khiển của những đoạn ADN đặc biệt và protein điều chỉnh riêng của chúng. Sự nhân đôi này phối hợp nhịp nhàng với sự nhân đôi của nhiễm sắc thể, vì vậy mà số lượng plasmid ở các thế hệ sau luôn ổn định và giống tế bào mẹ.

Đặc điểm của plasmid là chứa các gen mã hoá nhiều đặc tính khác nhau không thiết yếu cho sự sống của tế bào, nhưng một số đặc tính nào đó có vai trò giúp vi khuẩn có thể tồn tại được trong điều kiện không thuận lợi. Ví dụ: vi khuẩn có R – Plasmid sẽ tồn tại được trong môi trường có kháng sinh, còn vi khuẩn không có R – Plasmid sẽ bị kháng sinh tiêu diệt.

1.3. Transposon (Tn)

Được phát hiện vào năm 1940 bởi Barbara Mc Clintock. Sau đó, bà được nhận giải thưởng Nobel năm 1983.

– *Định nghĩa*: Transposon là những đoạn ADN có kích thước 750–1600 bp chứa một hoặc nhiều gen, hai đầu tận cùng là những chuỗi nucleotid (khoảng 15–25bp) lặp lại ngược chiều nhau. Transposon có thể chuyển vị trí từ phân tử ADN này sang phân tử ADN khác (đó là từ nhiễm sắc thể, plasmid này sang nhiễm sắc thể, plasmid khác hoặc giữa nhiễm sắc thể và plasmid).

– *Cơ chế hoạt động của transposon*: thực chất là quá trình hoán chuyển gen (transposon) từ ADN cho sang ADN nhận, gồm có hai kiểu:

- + Transposon được chuyển hoàn toàn từ ADN này sang ADN khác.
- + Transposon được chuyển từ ADN này sang ADN kia bằng cách sao chép theo nguyên tắc bán bảo tồn. Do đó, từ một transposon sẽ nhân đôi và tạo ra hai transposon giống hệt nhau về cấu trúc.

2. Các hình thức thay đổi chất liệu di truyền

2.1. Đột biến

– *Định nghĩa*: đột biến là những biến đổi di truyền xảy ra trong cấu trúc của gen làm thay đổi đột ngột một tính chất nào đó của cá thể trong quần thể đồng nhất hoang dại ban đầu.

– *Các dạng đột biến*: ngoài các dạng đột biến chung giống sinh vật bậc cao như: đột biến mất nucleotid, đột biến thay thế nucleotid và đột biến thêm nucleotid. Ở vi khuẩn chúng ta còn thấy hai loại đột biến sau:

+ Đột biến ngược (back mutation): là dạng đột biến mà gen đã đột biến bị biến đổi trở lại gen hoang dã ban đầu.

+ Đột biến ức chế (suppressor mutation): là những thay đổi có vai trò ức chế gen đột biến và phục hồi lại kiểu hình của typ hoang dã bị đột biến

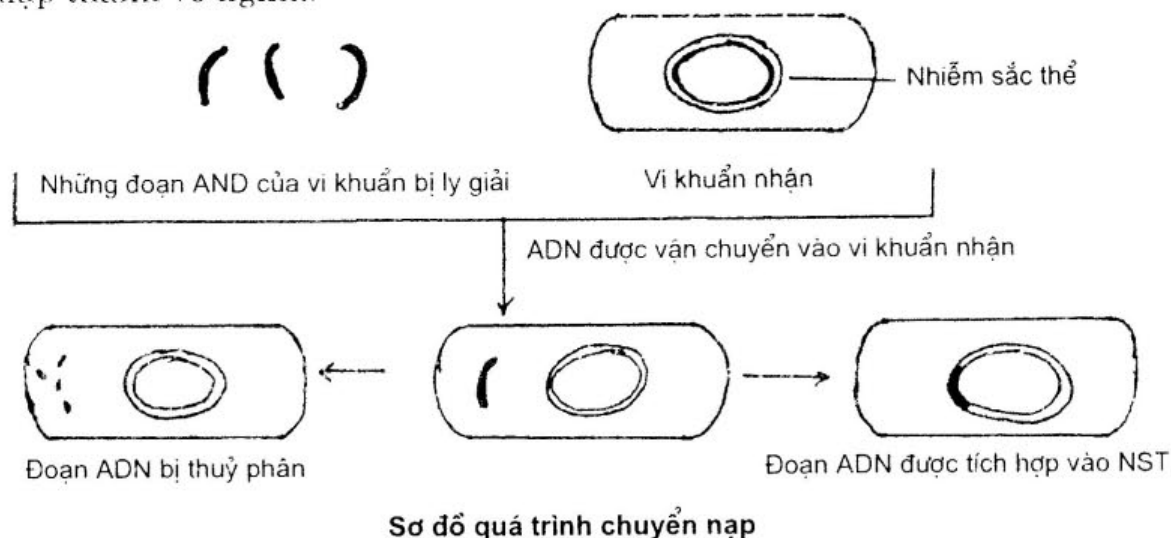
– *Tính chất của đột biến*: rất hiếm xảy ra (xuất đột biến của một gen vào khoảng bé hơn 10^{-5}); Di truyền được; Đột biến xảy ra ngẫu nhiên không định hướng; giữa các loại đột biến là độc lập và không phụ thuộc vào nhau.

2.2. Sự trao đổi di truyền

Đó là sự trao đổi gen giữa hai tế bào vi khuẩn, trong đó có một bên gọi là bên cho (donor cell) và bên kia gọi là bên nhận (recipient cell). Có các hình thức trao đổi sau đây:

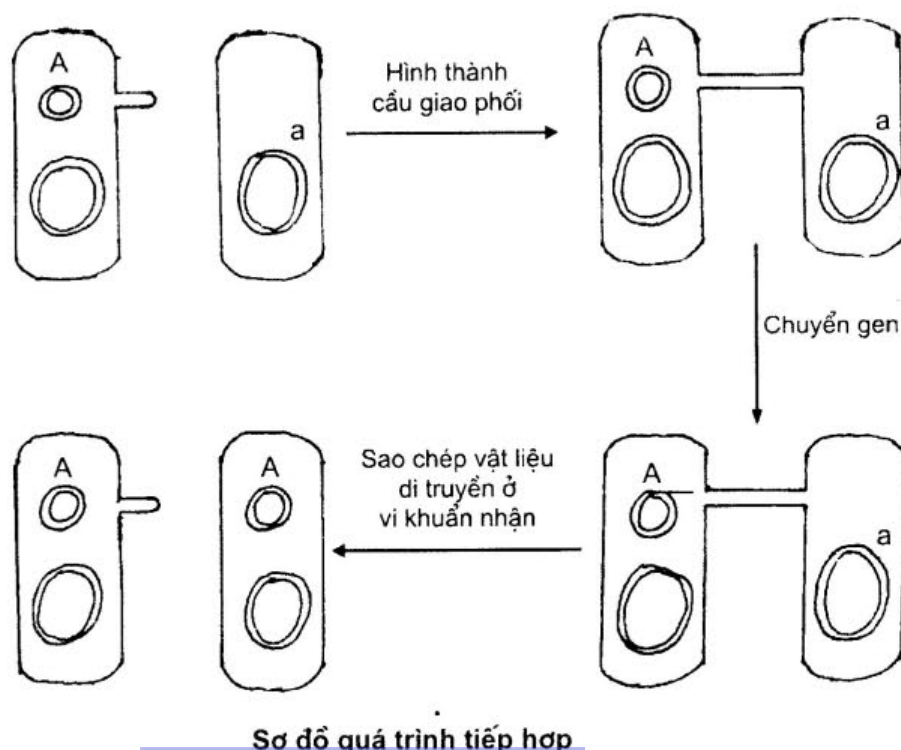
2.2.1. Biến nạp (Transformation)

Là sự vận chuyển một đoạn ADN (có nguồn gốc từ nhiễm sắc thể hoặc plasmid) của một vi khuẩn nào đó bị ly giải vào trong tế bào vi khuẩn nhận. Nếu đoạn ADN được tích hợp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn nhận thì được di truyền cho các thế hệ sau, còn nếu không tích hợp được mà bị giáng hoá thì quá trình biến nạp thành vô nghĩa.



2.2.2. Tiếp hợp (conjugation)

Là sự vận chuyển vật liệu di truyền từ vi khuẩn đực sang vi khuẩn cái khi hai vi khuẩn tiếp xúc với nhau. Một vi khuẩn có yếu tố giới tính F (Fertility-factor) thì ở màng tế bào có cấu trúc đặc biệt là pili giới tính tức là cầu giao phối. Vi khuẩn có yếu tố F là vi khuẩn đực (F^+) và vi khuẩn không có yếu tố F là vi khuẩn cái (F^-).

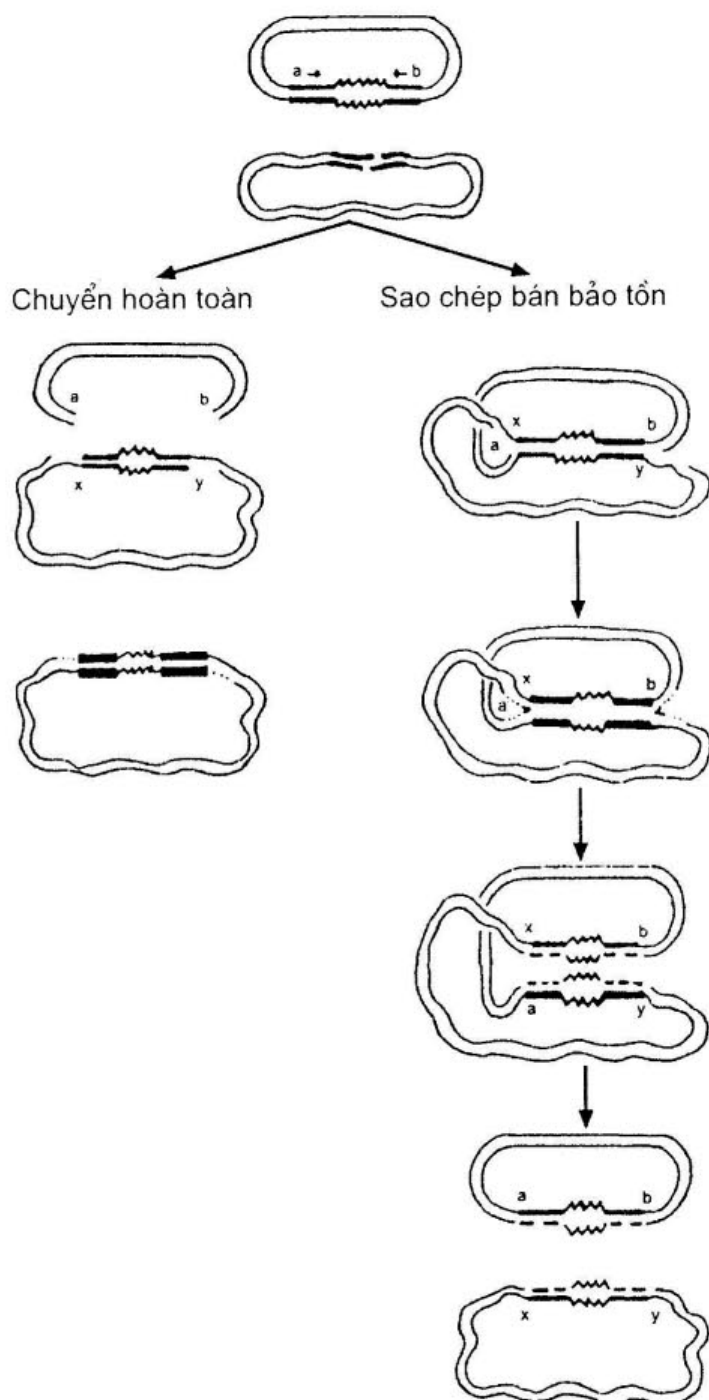


F^+ : yếu tố F nằm trong nguyên tương.

H^{fr} : yếu tố F tích hợp vào nhiễm sắc thể.

F' : yếu tố F sau khi tích hợp vào nhiễm sắc thể lại rời ra nguyên tương, nhưng nó mang theo một đoạn ADN của nhiễm sắc thể.

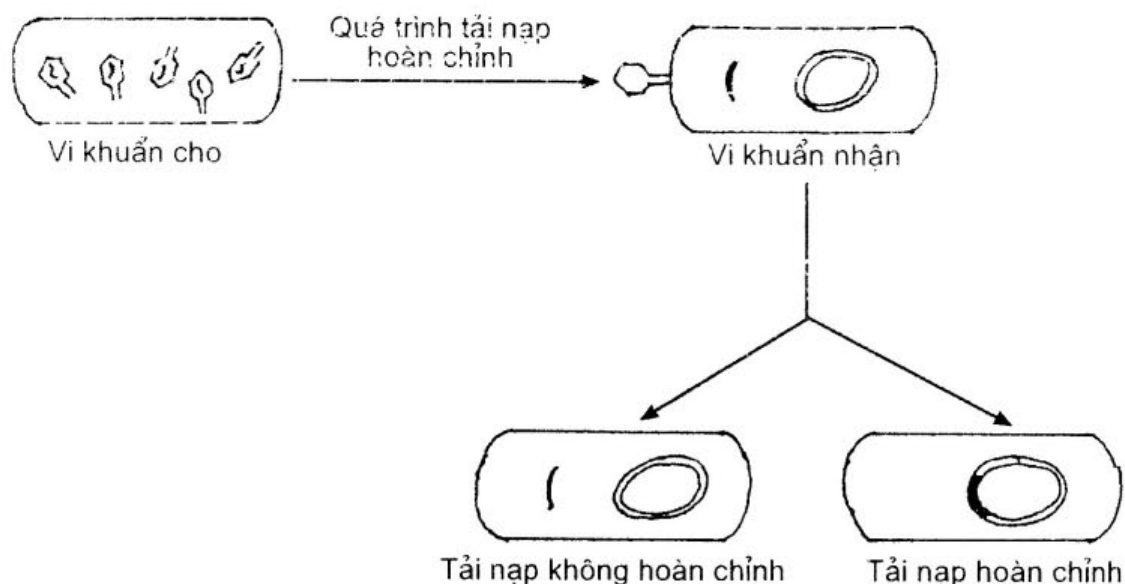
Chú ý: một số vi khuẩn có plasmid lớn có chứa bộ gen extra (Transfer) hoặc RTF (Resistance – Transfer – Factor) cũng có khả năng tiếp hợp với vi khuẩn khác và tự truyền chất liệu di truyền sang vi khuẩn nhận. Một số plasmid nhỏ không có bộ gen extra, nhưng có thể chứa gen *mob* (mobilization) sẽ gắn được vào một plasmid có gen tra nào đó và cùng được truyền sang vi khuẩn nhận.



Sơ đồ cơ chế hoạt động của Transposon

2.2.3. Tải nạp (Transduction):

Là sự vận chuyển những đoạn ADN (có nguồn gốc từ nhiễm sắc thể hoặc plasmid) từ vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận nhờ phage. Đối với những đoạn ADN sang được tích hợp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn nhận và di truyền cho các thế hệ sau thì được gọi là "tải nạp hoàn chỉnh", còn những đoạn ADN không tích hợp được vào nhiễm sắc thể mà chỉ di truyền qua nguyên sinh chất cho một tế bào con khi vi khuẩn phân chia thì được gọi là "tải nạp không hoàn chỉnh".



Sơ đồ quá trình tải nạp

2.3. Sự hoán chuyển gen của Transposon (Tn)

Transposon là một đoạn ADN có chứa một hoặc nhiều gen và có khả năng nhảy từ ADN này sang ADN khác. Ví dụ: Tn3 mang gen kháng ampicilin, Tn5 mang gen kháng kanamycin, Tn10 mang gen kháng tetracyclin. Với khả năng đặc biệt này kết hợp với các hình thức khác như: tiếp hợp, tải nạp, biến nạp thì các gen của transposon có thể lan truyền trong một tế bào vi khuẩn hoặc giữa các vi khuẩn với nhau. Do vậy sự lan truyền của gen đề kháng kháng sinh nằm trên transposon là rất phức tạp và nguy hiểm.

Có hai cơ chế hoán chuyển gen của transposone, đó là:

– Chuyển hoàn toàn: hay còn gọi là cơ chế cắt dán. Trong cơ chế này, ADN transposon bị cắt hoàn toàn từ vị trí cũ để "dán" qua vị trí mới. Bắt đầu là transposase đến tương tác với trình tự đảo hai đầu ADN transposon và kết hợp lại thành một phức hợp gọi là transposome (giả thuyết cho là để bảo vệ hai đầu này khỏi các nuclease của tế bào trong suốt quá trình cũng như đảm bảo những sự kiện tiếp theo bao gồm cắt, chèn và nối hai đầu được xảy ra đồng thời.) Cũng chính transposase là enzyme cắt hai đầu để giải phóng gốc 3'OH tự do, gốc này

sẽ tấn công vào mạch ADN mục tiêu (vị trí chèn sắp tới của transposon). Trình tự của ADN mục tiêu của các transposon thường không đặc hiệu.

Gốc 3' OH trên hai đầu transposon tấn công vị trí ADN mục tiêu dẫn tới sự kiện nối đầu 3 này vào vị trí đó bằng liên kết cộng hóa trị trong phản ứng chuyển vị ester một bước (one-step transesterification reaction) (tương tự trong quá trình splicing của ARN). Bước cuối cùng của phức hợp transposome chính là chuyển vị mạch: cấu trúc tái tổ hợp giữa transposon và ADN mục tiêu sẽ được hoàn chỉnh nhờ tổng hợp ADN.

– Sao chép bán bảo tồn, hay còn gọi là cơ chế sao chép và dán, ngược lại, vẫn giữ nguyên transposon ở vị trí cũ, chỉ tạo thêm một bản sao của nó ở vị trí mới. Bước đầu tiên vẫn là tạo thành phức hợp transposome. Sau đó chỉ một trong hai mạch của transposon bị cắt và tấn công ADN mục tiêu, tạo thành một phức hợp khác giữa phân tử ADN cũ và mới với hai chẻ ba sao chép tại hai đầu của transposon. Chẻ ba sao chép sẽ thu hút các phân tử trong bộ máy tổng hợp ADN của tế bào và kết quả là kết hợp giữa hai phân tử ADN (vị trí cũ và mới) với hai transposon.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu:

- Quá trình tải nạp ở vi khuẩn được thực hiện nhờ:
A. Phage
B. Pili giới tính
C. Transposon
D. Plasmid
- Quá trình tiếp hợp ở vi khuẩn được thực hiện nhờ:
A. Phage
B. Pili giới tính
C. Transposon
D. Màng tế bào vi khuẩn ở trạng thái đặc biệt
- Tần số của nhiều đột biến cùng xảy ra một lúc trên ADN, được tính là:
A. Tổng các đột biến riêng lẻ
B. Tích các đột biến riêng lẻ
C. Bảng tần số đột biến riêng lẻ cao nhất
D. Tích hai tần số đột biến riêng lẻ cao nhất
- Transposon của vi khuẩn có đặc điểm:
A. Là đoạn ADN có hình vòng
B. Là đoạn ADN có kích thước dài
C. Có khả năng nhảy từ ADN này sang ADN khác
D. Có khả năng tổng hợp pili giới tính

5. Để quá trình tiếp hợp có thể xảy ra thì vi khuẩn cho phải thoả mãn điều kiện:
- A. Có pili
 - B. Có pili giới tính
 - C. Có plasmid
 - D. Có lông
6. Một số vi khuẩn **không** thể nhận được gen đề kháng kháng sinh từ vi khuẩn khác, với cơ chế:
- A. Tiếp hợp
 - B. Tải nạp
 - C. Biến nạp
 - D. Đột biến
7. Loại đột biến sau đây **không** xảy ra ở tế bào vi khuẩn:
- A. Đột biến điểm
 - B. Đột biến ngược
 - C. Đột biến thể dị bội
 - D. Đột biến ức chế.

THUỐC KHÁNG SINH ĐỐI VỚI VI KHUẨN

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa, phân loại kháng sinh theo phổ tác dụng.
2. Giải thích đúng cơ chế tác động của kháng sinh đối với vi khuẩn.
3. Nêu được sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn và biện pháp hạn chế gia tăng vi khuẩn kháng kháng sinh.

1. Định nghĩa

Kháng sinh (antibiotics) là những chất có nguồn gốc từ vi sinh vật hay tổng hợp mà ngay ở nồng độ thấp đã có khả năng ức chế hoặc tiêu diệt vi sinh vật một cách đặc hiệu (mỗi kháng sinh chỉ tác động lên một vi khuẩn hay một nhóm vi khuẩn) bằng cách gây rối loạn phản ứng sinh vật ở tầm phân tử.

2. Xếp loại

2.1. Theo nguồn gốc

– *Kháng sinh được sản xuất từ vi sinh vật*: do vi sinh vật như vi khuẩn, nấm, xạ khuẩn tiết ra có tác dụng ngăn cản hay giết chết vi sinh vật khác mà không hoặc ít gây hại cho cơ thể người.

– *Kháng sinh tổng hợp*: kháng sinh do con người tổng hợp nên từ những chất hoá học.

– *Kháng sinh bán tổng hợp*: kháng sinh được tổng hợp từ một nhân cơ bản có nguồn gốc vi sinh vật.

2.2. Theo phổ tác dụng

2.2.1. Kháng sinh có hoạt phổ rộng:

- Là kháng sinh có thể tác dụng lên nhiều loại vi khuẩn, đó là:
- Nhóm aminoglycosid: streptomycin, kanamycin, gentamycin.
- Nhóm tetracyclin: tetracyclin, oxytetracyclin, chlortetracyclin.
- Nhóm chloramphenicol: chloramphenicol, thiamphenicol.
- Nhóm sulfamid và trimethoprim: bactrim.

2.2.2. Kháng sinh có hoạt phổ chọn lọc

- Các dẫn xuất của acid isonicotinic như INH điều trị lao.
- Nhóm macrolit: có tác dụng lên vi khuẩn Gram dương và một số trực khuẩn Gram âm như erythromycin, spiramycin.
- Nhóm polymycin: có tác dụng lên trực khuẩn Gram âm.

2.2.3. Kháng sinh nhóm β lactam

- Penicillin: tác dụng lên vi khuẩn Gram dương bị men penicillinase phân huỷ.
 - Methicillin: tác dụng lên vi khuẩn Gram dương nhưng không bị men penicillinase phân giải, ví dụ oxacillin.
 - Ampicillin, amoxicillin: có hoạt phổ rộng, bị penicillinase phân huỷ.
 - Cephalosporin: có hoạt phổ rộng, không bị phân giải bởi penicillinase.
- Ví dụ: cephalixin, ceftazidim.

3. Cơ chế tác động của kháng sinh

Có thể có nhiều cơ chế tác động của kháng sinh lên vi khuẩn và thậm chí có những cơ chế còn chưa được hiểu biết đầy đủ. Kháng sinh tác động lên vi khuẩn theo một số cơ chế chính sau:

3.1. Ức chế sinh tổng hợp vách

Nhìn chung, kháng sinh có tác động vào nhiều quá trình như ngăn cản quá trình vận chuyển thành phần tạo màng ra ngoài màng, ức chế các men tổng hợp các yếu tố của tế bào vi khuẩn... Nhóm kháng sinh này làm rối loạn quá trình nhân lên của vi khuẩn. Các vi khuẩn vẫn có thể nhân lên nhưng không có vách hoặc vách không hoàn chỉnh, vi khuẩn rất mỏng manh, kích thước dài ra, dễ bị tiêu diệt bởi môi trường xung quanh hoặc bị đại thực bào bắt. Kháng sinh nhóm β lactam, vancomycin có tác dụng lên quá trình tổng hợp vách.

3.2. Gây rối loạn chức năng màng nguyên tương

Kháng sinh gây rối loạn tính thấm của màng nguyên tương, các chất được hợp thành bị thoát ra khỏi tế bào.

Kháng sinh ức chế các quá trình chuyển hoá năng lượng, ảnh hưởng đến sự hô hấp của vi khuẩn

Kháng sinh làm thay đổi tính chất phân chia tế bào, ví dụ như polymyxin B.

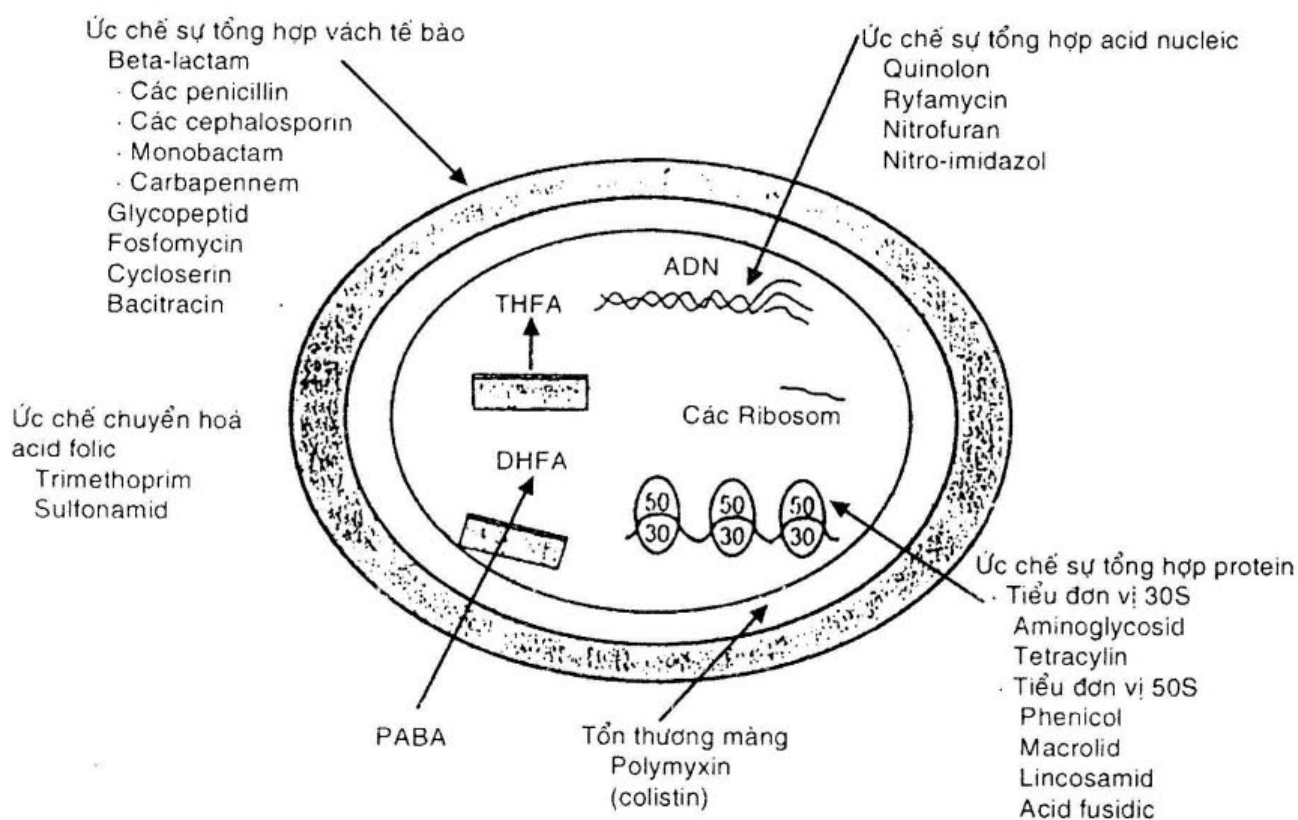
3.3. Ức chế sinh tổng hợp protein và acid nucleic

Kháng sinh gắn lên ARN truyền tin và phần 30S của ribosom làm cho ARN vận chuyển đọc sai thông tin của ARN truyền tin, các protein được tổng hợp bị rối loạn và không có ý nghĩa, ví dụ tetracyclin.

– Kháng sinh tác động lên ARN vận chuyển và phần 50S của ribosom làm rối loạn các tổng hợp protein, ví dụ chloramphenicol.

– Kháng sinh tác động lên acid folic: acid folic là cơ sở cho sự tổng hợp methionin, purin và thymine, từ đó tổng hợp nên protein và các acid nucleic của vi khuẩn. Sulfamid và trimethoprim có cấu trúc hoá học tương tự acid folic và acid paraaminobenzoic, khi sử dụng sulfamid và trimethoprim để điều trị, các phân tử này cạnh tranh enzyme và chiếm chỗ trong quá trình tổng hợp protein và acid nucleic làm cho sự hoạt động của tế bào bị rối loạn.

– Kháng sinh gắn vào phân tử ADN, ngăn cản quá trình sao chép mã di truyền, ngăn cản các polymerase tổng hợp ARN tương tự, đặc biệt các ARN truyền tin. Kháng sinh ngăn cản sự sao chép ADN như nhóm quinolon, các ADN mới không được hình thành.



Cơ chế tác động của kháng sinh đối với vi khuẩn

4. Sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn

4.1. Các loại đề kháng kháng sinh

4.1.1. Đề kháng giả

Vi khuẩn có biểu hiện đề kháng nhưng không do nguồn gốc di truyền. Ví dụ: hiện tượng đề kháng của vi khuẩn khi nằm trong các ổ áp xe lớn hoặc có tổ chức hoại tử bao bọc, kháng sinh không thấm vào được ổ viêm nên không tác

động được vào vi khuẩn gây bệnh. Hoặc khi vi khuẩn ở trạng thái nghỉ (không phát triển, không chuyển hoá) thì không chịu tác dụng của thuốc ức chế quá trình sinh tổng hợp chất như vi khuẩn lao nằm trong hang lao. Có thể gặp hiện tượng kháng thuốc giả khi hệ thống miễn dịch của cơ thể bị suy giảm hoặc chức năng của đại thực bào hạn chế thì cơ thể không đủ khả năng loại trừ những vi khuẩn đã bị kháng sinh ức chế, khi hết kháng sinh, chúng hồi phục và phát triển trở lại.

4.1.2. Đề kháng thật

Đề kháng tự nhiên: một số vi khuẩn không chịu tác động của một số kháng sinh nhất định như *Pseudomonas* không chịu tác dụng của penicillin, tụ cầu không chịu tác dụng của colistin. Đó là sự dung nạp thuốc hoặc các vi khuẩn không có vách như *Mycoplasma* sẽ không chịu tác dụng của kháng sinh ức chế sinh tổng hợp vách như nhóm β lactam.

Đề kháng thu được: do một biến cố di truyền là đột biến hoặc nhận được gen đề kháng làm cho vi khuẩn đang từ không có gen đề kháng trở thành có gen đề kháng. Có thể gặp hiện tượng đề kháng ngoài nhiễm sắc thể: vi khuẩn thường chứa những yếu tố di truyền nằm ngoài nhiễm sắc thể gọi là plasmid. Plasmid mang những gen kháng từ một đến nhiều loại kháng sinh (kháng đa kháng sinh). Ví dụ plasmid mang gen sản xuất β lactamase để phân giải penicillin. Kháng thuốc do plasmid lan truyền rất nhanh giữa các vi khuẩn cùng loài hoặc khác loài thông qua hình thức di truyền như biến nạp, tải nạp.

Thực tế có hiện tượng khá phổ biến là tác dụng chọn lọc của kháng sinh: khi kháng sinh được dùng rộng rãi và không đủ liều lượng thì chính kháng sinh sẽ chọn lọc và giữ lại những dòng vi khuẩn đề kháng kháng sinh.

4.2. Cơ chế đề kháng kháng sinh

Gen đề kháng tạo ra sự đề kháng bằng cách:

Làm giảm tính thấm của màng nguyên tương: gen đề kháng tạo ra một protein đưa ra màng ngăn cản kháng sinh thấm vào tế bào vi khuẩn hoặc làm mất khả năng vận chuyển qua màng do cản trở protein vận chuyển và không đưa kháng sinh vào được trong tế bào.

Làm thay đổi đích tác động: cấu trúc của điểm tác động thay đổi làm cho kháng sinh không gắn vào điểm đó được nữa. Có thể do một protein cấu trúc hoặc do một nucleotid trên tiểu phần 30S hoặc 50S của ribosom bị thay đổi. Ví dụ: streptomycin, erythromycin.

Tạo ra các isoenzym không có ái lực với kháng sinh nữa (không thu hút được kháng sinh) nên không chịu tác động của kháng sinh. Ví dụ: sulfamid và trimethoprim.

Tạo ra enzym làm biến đổi cấu trúc hoá học của phân tử kháng sinh làm mất

tác dụng của kháng sinh hoặc phá huỷ cấu trúc hoá học của phân tử kháng sinh, ví dụ β lactamase làm cho kháng sinh nhóm β lactam mất tác dụng.

Những vi khuẩn kháng kháng sinh thường do phối hợp các cơ chế đề kháng kháng sinh với nhau. Ví dụ nhóm vi khuẩn Gram âm kháng β lactam là do có men β lactamase kết hợp với giảm khả năng gắn với kháng sinh và giảm tính thấm của màng nguyên tương.

4.3. Cơ chế lan truyền đề kháng

Vi khuẩn mang gen đề kháng kháng sinh sẽ được truyền dọc từ thế hệ này sang thế hệ khác qua sự nhân lên của tế bào hoặc có thể được truyền ngang từ vi khuẩn này sang vi khuẩn khác. Cơ chế lan truyền gen đề kháng là:

Trong tế bào: 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: thông qua các hình thức vận chuyển di truyền như tiếp hợp, biến nạp, tải nạp, gen đề kháng chuyển từ tế bào này sang tế bào khác trong cùng một loài hoặc khác loài.

Trong quần thể vi sinh vật: thông qua sự chọn lọc dưới tác dụng của kháng sinh, những vi khuẩn đề kháng được chọn lọc và phát triển sẽ thay thế những vi khuẩn nhạy cảm.

Trong quần thể đại sinh vật: những vi khuẩn đề kháng sẽ được lây lan từ người này sang người khác qua con đường trực tiếp hoặc gián tiếp.

4.4. Một số biện pháp hạn chế gia tăng vi khuẩn kháng kháng sinh

Hiện tượng kháng kháng sinh của vi khuẩn hiện nay rất phổ biến gây ảnh hưởng đến công tác điều trị các bệnh nhiễm khuẩn. Để hạn chế sự gia tăng của vi khuẩn kháng kháng sinh cần chú ý:

Chỉ dùng kháng sinh khi cần thiết để điều trị những bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn gây ra.

Nên điều trị các bệnh nhiễm trùng theo kết quả của kháng sinh đồ, nên dùng kháng sinh có phổ tác dụng hẹp có tác dụng đặc hiệu đối với vi khuẩn gây bệnh.

Dùng kháng sinh đủ liều lượng và đủ thời gian, không nên dùng kháng sinh khi khỏi triệu chứng lâm sàng mà chưa đủ thời gian điều trị.

Tuân thủ các biện pháp diệt trùng, vô khuẩn tránh lan truyền vi khuẩn đề kháng.

Phải theo dõi, giám sát liên tục sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn trong điều trị và nghiên cứu.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột D cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	D	S
1	Gen kháng kháng sinh được truyền dọc là truyền từ thế hệ này đến thế hệ khác.		
2	Vi khuẩn có khả năng tiết ra men làm thay đổi cấu trúc của kháng sinh.		
3	Đề kháng kháng sinh giả là hiện tượng kháng có nguồn gốc di truyền.		
4	Đề kháng tự nhiên là hiện tượng biến cố di truyền.		
5	Kháng sinh có thể gây rối loạn tính thấm của màng nguyên tương.		
6	Kháng sinh có phổ tác dụng rộng là có khả năng giết chết một số lượng lớn vi khuẩn.		
7	Những chất làm ức chế sự phát triển của vi khuẩn đều được gọi là kháng sinh		
8	Kháng sinh có phổ tác dụng chọn lọc là chỉ tác dụng đặc hiệu với một hoặc một số vi khuẩn.		
9	Kháng sinh có thể được tổng hợp từ những chất hoá học.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

10. Biện pháp sau hạn chế sự gia tăng hiện tượng kháng kháng sinh của vi khuẩn:

- A. Chỉ dùng một loại kháng sinh
- B. Điều trị theo kháng sinh đồ
- C. Dùng kháng sinh đủ liều và đủ thời gian
- D. Cả B + C

11. Kháng thuốc do plasmid là hình thức lan truyền:

- A. Di truyền
- B. Trong quần thể vi sinh vật
- C. Trong tế bào
- D. Do nhiễm sắc thể

12. Kháng sinh có hoạt phổ chọn lọc là:

- A. Một loại vi khuẩn bị tác động
- B. Một nhóm vi khuẩn bị tác động

- 
**THƯ VIỆN
HUBT**
 TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

ĐẠI CƯƠNG VIRUS

(3 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa và tính chất chung của virus.
2. Giải thích đúng các giai đoạn nhân lên của virus và hậu quả của sự tương tác giữa virus và tế bào.
3. Nêu được các phương pháp chẩn đoán virus bằng xét nghiệm.

1. Định nghĩa virus

Virus là một đơn vị sinh học nhỏ bé có khả năng biểu thị những tính chất cơ bản của sự sống khi nó tìm thấy trong tế bào sống cảm thụ những điều kiện cần thiết cho sự nhân lên của nó.

2. Tính chất của virus

2.1. Kích thước

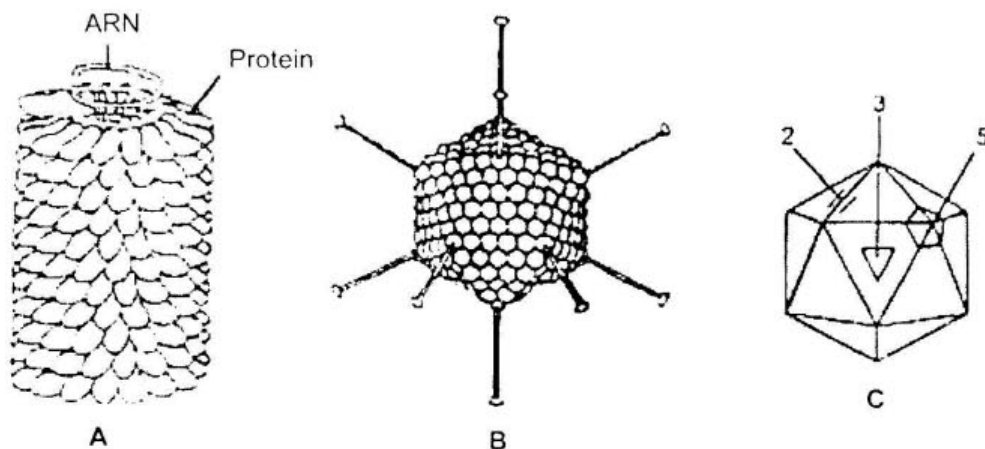
Virus rất nhỏ, kích thước 20–300 nanômet ($\text{nm} = 10^{-6}\text{mm}$). Do kích thước nhỏ nên không nhìn thấy được ở kính hiển vi thường mà phải quan sát ở kính hiển vi điện tử có độ phóng đại hàng vạn lần.

2.2. Hình thể

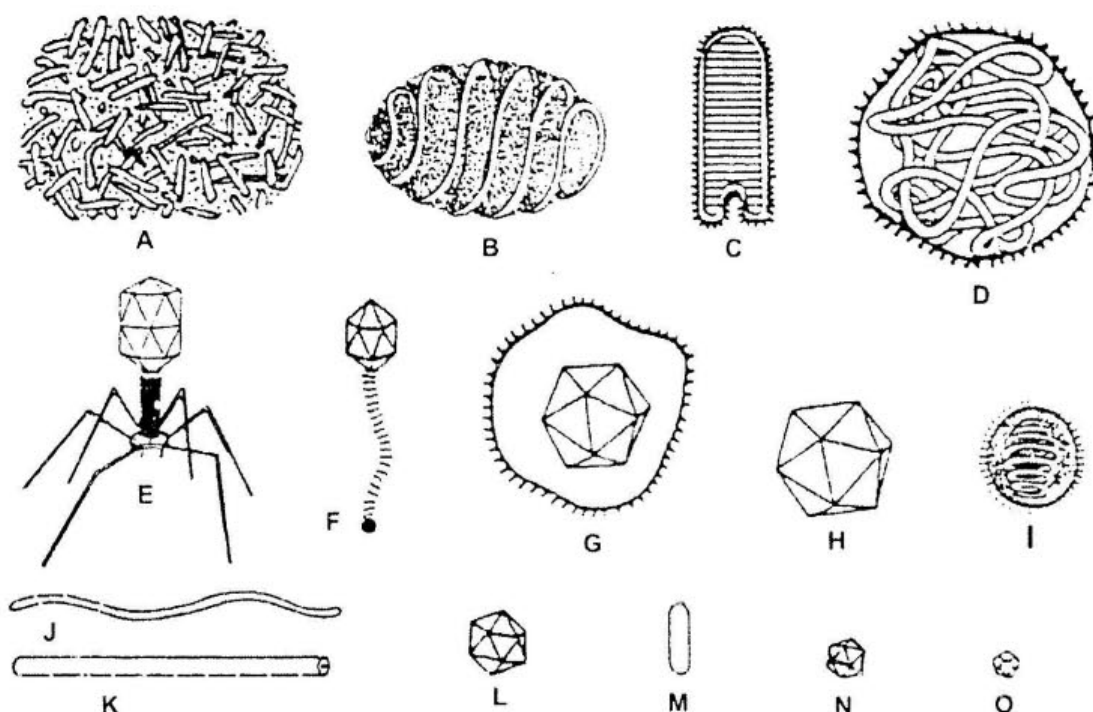
Virus có hình que, hình khối, hình cầu, hình xoắn, hình sợi... Một số virus trong quá trình phát triển hình thành trong tế bào mà chúng ký sinh những tập đoàn virus gọi là thể bao hàm. Những thể này có thể quan sát được ở kính hiển vi thường.

Hình thể mỗi loại virus rất khác nhau nhưng luôn ổn định với từng loại virus. Tùy theo cách sắp xếp của acid nucleic và vỏ capsid mà virus được chia hai loại đối xứng:

- Đối xứng hình xoắn ốc: acid nucleic và các capsomer sắp xếp dọc theo hình lò xo.
- Đối xứng hình khối: acid nucleic và các capsomer sắp xếp thành các hình khối đa diện.



A. Đối xứng hình xoắn ốc; B, C. Đối xứng hình khối



Hình thể virus

A. Virus đậu người; B. Virus đậu bò; C. Virus dại; D. Virus quai bị; E, F. Phage; G. Herpes; H. Adeno virus; I. Virus cúm; J, K. Virus hình sợi; L. Virus Poliome papova; M. Virus đốm vàng thuốc lá; N. Virus bại liệt; O, N. Virus bại liệt

2.3. Cấu trúc

Virus có cấu trúc đơn giản, không có men hô hấp và chuyển hoá.

2.3.1. Cấu trúc cơ bản

Cấu trúc cơ bản còn gọi là cấu trúc chung của virus gồm hai thành phần chính mà tất cả các virus đều phải có:

Acid nucleic (AN): mỗi virus hoàn chỉnh đều có một trong hai loại acid nucleic: ADN hoặc ARN. Những virus mang ADN phần lớn là sợi kép, virus mang ARN chủ yếu là dạng sợi đơn.

Các AN của virus chỉ chiếm 1–2% trọng lượng virus nhưng có các chức năng quan trọng như:

- + Mang mọi mật mã di truyền đặc trưng cho từng virus.
- + Quyết định khả năng gây nhiễm của virus trong tế bào cảm thụ.
- + Quyết định sự nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ.
- + Mang tính bán kháng nguyên đặc hiệu của virus.

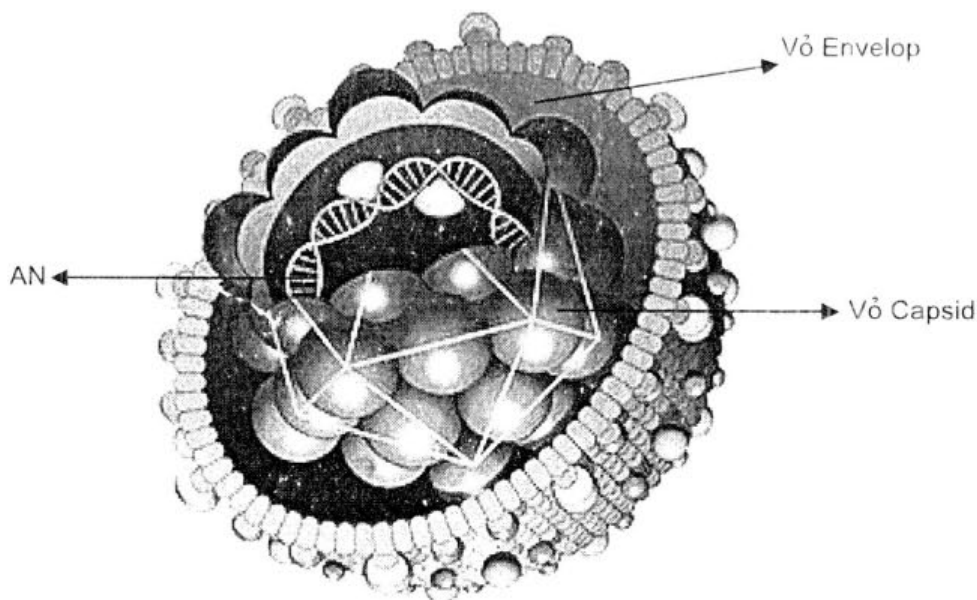
– *Vỏ capsid*: capsid là cấu trúc bao quanh acid nucleic được cấu tạo bởi các đơn vị cấu trúc (capsomer) là những phân tử protein giống hệt nhau và sắp xếp đặc trưng cho từng virus. Có thể sắp xếp đối xứng xoắn, đối xứng khối hoặc đối xứng phức hợp. Vỏ virus có chức năng:

- + Bảo vệ AN.
- + Tham gia vào sự bám của virus vào những vị trí đặc hiệu của tế bào cảm thụ (nếu virus không có vỏ envelop).
- + Mang tính kháng nguyên đặc hiệu.
- + Giữ cho virus có hình thể và kích thước nhất định.

2.3.2. Cấu trúc đặc biệt

Cấu trúc đặc biệt còn gọi là cấu trúc riêng chỉ có ở một số virus.

– *Bao ngoài (envelop)*: một số virus ở bên ngoài vỏ capsid còn có một lớp vỏ bao. Vỏ envelop có bản chất là một phức hợp protein – lipid – carbohydrat. Trên vỏ bao của một số virus còn có những núp lồi lên hoặc những gai nhú mang chức năng đặc biệt. Ví dụ: gp 120 của HIV hoặc hemagglutinin của virus cúm.



Chức năng của bao ngoài:

- + Tham gia vào sự bám của virus trên tế bào cảm thụ.
- + Lắp ráp và giải phóng virus ra khỏi tế bào.

+ Tham gia vào sự hình thành tính ổn định kích thước của virus.

+ Tạo nên các kháng nguyên đặc hiệu trên bề mặt virus.

– *Enzym*: virus không có men chuyển hoá và hô hấp nhưng có men cấu trúc gắn với cấu trúc của hạt virus hoàn chỉnh. Ví dụ: men neuraminidase của virus cúm, men sao chép ngược của HIV... Men cấu trúc mang tính kháng nguyên riêng đặc hiệu cho mỗi virus.

2.4. Tính chất ký sinh

Virus không có khả năng phát triển và tự nhân lên mà chỉ nhân lên khi xâm nhập vào tế bào sống. Trong quá trình nhân lên, chỉ có acid nucleic có vai trò quyết định, các thành phần khác chỉ có vai trò hỗ trợ. Mỗi virus chỉ ký sinh và nhân lên ở một số tế bào nhất định.

2.5. Sức đề kháng của virus

Virus có khả năng chịu lạnh tốt, ít có khả năng chịu nhiệt cao và tia tử ngoại

Virus bị ảnh hưởng bởi các hoá chất như cồn, acid, kiềm, formol, phenol...

Virus không có men chuyển hoá và hô hấp nên không bị tác động bởi các kháng sinh.

3. Sự nhân lên của virus

Virus chỉ nhân lên được trong tế bào cảm thụ. Virus chỉ huy tế bào tổng hợp ra các thành phần cấu trúc của virus. Quá trình nhân lên qua các giai đoạn:

3.1. Giai đoạn hấp phụ

Virus di chuyển trong các dịch gian bào tìm tế bào cảm thụ. Sau đó virus sẽ gắn các vị trí cấu trúc đặc hiệu trên bề mặt virus vào các điểm tiếp nhận (receptor) của tế bào cảm thụ. Ví dụ: các gai nhú gp 120 của HIV được gắn vào CD₄ của tế bào lympho T.

3.2. Giai đoạn xâm nhập

Virus xâm nhập tế bào bằng nhiều cách (thực bào, hoà màng và enzym). Enzym cởi vỏ của tế bào sẽ giúp virus cởi vỏ, giải phóng acid nucleic. Virus qua màng tế bào theo cơ chế ẩm bào: virus làm cho màng tế bào lõm dần rồi xâm nhập vào bên trong tế bào. Sau khi enzym của virus làm thủng vách tế bào, vỏ capsid của virus co bóp bơm acid nucleic qua vách tế bào vào nguyên sinh chất.

3.3. Giai đoạn tổng hợp các thành phần cấu trúc của virus

Đây là giai đoạn phức tạp nhất của quá trình nhân lên của virus và phụ thuộc vào loại acid nucleic của virus. Sau khi những thông tin di truyền của virus gắn vào những thông tin di truyền của tế bào cảm thụ, nó điều khiển tế bào

tổng hợp các chất từ bản thân tế bào ra những vật liệu cho sự hình thành các hạt virus mới.

Ví dụ: ARN của virus HIV vào tế bào cảm thụ, nhờ enzym sao chép ngược ADN polymerase tổng hợp nên ADN trung gian. ADN này tích hợp vào nhiễm sắc thể của tế bào cảm thụ và là khuôn mẫu để tổng hợp nên ARN của virus và đây cũng là ARN_m để tổng hợp nên các thành phần cấu trúc khác của virus.

3.4. Giai đoạn lắp ráp

Những thành phần cấu trúc của virus sau khi được tổng hợp sẽ nhờ enzym cấu trúc của virus hoặc enzym của tế bào cảm thụ lắp ráp theo khuôn mẫu của virus gây bệnh tạo thành những hạt virus mới.

3.5. Giai đoạn giải phóng

Tuỳ theo chu kỳ nhân lên của từng loại virus mà sau vài giờ đến vài ngày tế bào cảm thụ bị phá vỡ giải phóng hàng loạt virus ra khỏi tế bào để lại xâm nhập vào tế bào khác tiếp tục một chu kỳ mới. Virus cũng có thể được giải phóng ra khỏi tế bào theo kiểu nảy chồi của tế bào, từng hạt virus ra khỏi tế bào từ vị trí nảy chồi đó. Đa số virus được giải phóng theo kiểu phá huỷ màng tế bào.

4. Hậu quả của sự tương tác giữa virus và tế bào

4.1. Huỷ hoại tế bào

Sau khi virus nhân lên trong tế bào thì hầu hết các tế bào bị phá huỷ. Có thể đánh giá sự phá huỷ tế bào bằng hiệu quả gây bệnh cho tế bào hoặc các ổ tế bào bị hoại tử. Mỗi ổ tế bào hoại tử đó được gọi là một đơn vị plaque. Biểu hiện của các bệnh nhiễm trùng do virus là sự huỷ hoại tế bào. Một số tế bào có thể sau khi nhiễm virus chưa bị huỷ hoại nhưng chức năng tế bào sẽ bị thay đổi.

4.2. Sự sai lạc nhiễm sắc thể của tế bào

Sau khi virus nhân lên trong tế bào, nhiễm sắc thể của tế bào có thể bị gãy, bị sắp xếp lại gây ra hậu quả:

Dị tật bẩm sinh: phụ nữ có thai trong những tháng đầu bị bệnh do virus có thể làm sai lạc nhiễm sắc thể gây dị tật bẩm sinh cho thai nhi.

Sinh khối u: virus có thể làm thay đổi kháng nguyên bề mặt tế bào làm mất khả năng ức chế do tiếp xúc khi tế bào sinh sản.

4.3. Tạo ra các hạt virus không hoàn chỉnh

Đó là các hạt virus thiết hụt, không có khả năng gây nhiễm cho tế bào nhưng có thể chiếm acid nucleic của virus tương ứng để trở nên gây bệnh.

4.4. Tạo ra tiểu thể trong tế bào

Các virus hoặc các thành phần của virus chưa được lắp ráp không được giải phóng ra khỏi tế bào mà tồn tại trong nguyên sinh chất tạo ra các tiểu thể gây tổn thương cho tế bào. Ví dụ tiểu thể Negri ở tế bào thần kinh bệnh nhân dại. Cũng có thể là các hạt phản ứng của tế bào khi nhiễm virus. Các tiểu thể này có thể nhuộm soi dưới kính hiển vi quang học.

4.5. Hậu quả của sự tích hợp genom của virus vào ADN của tế bào

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

Tạo nên các khối u hoặc ung thư do sau tích hợp tế bào sẽ sinh sản quá mức vì virus mang theo gen ung thư hoặc kích thích gen ung thư của tế bào hoạt động. Những tế bào ung thư sẽ bị thay đổi kháng nguyên bề mặt.

Tạo nhiễm trùng virus tiềm tan: các virus ôn hoà xâm nhập vào tế bào, genom của virus sau khi tích hợp vào ADN của tế bào sẽ được phân chia với tế bào. Các tế bào mang gen virus đó khi gặp những kích thích sinh học, hoá học, lý học thì sẽ trở thành virus độc lực có thể gây ly giải tế bào. Những tế bào tiềm tan đó có khả năng bị ly giải và được gọi là tế bào mang provirus (tiền virus).

4.6. Sản xuất interferon

Interferon là một protein do những tế bào cảm thụ với virus sinh sản ra, interferon ức chế hoạt động của ARN_m , đóng vai trò ức chế tổng hợp protein của virus. Sự hình thành interferon không bảo vệ được tế bào tổn thương bởi virus nhưng ngăn cản sự lan toả của quá trình nhiễm virus sang tế bào lân cận. Do vậy, interferon được sử dụng như một chất điều trị không đặc hiệu cho mọi nhiễm trùng do virus.

5. Các phương pháp chẩn đoán virus

5.1. Chẩn đoán trực tiếp

5.1.1. Bệnh phẩm

Muốn cho việc chẩn đoán chính xác cần phải lấy bệnh phẩm đúng kỹ thuật. Cần phải biết rõ thời gian nhiễm virus và cơ quan nhiễm virus. Tốt nhất là lấy bệnh phẩm sớm trong vòng 1–3 ngày đầu. Loại bệnh phẩm được lấy tùy theo từng bệnh, tùy theo từng nơi tổn thương và triệu chứng lâm sàng. Bệnh phẩm có thể là dịch họng mũi, dịch não tủy, máu, tổ chức nếu là tử thi.

Tất cả mọi bệnh phẩm phải được bảo quản trong dây chuyền lạnh và được phân lập trong vòng một vài giờ.

5.1.2. Phân lập virus

Đối với các bệnh phẩm ở trong các khoang kín không có khả năng nhiễm

khuẩn như máu, dịch não tủy, mảnh tổ chức sinh thiết... thì không cần xử lý với kháng sinh. Những bệnh phẩm có thể bội nhiễm như dịch mũi họng, phân, nước tiểu... thì phải diệt khuẩn và nấm bằng kháng sinh ở nồng độ thích hợp rồi mới phân lập.

Phương pháp nuôi cấy tế bào: tùy theo tính cảm thụ của riêng từng virus mà nuôi cấy vào tế bào thích hợp. 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 hay côn trùng được nuôi cấy thành một lớp 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, tế bào thận thai chó, thận bào thai lợn, tế bào xơ bào thai gà, tế bào bào thai người.

Tế bào thường trực: tế bào thường trực cũng là tế bào có nguồn gốc từ động vật, côn trùng được cấy chuyển nhiều lần trong phòng thí nghiệm mà không bị thay đổi về hình thái, cấu trúc, chức năng cũng như tính cảm thụ với virus. Các tế bào thường trực hiện nay hay dùng là tế bào Vero, Hela, C6/36...

Sau khi nuôi cấy virus, 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 typ virus, người ta dùng kháng huyết thanh mẫu để làm phản ứng trung hoà hay phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu theo nguyên lý sau:

VR + TB → TB bị huỷ hoại

VR + Kháng HT đặc hiệu + TB → TB không bị huỷ hoại.

Phương pháp tiêm truyền bệnh phẩm vào súc vật cảm nhiễm:

Tùy từng loại bệnh mà chọn súc vật gây bệnh thực nghiệm khác nhau. Các súc vật thường dùng là chuột nhắt mới sinh, chuột bạch, khỉ, bào thai gà... hoặc có thể tiêm truyền cho muỗi. Đường tiêm truyền có thể là dưới da, trong da, phúc mạc, giác mạc, não... tùy từng virus. Sau khi tiêm truyền phải nuôi dưỡng súc vật chu đáo, theo dõi về tình hình phát bệnh. Khi súc vật bị bệnh, mổ lấy những bộ phận thích hợp để xét nghiệm. Nếu súc vật không chết thì lấy máu tìm kháng thể trong huyết thanh.

Phương pháp nuôi cấy phân lập trên bào thai gà

Thường dùng trứng gà ấp được 8–11 ngày, soi lên đèn trong buồng tối để xác định buồng hơi và vị trí bào thai. Đục một lỗ ở buồng hơi rồi chọc kim tiêm vào, bơm khoảng 0,2ml bệnh phẩm vào vị trí đã xác định (tùy theo từng loại virus). Cuối cùng dùng parafin nóng chảy hàn kín lỗ thủng lại và tiếp tục cho ấp 35–36°C với thời gian tùy từng loại virus.

5.1.3. Xác định virus

Sau khi phân lập virus, có thể xác định và định typ được virus bằng một trong các phương pháp sau:

- Kỹ thuật ngưng ngưng ngưng kết hồng cầu.
- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang.
- Kỹ thuật ELISA.

5.1.4. Kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction)

5.2. Chẩn đoán gián tiếp

5.2.1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm là máu không có chất chống đông, máu để đông rồi chắt lấy phần huyết thanh. Cần phải lấy máu bệnh nhân hai lần: lần thứ nhất sau 3–4 ngày từ khi bệnh khởi phát hoặc ngay sau khi bệnh nhân vào viện. Lần thứ 2 cách lần đầu 7 ngày. Huyết thanh hai lần được bảo quản ở -20°C để làm phản ứng trong cùng thời gian (huyết thanh kép) xác định động lực kháng thể.

5.2.2. Các phản ứng

Phản ứng miễn dịch gắn enzym (ELISA) để chẩn đoán nhanh, hiện nay thường được sử dụng.

Phản ứng huyết thanh trung hoà. Dùng chủng virus đã phân lập từ trước được bảo quản ở phòng thí nghiệm trộn với huyết thanh bệnh nhân cần chẩn đoán rồi cấy vào tế bào nuôi cấy hoặc tiêm truyền cho súc vật cảm nhiễm. Nếu trong huyết thanh có kháng thể sẽ trung hoà virus thì tế bào nuôi cấy không bị huỷ hoại hoặc không gây được bệnh thực nghiệm.

Phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu: một số virus gây ngưng kết hồng cầu. Nếu trong huyết thanh bệnh nhân có kháng thể kháng virus đó thì khi trộn virus với huyết thanh và hồng cầu thì kháng thể sẽ làm mất khả năng ngưng kết hồng cầu của virus.

Phản ứng kết hợp bổ thể: dùng tổ chức bị nhiễm virus làm kháng nguyên. Nguyên lý cũng giống phản ứng kết hợp bổ thể chẩn đoán bệnh do vi khuẩn nhưng cần chú ý cho bổ thể tránh thừa hoặc thiếu. Bổ thể thường được lấy ở chuột lang dục để dùng cho phản ứng này.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Virus có kích thước khoảng:

- | | |
|-------------------------|-----------------------------|
| A. Vài đến vài chục nm | B. Vài chục đến vài trăm nm |
| C. 0,1–10 μm | D. Vài mm |
| E. Tất cả đều sai | |

2. Các loại virus đều có đặc điểm sau:
- A. Kích thước vài μm
 - B. Có vỏ envelop
 - C. Bị tiêu diệt bởi kháng sinh
 - D. Nhân lên trong tế bào sống
3. Virus không có tính chất sau:
- A. Nhỏ nhất trong các loại sinh vật
 - B. AN là ADN hoặc ARN
 - C. AN chiếm 1–2 % trọng lượng
 - D. Có men chuyển hoá
4. Sau giai đoạn hấp phụ của virus vào tế bào cảm thụ là giai đoạn:
- A. Giai đoạn tổng hợp
 - B. Giai đoạn lắp ráp
 - C. Giai đoạn xâm nhập
 - D. Giai đoạn giải phóng
5. Khi phụ nữ có thai bị nhiễm virus có thể gây dị tật bẩm sinh cho thai nhi do:
- A. Làm thay đổi kháng nguyên bề mặt tế bào
 - B. Sai lệch nhiễm sắc thể
 - C. Tạo ra các hạt virus không hoàn chỉnh
 - D. Tạo ra virus tiềm tan
6. Yếu tố quan trọng nhất trong quá trình nhân lên của virus là:
- A. ADN của tế bào
 - B. ADN của virus
 - C. ARN của virus
 - D. AN của virus
7. Acid nucleic của virus có chức năng sau:
- A. Bảo vệ virus
 - B. Mang tính kháng nguyên đặc hiệu
 - C. Quyết định sự nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ
 - D. Giữ cho virus có kích thước nhất định
8. Vỏ capsid của virus được cấu tạo bởi:
- A. Các phân tử protein
 - B. Các phân tử lipid
 - C. Các polysaccharid
 - D. Các loại đường đơn
9. Chức năng vỏ capsid của virus là:
- A. Mang mật mã di truyền
 - B. Mang tính kháng nguyên bán đặc hiệu
 - C. Quyết định sự nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ
 - D. Giữ cho virus có kích thước và hình thể nhất định
10. Chức năng vỏ bao ngoài của virus:
- A. Tạo nên các kháng nguyên đặc hiệu trên bề mặt virus
 - B. Tổng hợp những chất cần thiết cấu tạo virus
 - C. Quyết định sự nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ
 - D. Mang các men chuyển hoá

BACTERIOPHAGE

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa và các đặc điểm sinh học của Bacteriophage
2. Nêu đúng phân loại và ứng dụng của Bacteriophage

Bacteriophage được gọi tắt là phage

Năm 1898, Gamaleia người Nga phát hiện thấy hiện tượng các vi khuẩn dịch hạch nuôi cấy trên môi trường rồi không thấy vi khuẩn nữa. Năm 1915, Twort phát hiện ra hiện tượng này trên cầu khuẩn và xác định nguyên nhân là *Bacteriophage*

Năm 1917, Herelle phát hiện được phage trên vi khuẩn lỵ. Sau đó người ta đã phát hiện được các loại phage trên các loại vi khuẩn.

1. Định nghĩa

Bacteriophage là virus mà tế bào cảm thụ là vi khuẩn, nó là virus của vi khuẩn và có khả năng gây bệnh cho vi khuẩn.

2. Những đặc điểm sinh học của phage

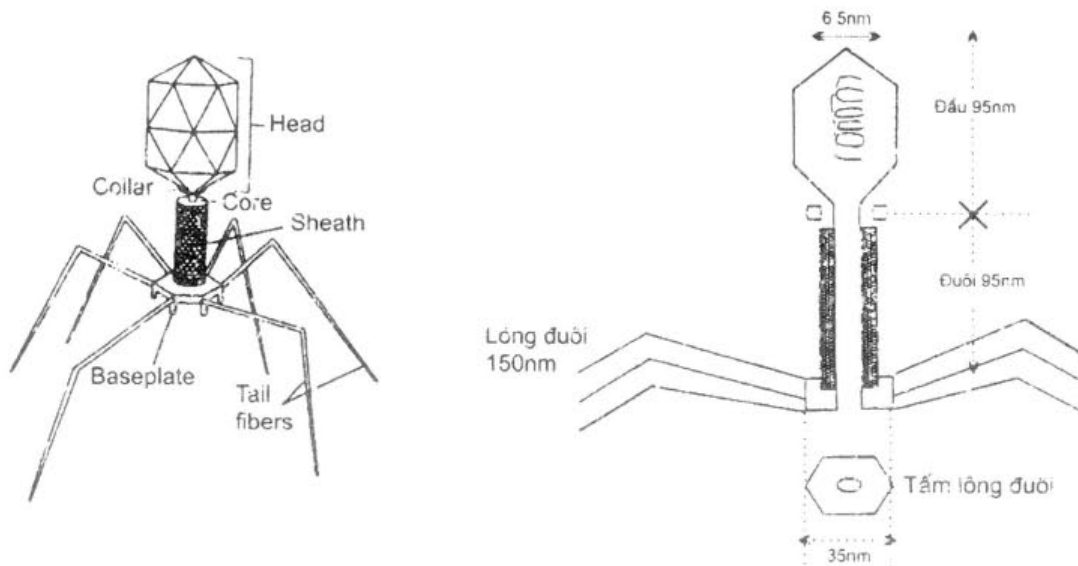
2.1. Cấu trúc

Phage có nhiều hình dạng (hình sợi, hình cầu...) nhưng điển hình là cấu trúc hỗn hợp. Cấu trúc hỗn hợp vừa có cấu trúc hình khối, vừa có cấu trúc hình xoắn. Tất cả các loại phage cấu trúc hỗn hợp gồm ba phần:

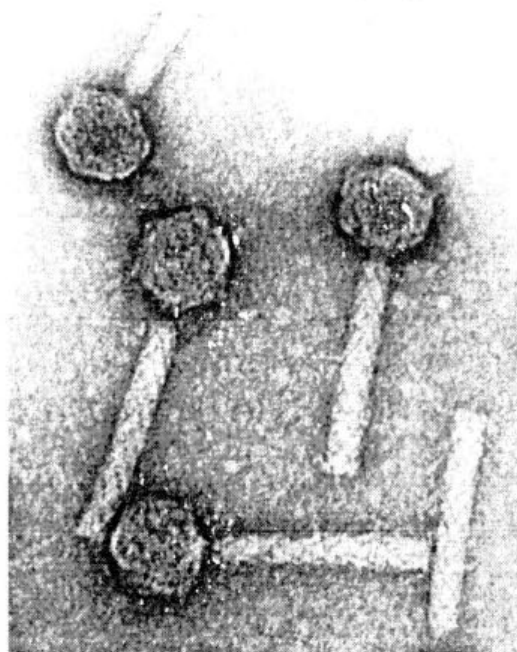
– **Đầu:** hình khối lục giác được cấu tạo bởi nhiều capsomer, bên trong chứa acid nucleic hầu hết là ADN, một số rất ít chứa ARN. Acid nucleic là một sợi rất dài chiếm tới 40% trọng lượng cơ thể. Đầu có chiều rộng khoảng 65nm và chiều dài khoảng 95nm.

– **Đuôi:** đuôi có cấu trúc dạng hình xoắn dài khoảng 95nm nối tiếp với phần đầu. Đuôi có hai lớp: lớp bên trong cứng hình ống thông với khoang đầu. Lớp ngoài hình xoắn có chiều rộng khoảng 20nm cấu tạo bởi protein và co bóp được theo chiều dọc như lò xo. Phía cuối đuôi là tấm đuôi có 6 cạnh đều nhau rộng khoảng 35nm.

– **Lông đuôi:** mỗi phage có 6 lông đuôi, mỗi lông đuôi dài 150nm được gắn vào mỗi đỉnh của tấm đuôi. Lông đuôi tác dụng giúp phage bám vào tế bào vi khuẩn.



Sơ đồ cấu trúc của phage



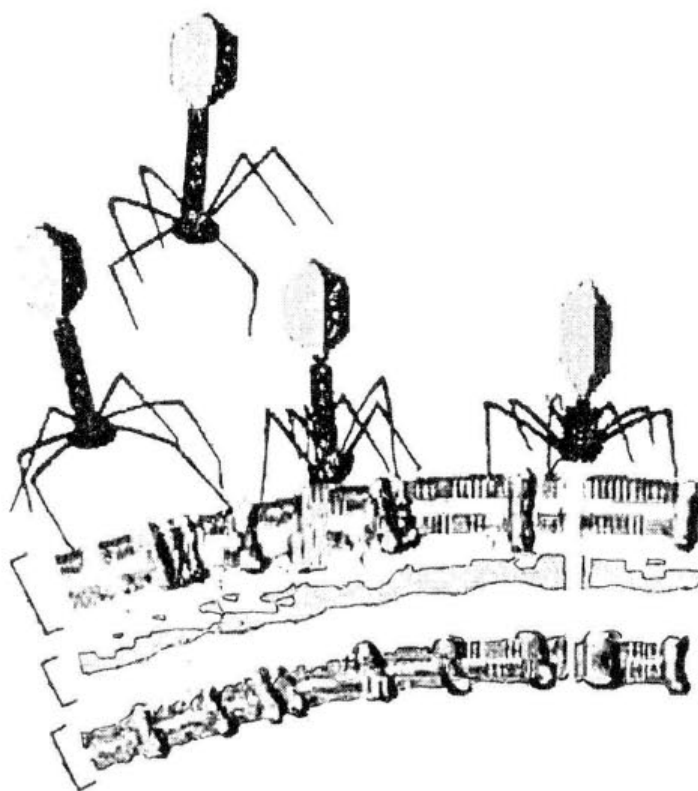
Phage dưới kính hiển vi điện tử

2.2. Sự nhân lên của phage

Khi phage gặp vi khuẩn tương ứng, phage sẽ cố định vào các điểm tiếp nhận của vách tế bào bằng những sợi lông đuôi. Mỗi phage chỉ cố định vào một loại vi khuẩn vì phage có tính chất đặc hiệu typ đối với vi khuẩn. Sau khi bám vào vi khuẩn, phage dùng men lysozym phá màng tế bào vi khuẩn. Ống cứng bên trong đuôi được cắm vào nguyên sinh chất tế bào vi khuẩn nhờ sự co lại của vỏ bên ngoài đuôi. Sau đó AN (ADN hoặc ARN) ở đầu phage được bơm vào bên trong tế bào vi khuẩn. Vỏ của phage ở bên ngoài rồi tự tiêu hủy.

Ở trong tế bào vi khuẩn, AN của phage sẽ chỉ huy mọi hoạt động của tế bào

vi khuẩn để tổng hợp các thành phần cấu trúc của phage, các thành phần này sẽ lắp ráp thành những phage hoàn chỉnh. Cuối cùng tế bào bị phá vỡ giải phóng các phage thường ở phút thứ 25. Mỗi tế bào vi khuẩn có thể giải phóng từ một trăm đến vài trăm phage.



3. Phân loại phage

3.1. Phage độc lực

Là phage khi xâm nhập vào tế bào vi khuẩn thì chúng có khả năng nhân lên và phá huỷ tế bào vi khuẩn đó.

3.2. Phage ôn hoà

Trong một số trường hợp, sau khi acid nucleic của phage vào tế bào vi khuẩn thì nó gắn vào genom của vi khuẩn, tồn tại và phân chia cùng genom của vi khuẩn. Trường hợp này được gọi là prophage (tiền phage). Khi gặp điều kiện thích hợp thì acid nucleic của phage được hoạt hoá, chỉ huy quá trình tổng hợp các phage mới gây bệnh cho tế bào vi khuẩn như phage độc lực.

4. Ứng dụng của phage

4.1. Chẩn đoán và định loại vi khuẩn

Mỗi phage có thể nhân lên đặc hiệu ở một loại vi khuẩn nhất định và gây bệnh cho vi khuẩn đó. Trong định loại vi khuẩn đặc biệt trong điều tra dịch tễ,

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột D cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	D	S
5	Phage chỉ gây bệnh cho vi khuẩn		
6	Mỗi phage có thể có ADN và ARN		
7	Các phage đều có thể xâm nhập được vào các loại tế bào vi khuẩn trên môi trường nuôi cấy		
8	Sự nhân lên của phage cũng giống sự nhân lên của virus khác trong tế bào		
9	Khi gặp tế bào vi khuẩn, chỉ có acid nucleic của phage mới xâm nhập vào nguyên sinh chất tế bào		
10	Phage ôn hoà là phage cùng tồn tại với tế bào vi khuẩn		

KHÁNG NGUYÊN – KHÁNG THỂ

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được những khái niệm cơ bản về kháng nguyên và các thành phần kháng nguyên của vi sinh vật.
2. Nêu đúng định nghĩa, tính chất của kháng thể và các loại kháng thể.

1. Kháng nguyên (antigen)

1.1. Những khái niệm cơ bản về kháng nguyên

1.1.1. Định nghĩa kháng nguyên

Kháng nguyên là những chất mang dấu hiệu thông tin di truyền lạ khi xâm nhập vào cơ thể thì kích thích cơ thể hình thành một đáp ứng miễn dịch đặc hiệu và kết hợp đặc hiệu với những sản phẩm của sự kích thích đó (sự hình thành kháng thể hoặc miễn dịch qua trung gian tế bào).

1.1.2. Tính chất của kháng nguyên

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

1.1.3. Quyết định kháng nguyên

Là các điểm trên một phân tử kháng nguyên, nơi kết hợp đặc hiệu với kháng thể. Số lượng quyết định kháng nguyên tỷ lệ thuận với trọng lượng phân tử kháng nguyên. Có thể có vài vạn tới hàng triệu quyết định kháng nguyên trên một tế bào vi khuẩn. Dựa vào các loại quyết định kháng nguyên mà có:

- Kháng nguyên đơn giá: kháng nguyên chỉ chứa một loại quyết định kháng nguyên.
- Kháng nguyên đa giá: là những kháng nguyên chứa nhiều quyết định kháng nguyên.
- Kháng nguyên chéo: những loại kháng nguyên khác nhau nhưng chứa một hoặc nhiều loại quyết định kháng nguyên giống nhau. Kháng nguyên chéo hay gặp giữa các loại vi khuẩn như *E.coli* với *Shigella* hoặc với phế cầu.

1.1.4. Kháng nguyên hoàn toàn và bán kháng nguyên

Kháng nguyên hoàn toàn (complete antigen) là những kháng nguyên có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch (sinh miễn dịch) và kết hợp đặc hiệu với kháng thể; Kháng nguyên này thường là polypeptid hoặc phức hợp protein.

Bán kháng nguyên (hapten) là những kháng nguyên không có khả năng kích thích sinh kháng thể nhưng khi gặp kháng thể thì kết hợp đặc hiệu. Bản chất các kháng nguyên này thường là acid nucleic, lipid hoặc polysaccharid.

1.1.5. Điều kiện sinh miễn dịch của kháng nguyên

Điều kiện lý học: những chất có phân tử lượng lớn hơn 18.000 mới có khả năng sinh miễn dịch, trừ một số trường hợp ngoại lệ vì khi vào cơ thể chúng gắn với những chất có phân tử lượng lớn.

Điều kiện hoá học:

– Các protein: phần lớn các protein đều có khả năng sinh miễn dịch (trừ một số ít như gelatin). Các protein rất dễ bị phân huỷ bởi enzym nên nếu đưa vào cơ thể bằng đường tiêu hoá thì rất dễ bị mất tác dụng.

– Các lipid: nói chung lipid không có tính kháng nguyên

– Các polysaccharid: tính kháng nguyên không đồng đều và phụ thuộc vào tước chủ.

– Các acid nucleic: không có tính kháng nguyên nhưng nếu gắn với một số chất khác thì có tính kháng nguyên.

Điều kiện ngoại lai: tất cả các kháng nguyên đều phải là ngoại lai đối với cơ thể, không giống bất kỳ một phân tử nào của cơ thể. Một cơ thể không bao giờ tự tổng hợp ra kháng thể chống lại cơ thể mình trừ những trường hợp bệnh tự miễn.

Về phía cơ thể: một kháng nguyên không kích thích được mọi cơ thể sinh ra mức độ kháng thể giống nhau mà phụ thuộc vào từng cơ thể nếu cơ thể có "gen" gọi là "gen phát hiện" chất lạ mới sinh ra được kháng thể.

1.2. Kháng nguyên của vi khuẩn

1.2.1. Ngoại độc tố

Một số vi khuẩn tiết độc tố ra bên ngoài tế bào, chất độc này thường có tính độc cao. Về bản chất ngoại độc tố là những protein hoặc polypeptid nên chúng đều là những kháng nguyên tốt. Hầu hết các ngoại độc tố có thể xử lý với các yếu tố lý hoá học để khử đi tính độc gọi là giải độc tố nhưng vẫn còn tính kháng nguyên.

1.2.2. Kháng nguyên là các enzym

Ngoài enzym nội bào, vi khuẩn còn có enzym ngoại bào gồm hai loại enzym chuyển hoá và enzym độc lực. Các enzym độc lực thường có tính kháng nguyên cao và kích thích tạo thành các kháng thể đặc hiệu.

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

Ở vi khuẩn Gram dương, các chất như polysaccharid, protein ở vách có tính kháng nguyên và tùy loại vi khuẩn mà có các lớp trong vách quyết định tính đặc hiệu kháng nguyên thân. Ở vi khuẩn Gram âm có các lớp kháng nguyên vách gần như nhau, đó là LPS (lipopolysaccharid). Tính đặc hiệu của kháng nguyên O được quyết định bởi lớp polysaccharid ngoài cùng.

1.2.4. Kháng nguyên vỏ (kháng nguyên K)

Các vi khuẩn có vỏ thì vỏ có tính kháng nguyên. Bản chất hoá học là polypeptid hoặc polysaccharid nên khả năng sinh miễn dịch không cao nhưng khi gắn với tế bào vi khuẩn vẫn gây được miễn dịch.

1.2.5. Kháng nguyên lông (kháng nguyên H)

Sợi lông của vi khuẩn tạo thành bởi các protein sợi (Flagellin). Các flagellin được tổng hợp từ các acid amin dạng D nên đáp ứng kháng thể không mạnh. Kháng nguyên lông được dùng để phân loại một số vi khuẩn.

1.3. Các thành phần kháng nguyên của virus

1.3.1. Các kháng nguyên hoà tan

Là những kháng nguyên thu được từ nuôi cấy tế bào nhiễm virus sau khi đã loại bỏ virus và các thành phần của tế bào. Các kháng nguyên này có thể là enzym, là thành phần cấu tạo mà virus tổng hợp thừa hoặc kháng nguyên bề mặt bong ra.

1.3.2. Các kháng nguyên cấu tạo virus

– *Kháng nguyên lõi virus*: acid nucleic là bản kháng nguyên những nucleoprotein, là kháng nguyên hoàn toàn của virus.

– *Kháng nguyên vỏ envelop*: vỏ envelop thường là lipoprotein hoặc glycoprotein. Trên vỏ thường có những kháng nguyên đặc hiệu như hemagglutinin (kháng nguyên H: yếu tố gây ngưng kết hồng cầu) hoặc neuraminidase (kháng nguyên N: enzym phá huỷ điểm tiếp nhận trên bề mặt tế bào cảm thụ).

Ngoài ra trên vỏ của một số virus còn có các gai nhú gắn vào có tác dụng làm cho virus bám vào tế bào cảm thụ như HIV. Đây là những kháng nguyên quan trọng trong chẩn đoán HIV.

2. Kháng thể (Immunoglobulin –Ig)

2.1. Định nghĩa

Kháng thể là các globulin miễn dịch có trong huyết thanh hoặc các dịch sinh học của cơ thể (nước tiểu, sữa...) có khả năng kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên đã kích thích sinh ra nó. Kháng thể theo định nghĩa trên là kháng thể miễn dịch

hay kháng thể đặc hiệu. Những kháng thể có sẵn từ trước khi có sự tiếp xúc với kháng nguyên được gọi là kháng thể tự nhiên hay kháng thể không đặc hiệu. Ở bài này chỉ nói đến kháng thể đặc hiệu.

2.2. Tính chất

Bản chất của kháng thể là những γ globulin nằm trong huyết thanh, có đầy đủ tính chất của một protein nên các yếu tố lý hoá như acid kiềm, nhiệt độ đều có thể phá huỷ kháng thể.

– *Tính chất kết tủa hoá học:*

Hoạt tính của kháng thể phụ thuộc vào pH của môi trường và nhiều yếu tố khác.

Có thể kết tủa kháng thể bằng amonisulfat nửa bão hoà hoặc bằng natrisulfat 26g%. Làm như vậy thành phần protein nặng nhất trong huyết thanh là albumin vẫn ở trạng thái hoà tan, không bị kết tủa. Do khả năng hoà tan rất nhanh của các muối trên nên có thể đạt được các nồng độ muối cao, khiến cho các globulin không hoà tan được và bị kết tủa. Các globulin bị kết tủa vẫn còn nguyên vẹn hoạt tính kháng thể. Người ta áp dụng tính chất này để tinh chế kháng thể.

– *Kháng thể có khả năng điện di:*

+ Phương pháp điện di: trong điều kiện pH 8,2–8,6 trong môi trường lỏng hay trên một nền giấy có phủ một lớp cellulose hay tinh bột. Cho dòng điện chạy qua và tách kháng thể ra ba phần: alpha (α); beta (β) và gama (γ).

+ Phương pháp miễn dịch điện di: cho điện di để tách rời các thành phần protein của huyết thanh. Với phương pháp này, người ta tách được năm thành phần khác nhau có hoạt tính kháng thể trong huyết thanh. Do đó, năm thành phần này được mang tên là globulin miễn dịch –Ig (immunoglobulin).

2.3. Cấu trúc của kháng thể miễn dịch

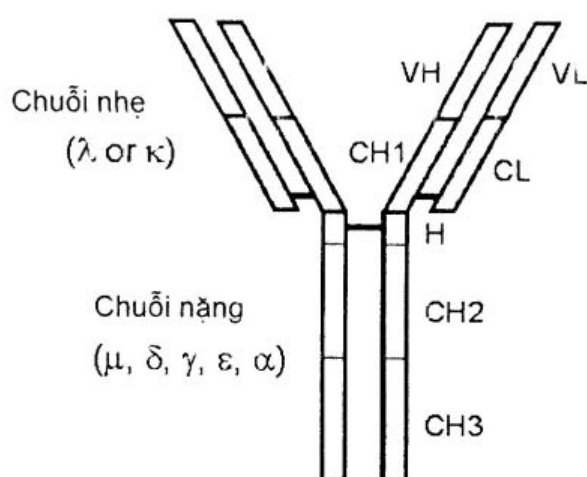
Tất cả các kháng thể đều được cấu tạo từ một hay nhiều đơn vị cấu trúc giống nhau. Mỗi đơn vị là một phân tử protein chứa bốn chuỗi polypeptid, hai chuỗi nặng (ký hiệu là H), hai chuỗi nhẹ (ký hiệu là L) được gắn với nhau nhờ các cầu nối disulfua (S–S) nội chuỗi và giữa hai chuỗi nặng với hai chuỗi nhẹ.

Chuỗi nhẹ có trọng lượng phân tử là 25.000, chứa khoảng 211–221 acid amin. Có hai loại chuỗi nhẹ, chuỗi kappa (κ) hoặc lambda (λ). Mỗi phân tử kháng thể chỉ chứa hoặc hai chuỗi kappa, hoặc hai chuỗi lambda mà không bao giờ chứa cả hai loại. Mỗi chuỗi nhẹ chứa hai vùng acid amin, một vùng có trật tự acid amin có thể thay đổi gọi là vùng biến đổi, ký hiệu là V_L (variable). Vùng này nằm ở phía đầu amin ($-\text{NH}_2$) của phân tử. Vùng còn lại có trật tự acid amin không bao giờ thay đổi gọi là vùng cố định C_L (constant). Vùng này nằm ở phía đầu cacboxyl ($-\text{COOH}$). Trật tự acid amin vùng cố định của chuỗi nhẹ luôn giống nhau ở tất cả các lớp kháng thể. Ngược lại, trật tự acid amin vùng biến đổi luôn khác nhau kể cả ở các kháng thể do cùng một tế bào sinh ra.

Trình tự các acid amin ở kháng thể giống hệt nhau theo từng đôi chuỗi nặng và từng đôi chuỗi nhẹ. Cả phân tử kháng thể có cấu tạo đối xứng.

Kháng thể có hai đầu, một đầu là Fab (fragment antigen binding) kết hợp một cách đặc hiệu với quyết định kháng nguyên, một đầu là Fc (fragment crystallizable) có vai trò trong phản ứng opsonin hoá.

Chuỗi nặng có trọng lượng phân tử là 50.000 – 70.000, chứa khoảng 450 acid amin. Có năm loại chuỗi nặng là γ , μ , α , δ , ϵ ứng với 5 lớp kháng thể là IgG, IgM, IgA, IgD và IgE. Mỗi chuỗi nặng chứa bốn vùng acid amin: một vùng biến đổi và ba vùng cố định. Cũng như chuỗi nhẹ, vùng biến đổi của chuỗi nặng nằm ở phần đầu amin, ký hiệu là V_H . Vùng cố định nằm ở phía đầu cacboxyl và có trật tự acid amin giống nhau ở tất cả globulin miễn dịch thuộc cùng một lớp. Ba vùng cố định của chuỗi nặng được ký hiệu là C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} . Hai vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nằm kế nhau tạo thành vị trí kết hợp kháng nguyên, do vậy bảo đảm tính đa dạng của phân tử kháng thể. Vùng nằm giữa C_{H1} và C_{H2} của chuỗi nặng gọi là vùng bản lề, có khả năng mở ra hoặc khép lại từ 0° – 180° giúp cho việc gắn phù hợp với hai quyết định kháng nguyên. Vùng gấp khúc và các mảnh phân tử Ig, các cầu nối disulfua vừa nối các chuỗi polypeptid lại với nhau để tạo nên phân tử globulin miễn dịch, vừa nối các acid amin (cystein) nằm trong cùng chuỗi để tạo nên những gấp khúc xoắn (domain) hoặc cuộn hình cầu nằm trên các đoạn peptid vùng cố định hoặc vùng biến đổi. Dưới tác dụng của enzym phân giải protein (papain hoặc pepsin), phân tử Ig được phân giải ra thành các mảnh nhỏ.



Cấu trúc của phân tử kháng thể

2.4. Chức năng của kháng thể

Hai đặc tính sinh học của kháng thể là:

- Khả năng phản ứng đặc hiệu với kháng nguyên
- Khả năng biểu thị như một kháng nguyên, nghĩa là kích thích sinh kháng thể chống lại chính nó. Kháng thể chống lại kháng thể là kháng kháng thể. Có

thể tạo kháng thể chống từng loại Ig hoặc chống từng phần cấu trúc của phân tử Ig (mảnh Fab hoặc Fc).

Sự kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên là một trong những chức năng chính của kháng thể, ngoài ra còn những chức năng khác như hoạt hoá bạch cầu, hoạt hoá bổ thể, hoạt hoá cơ chế vận chuyển qua màng tế bào... Chức năng của kháng thể liên quan chặt chẽ với cấu trúc, do cấu trúc quy định.

Đoạn Fab: có chức năng kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên, làm bất hoạt nó, mà các kết quả lý hoá đó được nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều kỹ thuật miễn dịch.

Đoạn Fc: nối hai đoạn Fab với nhau, có chức năng kết hợp với các thụ thể trên bề mặt tế bào hoặc phân tử, khởi động cơ chế hoạt hoá: bạch cầu, bổ thể... Như vậy, kháng thể có chức năng hoạt hoá hệ miễn dịch không đặc hiệu.

Tóm lại, các kháng thể có chức năng bất hoạt một cách đặc hiệu kháng nguyên, đồng thời hoạt hoá các cơ chế miễn dịch không đặc hiệu của cơ thể. Các chức năng được thể hiện như sau:

2.4.1. Chức năng nhận biết và kết hợp kháng nguyên

Khi bị kháng thể kết hợp, kháng nguyên không bị biến đổi về mặt cấu trúc hoá học nhưng bị thay đổi về tính chất sinh học. Vi khuẩn hoặc virus mang kháng nguyên khi bị kháng thể đặc hiệu kết hợp sẽ mất khả năng nhân lên làm rối loạn chuyển hoá nội bào, thoái biến, dễ bị thực bào và bổ thể tiêu diệt. Các phân tử có hoạt tính khi bị kháng thể kết hợp sẽ mất hoạt tính...

2.4.2. Chức năng hoạt hoá hệ miễn dịch không đặc hiệu

*** Chức năng hoạt hoá bạch cầu**

Nhiều loại bạch cầu có thụ thể với Fc của kháng thể. Bạch cầu đa nhân trung tính vẫn có khả năng bám và thực bào tự nhiên, nhưng Fc của kháng thể là những chất opsonin mạnh, tức là có khả năng kích hoạt sự bám dính, ăn, tiêu huỷ các đối tượng thực bào.

*** Chức năng hoạt hoá đại thực bào**

Đại thực bào có thể nuốt và tiêu huỷ nhiều đối tượng thực bào khác nhau, nhưng khi kháng thể gắn Fab vào các đối tượng đó (kháng nguyên) còn gắn Fc vào thụ thể của đại thực bào thì đại thực bào được hoạt hoá rất mạnh, tăng cường khả năng bắt giữ, nuốt và tiêu huỷ đối tượng thực bào.

2.4.3. Hoạt hoá cơ chế vận chuyển Ig qua màng tế bào

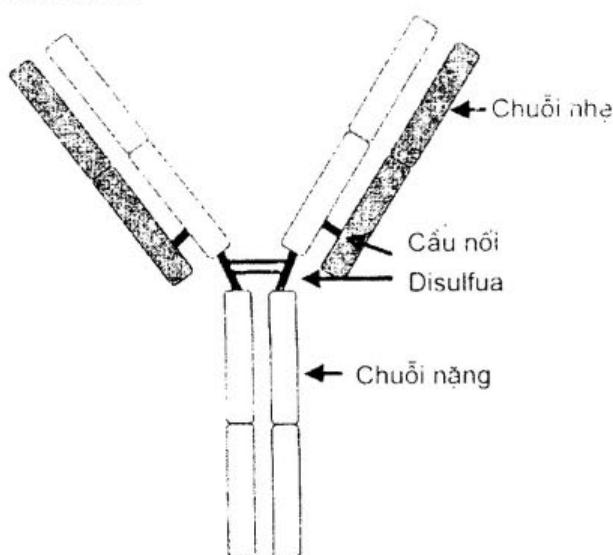
Tế bào biểu mô ruột có thụ thể với Fc (mặt trong biểu mô) giúp cho các IgA ở thể lỏng phân có thể gắn vào. Chính sự gắn kết này đã hoạt hoá một cơ chế vận chuyển: Lúc đầu cả IgA và thụ thể lặn vào trong tế bào dưới dạng một nang nhỏ (không bào) rồi di chuyển xuyên tế bào, sang phía đối diện, để cuối cùng được giải phóng ra lòng ruột thực hiện vai trò bảo vệ niêm mạc ruột.

2.4.4. Hoạt hoá bổ thể

Phần Fc của kháng thể còn có chức năng hoạt hoá bổ thể sau khi Fab của kháng thể kết hợp với kháng nguyên. Loại kháng thể hoạt hoá được bổ thể là IgM và hầu hết IgG. đó là những kháng thể chiếm tỷ lệ lớn nhất trong cơ thể, do vậy bổ thể được hoạt hoá trong đa số trường hợp kết hợp kháng nguyên – kháng thể.

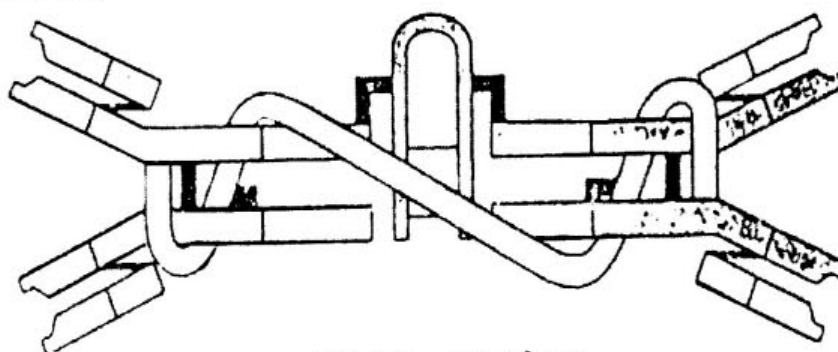
2.5. Phân loại kháng thể

IgG: cấu trúc gồm một đơn vị cơ sở. Là loại kháng thể quan trọng nhất, đa số kháng thể thuộc loại này. IgG là loại kháng thể duy nhất truyền qua được rau thai. IgG lưu hành trong máu, có vai trò trong trí nhớ miễn dịch, lưu lại trí nhớ từ đáp ứng miễn dịch lần đầu.



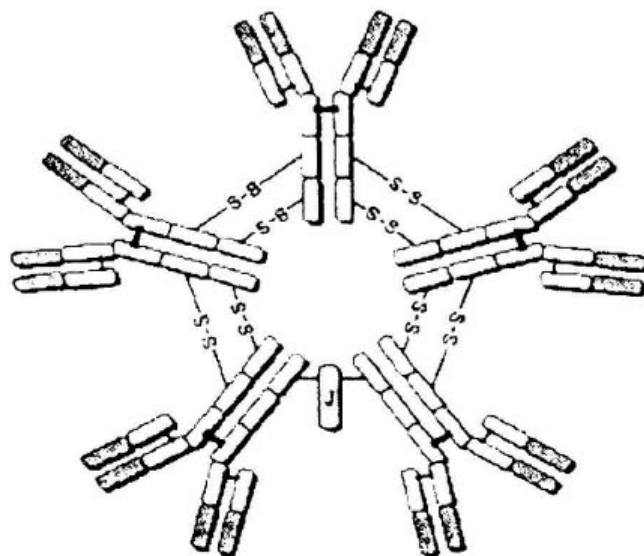
Cấu trúc phân tử IgG

IgA: cấu trúc gồm hai đơn vị cơ sở. IgA được tiết tại chỗ ở đường hô hấp trên, nước bọt, nước mắt, sữa, đường ruột, lưu hành trong máu. Chức năng của IgA là cấu tạo nên kháng thể kháng độc tố, tham gia vào hàng rào bảo vệ niêm mạc về mặt miễn dịch học.



Cấu trúc phân tử IgA

IgM: cấu trúc gồm năm đơn vị cơ sở. IgM được hình thành sớm sau kích thích kháng nguyên sơ cấp. Tham gia cấu tạo kháng thể có tác dụng chống lại kháng nguyên có phân tử lớn nhất là kháng nguyên hữu hình. IgM tồn tại lâu dài nhất.



Cấu trúc phân tử IgM

IgD: cấu trúc gồm một đơn vị cơ sở. IgD có chức năng gắn trên bề mặt tế bào lympho B để tạo điểm thụ thể giữa tế bào lympho B với kháng thể tương ứng. IgD tăng cao trong các trường hợp nhiễm trùng mạn tính.

IgE: cấu trúc gồm một đơn vị cơ sở. IgE tham gia các kháng thể dị ứng. Có vai trò bảo vệ chống lại một số ký sinh vật. IgE làm các khối u tiến triển chậm hơn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Kháng nguyên là chất kích thích cơ thể sinh kháng thể		
2	Quyết định kháng nguyên nằm ở màng tế bào vi khuẩn		
3	Ngoại độc tố dễ bị mất tính kháng nguyên khi bào chế thành giải độc tố		
4	Các enzym của virus có thể là kháng nguyên		
5	Kháng thể là chất được hình thành khi có kích thích của kháng nguyên		
6	IgG là loại kháng thể quan trọng nhất		
7	Kháng thể xuất hiện trong máu là đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào		
8	Các protein hầu hết đều có khả năng sinh miễn dịch		
9	Kháng nguyên đơn giá là kháng nguyên có một quyết định kháng nguyên		
10	IgA là kháng nguyên được hình thành sớm nhất sau kích thích kháng nguyên sơ cấp		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu:

11. Mỗi đơn vị cấu trúc cơ sở của kháng thể gồm:

- A. hai chuỗi polypeptid
- B. Bốn chuỗi polypeptid
- C. Ba chuỗi polypeptid
- D. Một chuỗi polypeptid

12. Kháng nguyên vỏ của vi khuẩn có bản chất là:

- A. Polysaccharid
- B. Polypeptid
- C. Lipid
- D. Polysaccharid hoặc polypeptid

13. Kháng thể có đặc điểm sau:

- A. Nằm trong vách tế bào vi khuẩn
- B. Nằm trong huyết thanh
- C. Không có khả năng bảo vệ cơ thể
- D. Kết hợp được với mọi kháng nguyên

14. Kháng nguyên nằm trong vách tế bào vi khuẩn được gọi là:

- A. Kháng nguyên O
- B. Kháng nguyên H
- C. Kháng nguyên Vi
- D. Kháng nguyên K

15. Kháng nguyên đa giá là:

- A. Chứa một loại quyết định kháng nguyên
- B. Chứa nhiều quyết định kháng nguyên
- C. Chứa nhiều loại quyết định kháng nguyên
- D. Kết hợp được với nhiều loại kháng thể

16. Kháng nguyên đơn giá có đặc điểm sau:

- A. Chứa một loại quyết định kháng nguyên
- B. Chứa nhiều quyết định kháng nguyên
- C. Chỉ kết hợp chéo với một loại kháng thể
- D. Chứa một quyết định kháng nguyên

17. Loại kháng thể nào sau đây thường tăng cao trong các bệnh nhiễm trùng mạn tính:

- A. IgG
- B. IgA
- C. IgM
- D. IgD

18. Loại kháng thể nào sau đây thường tồn tại lâu dài nhất trong cơ thể:

- A. IgG
- B. IgA
- C. IgM
- D. IgD

CÁC PHẢN ỨNG MIỄN DỊCH DÙNG TRONG CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

(2 tiết)

MỤC TIÊU

- 1. Trình bày được mục đích và bản chất của các phản ứng miễn dịch dùng trong chẩn đoán vi sinh vật.*
- 2. Nêu tên và giải thích đúng các phản ứng kết hợp kháng nguyên – kháng thể trong chẩn đoán miễn dịch.*

1. Mục đích

Các phản ứng miễn dịch dùng trong chẩn đoán vi sinh vật chủ yếu là các phản ứng kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể nhằm mục đích:

1.1. Phát hiện kháng nguyên

Dùng kháng thể đã biết trước để phát hiện hoặc chuẩn độ kháng nguyên vi sinh vật. Kỹ thuật này thường được dùng trong chẩn đoán các bệnh nhiễm trùng: sau khi nuôi cấy phân lập được vi sinh vật từ bệnh phẩm của bệnh nhân cho kết hợp với kháng huyết thanh mẫu có kháng thể đã biết trước để xác định tên vi sinh vật. Kỹ thuật này có thể dùng kháng thể mẫu để phát hiện trực tiếp kháng nguyên của vi sinh vật có trong bệnh phẩm mà không cần phải nuôi cấy phân lập.

Ngoài việc chẩn đoán bệnh nhiễm trùng, kỹ thuật phát hiện kháng nguyên còn được dùng trong định loại vi sinh vật, tìm hiểu về cấu trúc kháng nguyên vi sinh vật khi cho kết hợp với kháng huyết thanh mẫu.

1.2. Phát hiện kháng thể hoặc xác định hiệu giá kháng thể

Kỹ thuật phát hiện kháng thể thường được dùng trong chẩn đoán các bệnh nhiễm trùng mà cơ thể có sinh ra kháng thể chống lại vi sinh vật. Dùng các kháng nguyên mẫu đã biết trước để phát hiện kháng thể có trong huyết thanh bằng cách cho kết hợp với huyết thanh, vì vậy còn được gọi là phản ứng huyết thanh học.

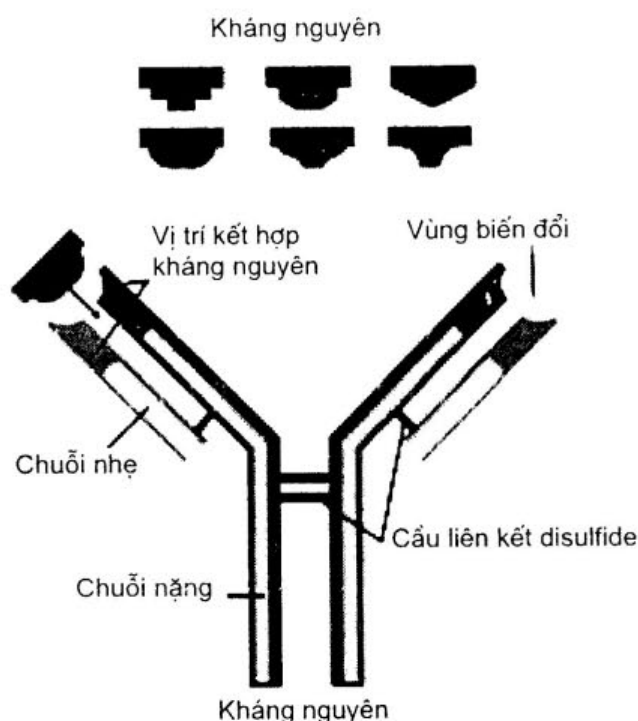
Việc phát hiện kháng thể cũng thường được áp dụng trong nghiên cứu điều tra dịch tễ học của các bệnh nhiễm trùng thông qua việc điều tra kháng thể trong huyết thanh của những người trong phạm vi nghiên cứu.

Ngoài ra, phát hiện kháng thể còn dùng để nghiên cứu đáp ứng của cơ thể đối với kháng nguyên vi sinh vật. Ví dụ khi dùng thử nghiệm một loại vaccin nào đó phải đánh giá hiệu lực đáp ứng miễn dịch bằng cách xác định kháng thể.

Dù mục đích xác định kháng nguyên hay kháng thể thì kết quả của phản ứng đều được đánh giá thông qua sự hình thành phức hợp kháng nguyên kháng thể. Phức hợp này có thể quan sát trực tiếp hoặc đánh giá gián tiếp thông qua một số hiện tượng khác.

2. Bản chất của sự kết hợp kháng nguyên kháng thể

Sự kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể là sự gắn chính xác giữa vị trí kháng nguyên và vị trí kháng thể. Sự kết hợp này mang tính đặc hiệu, nghĩa là kháng nguyên chỉ kết hợp với kháng thể mà nó đã kích thích cơ thể sinh ra kháng thể chỉ kết hợp với kháng nguyên đã kích thích cơ thể sinh ra nó. Tính đặc hiệu này do cấu hình không gian của vị trí kháng nguyên và vị trí kháng thể quyết định, như ổ khoá với chìa khoá.



3. Các phản ứng kết hợp kháng nguyên kháng thể

3.1. Các phản ứng tạo thành hạt

Phản ứng kết hợp kháng nguyên kháng thể đánh giá kết quả dựa vào sự hình thành hạt, những hạt này chính là phức hợp kháng nguyên kháng thể được hình thành khi kháng nguyên và kháng thể đặc hiệu có tỷ lệ thích hợp. Có thể quan sát những hạt này bằng mắt thường hoặc kính lúp.

3.1.1. Phản ứng kết tủa

Nguyên lý: phản ứng kết tủa là sự kết hợp giữa kháng nguyên hoà tan (kháng nguyên ở tầm phân tử) với kháng thể tương ứng, tạo thành các hạt có thể quan sát bằng mắt thường.

Các phản ứng:

Phản ứng ngưng kết trong môi trường lỏng: trộn dung dịch kháng nguyên với dung dịch kháng thể theo một tỷ lệ nhất định trong ống nghiệm hoặc trên phiến kính, phức hợp kháng nguyên kháng thể là những hạt lơ lửng hoặc lắng xuống đáy ống nghiệm hay trên bề mặt hỗn dịch.

Phản ứng kết tủa trong môi trường gel: môi trường gel được dùng là thạch, có nhiều kỹ thuật kết tủa trong gel thạch, kỹ thuật khuếch tán trong ống nghiệm, trên phiến kính, trong đĩa petri. Kháng nguyên và kháng thể khuếch tán ngược chiều nhau và kết hợp đặc hiệu tạo nên các đường tủa, hoặc là kháng thể được hoà đều trong gel thạch, kháng nguyên có khả năng khuếch tán trong môi trường thạch, khi kháng nguyên gặp kháng thể tương ứng sẽ kết hợp với nhau và trong môi trường xuất hiện đường tủa. Nếu trong thạch được hoà nhiều loại kháng thể và dung dịch kháng nguyên có nhiều loại thì trong thạch sẽ xuất hiện nhiều đường tủa.

3.1.2. Phản ứng ngưng kết

Nguyên lý: là sự kết hợp giữa kháng nguyên hữu hình (tế bào hoặc vật thể có kích thước tương đương) với kháng thể tạo thành phức hợp kháng nguyên kháng thể dưới dạng những hạt ngưng kết có thể quan sát bằng mắt thường.

Điều kiện để hình thành mạng lưới ngưng kết: ngoài tính đặc hiệu của kháng nguyên và kháng thể, để có hiện tượng ngưng kết phải có các điều kiện:

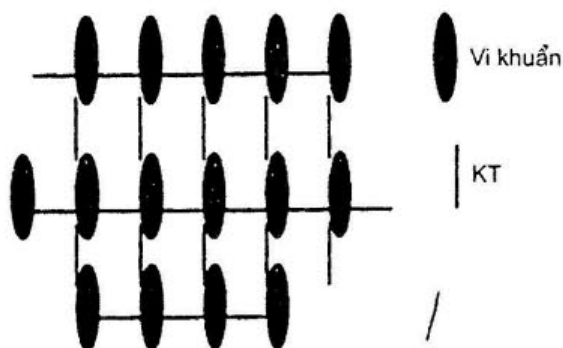
Kháng nguyên và kháng thể phải đa giá (có nhiều vị trí kết hợp).

Kháng nguyên và kháng thể có nồng độ tương đương nhau.

Các phản ứng:

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

Thành phần kháng nguyên của chính tế bào vi khuẩn, kết hợp với kháng thể đặc hiệu tạo thành mạng lưới ngưng kết.



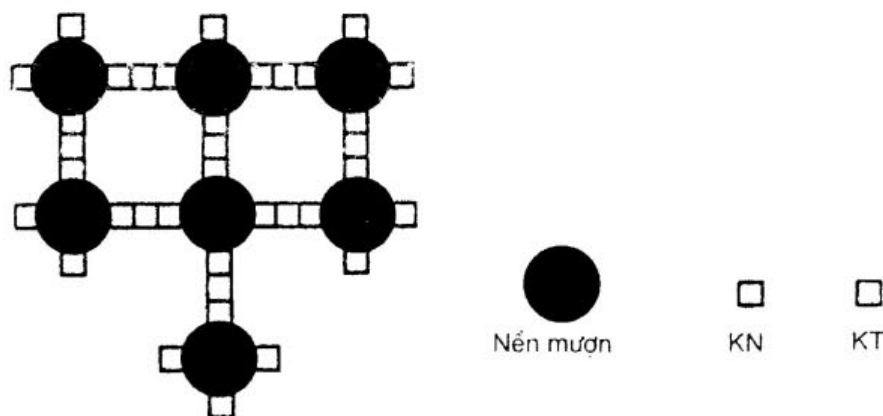
Phản ứng ngưng kết trực tiếp giữa vi khuẩn và kháng thể đặc hiệu

Trong thực tế, phản ứng ngưng kết trên lam kính thường được sử dụng phổ biến nhất trong các phòng xét nghiệm vi sinh vật.

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

Trong các phản ứng ngưng kết gián tiếp, kháng nguyên ở dạng hoà tan được gắn lên nền mựon (thường là hồng cầu hoặc hạt chất dẻo như hạt latex). Khi gặp kháng thể đặc hiệu, kháng nguyên sẽ kết hợp với kháng thể, hiện tượng ngưng kết xảy ra do nền mựon tụ lại với nhau một cách thụ động.

Phản ứng ngưng kết gián tiếp tiến hành đơn giản, nhanh, độ nhạy cao, độ đặc hiệu cao nên được dùng rộng rãi trong chẩn đoán vi sinh, chẩn đoán thai nghén...



Phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp

3.2. Các phản ứng dựa vào hoạt động sinh học của kháng thể

Có hai loại phản ứng thường được sử dụng trong chẩn đoán vi sinh vật là phản ứng trung hoà và phản ứng kết hợp bổ thể.

3.2.1. Phản ứng trung hoà

Nguyên lý: khi kháng nguyên là vi khuẩn, virus và kháng thể đặc hiệu kết hợp với nhau thì kháng thể có khả năng trung hoà độc lực virus và độc tố của vi khuẩn làm mất khả năng gây bệnh của chúng.

Các phản ứng: có nhiều phản ứng trung hoà được tiến hành trên ống nghiệm (invitro) hoặc trên súc vật (invivo) chẩn đoán các bệnh do vi khuẩn, virus để xác định kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân hoặc xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn, virus. Một số phản ứng thường dùng là:

– **Phản ứng trung hoà virus:** phản ứng này thường dùng để chẩn đoán virus. Cơ sở của phản ứng là: một số virus có khả năng gây huỷ hoại tế bào hoặc giết chết động vật thí nghiệm. Khi cho virus này kết hợp với huyết thanh đặc hiệu sẽ làm mất các khả năng trên... Nguyên lý của phản ứng được tóm tắt sơ đồ sau:

Virus + Tế bào → Tế bào bị hoại tử.

Virus + Kháng thể đặc hiệu + Tế bào → Tế bào không bị hoại tử.

– *Phản ứng trung hoà trên súc vật*: nguyên lý của phản ứng là kháng thể đặc hiệu sẽ trung hoà kháng nguyên là ngoại độc tố của một số loại vi khuẩn được tiêm vào súc vật, làm cho súc vật không bị mắc bệnh.

Ví dụ: để xác định vi khuẩn bạch hầu hay giả bạch hầu, ta tiêm vi khuẩn này vào hai con chuột lang, một con đã được tiêm kháng độc tố bạch hầu, một con không. Nếu con chuột được tiêm kháng độc tố bạch hầu vẫn sống, con chuột kia chết thì vi khuẩn đó đúng là vi khuẩn bạch hầu.

Chuột A + Kháng độc tố bạch hầu + VK? → Chuột sống → VK B.hầu
 Chuột B + nước muối sinh lý + VK → Chuột chết

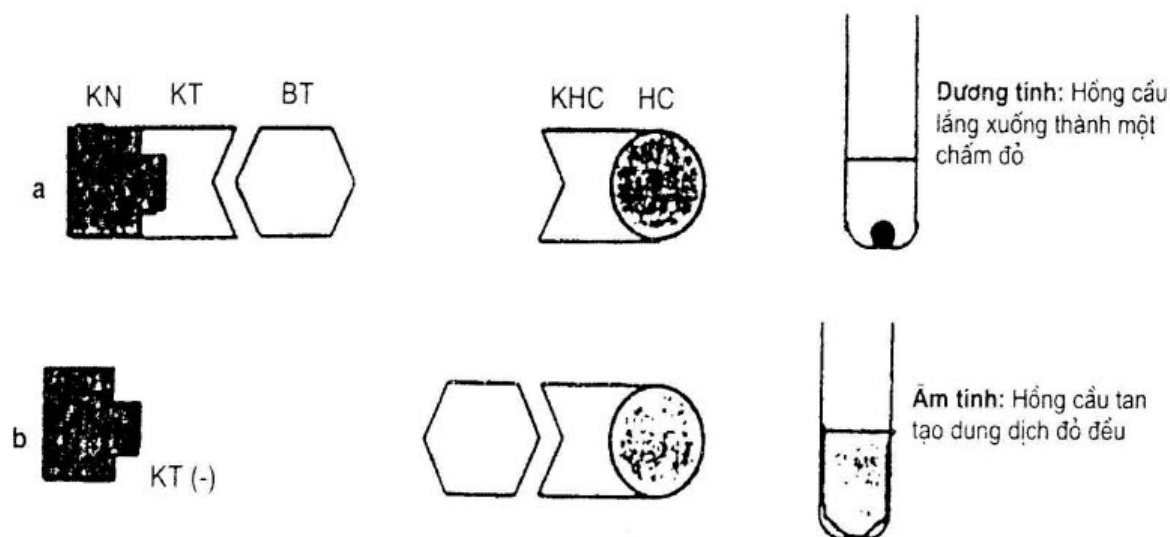
3.2.2. Phản ứng (gây ly giải tế bào) kết hợp bổ thể

– **Bổ thể**: bổ thể là một hệ thống gồm nhiều globulin huyết thanh hợp thành.

– **Bổ thể**: bổ thể là một hệ thống gồm nhiều globulin huyết thanh hợp thành. Bổ thể có ở trong huyết thanh của người và nhiều loại động vật. Bổ thể được viết tắt là C, bổ thể bị phá huỷ ở nhiệt độ 56°C/30 phút. Bổ thể không có tính đặc hiệu nhưng tham gia vào nhiều phản ứng kết hợp kháng nguyên – kháng thể.

– **Nguyên lý**: phản ứng kết hợp bổ thể là phản ứng kháng nguyên kết hợp với kháng thể nhất thiết phải có mặt của bổ thể. Sự kết hợp này không biểu hiện ra ngoài bằng hiện tượng gì mà mắt thường có thể quan sát được, cho nên phải song song sử dụng một hệ thống dung huyết trong đó kháng nguyên là hồng cầu khi kết hợp với kháng thể là huyết thanh tan huyết cũng đòi hỏi sự có mặt của bổ thể. Như vậy, ta mới có thể biết rằng phản ứng chính có sử dụng bổ thể hay không để nhận định kết quả.

– Nếu có tan hồng cầu thì chứng tỏ hệ thống dung giải không sử dụng bổ thể, có nghĩa là huyết thanh bệnh nhân không có kháng thể đặc hiệu. Trường hợp này kết quả của phản ứng là âm tính.



Phản ứng kết hợp bổ thể



THƯ VIỆN
HUBT

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

– Nếu không tan hồng cầu tức là hệ thống phản ứng có kháng nguyên và kháng thể đặc hiệu kết hợp với nhau nên đã sử dụng hết bổ thể; vì vậy, khi cho hệ thống dung huyết vào thì không còn bổ thể để kết hợp nên hồng cầu không bị dung giải. Trường hợp này kết quả của phản ứng là dương tính.

3.3. Các phản ứng dùng kháng nguyên hoặc kháng thể đánh dấu

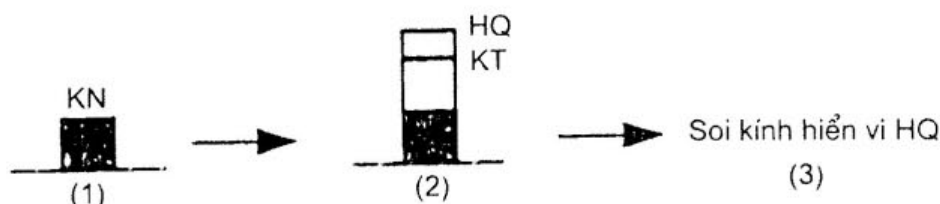
Các phản ứng thuộc loại này có nguyên lý chung là kháng nguyên hoặc kháng thể được xác định nhờ chất đánh dấu được gắn với kháng thể hoặc kháng nguyên. Chất đánh dấu không được làm thay đổi hoạt tính miễn dịch của kháng nguyên và kháng thể.

3.3.1. Phản ứng miễn dịch huỳnh quang

Chất đánh dấu trong phản ứng này là chất màu huỳnh quang, đọc kết quả phản ứng ở kính hiển vi huỳnh quang.

Phản ứng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp

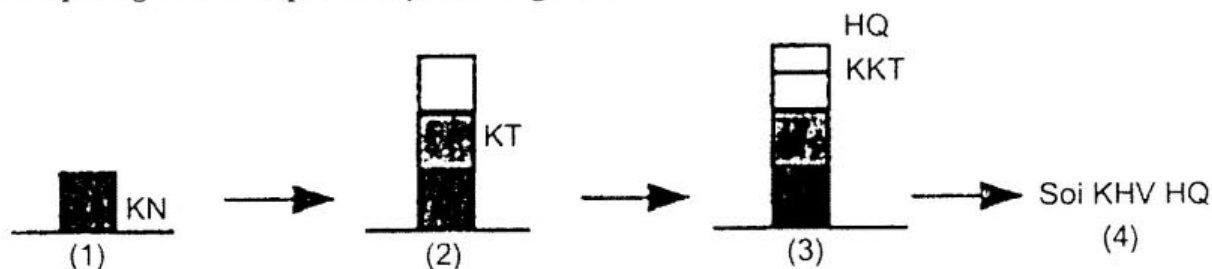
Phương pháp này dùng kháng thể gắn huỳnh quang để phát hiện kháng nguyên. Dùng phương pháp miễn dịch huỳnh quang trực tiếp có thể phát hiện nhanh vi sinh vật trong bệnh phẩm và thường được dùng trong chẩn đoán vi sinh vật, nhất là virus.



Phương pháp miễn dịch huỳnh quang trực tiếp

Phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp

Phương pháp này dùng kháng nguyên mẫu và kháng kháng thể (KKT) gắn huỳnh quang mẫu để phát hiện kháng thể.



Phương pháp miễn dịch huỳnh quang gián tiếp

3.3.2. Phản ứng miễn dịch phóng xạ (RIA– Radioimmunoassay)

Trong phản ứng miễn dịch phóng xạ, chất đánh dấu là chất đồng vị phóng xạ, phức hợp kháng nguyên – kháng thể được phát hiện nhờ chất đồng vị phóng xạ. Phát hiện nơi xảy ra phản ứng kết hợp kháng nguyên – kháng thể nhờ hiện

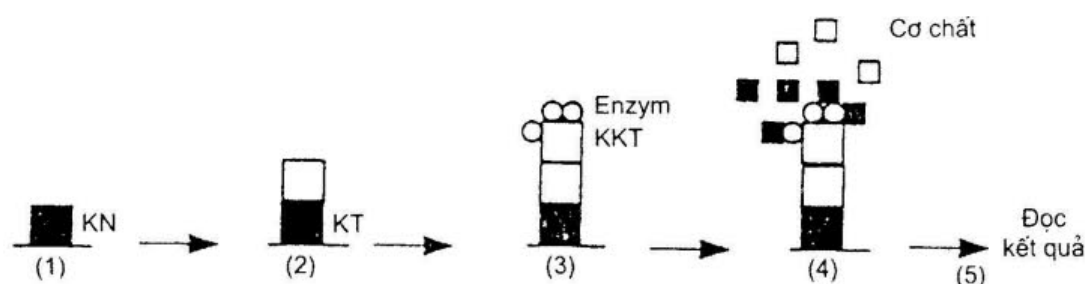
tượng phát xạ. Phản ứng này đắt tiền, nguy hiểm, phải có trang thiết bị đánh giá và có bảo hộ.

3.3.3. Phản ứng miễn dịch men *ELISA* (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*)

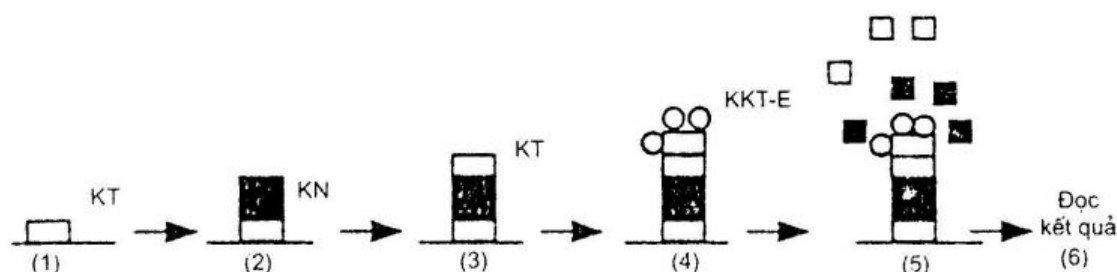
Dùng kháng thể (KT) hay kháng kháng thể (KKT) có gắn enzym (thường là kháng kháng thể). Kháng thể kết hợp với kháng nguyên tạo thành phức hợp kháng nguyên –kháng thể đồng thời có mặt của enzym gắn trên đó. Sau đó cho thêm một cơ chất thích hợp. Enzym tác động lên cơ chất làm thay đổi màu môi trường.

Các men thường được sử dụng là peroxidase, oxydase, betaglactosidase... Có nhiều kỹ thuật ELISA, sau đây là một số kỹ thuật thường dùng:

– Kỹ thuật dùng kháng kháng thể (KKT) gắn enzym để phát hiện kháng thể (KT):



– Kỹ thuật dùng kháng kháng thể gắn enzym để phát hiện kháng nguyên



4. Nhận định kết quả các phản ứng kết hợp kháng nguyên – kháng thể

4.1. Định tính

Định tính là kỹ thuật chỉ cho biết trong mẫu xét nghiệm có kháng thể hoặc kháng nguyên hay không. Kết quả được đánh giá ở các mức độ và ký hiệu:

Dương tính: (+++; ++; +)

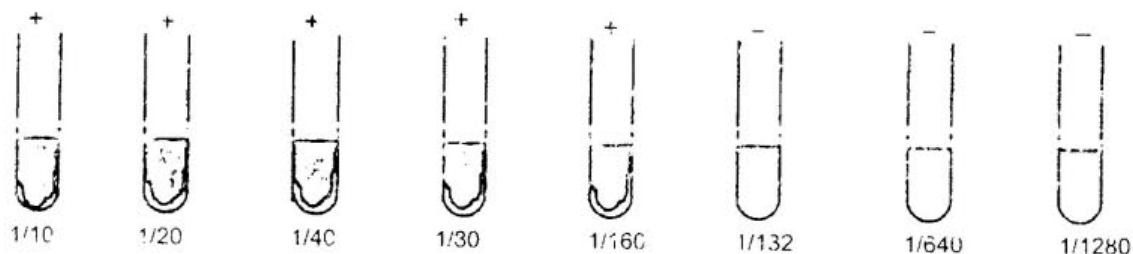
Âm tính: (–)

Không rõ: (+/–)

Trong một số trường hợp chỉ cần định tính đã có giá trị chẩn đoán, đó là các trường hợp mà kháng nguyên hoặc kháng thể ở người bình thường không có như bệnh giang mai. Tuy nhiên, có những bệnh mà kháng nguyên hoặc kháng thể tìm thấy ở cả người bình thường thì phải định lượng mới có giá trị chẩn đoán. Ví dụ tìm kháng thể trong bệnh thấp khớp do liên cầu.

4.2. Định lượng

Nồng độ kháng thể trong huyết thanh cao hay thấp được đánh giá bằng hiệu giá kháng thể. Hiệu giá kháng thể là độ pha loãng huyết thanh lớn nhất mà phản ứng còn dương tính.



5. Chẩn đoán huyết thanh học (Serology)

Là phương pháp phát hiện kháng thể trong máu bệnh nhân để chẩn đoán bệnh nhiễm trùng tương ứng.

Để đánh giá được kết quả chẩn đoán phải làm phản ứng hai lần, lần I vào tuần đầu của bệnh và lần II sau lần I một tuần. Nếu hiệu quả lần II gấp đôi lần đầu là chẩn đoán dương tính.

Có thể không phải làm hai lần nếu có quy định hiệu giá giới hạn, từ hiệu giá giới hạn trở lên được chẩn đoán dương tính.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

- Phản ứng kháng nguyên – kháng thể nào sau đây dùng khả năng hoạt động sinh học của hình thể:
 - Ngưng kết
 - Elisa
 - Trung hoà
 - Miễn dịch huỳnh quang
- Phản ứng miễn dịch nào dùng chỉ thị là hồng cầu cừu và kháng thể chống hồng cầu cừu:
 - Ngưng kết
 - Elisa
 - Kết hợp bổ thể
 - Lên bông
- Phản ứng ngưng kết có đặc điểm sau, trừ:
 - Kháng nguyên hữu hình
 - Kháng nguyên đặc hiệu với kháng thể
 - Kháng nguyên và kháng thể có nhiều vị trí kết hợp
 - Chỉ dùng chẩn đoán các bệnh do virus

4. Kết quả phản ứng kết hợp kháng nguyên – kháng thể đặc hiệu có thể âm tính khi:
- A. Tỷ lệ thích hợp
 - B. Thừa hoặc thiếu kháng nguyên
 - C. Thừa bổ thể
 - D. Thiếu enzym
5. Phản ứng miễn dịch men Elisa chỉ xảy ra khi có điều kiện sau:
- A. Kháng nguyên biết trước
 - B. Kháng thể biết trước
 - C. Có thêm enzym
 - D. Có thêm hệ thống dung huyết
6. Mục đích làm các phản ứng kết hợp kháng nguyên – kháng thể:
- A. Chẩn đoán kháng nguyên
 - B. Chẩn đoán kháng thể
 - C. Tìm phức hợp KN–KT
 - D. Tìm kháng nguyên hoặc kháng thể
7. Khi làm phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể không đặc hiệu thì:
- A. Hồng cầu sẽ vỡ
 - B. Phản ứng không xảy ra
 - C. Hiệu giá kháng thể thấp
 - D. Khó đọc kết quả

VACCIN VÀ HUYẾT THANH MIỄN DỊCH

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được nguyên lý của vaccin, phân loại vaccin và nguyên tắc sử dụng.
2. Nêu được nguyên lý của huyết thanh, nguyên tắc sử dụng và phản ứng do tiêm huyết thanh.

1. Vaccin

1.1. Nguyên lý

Dùng vaccin để phòng bệnh là đưa vào cơ thể kháng nguyên vi sinh vật gây bệnh hoặc vi sinh vật có cấu trúc kháng nguyên giống vi sinh vật gây bệnh đã được bào chế đến mức không còn khả năng gây bệnh hay chỉ gây bệnh rất nhẹ không ảnh hưởng lớn đến sức khỏe con người nhưng có khả năng kích thích cơ thể hình thành miễn dịch đặc hiệu và không bị mắc bệnh khi có nhiễm trùng tái phát.

Cơ thể có được miễn dịch là kết quả của sự đáp ứng miễn dịch đối với các thành phần kháng nguyên có trong vaccin. Tùy theo từng loại vaccin mà cơ thể có miễn dịch thể dịch hay miễn dịch qua trung gian tế bào hoặc phối hợp cả hai loại.

Chỉ có những bệnh truyền nhiễm sau khi người mắc bệnh khỏi cơ thể thu được miễn dịch bảo vệ mới có khả năng sản xuất vaccin.

1.2. Phân loại vaccin

1.2.1. Theo nguồn gốc

– **Vaccin vi sinh vật chết:** nuôi cấy vi sinh vật gây bệnh có độc lực mạnh trong môi trường thích hợp để lấy khuẩn lạc. Dùng các nhân tố lý học hoặc hoá học để giết chết vi sinh vật nhưng vẫn còn tính kháng nguyên. Ví dụ vaccin phòng tả.

– **Vaccin vi sinh vật sống:** là những vi sinh vật đã làm mất độc lực nhưng vẫn còn tính kháng nguyên. Có thể nuôi cấy vi sinh vật trong những điều kiện nhất định hoặc cấy chuyển nhiều lần ở môi trường như nuôi cấy vi khuẩn lao trong môi trường mật bò. Cũng có thể tiêm truyền qua động vật nhiều lần như chủng virus đậu mùa qua bò nhiều lần để có vaccin phòng bệnh đậu mùa. Các

vaccin vi sinh vật sống phải được đảm bảo thuần khiết về mặt di truyền học, nghĩa là những vi sinh vật đó không bao giờ có thể trở lại dạng gây bệnh. Ví dụ vaccin BCG phòng lao, vaccin Sabin phòng bại liệt.

Vaccin vi sinh vật sống có tác dụng miễn dịch lâu dài hơn vaccin chết.

– **Vaccin là giải độc tố:** Là vaccin được sản xuất từ ngoại độc tố của vi sinh vật. Dùng các nhân tố lý học, hoá học để làm mất độc lực nhưng vẫn giữ được tính kháng nguyên, ví dụ giải độc tố bạch hầu, uốn ván.

1.2.2. Theo hiệu lực miễn dịch

– **Vaccin đơn giá:** vaccin được sản xuất từ một chủng vi sinh vật, do đó chỉ tác dụng phòng ngừa một bệnh đó, như vaccin phòng bệnh lao, bại liệt.

– **Vaccin đa giá:** vaccin gồm nhiều loại kháng nguyên cùng một lúc đưa vào cơ thể để phòng nhiều bệnh với điều kiện các nguyên này không ức chế lẫn nhau. Ví dụ vaccin bạch hầu, uốn ván, ho gà.

1.3. Nguyên tắc sử dụng vaccin

1.3.1. Phải dùng rộng rãi

– **Về phạm vi tiêm chủng:** phạm vi tiêm chủng được quy định tùy theo tình hình dịch tễ của từng bệnh. Nói chung dùng vaccin càng rộng rãi càng tốt nhưng cần chú ý đến khả năng kinh phí, chú ý những vùng đông dân cư, vùng trọng điểm thường có dịch xảy ra.

– **Về tỷ lệ tiêm chủng:** những khu vực có bệnh truyền nhiễm lưu hành thì tiêm chủng phải đạt trên 80% đối tượng cảm thụ mới có khả năng ngăn ngừa được dịch. Tiêm chủng 50–80% thì nguy cơ dịch vẫn xảy ra, dưới 50% thì không ngăn ngừa được dịch.

1.3.2. Đối tượng dùng vaccin

Những người có điều kiện tiếp xúc với vi sinh vật gây bệnh mà chưa có miễn dịch đều được dùng vaccin. Riêng trẻ em sau khi hết miễn dịch thụ động do mẹ truyền cho thì nguy cơ mắc bệnh rất cao, cần được tiêm chủng một cách triệt để bởi vì trẻ em càng nhỏ bệnh nhiễm vi sinh vật càng nặng và tỷ lệ tử vong càng cao.

Đối với người lớn đối tượng tiêm chủng ít hơn, thường chỉ tiêm chủng cho những người có nguy cơ cao.

1.3.3. Điều kiện sức khoẻ

Để đảm bảo vaccin có đủ điều kiện gây được miễn dịch, nói chung nên dùng cho những người khoẻ mạnh. Với mỗi loại vaccin có diện chống chỉ định riêng song không được dùng vaccin cho các đối tượng sau:

– Những người đang sốt cao, tuy nhiên một số trường hợp sốt nhẹ cũng vẫn cần phải dùng vaccin.

– Những người đang bị bệnh dị ứng. Người có cơ địa dị ứng hoặc gia đình có tiền sử dị ứng khi dùng vaccin cần được theo dõi cẩn thận.

– Vaccin vi sinh vật sống giảm độc lực không được dùng cho những người suy giảm miễn dịch, người đang dùng thuốc gây suy giảm miễn dịch hoặc những người mắc bệnh ác tính.

– Đối với phụ nữ có thai không được dùng các loại vaccin là virus sống giảm độc lực.

1.3.4. Thời gian dùng vaccin

Miễn dịch do vaccin đòi hỏi phải có thời gian nhất định, thường thì phải sau 7–10 ngày mới gây được miễn dịch. Vì vậy, muốn phòng được dịch phải dùng vaccin trước mùa dịch thường xảy ra. Hiệu giá kháng thể đạt cao nhất sau khoảng hai tuần, đó là đáp ứng miễn dịch tiên phát.

Khoảng cách giữa các lần dùng vaccin: tùy theo từng loại vaccin mà có thể dùng một lần hay nhiều lần. Đối với những vaccin phải dùng nhiều lần thì khoảng cách tốt nhất giữa các lần là một tháng. Nếu khoảng cách này ngắn hơn thì mặc dù dùng lần sau nhưng kết quả đáp ứng miễn dịch vẫn chỉ như tiên phát. Nhưng nếu dùng lần hai sau lần 1 hơn 1 tháng thì hiệu quả miễn dịch vẫn được đảm bảo. Tuy nhiên, không nên kéo dài thời gian giữa các lần tiêm chủng vì có thể bị mắc bệnh trước khi vaccin được dùng đầy đủ.

Thời gian dùng nhắc lại: khi dùng nhắc lại vaccin, thời gian để có miễn dịch sẽ ngắn lại, hiệu giá kháng thể sẽ đạt cao nhất chỉ sau một số ngày nhờ những tế bào lympho có trí nhớ miễn dịch. Đó là kết quả của đáp ứng miễn dịch thứ phát. Thời gian dùng nhắc lại tùy theo từng loại vaccin, phụ thuộc vào thời gian duy trì được tình trạng miễn dịch có đủ hiệu lực bảo vệ của mỗi loại vaccin. Thí dụ: đậu mùa 5 năm, bại liệt 3 năm, thương hàn 1 năm, tả 6 tháng... Sau thời gian tồn tại miễn dịch, cần được dùng nhắc lại vaccin 1 lần. Với lần này, cơ thể sẽ đáp ứng miễn dịch nhanh hơn và mạnh hơn mặc dù kháng thể của lần trước chỉ còn rất ít.

1.3.5. Liều lượng và đường đưa vaccin vào cơ thể

Liều lượng: tùy theo từng loại vaccin và đường đưa vaccin vào cơ thể mà dùng liều lượng thích hợp. 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 tê liệt miễn dịch đặc hiệu đối với những lần tiêm chủng tiếp theo (hệ thống miễn dịch bình thường của cơ thể không có phản ứng chống lại các kháng nguyên).

Đường dùng vaccin

Đường tiêm chủng:

– Tiêm dưới da: đa số các loại vaccin đưa vào cơ thể bằng đường này, phương pháp này có hiệu quả chắc chắn hơn nhưng dễ gây phản ứng hơn, liều vaccin nhiều so với tiêm trong da (0,5 ml).

– Tiêm trong da: phương pháp tiêm trong da chỉ cần một lượng vaccin nhỏ (0,1 ml), ít gây phản ứng nhưng cần lưu ý phải tiêm đúng kỹ thuật, nếu không đảm bảo kỹ thuật thì tác dụng gây miễn dịch kém.

– Tiêm bắp: hiện nay có một số vaccin phải tiêm bắp mới ít biến chứng và hiệu lực miễn dịch cao, như vaccin tam liên bạch hầu, uốn ván, ho gà hoặc vaccin giải độc tố uốn ván.

– Đường chủng: đó là hình thức rạch da đưa vaccin vào như chủng vaccin phòng bệnh đậu mùa. Đây là phương pháp thô sơ và cổ điển nhất.

Đường uống:

Đường uống là đường đưa vaccin vào cơ thể dễ dàng và tiện lợi nhất, không gây phản ứng. Tuy nhiên chỉ thực hiện được với những vaccin không bị đường tiêu hoá phá huỷ. Đường uống kích thích miễn dịch tiết tại chỗ mạnh hơn nhiều so với đường tiêm. Ví dụ: vaccin Sabin phòng bại liệt.

Ngoài các đường chủ yếu trên, vaccin còn có thể được đưa vào cơ thể bằng đường khí dung, đặt dưới lưỡi, thụt đại tràng nhưng ít được sử dụng vì không thuận lợi.

1.3.6. Các phản ứng phụ do dùng vaccin

Khi dùng vaccin, ở một số người có thể xảy ra phản ứng phụ như:

– **Tại chỗ:** có thể đau, hơi sưng hoặc nổi cục đỏ, hiện tượng này mất đi sau một vài ngày. Nếu tiêm chủng không đảm bảo vô khuẩn có thể gặp viêm nhiễm có mủ, loét chỗ tiêm.

– **Toàn thân:** thường gặp nhiều nhất là sốt (10–20%), sốt thường hết sau vài ngày. Có thể gặp tỷ lệ rất thấp bị co giật, sốc phản vệ. Tuy nhiên, mức độ nguy hiểm do vaccin gây ra nhỏ hơn rất nhiều so với mức độ nguy hiểm do bệnh nhiễm khuẩn gây ra. Vì vậy, rất cần thiết phải dùng vaccin để phòng bệnh. Nếu sau khi dùng vaccin 2 – 3 ngày mà các phản ứng vẫn còn, phải đến y tế để kiểm tra.

1.3.7. Bảo quản vaccin

Vaccin là một sinh phẩm nên dễ bị hỏng nếu không được bảo quản đúng. Mỗi loại vaccin có yêu cầu bảo quản riêng nhưng nói chung phải bảo quản ở điều kiện khô, tối và lạnh. Nhiệt độ cao, ánh sáng, đông lạnh phá huỷ nhiều vaccin. Nhiệt độ bảo quản tốt từ 2–8°C. Mỗi loại vaccin có thời hạn sử dụng nhất định đã được ghi trên nhãn nên cần được kiểm tra trước khi sử dụng.

2. Huyết thanh miễn dịch

2.1. Nguyên lý

Dùng huyết thanh miễn dịch là đưa vào cơ thể một loại kháng thể có nguồn

gốc từ người hay động vật, làm cho cơ thể có ngay kháng thể đặc hiệu chống lại tác nhân gây bệnh.

Đây là miễn dịch thụ động nên chóng hết, chỉ tồn tại trong cơ thể vài ngày.

2.2. Nguyên tắc sử dụng

2.2.1. Đối tượng

Huyết thanh được dùng để điều trị và phòng bệnh cho những bệnh nhân đã nhiễm vi sinh vật hay độc tố cấp tính. Cần đưa ngay kháng thể để trung hoà tác nhân gây bệnh. Huyết thanh chỉ có hiệu lực với những bệnh mà cơ chế bảo vệ chủ yếu nhờ miễn dịch dịch thể. Ví dụ: huyết thanh chống uốn ván SAT, huyết thanh chống bạch hầu SAD, huyết thanh kháng dại SAR...

Khi dùng huyết thanh thường phối hợp với kháng sinh để diệt khuẩn và với vaccin để gây miễn dịch chủ động và bảo vệ lâu dài hơn.

2.2.2. Liều lượng

Tuỳ theo từng lứa tuổi và mức độ của bệnh mà sử dụng liều khác nhau nhưng nguyên tắc chung là dùng ít lần và liều cao. Trung bình 0,1–1ml/kg cân nặng. Một số huyết thanh được tính theo đơn vị như kháng độc tố uốn ván, bạch hầu. Trung bình là 250 đơn vị cho một lần.

2.2.3. Đường đưa huyết thanh vào cơ thể

Đa số các loại huyết thanh được tiêm bắp. Đối với những huyết thanh có nguồn gốc từ người đã được tinh chế đạt tiêu chuẩn cao có thể tiêm tĩnh mạch nhưng cũng rất hạn chế. Không được tiêm tĩnh mạch những huyết thanh có nguồn gốc động vật.

2.2.4. Để phòng phản ứng

Để đề phòng phản ứng do huyết thanh, trước khi dùng cần chú ý:

- Hỏi bệnh nhân đã dùng huyết thanh lần nào chưa. Thận trọng khi dùng từ lần thứ 2 trở đi vì tỷ lệ phản ứng cao hơn so với lần thứ nhất.

- Làm phản ứng giải mẫn cảm: pha loãng huyết thanh 10 lần với nước muối sinh lý vô khuẩn. Tiêm 0,1ml vào trong da, 30 phút sau không có hiện tượng quầng đỏ thì có thể tiêm huyết thanh. Nếu có quầng đỏ tại nơi tiêm thì không nên tiêm. Trong trường hợp tình trạng bệnh nhân bắt buộc phải dùng thì chia nhỏ tổng liều để tiêm dần, cách nhau 20–30 phút.

- Trong quá trình truyền huyết thanh phải theo dõi liên tục và chuẩn bị đầy đủ các điều kiện để xử trí kịp thời nếu có phản ứng xảy ra.

2.3. Các phản ứng huyết thanh

2.3.1. Tại chỗ

Nơi tiêm có thể đau, mẩn đỏ, hết sau vài ngày và không gây nguy hiểm.

2.3.2. Toàn thân

Bệnh nhân rét run, khó thở, đau khớp, có thể nhức đầu và nôn. Nặng nhất là sốc huyết thanh có thể xuất hiện sau khi tiêm lần thứ nhất 10–14 ngày vì lúc đó cơ thể đã sinh kháng thể chống lại hoặc xảy ra ngay sau khi tiêm hoặc một vài ngày sau khi tiêm huyết thanh lần thứ 2. Triệu chứng thường gặp là khó thở, ngứa và nổi mề đay toàn thân, đau bụng, bí đại...

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng trong các câu sau:

- Dùng vaccin là đưa vào cơ thể một lượng:
A. Kháng nguyên B. Huyết thanh
C. Kháng thể D. Phức hợp kháng nguyên kháng thể
- Dùng huyết thanh là đưa vào cơ thể:
A. Vaccin B. Kháng nguyên C. Kháng thể
D. Giải độc tố E. Phức hợp kháng nguyên – kháng thể
- Dùng vaccin là đưa vào cơ thể thành phần sau:
A. Kháng nguyên B. Huyết thanh
C. Kháng thể D. Phức hợp kháng nguyên kháng thể
- Dùng huyết thanh miễn dịch là đưa vào cơ thể:
A. Vaccin B. Kháng nguyên C. Kháng thể
D. Giải độc tố E. Phức hợp kháng nguyên – kháng thể
- Vaccin dùng nhắc lại một lần cơ thể vẫn có miễn dịch vì:
A. Kháng thể vẫn còn
B. Kháng nguyên vẫn còn
C. Cơ thể có tế bào có trí nhớ miễn dịch
D. Dung nạp miễn dịch
- Đối tượng sau không được dùng vaccin là virus sống giảm độc lực:
A. Phụ nữ cho con bú
B. Trẻ em
C. Người đang mắc bệnh tâm thần
D. Phụ nữ có thai
- Để ngăn ngừa được dịch, vaccin phải được dùng với tỷ lệ sau:
A. 50% dân số B. 80% đối tượng cảm thụ trở lên
C. 80% trẻ em trở lên D. 80% dân số trở lên

8. Vaccin đa giá là:
- A. Có một loại kháng nguyên
 - B. Có nhiều loại kháng nguyên
 - C. Có nhiều loại kháng thể
 - D. Có nhiều loại kháng huyết thanh
9. Vaccin giải độc tố, không có tính chất nào sau đây:
- A. Là độc tố được giải độc
 - B. Có bản chất từ ngoại độc tố
 - C. Vẫn còn tính kháng nguyên
 - D. Được bào chế từ nội độc tố

VI SINH VẬT TRONG THIÊN NHIÊN VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC NHÂN TỐ NGOẠI CẢNH ĐỐI VỚI VI SINH VẬT

(4 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được sự phân bố của vi sinh vật trong tự nhiên và trên cơ thể người.
2. Nêu đầy đủ ảnh hưởng của các nhân tố lý học đối với vi sinh vật.
3. Giải thích được ảnh hưởng của các nhân tố hoá học và sinh vật học đối với vi sinh vật.

1. Vi sinh vật trong tự nhiên

1.1. Vi sinh vật trong đất

Đất là kho chứa vi sinh vật vì đất là môi trường quan trọng với một số vi sinh vật, là nơi có muối, nước và các chất hữu cơ cần thiết cho sự phát triển của vi khuẩn. Tuy nhiên, tùy theo tính chất của đất ở từng địa phương khác nhau mà thành phần vi sinh vật cũng khác nhau. Mật độ vi khuẩn còn phụ thuộc vào mức độ ô nhiễm phân và các chất bài tiết của người và động vật. Đất canh tác có nhiều vi khuẩn nhất, càng sâu xuống lòng đất lượng vi khuẩn càng giảm. Ở độ sâu 2.000–4.000m, chỉ có một số vi khuẩn cá biệt, chủ yếu là nha bào. Vi sinh vật trong đất được chia thành ba loại:

Vi sinh vật tự dinh: là vi sinh vật tự tổng hợp được các chất cần thiết trong đất.

Vi sinh vật dị dinh: là vi sinh vật làm thối rữa xác động vật, thực vật trong đất.

Vi sinh vật gây bệnh: vi sinh vật theo thi thể hoặc các chất bài tiết của động vật và người vào lòng đất. Những vi sinh vật này phải cần có nhiều chất dinh dưỡng và một số điều kiện sống thích hợp nên loại này rất dễ chết. Những vi khuẩn gây bệnh thường ở trong đất như tụ cầu, trực khuẩn than, trực khuẩn uốn ván, xoắn khuẩn.

1.2. Vi sinh vật trong nước

Nước là môi trường thiên nhiên vi sinh vật có thể phát triển được, đặc biệt là những vi khuẩn ưa ẩm ướt. Phần lớn vi khuẩn trong nước có nguồn gốc từ đất và không khí rơi vào. Nước hồ ao, sông ngòi có nhiều vi khuẩn hơn nước giếng, nước

biển. Vi khuẩn từ phân, nước tiểu, rác, xác động vật là nguồn hay lây nhiễm vào nước, nhất là vi sinh vật gây bệnh có khả năng lây lan như: *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*...

Một số vi sinh vật có thể sống lâu hàng tháng trong nước. Trong nước cũng có nhiều yếu tố để tiêu diệt vi khuẩn như do sự tiếp xúc với ánh sáng mặt trời, kháng sinh của thực vật hoặc do sự cạnh tranh sinh tồn .. Những vi sinh vật gây bệnh thường thấy trong nước như cầu khuẩn, trực khuẩn đường ruột, xoắn khuẩn, trực khuẩn uốn ván...

1.3. Vi sinh vật trong không khí

Không khí là môi trường mà vi sinh vật khó phát triển nhất vì thiếu chất dinh dưỡng. Bên cạnh đó ánh sáng mặt trời làm cho vi sinh vật ít có khả năng nhân lên và làm chết một số vi sinh vật. Tuy nhiên, trong không khí vẫn có nhiều loại vi sinh vật vì bụi và chất thải. Bụi càng nhiều thì số lượng và chủng loại vi khuẩn càng phong phú. Mức độ ô nhiễm phụ thuộc vào vệ sinh môi trường từng khu vực. Không khí ở thành thị nhiều vi sinh vật hơn vùng nông thôn. Không khí ở bệnh viện nhiều vi sinh vật hơn nơi khác. Không khí miền núi ít vi sinh vật hơn vùng đồng bằng. Càng lên cao, vi sinh vật trong không khí càng giảm. Vi sinh vật gây bệnh trong không khí thường gặp nhiều hơn thuộc về đường hô hấp như tụ cầu, liên cầu nhóm A, trực khuẩn lao, trực khuẩn bạch hầu, virus cúm, virus sởi...

1.4. Vi sinh vật trên cơ thể người

1.4.1. Vi sinh vật trên da và niêm mạc

Trên da có nhiều loại vi sinh vật và chủng loại thay đổi tùy thuộc vào tình hình vệ sinh cá nhân, hoàn cảnh sống, nghề nghiệp... Da ở những nơi có nhiều khe kẽ, nếp nhăn, có độ ẩm thích hợp, những nơi da hở sẽ có nhiều vi sinh vật hơn những nơi khác. Trên da có chủ yếu là cầu khuẩn Gram dương như tụ cầu không gây bệnh. Ngoài ra còn có các trực khuẩn Gram dương. Một số vi khuẩn khác có trên da không thường xuyên hoặc chỉ có ở những vùng nhất định như tụ cầu gây bệnh. Da cũng có một số yếu tố có khả năng diệt khuẩn.

1.4.2. Vi sinh vật ở đường tiêu hoá

– **Vi sinh vật ở miệng:** miệng là nơi có các điều kiện thuận lợi cho nhiều vi sinh vật phát triển như thức ăn, độ ẩm, nhiệt độ thích hợp. Miệng có một số loại men và có nhiều khe kẽ cho vi sinh vật cư trú. Trong 1ml nước bọt có tới hàng triệu vi sinh vật. Phần lớn các vi sinh vật chung sống với nhau, một số có khả năng gây bệnh tại chỗ hoặc toàn thân như liên cầu, tụ cầu, trực khuẩn, xoắn khuẩn.

– **Vi sinh vật trong dạ dày:** vi sinh vật có trong dạ dày là do từ miệng

xuống hoặc theo thức ăn vào. Tuy nhiên, độ pH ở dạ dày thấp ($\text{pH} = 2$) nên rất ít vi sinh vật sống được ở đó trừ những loại chịu được môi trường acid như trực khuẩn lao, xoắn khuẩn *Helicobacter pylori* là căn nguyên gây viêm loét dạ dày tá tràng.

– **Vi sinh vật ở ruột:** trẻ em sau khi đẻ vài giờ đã có vi sinh vật trong ruột, thường trực khuẩn *E.coli* có sớm sau khi trẻ được sinh ra. Số lượng và chủng loại vi sinh vật trong ruột khác nhau tùy từng đoạn ruột. Ở ruột non do có nhiều enzym ly giải vi sinh vật nên số lượng vi sinh vật ít. Đại tràng có nhiều loại vi sinh vật, chủ yếu là vi khuẩn kỵ khí. Trong số các loại vi khuẩn hiếu khí thì nhiều nhất là trực khuẩn *E.coli*, rồi đến *Proteus*, cầu khuẩn đường ruột, *Klebsiella*..

1.4.3. Vi sinh vật ở đường hô hấp

– **Vi sinh vật ở mũi, họng mũi:** ở mũi có nhiều trực khuẩn Gram dương và tụ cầu gây bệnh, có khoảng 20–30% người lành mang tụ cầu vàng. Ở họng mũi có nhiều chủng loại và số lượng vi sinh vật do từ miệng lan truyền lên như phế cầu, liên cầu, cầu khuẩn màng não, *Hemophilus influenzae*...

– **Vi sinh vật ở khí quản, phế quản:** ở đường hô hấp dưới thường rất ít hoặc không có vi sinh vật do chức năng sinh lý và các dịch niêm mạc.

1.4.4. Vi sinh vật ở bộ phận sinh dục, tiết niệu

Trong điều kiện bình thường, chỉ có bộ phận sinh dục ngoài, niệu đạo mới có vi sinh vật do vi sinh vật từ ngoài vào. Ở nam giới, lỗ niệu đạo thường có tụ cầu, trực khuẩn Gram âm. Ở nữ giới, niệu đạo thường có tụ cầu, trực khuẩn Gram dương, vi khuẩn đường ruột như cầu khuẩn, trực khuẩn Gram âm. Khi trưởng thành, trong âm đạo phụ nữ có một số vi sinh vật đôi khi gây bệnh như tụ cầu, liên cầu, trực khuẩn Gram âm.

1.4.5. Vi sinh vật ở niêm mạc mắt

Ở niêm mạc mắt thường có các trực khuẩn hoặc tụ cầu không gây bệnh do niêm mạc mắt thường tiếp xúc với không khí.

1.4.6. Vi sinh vật trong máu và các phủ tạng

Bình thường trong máu và các cơ quan nội tạng không có vi sinh vật túc trực.

2. Ảnh hưởng của các nhân tố ngoại cảnh đối với vi sinh vật

2.1. Ảnh hưởng của nhân tố lý học

2.1.1. Nhiệt độ

Nhiệt độ là yếu tố quan trọng đối với sự phát triển của vi khuẩn. Mỗi loại vi khuẩn phát triển trong một giới hạn nhiệt độ nhất định. Đa số vi khuẩn gây bệnh phát triển thích hợp ở 37°C , có thể phát triển được từ 10°C đến 40°C .

Ở nhiệt độ thấp, vi khuẩn ngừng phát triển do các phản ứng chuyển hoá dừng lại. Sau đó một số có thể chết, một số còn sống được trong thời gian dài. Do vậy, nếu bảo quản chủng vi khuẩn thì để ở tủ lạnh.

Ở nhiệt độ cao vi khuẩn sẽ dần bị tiêu diệt. Đa số vi khuẩn không có nha bào bị chết ở 58°C sau 30–60 phút, ở 100°C sau 1–2 phút. Nha bào bị chết ở nhiệt độ cao hơn và thời gian lâu hơn.

2.1.2. Độ ẩm

Nước rất cần thiết cho đời sống của vi khuẩn. Làm mất nước thì vi khuẩn sẽ chết. Tốc độ chết phụ thuộc vào môi trường. Trong hỗn dịch nước làm mất nước vi khuẩn thường chết nhanh hơn trong hỗn dịch keo. Nếu đem môi trường làm đóng băng trước rồi mới làm mất nước thì tỷ lệ vi khuẩn chết rất thấp. Phương pháp này được áp dụng để làm đông khô. Nha bào là trạng thái mất nước tự nhiên của vi khuẩn. Nha bào chịu được khô hanh lâu dài, vài năm hoặc có thể vài chục năm.

2.1.3. Độ pH

Độ pH có ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của vi khuẩn. Mỗi vi khuẩn chỉ phát triển được trong một giới hạn pH nhất định. Vi khuẩn gây bệnh đa số thích hợp ở pH trung tính hoặc hơi kiềm. Khi pH thay đổi quá lớn làm mất thăng bằng trao đổi chất dẫn đến sự tiêu vong của vi khuẩn.

2.1.4. Áp suất thẩm thấu

Áp suất thẩm thấu của môi trường có tác động mạnh đến tế bào vi khuẩn do tính chất thẩm thấu của màng nguyên sinh. Trong môi trường nhược trương, nước bị hút vào, tế bào phình to và vỡ. Ngược lại, trong môi trường ưu trương nước trong tế bào bị hút ra, tế bào bị teo lại. Đa số vi khuẩn thích hợp ở môi trường có áp suất thẩm thấu là 7 at ($7-9\%_{00}$ NaCl).

2.1.5. Không khí

Tùy theo từng loại vi khuẩn, những vi khuẩn hiếu khí không thể sống được trong hoàn cảnh kỵ khí. Ngược lại, những vi khuẩn kỵ khí không thể sống được ở môi trường có không khí.

2.1.6. Bức xạ: bức xạ có khả năng diệt khuẩn

Ánh sáng mặt trời: ánh sáng mặt trời gồm có các tia tử ngoại và tia hồng ngoại, tia tử ngoại có tác dụng sát khuẩn, áp dụng trong thực tế người ta thường phơi đồ dùng, dụng cụ của bệnh nhân ra nắng để diệt khuẩn. Dùng tia cực tím trong các tủ môi trường, buồng nuôi cấy, phòng mổ... để khử khuẩn.

Các yếu tố phóng xạ: các tia α , β , γ có khả năng diệt khuẩn, tia α , β tác dụng tốt hơn. Tia α , β có thể xuyên qua vật đục nên dùng khử khuẩn các dụng cụ dễ bị hư hỏng do nhiệt độ và hoá chất.

2.1.7. Siêu âm

Siêu âm là những chấn động có tần số cao quá 20.000lần /phút, siêu âm có khả năng giết chết vi khuẩn vì phát sinh ra áp suất cơ giãn làm tế bào vi khuẩn bị xé tan.

2.2. Ảnh hưởng của các nhân tố hoá học

Sự có mặt của hoá chất trong môi trường có thể kích thích vi khuẩn phát triển hoặc ức chế sự sinh sản của vi khuẩn hoặc giết chết vi khuẩn. Một loại hoá chất tùy theo nồng độ cao hay thấp mà có tác dụng sát khuẩn hay ức chế vi khuẩn. Tùy theo tính chất và tác dụng của các hoá chất mà có các nhóm:

Chất sát khuẩn: chất giết chết vi khuẩn.

Chất tẩy uế: chất có tác dụng sát khuẩn mạnh nhưng độc với cơ thể, dùng để tẩy uế đồ dùng, dụng cụ, chất thải bỏ của bệnh nhân.

Chất khử khuẩn: chất chống lại vi khuẩn, không độc với tế bào sống của cơ thể, dùng để bôi ngoài da.

2.2.1. Tác dụng của acid, base

Acid, base có khả năng phân ly thành ion rất mạnh làm cho pH của môi trường thay đổi phát sinh ra tác dụng sát khuẩn.

2.2.2. Tác dụng của muối kim loại

Khi hoà tan vào nước, muối của nhiều kim loại nặng có tác dụng kìm khuẩn, không diệt được nha bào, virus. Hoạt tính kháng khuẩn theo thứ tự Hg, Ag, Cu, Zn. Tác dụng này có liên quan đến mức độ phân ly thành ion.

Muối đồng: có tác dụng sát khuẩn yếu, sulfat đồng có tác dụng tốt đối với nấm.

Muối bạc: có khả năng sát khuẩn cao đặc biệt đối với các men nhưng thường gây tổn thương cho cơ thể.

Muối vàng: có tác dụng đối với vi khuẩn kháng cồn và acid như trực khuẩn lao, hủi.

Muối thủy ngân: được dùng nhiều trong tẩy uế.

Muối arsen: những muối hữu cơ của arsen được dùng điều trị các bệnh xoắn khuẩn.

Muối bismut: dùng để điều trị bệnh giang mai.

2.2.3. Tác dụng của hợp chất nhóm halogen

– Tác dụng sát khuẩn do phản ứng oxy hoá và halogen hoá các chất hữu cơ. Có phổ tác dụng rộng và thời gian tác dụng ngắn.

– Hợp chất flor: ít dùng để sát khuẩn.

– Hợp chất iod: thường dùng để sát khuẩn da dưới dạng cồn iod với tỷ lệ 7%.

– Hợp chất brom: ít khi được dùng sát khuẩn.

– Hợp chất clor: thường được dùng nhiều để tẩy uế, sử dụng dưới dạng khí hoặc hợp chất hữu cơ hay vô cơ. Thường dùng để thanh lọc nước ăn, nước bể bơi (nồng độ 0,2 – 0,5mg/L), chlorid vôi thường dùng để khử khuẩn chất thải, chất nôn và dụng cụ thô.

2.2.4. Phenol

Là thuốc có tác dụng sát khuẩn tốt và thường được dùng để sát khuẩn. Phenol ở nồng độ 1% sau 15 phút có thể giết chết hết các loại nha bào có sức đề kháng cao nhất. Phenol độc cho da, niêm mạc và thần kinh.

2.2.5. Cồn

Cồn có tác dụng sát khuẩn nhẹ, cồn ethylic có tác dụng sát khuẩn tùy theo nồng độ, cồn 70^o có tác dụng sát khuẩn tốt nhất. Cồn độ cao có hiệu quả kém hơn do hút nước trong tế bào vi khuẩn ra mạnh. Cồn không diệt được nha bào.

2.2.6. Andehyd

Andehyd rất độc với tế bào vi khuẩn, formaldehyd là chất sát khuẩn mạnh nhất của nhóm này. Có thể dùng ở dạng hơi hay dung dịch, thường dùng làm chất tẩy uế, diệt được cả nha bào, virus và nấm. Formaldehyd kích thích da niêm mạc có thể dẫn tới dị ứng, có thể gây ung thư. Do tính chất làm tủa protein nên không dùng khử khuẩn chất thải.

2.2.7. Các thuốc nhuộm

Thuốc nhuộm có tác dụng sát khuẩn và tẩy uế, thường dùng để ức chế sự phát triển của tập khuẩn trong môi trường chọn lọc.

Tác dụng của các hoá chất đối với vi khuẩn còn phụ thuộc vào các yếu tố như nồng độ hoá chất, thời gian tiếp xúc, nhiệt độ, thành phần của môi trường, nồng độ vi khuẩn và khả năng đề kháng của vi khuẩn.

2.3. Ảnh hưởng của nhân tố vi sinh vật

Trong quá trình sống và phát triển của vi sinh vật, nếu trong môi trường có nhiều vi sinh vật thì các vi sinh vật có thể ảnh hưởng lẫn nhau. Cùng nhau sinh tồn hoặc cạnh tranh tiêu diệt nhau. Vi sinh vật có thể sản sinh ra các chất có tác dụng:

– *Ức chế vi sinh vật khác*: vi sinh vật tiết ra những chất ngăn cản sự phát triển của vi sinh vật khác.

– *Tiêu diệt vi sinh vật khác*: một số vi sinh vật như trực khuẩn *E.coli*, tụ cầu... có khả năng tổng hợp ra những chất đối kháng để tiêu diệt vi sinh vật cùng loại hoặc thuộc loại lân cận.

– *Gây bệnh cho vi sinh vật khác*: điển hình của trường hợp này là các loại

phage gây bệnh cho các loại vi khuẩn để tiêu diệt vi khuẩn hoặc song song tồn tại trên vi khuẩn.

– *Cộng sinh*: một số vi khuẩn khi phát triển tổng hợp ra những chất kích thích vi khuẩn khác phát triển tốt.

Ngày nay, các sản phẩm do vi sinh vật tạo thành được xác định thành phân hoá học tổng hợp để điều trị bệnh do vi sinh vật.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Ánh sáng mặt trời có tác dụng giết khuẩn vì trong đó có tia tử ngoại.		
2	Cồn 90 ^o có khả năng sát khuẩn tốt nhất.		
3	Acid và base làm pH của môi trường thay đổi phát sinh tác dụng diệt khuẩn.		
4	Ở môi trường đẳng trương, vi khuẩn bị teo tế bào.		
5	Trong môi trường nhược trương, tế bào vi khuẩn sẽ bị vỡ.		
6	Cloramin là hợp chất nhóm halogen.		
7	pH quá cao hay quá thấp sẽ làm rối loạn trao đổi chất của tế bào vi khuẩn.		
8	Đa số vi khuẩn bị chết ở nhiệt độ 58 ^o C/30 phút.		
9	Hợp chất iod thuộc nhóm halogen.		
10	Tất cả vi khuẩn muốn phát triển được thì môi trường phải có đủ không khí.		
11	Miệng là môi trường thuận lợi cho nhiều loại vi khuẩn.		
12	Chất tẩy uế có tác dụng sát khuẩn yếu.		
13	Ở nhiệt độ trên 37 ^o C vi khuẩn sẽ dần bị tiêu diệt.		
14	Ở nơi không có độ ẩm thích hợp, vi khuẩn không phát triển.		
15	Formol thuộc nhóm andehyd.		
16	Nha bào bị tiêu diệt ở nhiệt độ 100 ^o C.		



**THƯ VIỆN
HUBT**

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

- 17.** Formaldehyt thường được dùng trong trường hợp:
A. Sát khuẩn da B. Tẩy uế chất thải
C. Tẩy uế đồ dùng dụng cụ D. Xử lý nguồn nước sinh hoạt
- 18.** Hợp chất sau thường được dùng để sát khuẩn da:
A. Flor B. Iod C. Clor D. Phenol
- 19.** Chất sau làm pH của môi trường nuôi cấy vi khuẩn bị thay đổi:
A. Acid B. Bazơ C. Muối kim loại D. Acid và bazơ
- 20.** Đa số vi khuẩn không phát triển được ở nhiệt độ:
A. 10– 40°C B. 30– 35°C C. 37°C D. > 42°C
- 21.** Trong môi trường nhược trương, tế bào vi khuẩn thay đổi như sau:
A. Vô tế bào B. Không thay đổi
C. Teo tế bào D. Tế bào méo mó
- 22.** Điều kiện sau thích hợp cho các loại vi khuẩn:
A. Môi trường đẳng trương
B. Môi trường có 7–9 ‰ NaCl
C. Môi trường có 7–9 % NaCl
D. Cả A+B
- 23.** Trong dung dịch ưu trương, tế bào vi khuẩn bị teo lại là do yếu tố:
A. pH B. Độ ẩm
C. Áp lực thẩm thấu D. Rối loạn trao đổi chất
- 24.** Đa số vi khuẩn bị giết chết ở nhiệt độ 100°C sau thời gian:
A. 10–15 phút B. 20–25 phút
C. 30–60 phút D. 1–2 phút

NHIỄM TRÙNG VÀ TRUYỀN NHIỄM

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa nhiễm trùng và các hình thái nhiễm trùng.
2. Giải thích đúng các nhân tố gây nhiễm trùng.
3. Nêu được nguồn gốc bệnh truyền nhiễm, phương thức truyền nhiễm và đặc điểm bệnh truyền nhiễm.

1. Định nghĩa nhiễm trùng

Nhiễm trùng là sự xâm nhập vào mô của các vi sinh vật gây bệnh dẫn tới sự xuất hiện hoặc không xuất hiện bệnh nhiễm trùng. Như vậy, nhiễm trùng là sự xâm nhập vào tế bào của các vi sinh vật gây bệnh.

Trên thực tế, có bệnh nhiễm trùng là do nhiễm trùng nhưng bị nhiễm trùng chưa chắc đã dẫn tới bị bệnh nhiễm trùng. Những vi sinh vật ký sinh trong cơ thể nhưng không xâm nhập vào tế bào thì không gọi là nhiễm trùng. Đa số những vi sinh vật này không gây bệnh nhưng khi khả năng đề kháng của cơ thể suy giảm chúng có thể gây bệnh.

2. Các hình thái nhiễm trùng

2.1. Bệnh nhiễm trùng

Vi sinh vật vào cơ thể gây ra các rối loạn cơ chế điều hoà của cơ thể dẫn đến xuất hiện các triệu chứng nhiễm trùng như sốt, đau, thương tổn, viêm... và tìm thấy vi sinh vật gây bệnh trong các bệnh phẩm. Có hai loại bệnh nhiễm trùng:

Nhiễm trùng cấp tính: biểu hiện triệu chứng rõ rệt, có thể rầm rộ, bệnh thường diễn biến trong một thời gian ngắn rồi khỏi hoặc tử vong, cũng có thể bệnh chuyển thành mạn tính.

Nhiễm trùng mạn tính: các triệu chứng nhiễm trùng không rõ rệt, không rầm rộ nhưng bệnh thường kéo dài. Loại bệnh này thường do các vi khuẩn gây bệnh ký sinh trong tế bào như bệnh lao, hủi, lậu...

2.2. Nhiễm trùng thể ẩn

Một số vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào tế bào tổ chức của cơ thể người

nhưng không có biểu hiện triệu chứng lâm sàng. Thường thì không tìm thấy vi sinh vật trong bệnh phẩm nhưng có thể có những thay đổi về công thức máu và miễn dịch. Nhiễm trùng thể ẩn gặp nhiều non bệnh nhiễm trùng. Ví dụ: 95% bệnh nhân bị mắc bệnh bại liệt thể ẩn, khi xét nghiệm miễn dịch thì có kháng thể trong huyết thanh. Nhiễm trùng thể ẩn là nguồn lây bệnh nguy hiểm.

2.3. Nhiễm trùng tiềm tàng

Đó là những trường hợp vi sinh vật gây bệnh tồn tại ở một số cơ quan của cơ thể nhưng không gây bệnh. Khi gặp điều kiện thuận lợi như sức đề kháng giảm, lao động quá sức, dinh dưỡng thiếu... thì vi sinh vật sẽ gây bệnh. Ví dụ: tỷ lệ những người nhiễm vi khuẩn lao là rất cao nhưng đa số không bị bệnh lao, khi sức đề kháng giảm, những người đó dễ bị bệnh lao.

2.4. Nhiễm trùng chậm

Là nhiễm trùng mà thời gian ủ bệnh thường rất dài. Loại nhiễm trùng này thường gặp ở một số virus như HIV, virus dại...

3. Nhân tố gây nhiễm trùng

3.1. Vi sinh vật gây bệnh

Vi sinh vật gây bệnh là nhân tố quyết định của sự nhiễm trùng. Khả năng gây bệnh của vi sinh vật phụ thuộc vào ba yếu tố: độc lực, số lượng, đường xâm nhập vào cơ thể.

3.1.1 Độc lực

Độc lực là sức gây bệnh của một chủng vi sinh vật có khả năng gây bệnh nhiều hay ít, nặng hay nhẹ. Để đánh giá độc lực của một chủng vi sinh vật hay độc tố của nó có khả năng gây bệnh, người ta thường dùng một số đơn vị:

- **MLD** (minimal lethal dose – liều chết tối thiểu): là số lượng ít nhất vi sinh vật hoặc độc tố của nó đủ giết chết một lô động vật thí nghiệm trong một thời gian xác định.

- **LD 50** (50 percent lethal dose – liều chết 50%): là lượng tối thiểu vi sinh vật hoặc độc tố của chúng đủ giết chết 50% động vật thí nghiệm trong một thời gian xác định.

Độc lực của vi sinh vật không phải là cố định, khi mới phân lập vi sinh vật thường có độc lực cao, sau cấy truyền nhiều lần thì độc lực giảm dần. Độc lực của vi sinh vật bao gồm các yếu tố sau:

- **Độc tố:** là chất độc của vi sinh vật, có hai loại độc tố:
 - + **Ngoại độc tố:** là độc tố do vi sinh vật tiết ra ngoài môi trường xung quanh trong quá trình phát triển. Độc tính của loại độc tố này rất mạnh, bản chất hoá học là glycoprotein nên không chịu được nhiệt độ cao, dễ bị hoá chất phá huỷ,

ngoại độc tố có tính kháng nguyên cao, sau khi xử lý với hoá chất và nhiệt độ thì mất tính độc, chất này được gọi là giải độc tố dùng để làm vaccin phòng bệnh. Ngoại độc tố có ở các vi khuẩn Gram dương và một số vi khuẩn Gram âm.

+ **Nội độc tố:** độc tố gắn ở vách của tế bào vi khuẩn không khuếch tán ra ngoài môi trường mà chỉ khi vi sinh vật chết mới được giải phóng do tế bào vi khuẩn tan vỡ. Bản chất hoá học là lipopolysaccharid (LPS) chịu được nhiệt độ cao, tính độc yếu, tính kháng nguyên yếu, không có khả năng trở thành giải độc tố. Nội độc tố có ở các vi khuẩn Gram âm.

+ **Yếu tố bám:** để vi sinh vật có thể xâm nhập vào mô và gây nhiễm trùng, điều kiện đầu tiên là vi sinh vật phải bám được hoặc hấp phụ được vào bề mặt tế bào cảm thụ. Việc bám này giúp cho vi sinh vật tránh được những tác động cơ học làm ảnh hưởng tới khả năng gây bệnh của vi khuẩn. Vi sinh vật bám được vào tế bào là do các phân tử đặc hiệu của vi sinh vật (adhesin) gắn với các phân tử tiếp nhận (receptor) trên bề mặt tế bào cảm thụ. Các thành phần bề mặt của vi khuẩn tham gia bám đặc hiệu là các pili, các yếu tố sợi, polysaccharid bề mặt...

+ **Yếu tố xâm nhập:** xâm nhập là yếu tố quyết định của sự nhiễm trùng. Vi sinh vật có nhiều cách xâm nhập khác nhau. Có thể vi sinh vật dính chặt vào bề mặt tế bào gây tổn thương màng tế bào rồi vi sinh vật lọt vào tế bào. Hoặc như cầu khuẩn lậu khi tiếp xúc với các vi nhung mao của tế bào biểu mô bị chúng bao bọc thành một lớp áo ngoài, cầu khuẩn lậu chui vào trong tế bào biểu mô và sinh sản lan truyền giữa các tế bào. Đối với những vi khuẩn gây bệnh bằng ngoại độc tố thì chúng làm tổn hại màng tế bào, sinh sản trên màng nhày niêm mạc, tiết ra ngoại độc tố thâm vào tế bào gây ra những tác động nghiêm trọng cho cơ thể.

+ **Enzym:** một số enzym của vi khuẩn có liên quan đến khả năng gây bệnh. Bản thân chúng ít tính độc nhưng chúng có thể là yếu tố xâm nhập như hyaluronidase. Hoặc coagulase của tụ cầu vàng làm hoạt hoá plasma của máu biến thành fibrin lắng đọng xung quanh vi khuẩn và những nơi tổn thương do vi khuẩn gây ra, do đó ngăn cản hiện tượng thực bào và tác dụng của kháng thể, kháng sinh. Một số enzym gây tan máu như các dung huyết tố của tụ cầu vàng.

– Vỏ và kháng nguyên bề mặt

+ **Kháng nguyên vỏ:** vỏ của một số vi khuẩn có tác dụng chống lại thực bào bằng cách bao hoà sự opsonin hoá nên đã giúp cho vi khuẩn tồn tại và gây bệnh.

+ **Kháng nguyên bề mặt:** kháng nguyên bề mặt của một số vi khuẩn có tác dụng chống lại thực bào.

– Sự né tránh đáp ứng miễn dịch

Vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào cơ thể thì cơ thể sẽ hình thành miễn dịch chống lại vi sinh vật. Nhưng vi sinh vật sẽ né tránh các yếu tố bảo vệ của cơ thể bằng các hình thức:

+ *Sự ẩn dật của vi sinh vật*: vi sinh vật chui vào tế bào để tránh tác dụng của kháng thể và một số loại kháng sinh.

+ *Vi sinh vật tiết ra các yếu tố ngăn cản* như tụ cầu vàng tiết ra protein A bao xung quanh tế bào vi khuẩn, protein này sẽ gắn với phần Fc của IgG nên ngăn cản tác dụng của kháng thể.

+ *Thay đổi kháng nguyên bề mặt*: virus HIV, virus cúm thường thay đổi kháng nguyên bề mặt để không bị tác dụng bởi kháng thể đặc hiệu.

3.1.2. Số lượng

Vi sinh vật gây bệnh khi xâm nhập vào cơ thể không những cần có độc lực mà cũng cần có một số lượng nhất định mới gây được bệnh. Số lượng này tỷ lệ nghịch với độc lực. Ví dụ: chỉ cần số lượng ít trực khuẩn uốn ván cũng gây được bệnh nhưng phải nhiễm số lượng lớn trực khuẩn thương hàn vào cơ thể mới bị mắc bệnh.

3.1.3. Đường xâm nhập

Đa số vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể bằng đường thích hợp mới gây được bệnh. Ví dụ: Trực khuẩn lỵ gây bệnh bằng đường tiêu hoá, trực khuẩn uốn ván vào cơ thể gây bệnh qua vết thương, cầu khuẩn lậu vào cơ thể qua đường sinh dục. Tuy nhiên, có những vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể bằng đường không thích hợp cũng gây được bệnh nhưng phải cần số lượng lớn hơn.

3.2. Tính chất phản ứng của cơ thể

Cơ thể có vai trò quan trọng trong quá trình nhiễm trùng. Khi cơ thể không cảm nhiễm đối với các vi sinh vật xâm nhập thì không có bệnh nhiễm trùng, trong đó hệ thần kinh đóng vai trò quan trọng nhất. Khi cơ thể cảm nhiễm nhưng khả năng đề kháng tốt cũng không bị bệnh nhiễm trùng. Các yếu tố như tuổi, tình trạng dinh dưỡng, nội tiết tố... và đặc biệt yếu tố di truyền cũng ảnh hưởng lớn tới bệnh nhiễm trùng.

3.3. Yếu tố hoàn cảnh

Hoàn cảnh tự nhiên: là các yếu tố thời tiết, khí hậu, nhiệt độ, độ ẩm, điều kiện địa lý... Một số bệnh nhiễm trùng liên quan tới các yếu tố trên như bệnh đường ruột thường mắc nhiều về mùa hè, bệnh hô hấp nhiều hơn về mùa đông...

Hoàn cảnh xã hội: các điều kiện xã hội có ảnh hưởng lớn tới bệnh nhiễm trùng, truyền nhiễm. Ở các nước nghèo, kém phát triển bệnh nhiễm trùng phổ biến. Ở Việt Nam, ngày nay sự tiến bộ của khoa học nói chung, y học nói riêng đặc biệt do làm tốt công tác phòng bệnh, chúng ta đã thanh toán được nhiều bệnh dịch nguy hiểm như đậu mùa. Tuy nhiên, một số bệnh đang là mối đe dọa như: sốt rét, viêm gan virus, sốt xuất huyết, nhiễm HIV/ AIDS...

4. Nguồn gốc bệnh truyền nhiễm và phương thức truyền nhiễm

4.1. Nguồn gốc bệnh truyền nhiễm

4.1.1. Bên ngoài

Người truyền cho người: phần lớn các bệnh truyền nhiễm là do người truyền cho người. Mầm bệnh có thể ở bệnh nhân, người khỏe mang khuẩn hoặc người lành mang khuẩn. Đặc biệt một số bệnh truyền nhiễm, bệnh có thể lây từ trước khi có triệu chứng lâm sàng.

Động vật truyền sang người: đa số các bệnh do vi sinh vật gây bệnh cho người không gây bệnh cho động vật và ngược lại. Tuy nhiên, có một vài vi sinh vật gây bệnh cho cả hai và lây từ động vật sang người như: bệnh dại, dịch hạch, bệnh than...

4.1.2. Bên trong

Trên da hay trong cơ thể người bình thường có một số vi sinh vật sống nhưng không gây bệnh. Nhưng khi cơ thể suy yếu, sức đề kháng giảm hoặc có những tổn thương, sang chấn... thì chúng dễ dàng gây bệnh. Hoặc khi vi khuẩn thay đổi nơi cư trú thì gây bệnh như *E.coli* ở đại tràng không gây bệnh, khi ở bàng quang thì gây bệnh.

4.2. Phương thức truyền nhiễm

Truyền nhiễm do tiếp xúc: bệnh truyền nhiễm có thể lây do tiếp xúc trực tiếp giữa người với người như: bệnh giang mai, lậu hoặc tiếp xúc giữa động vật với người qua vết cắn, liếm như bệnh dại. Cũng có thể do tiếp xúc qua đồ dùng dụng cụ như bệnh: mắt hột, uốn ván.

Truyền nhiễm qua đường tiêu hoá: các bệnh đường ruột và một số bệnh khác lây truyền do ăn phải thức ăn có vi sinh vật của người bệnh bài tiết như: tả, lỵ, thương hàn, viêm gan, bại liệt...

Truyền nhiễm qua đường hô hấp: có rất nhiều loại vi sinh vật được lây truyền và gây bệnh qua đường hô hấp như bệnh: lao, hủi, ho gà, bạch hầu, cúm, sởi, quai bị...

Truyền nhiễm do côn trùng tiết túc: côn trùng tiết túc là môi giới trung gian truyền nhiều bệnh như chấy rận truyền bệnh sốt phát ban, bọ chét truyền bệnh dịch hạch, muỗi truyền bệnh viêm não, sốt xuất huyết...

5. Đặc điểm của bệnh truyền nhiễm

Vi sinh vật gây ra bệnh truyền nhiễm gọi là mầm bệnh. Mỗi loại bệnh truyền nhiễm do một loại mầm bệnh gây nên.

Bệnh lây truyền bằng một hoặc nhiều đường khác nhau. Nhiều bệnh có một đường lây truyền, một số ít bệnh có hai đến ba đường lây truyền.

Bệnh tiến triển qua các giai đoạn kết tiếp nhau: nung bệnh, khởi phát, toàn phát, lui bệnh và hồi phục. Thời gian từng giai đoạn dài hay ngắn là tùy theo từng loại bệnh vì độc lực của mỗi vi sinh vật khác nhau, tính chất phản ứng của cơ thể khác nhau. Mặt khác, sau khi vào cơ thể, vi sinh vật phải sinh sản tới một số lượng nhất định mới gây bệnh.

Khi mắc các bệnh truyền nhiễm, cơ thể người có đáp ứng miễn dịch thể hoặc miễn dịch qua trung gian tế bào. Mức độ miễn dịch và thời gian tồn tại miễn dịch khác nhau tùy từng bệnh và cơ thể bệnh nhân. Có loại bệnh khi đã nhiễm mầm bệnh thì chắc chắn sẽ mắc bệnh nhưng có loại mầm bệnh khi cơ thể nhiễm phải, không phải trường hợp nào cũng mắc bệnh.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Nhiễm trùng là sự xâm nhập của vi sinh vật vào cơ thể.		
2	Nhiễm trùng cấp tính có thời gian ủ bệnh ngắn.		
3	Nhiễm trùng thể ẩn là có quá trình xâm nhập vào tế bào nhưng không có biểu hiện triệu chứng lâm sàng.		
4	Độc lực là sức gây bệnh của vi sinh vật.		
5	MLD là liều chết tối thiểu.		
6	Ngoại độc tố không trở thành giải độc tố.		
7	Vỏ, yếu tố bám là độc tố của vi sinh vật.		
8	Vi sinh vật gây bệnh phải cần một số lượng nhất định.		
9	Sau khi mắc bệnh truyền nhiễm, mọi cơ thể đều thu được miễn dịch.		
10	Vi sinh vật vào cơ thể bằng đường không thích hợp vẫn có khả năng gây bệnh.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

11. Bệnh truyền nhiễm có đặc điểm khác bệnh nhiễm trùng:

- A. Do vi sinh vật B. Bệnh chỉ có ở người
C. Thời gian ủ bệnh ngắn D. Có lây

12. Nhiễm trùng là một tình trạng:
- A. Vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể
 - B. Vi sinh vật xâm nhập vào mô
 - C. Vi sinh vật có độc tính đối với cơ thể
 - D. Vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể không gây triệu chứng lâm sàng
13. Vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể gây nên bệnh kéo dài được gọi là:
- A. Nhiễm trùng cấp tính
 - B. Nhiễm trùng mạn tính
 - C. Nhiễm trùng tiềm tàng
 - D. Nhiễm trùng chậm
14. Độc lực của vi sinh vật có đặc điểm sau:
- A. Luôn luôn cố định
 - B. Có độc lực cao
 - C. Giảm dần sau tiêm truyền hoặc cấy chuyển nhiều lần
 - D. Bị các yếu tố lý hoá chuyển thành giải độc tố
15. Ngoại độc tố của vi khuẩn khác nội độc tố ở điểm sau:
- A. Bản chất hoá học
 - B. Tính độc
 - C. Tính kháng nguyên
 - D. Tất cả đều đúng

NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày định nghĩa và dịch tễ học của nhiễm trùng bệnh viện.
2. Trình bày các yếu tố thuận lợi cho nhiễm trùng bệnh viện.
3. Nêu các nguyên tắc phòng tránh nhiễm trùng bệnh viện.

1. Định nghĩa

Nhiễm trùng bệnh viện là những nhiễm trùng xảy ra ở những bệnh nhân sau khi vào viện mà lúc vào viện thì chưa biểu hiện và chưa ủ bệnh.

Để hiểu rõ định nghĩa này chúng ta phải lưu ý ở hai điểm sau:

– Những bệnh nhân nhiễm vi sinh vật tại bệnh viện, nhưng chỉ biểu hiện bệnh sau khi ra viện thì cũng được gọi là nhiễm trùng bệnh viện.

– Bệnh nhân ủ bệnh với một vi sinh vật nào trước khi vào viện, nhưng trong thời gian thăm khám và điều trị tại bệnh viện mới có biểu hiện lâm sàng thì không gọi là nhiễm trùng bệnh viện.

2. Dịch tễ học

Nhiễm trùng bệnh viện gặp ở tất cả các nước trên thế giới, từ những nước chậm phát triển cho tới nước phát triển. Tuy nhiên, có sự khác biệt là nước càng kém phát triển tỷ lệ nhiễm trùng càng cao. Ước tính các bệnh nhiễm trùng tại bệnh viện xảy ra khoảng 2–10% đối với các bệnh nhân điều trị tại các bệnh viện đa khoa. Nhưng tỷ lệ nhiễm trùng này ở những bệnh viện tuyến tỉnh trở lên (nơi có nhiều bệnh nhân nặng) cao hơn rất nhiều ở các tuyến cơ sở (chủ yếu là bệnh nhân nhẹ).

Tính trung bình, các bệnh nhiễm trùng tại bệnh viện có tỷ lệ tử vong khoảng 1% và chiếm 3% trong số bệnh nhân tử vong do các nguyên nhân khác nhau. Ở Mỹ con số các nhiễm trùng tại bệnh viện là vào khoảng 2 triệu bệnh nhân mỗi năm và gây ra chừng 20.000 trường hợp tử vong.

3. Các yếu tố thuận lợi cho nhiễm trùng bệnh viện

3.1. Vi sinh vật gây bệnh nhiễm trùng

Nguồn vi sinh vật có khả năng gây nhiễm trùng tại bệnh viện là rất lớn, chúng có thể phát tán trong môi trường qua những chất bài tiết hoặc bệnh phẩm.



Ngoài ra, những vi sinh vật này còn hay gặp ở bàn tay, trang phục của nhân viên y tế cũng như ngay trong cơ thể của chính những bệnh nhân khám và điều trị tại bệnh viện. Các vi sinh vật gây nhiễm trùng bệnh viện có thể là vi khuẩn, virus hoặc nấm và ký sinh trùng.

– Đối với vi khuẩn thì đứng đầu là vi khuẩn Gram âm, chúng có thể gây ra nhiễm trùng ở nhiều cơ quan khác nhau như hệ tiết niệu, hệ tuần hoàn hoặc ở các vết mổ... Có nhiều vi khuẩn loại này đặc biệt là trực khuẩn mủ xanh và *Klebsiella* chỉ cần điều kiện dinh dưỡng tối thiểu là có thể tồn tại được. Do đó, chúng có khả năng tạo nên các nguồn dự trữ vi khuẩn trong bệnh viện cũng như ở bệnh nhân. Ngoài ra các vi khuẩn Gram âm như: *Enterobacter*, trực khuẩn mủ xanh và *Serratia* và *Klebsiella*... là các vi khuẩn kháng thuốc rất mạnh nên gây ra rất nhiều khó khăn trong quá trình điều trị, làm cho nhiễm trùng bệnh viện ngày càng trở nên phức tạp. Tiếp sau là các cầu khuẩn Gram dương, thì tụ cầu vàng hay gặp nhất với sự gia tăng của các chủng kháng nhiều loại kháng sinh. Trong nhiễm trùng vết mổ và vết bỏng thì tụ cầu vàng chiếm nhiều nhất. Hiện nay, người ta còn thấy liên cầu D đóng vai trò rất quan trọng trong các nguyên nhân gây nhiễm trùng tiết niệu tại bệnh viện.

– Đối với virus thì các virus đường hô hấp, nhất là virus hợp bào hô hấp và virus cúm được thừa nhận là gây bệnh đáng kể tại bệnh viện. Các virus truyền bệnh khác trong máu (virus viêm gan, virus HIV...) cũng đang là mối quan tâm cho nhân viên y tế cũng như người bệnh.

– Nhiễm trùng bệnh viện cũng có thể do ký sinh trùng và nấm gây ra. Điển hình với ký sinh trùng là *Entamoeba histolytica* và với nấm là *Candida*.

Tất cả các vi sinh vật gây nhiễm trùng bệnh viện đều có thể bắt nguồn từ bên ngoài hoặc bên trong cơ thể bệnh nhân. Những nhiễm trùng bệnh viện do vi sinh vật từ ngoài xâm nhập vào được gọi là nhiễm trùng *ngoại sinh*, còn do vi sinh vật ký sinh trong cơ thể gây nên thì được gọi là nhiễm trùng *nội sinh*.

3.2. Sự lan truyền của vi khuẩn trong bệnh viện

Do các nhân viên y tế hằng ngày phải thăm khám, điều trị, chăm sóc hoặc làm các thủ thuật, xét nghiệm cho nhiều bệnh nhân khác nhau nên tiếp xúc với họ tại bệnh viện vẫn là cách lan truyền chính của vi khuẩn trong bệnh viện. Các phương thức truyền bệnh khác ít quan trọng hơn bao gồm sự tiếp xúc giữa các bệnh nhân gây lan truyền các bệnh hô hấp như cúm, lao... hoặc qua không khí, theo đó lan truyền các bệnh như thủy đậu và lao...

Tuy nhiên, các ổ chứa trong môi trường đã được chứng minh là có tầm quan trọng hàng đầu gây ra các bệnh nấm như hít phải các bào tử *Aspergillus* trong bụi.

3.3. Yếu tố vật chủ

Những bệnh nhân được điều trị, chăm sóc tại bệnh viện là các đối tượng mắc

những bệnh khác nhau hoặc do tuổi già. Do đó, tính toàn vẹn và cân bằng của cơ thể không còn nữa, cho nên bệnh nhân sẽ có nguy cơ nhiễm trùng bệnh viện với các lý do sau:

Suy giảm sức đề kháng, cụ thể:

– Suy giảm miễn dịch (đặc biệt ở những bệnh nhân bị bệnh của các cơ quan miễn dịch, bệnh nhân dùng thuốc chống miễn dịch, bệnh mạn tính; tuổi già – suy kiệt, trẻ em còi xương, suy dinh dưỡng...).

– Tổn thương hàng rào da – niêm mạc (gặp ở những bệnh nhân nằm lâu bị loét da, hoặc bệnh nhân hít phải các hoá chất ăn mòn gây tổn thương niêm mạc đường hô hấp).

-- Những bệnh nhân bị tổn thương hệ thống thần kinh gây rối loạn các phản xạ bảo vệ tự nhiên, ví dụ: phản xạ ho để tống dị vật ra ngoài...

Vậy, tuổi và bệnh cơ bản của bệnh nhân, tính toàn vẹn của các bề mặt da – niêm mạc, tình trạng các cơ chế phòng vệ miễn dịch của người bệnh là yếu tố chính quyết định cả tỷ lệ lẫn tiên lượng của các bệnh nhiễm trùng lây nhiễm tại bệnh viện.

4. Để phòng nhiễm trùng bệnh viện

Nhiễm trùng bệnh viện ngày càng trở lên nguy hiểm hơn rất nhiều bởi vì khả năng đề kháng đối với kháng sinh của vi khuẩn trong bệnh viện là rất đa dạng. Vì vậy, các biện pháp để phòng được đặt lên hàng đầu với ba nguyên tắc chính sau đây:

4.1. Tiêu diệt các nguồn vi sinh vật có khả năng gây nhiễm trùng

Do không kiểm soát được tất cả những vi sinh vật có khả năng gây bệnh trong bệnh viện, cho nên chúng ta chỉ có thể áp dụng cách này trong các trường hợp cụ thể. Đó là phải xử lý tốt các chất thải của bệnh nhân và các bệnh phẩm của họ sau khi xét nghiệm. Đối với những dụng cụ ngoại khoa hoặc các kỹ thuật thăm dò thì phải được tiệt trùng một cách đúng theo quy định. Ngoài ra, thì tiệt trùng các phòng thủ thuật và phẫu thuật cũng đóng vai trò rất quan trọng.

4.2. Hạn chế sự lan truyền của vi sinh vật gây bệnh trong bệnh viện

Đây là công việc cực kỳ khó khăn, nó cần sự phối hợp một cách nghiêm ngặt của nhân viên y tế, bệnh viện và cả gia đình người bệnh.

Đối với nhân viên y tế thì phải thực hiện nghiêm túc thói quen rửa tay thường quy. Những người làm việc trong những khoa có khả năng lây nhiễm cao (ví dụ khoa truyền nhiễm, khoa xét nghiệm....) thì phải có bảo hộ tốt và quản lý được tất cả những bệnh nhân và bệnh phẩm để tránh khả năng lan truyền.

Đối với bệnh nhân trong thời gian thăm khám và điều trị trong bệnh viện phải tuân thủ tất cả những hướng dẫn của nhân viên y tế, đặc biệt là những

bệnh nhân mắc các bệnh truyền nhiễm phải cách ly. Thực hiện nếp sống vệ sinh – vệ sinh thân thể cũng như môi trường xung quanh.

Đối với gia đình bệnh nhân khi vào chăm sóc hoặc thăm hỏi người bệnh thì phải tuân theo nội quy của khoa phòng và sự hướng dẫn của thầy thuốc để tránh nhiễm trùng bệnh viện cho bệnh nhân cũng như cho chính bản thân mình.

4.3. Nâng cao sức đề kháng cho đối tượng cảm thụ

Nhiễm trùng bệnh viện thường xảy ra là vì bệnh nhân bị suy giảm sức đề kháng đối với vi sinh vật gây bệnh. Vì vậy, ngoài công tác điều trị chính thì việc nâng cao thể trạng cho bệnh nhân là rất cần thiết. Đây là công việc không những của các nhân viên y tế mà còn cần sự đóng góp rất lớn của gia đình, bao gồm các chăm sóc điều dưỡng hợp lý cũng như tập luyện để phòng bệnh. Ví dụ: những bệnh nhân nằm tại giường lâu thì phải dùng đệm nước; bệnh nhân không ăn được thì phải bù các chất dinh dưỡng qua đường ống thông hoặc tĩnh mạch. Tăng cường vận động ở bệnh nhân sau mổ và tập thở, ho ở những bệnh nhân có tổn thương màng phổi.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Bệnh nhân trong thời gian thăm khám và điều trị tại bệnh viện mà có biểu hiện bệnh nhiễm trùng thì được gọi là nhiễm trùng bệnh viện.		
2	Nhiễm trùng bệnh viện xảy ra ở các nước chậm phát triển có tỷ lệ cao hơn những nước phát triển.		
3	Nhiễm trùng bệnh viện ngày càng nguy hiểm do sự đề kháng rất lớn của vi khuẩn đối với các loại kháng sinh.		
4	Nhiễm trùng bệnh viện thường xảy ra ở những bệnh nhân bị suy giảm sức đề kháng đối với các vi sinh vật gây bệnh.		
5	Nhiễm trùng bệnh viện thường gặp nhất là do vi khuẩn Gram dương		
6	Sự lan truyền chính của vi khuẩn trong bệnh viện vẫn là quá trình tiếp xúc với các nhân viên trong bệnh viện.		
7	Những vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện chỉ là các vi khuẩn gây bệnh cơ hội.		
8	Để tăng cường sức đề kháng cho bệnh nhân thì phải thực hiện hai công việc chính là chăm sóc điều dưỡng hợp lý và tăng cường tập luyện.		

Trả lời ngắn các câu sau

9. Nêu hai nguồn gây nhiễm trùng bệnh viện:

A.....

B.....

10. Nêu ba nguyên tắc chính trong phòng ngừa nhiễm trùng bệnh viện:

A.....

B.....

C.....

CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT BỆNH NHIỄM KHUẨN

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày và giải thích được ý nghĩa các kỹ thuật thường được áp dụng trong chẩn đoán trực tiếp vi khuẩn gây bệnh.
2. Nêu đầy đủ nguyên tắc và các bước tiến hành chẩn đoán gián tiếp các bệnh do vi khuẩn.

Chẩn đoán vi sinh vật có ý nghĩa quyết định trong chẩn đoán các bệnh nhiễm khuẩn. Chẩn đoán vi sinh vật là xác định nguyên nhân vi khuẩn gây bệnh hoặc tìm kháng thể do vi khuẩn kích thích cơ thể (đáp ứng miễn dịch của cơ thể). Do đó, cần phải chẩn đoán bằng hai phương pháp: Chẩn đoán trực tiếp và chẩn đoán gián tiếp.

1. Chẩn đoán trực tiếp

1.1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm là những chất có chứa vi khuẩn gây bệnh lấy từ người bệnh. Vì vậy, bệnh phẩm được lấy tùy theo từng bệnh. Bệnh phẩm có thể là phân (trong các nhiễm khuẩn đường ruột), có thể là máu (trong nhiễm trùng máu), các chất dịch (dịch não tủy, dịch màng bụng, dịch màng phổi), hoặc các chất dịch ở các hốc tự nhiên (dịch ngoáy họng, dịch âm đạo). Để lấy bệnh phẩm đúng kỹ thuật, phải đảm bảo ba nguyên tắc:

Đúng vị trí: lấy ở nơi đang có biểu hiện bệnh lý, trong các viêm nhiễm thì nên lấy ở ranh giới giữa nơi lành và nơi tổn thương.

Đúng thời gian: lấy đúng lúc bệnh phẩm có nhiều vi khuẩn hoặc khi chưa dùng kháng sinh. Ví dụ: lấy máu cấy tìm vi khuẩn thương hàn phải lấy từ tuần đầu của bệnh.

Phải vô khuẩn: không để vi khuẩn từ bên ngoài nhiễm vào bệnh phẩm làm sai kết quả và không gây nhiễm khuẩn thêm cho bệnh nhân.

Sau khi bệnh phẩm lấy xong cho vào các dụng cụ vô khuẩn dán nhãn để tên người bệnh, khoa, phòng điều trị, tên chất thử, thời gian lấy bệnh phẩm... đóng

gói đúng quy cách rồi gửi về phòng xét nghiệm. Đa số bệnh phẩm cần được nuôi cấy nên phải giữ cho vi khuẩn còn sống đến lúc làm xét nghiệm. Muốn vậy thì bệnh phẩm phải được chuyển và làm xét nghiệm ngay. Nếu chưa có điều kiện phải giữ chúng trong môi trường hoặc dung dịch bảo quản ở nhiệt độ thích hợp.

1.2. Nhuộm soi (chẩn đoán nhanh)

Tùy theo từng chẩn đoán bệnh mà chọn phương pháp nhuộm soi thích hợp. Đa số vi khuẩn nhuộm bằng phương pháp Gram, một số nhuộm bằng phương pháp đặc biệt như Ziehl Neelsen, Albert, thẩm bạc, Wayson... Nhuộm bệnh phẩm để quan sát hình thể kích thước, cách sắp xếp và tính chất bắt màu của vi khuẩn. Đánh giá các loại tế bào và mối quan hệ giữa vi khuẩn và tế bào như vi khuẩn nằm trong hay ngoài tế bào, vi khuẩn nằm trên tế bào.

Kết quả nhuộm soi thường chỉ có giá trị chẩn đoán sơ bộ và định hướng cho nuôi cấy. Đây là phương pháp đơn giản, nhanh, ít tốn kém và có thể thực hiện được ở các tuyến y tế cơ sở. Đối với một số bệnh cấp tính và có thể thành dịch thì chẩn đoán nhanh có vai trò quan trọng trong phòng bệnh và điều trị tuy rằng chưa được chính xác, ví dụ bệnh bạch hầu, dịch hạch. Tuy nhiên, trong một số trường hợp nhuộm soi gần như có ý nghĩa quyết định cho chẩn đoán. Ví dụ: bệnh lậu, giang mai, lao.

1.3. Nuôi cấy

Nuôi cấy vi khuẩn trên các môi trường thích hợp nhằm tăng sinh vi khuẩn về số lượng và tách được những khuẩn lạc riêng để nhận dạng khuẩn lạc và các tính chất của nó. Để nuôi cấy bệnh phẩm, người ta dùng môi trường phân lập. Hầu hết các trường hợp, môi trường phân lập là môi trường đặc. Môi trường này ngoài chất dinh dưỡng còn có một số chất khác có tác dụng ức chế hoặc kích thích chọn lọc các vi khuẩn cần tìm phát triển. Dựa vào tính chất của khuẩn lạc như hình dạng, kích thước, màu sắc hoặc tính chất nuôi cấy như tan máu, lên men một số đường... mà nhận biết và tách biệt được vi khuẩn cần tìm thành dòng vi khuẩn mới. Khi cấy chuyển vùng cần lưu ý:

- Vùng nguyên thủy không nên cấy quá ít vì như vậy sẽ làm giảm tỷ lệ dương tính khi bệnh phẩm có ít vi khuẩn.
- Các vùng tiếp theo các đường cấy nên thật dày nhưng chỉ nên để vài đường cấy đầu tiên của vùng sau chạm vào vùng trước, như vậy sẽ có được những khuẩn lạc riêng rẽ.

1.4. Xác định vi khuẩn

1.4.1. Xác định tính chất sinh vật hoá học và định typ sinh học (Biotype)

Mỗi vi khuẩn có khả năng chuyển hoá các cơ chất bằng hệ thống enzym khác nhau. Sau khi nuôi cấy trên các môi trường phân lập, dựa vào tính chất sinh vật hoá học của mỗi loại vi khuẩn mà tiếp tục cấy chuyển các vi khuẩn đó sang các

môi trường sinh vật hoá học thích hợp. Môi trường xác định tính chất sinh vật hoá học có những hoá chất đặc biệt để xác định khả năng chuyển hóa, sinh enzym, tạo sản phẩm chuyển hoá của vi khuẩn. Chú ý không được lấy khuẩn lạc từ môi trường phân lập có chất ức chế để xác định tính chất sinh vật hoá học vì những vi khuẩn khác có thể ở cạnh hoặc ở dưới khuẩn lạc. Có một số vi khuẩn có thể phân typ theo tính chất sinh vật hoá học.

1.4.2. Xác định tính chất kháng nguyên (định typ huyết thanh – serotype)

Dùng kháng thể đã biết trước (kháng huyết thanh mẫu) để xác định kháng nguyên (kháng nguyên lông, kháng nguyên thân, kháng nguyên vỏ...) của vi khuẩn phân lập được dựa vào phản ứng kết hợp kháng nguyên và kháng thể đặc hiệu. Vì vậy, xác định vi khuẩn bằng cách này có độ chính xác cao. Phương pháp này thường được áp dụng trong việc xác định vi khuẩn đường ruột bằng các phản ứng ngưng kết. Các phản ứng này xác định nhóm, typ của vi khuẩn dựa vào kháng huyết thanh.

1.4.3. Xác định tính chất ly giải bởi phage (định typ ly giải – lysotype)

Dùng phage đã biết trước cho tiếp xúc với vi khuẩn nghi ngờ xác định vi khuẩn có bị ly giải bởi phage hay không. Phương pháp này có độ chính xác rất cao, áp dụng trong chẩn đoán dịch tễ song khó có chủng phage mẫu.

1.4.4. Chẩn đoán khả năng gây bệnh thực nghiệm

Một số vi sinh vật gây bệnh cho người đồng thời cũng có khả năng gây bệnh cho súc vật nên có thể tiêm truyền cho súc vật để gây bệnh thực nghiệm. Các súc vật thường được tiêm truyền là thỏ, chuột lang, chuột bạch, chuột nhắt trắng. Đối với một số vi sinh vật có thể cần các súc vật lớn như dê, cừu, khỉ, bò... Đường tiêm truyền có thể tiêm trong da, dưới da, bắp, tĩnh mạch, phúc mạc, giác mạc... tùy theo khả năng gây bệnh của từng loại vi khuẩn. Các loại vi sinh vật khác nhau thì gây nên những bệnh cảnh khác nhau và có tính chất đặc trưng cho các loại súc vật nhất định. Sau khi tiêm truyền, theo dõi sự diễn biến của bệnh và tìm những tổn thương điển hình. Cuối cùng có thể mổ súc vật để đánh giá khả năng gây bệnh của vi khuẩn bằng đại thể.

Ngoài bốn phương pháp trên, ngày nay nhờ sự tiến bộ của khoa học người ta đã có nhiều phương pháp chẩn đoán nhanh được bệnh nhiễm khuẩn với độ chính xác cao. Ví dụ: kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp phát hiện vi khuẩn tả; phản ứng ELISA tìm kháng nguyên, kỹ thuật khuếch đại gen PCR...

2. Chẩn đoán gián tiếp (Chẩn đoán huyết thanh)

2.1. Nguyên tắc

Chẩn đoán gián tiếp các bệnh nhiễm khuẩn là dựa vào kháng nguyên mẫu đã biết trước để phát hiện kháng thể bằng các phản ứng kết hợp kháng nguyên

và kháng thể đặc hiệu. Thông qua kết quả của phản ứng mà kết luận sự có mặt của kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân.

2.2. Các bước tiến hành

2.2.1. Lấy bệnh phẩm

Lấy máu tĩnh mạch, tùy theo từng phương pháp mà lấy số lượng máu thích hợp, thường lấy 5ml máu cho vào ống nghiệm khô, để máu đông, ly tâm lấy huyết thanh, phá huỷ bố thể ở 56°C/30phút. Nên lấy máu hai lần: lần thứ nhất vào những ngày đầu của bệnh lần thứ hai sau lần thứ nhất 7-10 ngày để xác định động lực kháng thể.

2.2.2. Làm phản ứng huyết thanh

– Huyết thanh bệnh nhân được pha loãng thành nhiều nồng độ khác nhau, thường giảm dần theo bậc 2.

– Hai mẫu huyết thanh I và II cùng được tiến hành làm phản ứng trong cùng một điều kiện (huyết thanh kép).

– Xác định hiệu giá kháng thể: hiệu giá kháng thể được tính là nồng độ huyết thanh được pha loãng nhất mà ở đó phản ứng kết hợp kháng nguyên và kháng thể còn xảy ra dương tính.

– Xác định động lực kháng thể: so sánh hiệu giá kháng thể của hai mẫu huyết thanh lần I và II để tìm động lực kháng thể. Động lực kháng thể là sự gia tăng hiệu giá kháng thể lần II so với lần I, ít nhất là gấp hai lần. Khi có động lực kháng thể thì kết luận người bệnh bị nhiễm khuẩn.

Ngày nay có nhiều test nhanh để chẩn đoán huyết thanh do các hãng cung cấp để phát hiện kháng thể nhưng cũng có thể tìm kháng nguyên vi sinh vật. Ví dụ như chẩn đoán cầu khuẩn màng não, *Haemophilus influenzae*.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Mọi vi khuẩn gây bệnh cho người đều gây bệnh thực nghiệm được.		
2	Động lực kháng thể là nồng độ huyết thanh pha loãng nhất vẫn cho kết quả (+) khi gặp kháng nguyên đặc hiệu.		
3	Nhuộm soi cho kết quả sơ bộ trong chẩn đoán bệnh nhiễm khuẩn.		
4	Môi trường sinh vật hoá học là môi trường có thêm một số hoá chất đặc biệt để xác định khả năng chuyển hoá, sinh enzym...		



5	Xác định tính chất ly giải bởi phage là dùng vi khuẩn biết trước.		
6	Môi trường có đủ các chất để vi khuẩn phát triển được gọi là môi trường phân lập.		
7	Các bệnh phẩm chẩn đoán vi khuẩn thường được nuôi cấy vào môi trường đặc để phân lập vi khuẩn.		
8	Huyết thanh kép là huyết thanh lấy cùng một lúc trên bệnh nhân.		
9	Mục đích của phản ứng huyết thanh là tìm kháng thể trong máu bệnh nhân		
10	Để chẩn đoán chính xác vi khuẩn gây bệnh, sau khi phân lập cần phải xác định các tính chất sinh vật hoá học của vi khuẩn		

CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN VIRUS

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày các phương pháp chẩn đoán huyết thanh đối với các bệnh nhiễm trùng do virus.
2. Nêu các phương pháp chẩn đoán trực tiếp và phân lập virus.

Để chẩn đoán được bệnh nhiễm virus, có thể dựa vào:

- Phát hiện sự có mặt của kháng thể (KT) kháng virus trong huyết thanh bệnh nhân ở thời điểm bắt đầu có triệu chứng hoặc sớm hơn (Chẩn đoán huyết thanh).
- Xác định sự hiện diện của virus hoặc sản phẩm của chúng trong máu bệnh nhân hoặc mô khác (Chẩn đoán trực tiếp hoặc phân lập virus).

1. Chẩn đoán huyết thanh: trong các phương pháp chẩn đoán huyết thanh thì kỹ thuật ELISA là thường được sử dụng nhất.

1.1. Kỹ thuật ELISA

Nguyên lý: đây là phản ứng miễn dịch đánh dấu, trong đó chất đánh dấu là một enzym dùng để phát hiện phức hợp kháng nguyên (KN) -- kháng thể (KT) nhờ một cơ chất đặc hiệu.

Các kỹ thuật ELISA thường dùng:

Kỹ thuật dùng kháng kháng thể IgM (KKT – IgM) gắn enzym để phát hiện KT:

1. Gắn KN lên nền cứng (phiến dẻo hay đáy ống nghiệm)
2. Thêm huyết thanh cần xác định KT. Sau thời gian ủ, rửa để loại bỏ KT không kết hợp với KN.
3. Thêm KKT – IgM gắn enzym, ủ một thời gian rồi rửa bỏ KKT– IgM thừa.
4. Thêm cơ chất. Sau thời gian ủ, cho chất ngưng phản ứng rồi đọc kết quả do mật độ quang học OD (Optical density)

Kỹ thuật "Sandwich" (Dùng KN gắn enzym để phát hiện KT):

1. Gắn KN (virus) đã biết lên nền cứng.
2. Phủ huyết thanh cần xác định KT lên, để một thời gian rồi rửa nước.
3. Thêm KN gắn enzym vào. Sau ủ, rửa để loại KN–enzym thừa.

4. Cho cơ chất đặc hiệu vào, sau thời gian ủ thì thêm chất ngưng phản ứng rồi đọc kết quả bằng đo mật độ quang học.

1.2. Các kỹ thuật khác

– *Phản ứng kết hợp bổ thể* (Complement fixation test)

Trong phản ứng này có hai hệ thống tham gia:

+ Hệ thống 1 gồm có KN và huyết thanh bệnh nhân cần tìm KT

+ Hệ thống 2 gồm hồng cầu cừu (HCC) và huyết thanh kháng HC (KHC) cừu.

Trong đó, trung gian giữa hai hệ thống này là bổ thể (BT)

Nếu trong huyết thanh bệnh nhân có KT thì KT sẽ kết hợp với KN, bổ thể sẽ gắn với phức hợp KN–KT. Vì bổ thể đã được chuẩn độ trước chỉ đủ để kết hợp với phức hợp KN–KT nên bổ thể không còn để kết hợp với phức hợp HCC– KHC của hệ thống 2 khi cho thêm vào, do vậy HC cừu không bị tan.

– *Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu* (Haemagglutination – Inhibition):

Do một số virus có cấu trúc bề mặt mang KN có khả năng làm ngưng kết HC. Do vậy dựa vào tính chất này ta chẩn đoán được virus.

– *Phản ứng trung hoà* (Neutralization):

Do KT có thể làm mất khả năng gây nhiễm của virus đối với tế bào nuôi cấy hoặc động vật thí nghiệm. Vì vậy, dựa vào tính chất này người ta xác định được KT đặc hiệu trong huyết thanh. Tuy nhiên, kết quả này thực hiện khó khăn và cho kết quả chậm.

– *Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang* (Immuno fluorescene) và miễn dịch phóng xạ (Radioimmuno assay).

Cả hai kỹ thuật này đều là kỹ thuật miễn dịch đánh dấu giống ELISA, nhưng chất đánh dấu dùng để xác định phức hợp KN–KT là huỳnh quang hoặc chất phóng xạ. Các kỹ thuật này thường ít được sử dụng.

2. Chẩn đoán trực tiếp

2.1. Nguyên lý

Sử dụng KT mẫu hoặc các thiết bị khoa học để xác định trực tiếp virus hoặc các thành phần hay chất chuyển hoá của chúng (acid nucleic hoặc protein)

2.2. Các kỹ thuật xác định nhanh

Kỹ thuật ELISA: về nguyên lý cũng giống như kỹ thuật tìm KT, nhưng mục đích ở đây là tìm KN.

Miễn dịch huỳnh quang: kỹ thuật này dùng chất màu huỳnh quang gắn vào KT để phát hiện KN của virus.

PCR (Polymerase chain reaction): đây là kỹ thuật khuếch đại phân tử ADN và ARN có độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Có thể phát hiện được acid nucleic (ADN hoặc ARN) của virus sau khi được khuếch đại nhờ polymerase.

Probes: một số đoạn ADN của virus gắn chất phóng xạ thường được dùng để phát hiện genome hoặc ARN_m của virus trong mô hoặc dịch cơ thể bệnh nhân bằng sự lai phân tử.

Kính hiển vi điện tử: có thể phát hiện trực tiếp virus và hình thể của chúng. Tuy nhiên, ít sử dụng vì đòi hỏi bảo hộ và trang thiết bị hiện đại.

Tìm các thể vùi trong cơ thể: một số virus có thể tạo ra các khối đặc biệt nằm trong nhân hoặc bào tương của tế bào nhiễm trùng (Ví dụ: thể negri trong bệnh dại). Cho nên, có thể phát hiện các thể vùi này bằng thuốc nhuộm với các đặc điểm riêng của nó.

2.3. Phân lập và xác định virus

2.3.1. Các phương pháp lập virus

Sau khi lấy bệnh phẩm thì phải diệt hết tạp khuẩn bằng kháng sinh rồi mới nuôi cấy phân lập virus. Hiện nay, có ba phương pháp thường dùng:

– Nuôi cấy phân lập trên tế bào cảm thụ:

+ Có hai loại tế bào thường dùng để nuôi cấy phân lập virus, đó là: tế bào tiên phát (Ví dụ: tế bào thận khỉ) và tế bào thường trực (Ví dụ: tế bào Hela).

+ Bệnh phẩm được gây nhiễm vào các tế bào nuôi cấy phải có đầy đủ chất dinh dưỡng như acid amin, muối khoáng và huyết thanh. Nhiệt độ thường là 37°C và khí trường CO₂ và O₂ cũng phải luôn cân bằng.

+ Để phát hiện khả năng huỷ hoại tế bào của virus, ta có thể dựa vào các dấu hiệu là: nguyên sinh chất tế bào bị tiêu huỷ, do đó tế bào co tròn và không bám được vào thành chai. Ngoài ra, có thể virus tạo ra các ổ phá huỷ, môi trường trở thành màu đỏ tím.

– Nuôi cấy phân lập trên bào thai gà:

Thường dùng những quả trứng ấp được 8–11 ngày, soi lên đèn trong buồng tối để xác định buồng hơi và vị trí bào thai. Đục một lỗ ở buồng hơi rồi chọc kim tiêm qua, bơm khoảng 0,2ml bệnh phẩm vào vị trí đã xác định (tùy theo từng virus). Cuối cùng, dùng parafin nóng chảy hàn kín lỗ thủng ở lại và tiếp tục cho ấp ở 35–36°C với thời gian tùy từng loại virus.

– Phân lập virus trên động vật thí nghiệm

+ Một số virus chỉ có thể phân lập bằng cấy truyền lên động vật thí nghiệm, thông thường nhất là chuột. Sau khi cấy truyền thì động vật thí nghiệm sẽ được quan sát các dấu hiệu của bệnh hoặc chết do virus gây ra.

2.3.2. Xác định virus

Sau khi thu hoạch virus nuôi cấy phân lập, chúng ta có thể xác định các virus này nhờ huyết thanh mẫu (Standar sera) bởi các phản ứng: ngưng kết hồng cầu, kết hợp bổ thể, trung hoà và miễn dịch huỳnh quang.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau

1. Phương pháp chẩn đoán huyết thanh hay dùng nhất để chẩn đoán là:
2. Phản ứng kết hợp bổ thể gồm có..... hệ thống và trung gian là:.....
3. Phản ứng trung hoà là kháng thể làm mất khả năng..... của virus.
4. Phản ứng ngưng kết hồng cầu thường để chẩn đoán các virus có cấu trúc..... mang KN ngưng kết hồng cầu (gà, ngỗng...)
5. Nêu hai kỹ thuật ELISA thường dùng:
A.....B.....
6. Nêu ba phương pháp phân lập virus thường dùng hiện nay:
A.....B.....
C.....
7. Nêu hai loại tế bào thường dùng để nuôi cấy virus:
A.....B.....

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

8. Kỹ thuật ELISA phát hiện phức hợp KN – KT nhờ:
A. Enzym
B. Chất huỳnh quang
C. Chất phóng xạ
D. Hồng cầu
9. Phản ứng kết hợp bổ thể dương tính khi hồng cầu:
A. Ngưng kết
B. Không tan và không ngưng kết
C. Tan
D. Tất cả đều sai

CÁC TÍNH CHẤT SINH VẬT HOÁ HỌC

(2 tiết)

MỤC TIÊU

Trình bày nguyên lý và cách nhận định các tính chất sinh vật hoá học.

Mỗi loại vi khuẩn đều có một quá trình chuyển hoá riêng. Để xếp loại vi khuẩn, chúng ta phải xác định tính chất sinh vật hoá học của chúng.

1. Chuyển hoá glucid

1.1. Chuyển hoá đường

Đường là một chất vừa cung cấp năng lượng vừa cung cấp nguyên liệu để cấu tạo tế bào vi khuẩn. Chuyển hoá đường tuân theo một quá trình phức tạp, từ polyozid đến ozid qua glucose rồi đến pyruvat. Trong đó pyruvat đóng vai trò trung tâm trong các quá trình chuyển hoá đường.

1.1.1. Chuyển hoá theo con đường oxy hoá

Sản phẩm của quá trình này thường chủ yếu là CO_2 và H_2O , chỉ có một phần nhỏ là chất khác mà không phải là acid hoặc nếu là acid thì acid này rất yếu. Do vậy mà những vi khuẩn sử dụng đường bằng cách oxy hoá thì nó không làm cho môi trường nuôi cấy trở thành acid hơn hoặc chỉ thay đổi pH rất nhỏ.

1.1.2. Chuyển hoá theo con đường lên men

Thực chất của quá trình này là vi khuẩn sử dụng đường trong tình trạng yếm khí (không có O_2). Do vậy sản phẩm của quá trình là hỗn hợp các loại acid khác nhau và có thể thêm một số ít các chất chuyển hoá trung gian khác. Cho nên khi ta nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường có đường thì sản phẩm của quá trình lên men sẽ làm cho môi trường trở nên acid.

Để xác định xem vi khuẩn sử dụng đường theo cách nào thì chúng ta có thể dựa vào các môi trường sau:

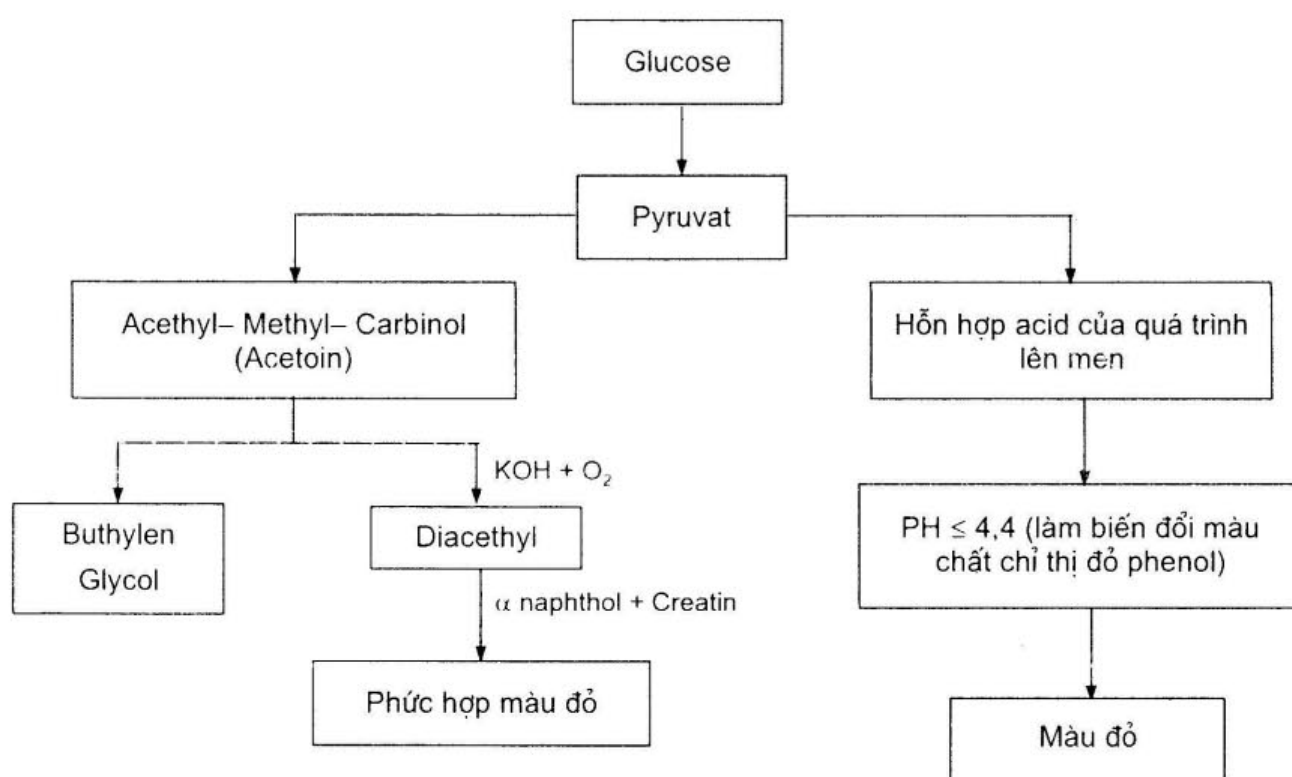
Môi trường Basiekow: môi trường Basiekow có chất chỉ thị màu là xanh bromthymol. Để xác định xem vi khuẩn có khả năng lên men một loại đường nào đó hay không thì người ta sẽ cho loại đường cần xác định (glucose, lactose, arabinose...) vào môi trường này. Sau đó cấy vi khuẩn vào môi trường, để ở nhiệt độ 37°C trong 24h. Nếu vi khuẩn lên men đường sẽ sinh ra acid và làm cho pH

của môi trường thay đổi, chỉ thị màu chuyển từ màu xanh sang màu vàng. Nếu môi trường không thay đổi màu sau khi nuôi cấy vi khuẩn trong 24h thì vi khuẩn đó có thể là không có khả năng sử dụng đường hoặc sử dụng theo con đường oxy hoá.

Môi trường KIA (Kligler Iron Agar): đây là môi trường tổng hợp gồm có hai loại đường là lactose và glucose, trong đó tỷ lệ giữa lactose và glucose là 10/1. Ngoài ra, chất chỉ thị pH là đỏ phenol cũng được đưa vào trong môi trường. Nuôi cấy vi khuẩn vào môi trường, để nhiệt độ 37°C trong 24h. Nếu vi khuẩn có khả năng lên men đường glucose mà không lên men đường lactose thì phần chân ống thạch (Môi trường KIA đổ ống thạch nghiêng) chuyển từ màu đỏ sang màu vàng, còn nếu vi khuẩn có khả năng lên men đường lactose thì toàn bộ môi trường chuyển sang màu vàng.

1.2. Các tính chất khác trong quá trình lên men đường

Pyruvat là chất đóng vai trò trung tâm trong các quá trình chuyển hoá đường. Một số vi khuẩn lên men đường có khả năng biến đổi pyruvat theo nhiều con đường khác nhau, trong đó có hai con đường cần lưu ý và được thể hiện bởi các phản ứng sau:



Phản ứng Red Methyl (RM)

Một số loài vi khuẩn có khả năng sản sinh ra các acid mạnh (lactic, acetic, formic...) từ glucose qua con đường lên men. Điển hình là vi khuẩn đường ruột với một số loài có thể sản xuất ra đủ một lượng acid mạnh làm cho môi trường

nuôi cấy luôn giữ ở $\text{pH} \leq 4,4$. Để phát hiện khả năng này của vi khuẩn ta chỉ cần nhỏ đỏ methyl (Red Methyl) vào môi trường nuôi cấy của vi khuẩn sau 48–72h (thường là môi trường Clark–lubs), nếu phản ứng dương tính thì môi trường sẽ có màu đỏ, còn âm tính thì môi trường có màu vàng (sơ đồ trên).

Phản ứng Voges–Proskauer (VP)

Một số vi khuẩn trong quá trình lên men đường có khả năng tạo ra một chất trung gian là acethyl – methyl – carbinol (Acetoin). Có thể phát hiện chất này dựa trên sự biến đổi của acetoin thành diacetyl qua tác dụng của KOH và O_2 trong không khí. Sau đó diacetyl bị biến đổi thành một phức hợp màu đỏ dưới sự xúc tác của α -naphthol và creatin (sơ đồ trên).

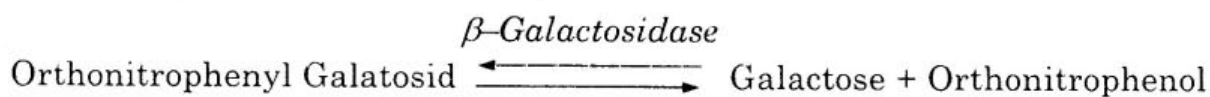
Để phát hiện khả năng này thì ta nuôi vi khuẩn vào trong môi trường Clark–lubs 24h rồi nhỏ dung dịch thử VP gồm có hai dung dịch A và B sau:

- Dung dịch A: α -naphthol 6% trong cồn 90°, (để tủ lạnh trước khi dùng).
- Dung dịch B: NaOH 16% trong nước.

Nếu phản ứng dương tính thì môi trường có màu đỏ, phản ứng âm tính sẽ có màu vàng nhạt.

1.3. Thử nghiệm orthonitrophenyl galactosid (ONPG)

ONPG có cấu trúc tương tự như lactose, ngoại trừ là orthonitrophenol đã được thay thế cho glucose. Người ta dùng thử nghiệm này để phát hiện enzym β -galactosidase của vi khuẩn một cách nhanh chóng hơn xét nghiệm tìm khả năng lên men đường lactose và có ích trong việc phát hiện những vi khuẩn lên men lactose chậm do thiếu hụt enzym Lactose–Permease (cần thiết cho việc đưa lactose xâm nhập vào tế bào vi khuẩn). ONPG ngấm vào trong tế bào vi khuẩn nhanh hơn lactose rất nhiều, do đó dưới tác dụng của β -galactosidase thủy phân ONPG thành galactose và orthonitrophenol:



Trong đó, orthonitrophenol là một phân tử có màu vàng nhạt cho nên để xác định khả năng này của vi khuẩn người ta thả miếng giấy có thấm ONPG vào nhũ dịch nước muối có hoà vi khuẩn. Nếu thử nghiệm dương tính (vi khuẩn có β -galactosidase) thì nhũ dịch có màu vàng nhạt, còn thử nghiệm âm tính thì nhũ dịch vẫn là màu trong.

2. Chuyển hoá protein và acid amin

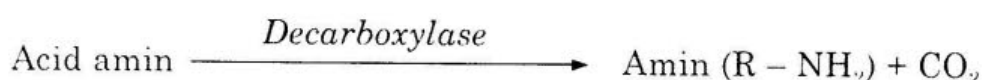
Một số loài vi sinh vật có khả năng chuyển hoá các protein và acid amin đặc trưng. Dựa vào sự chuyển hoá đặc biệt đó mà người ta có thể phân loại được vi khuẩn. Trong thực tế thì các tính chất sau thường được quan tâm:

2.1. Làm lỏng gelatin

Một số loài vi khuẩn có chứa enzym gelatinase thì có khả năng làm lỏng gelatin. Để xác định tính chất này, người ta dùng gelatin được tráng lên lớp nhựa mỏng (thường dùng phim ảnh chưa chụp) cho vào ống nghiệm có vi khuẩn được hoà bằng nước muối. Nếu vi khuẩn có gelatinase thì màu phim ảnh bị tan hết, còn nếu không có gelatinase thì màu phim ảnh vẫn tồn tại.

2.2. Khả năng khử carboxyl (Decarboxylase)

Một số loài vi khuẩn có khả năng sản xuất enzym decarboxylase với tác dụng khử các acid amin thành amin ($R - NH_2$) và CO_2 :



Lysin, ornithin và arginin là 3 acid amin thường xuyên dùng để xác định khả năng này của vi khuẩn (thường là vi khuẩn đường ruột). Môi trường Moeller Decarboxylase là môi trường cơ bản có cho thêm các acid amin cần xác định khả năng khử carboxyl của vi khuẩn. Để tìm khả năng này của vi khuẩn người ta nuôi cấy vào hai ống môi trường khác nhau, một ống gồm môi trường cơ bản có chứa các acid amin cần thiết, còn một ống chỉ có môi trường cơ bản. Trong suốt thời kỳ nuôi cấy cả hai ống sẽ làm chất chỉ thị tím bromcresol sang màu vàng do vi khuẩn lên đã men một phần nhỏ glucose trong môi trường, nếu như acid amin bị khử carboxyl thành amin thì môi trường bị kiềm hoá trở lại và quay về màu tím ban đầu.

2.3. Khả năng khử amin (Phenylalanin Deaminase)

Phenylalanin là một acid amin, khi bị khử amine thì nó ở dạng ceto-acid (phenylpyruvic). Thử nghiệm phenylalanin dựa trên việc phát hiện acid phenylpyruvic trong môi trường (thạch phenylalanin). Sau khi nuôi cấy vi khuẩn 18 – 24h bằng cách nhỏ vài giọt dung dịch $FeCl_3$ (Ferric chloride) 10% vào thì có kết quả. Nếu trong môi trường có acid phenylpyruvic (thử nghiệm dương tính) thì thấy xuất hiện màu xanh của sắt (III) phenylpyruvat.

3. Khử nitrat thành nitrit

Tìm khả năng khử nitrat thành nitrit của vi khuẩn rất quan trọng trong việc xác định và phân biệt các nhóm vi sinh vật. Tất cả các vi khuẩn đường ruột (ngoại trừ *Enterobacter agglomerans* và *Erwinia*) đều có khả năng khử nitrat thành nitrit như sau:



Để phát hiện khả năng này của vi khuẩn người ta nuôi cấy vi khuẩn vào môi trường có NO_3^- (KNO_3), sự xuất hiện của nitrit trong môi trường nuôi cấy được

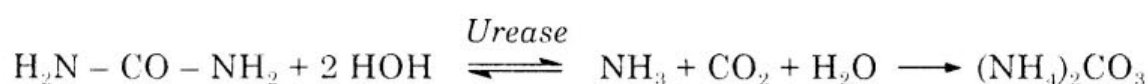
phát hiện bởi cho vào chất thử là α -naphthylamin và acid sulfanilic với sự tạo thành màu đỏ diazo (p-sulfobenzeneazo- α naphthylamin).

4. Khả năng sử dụng citrat

Natri citrat là một muối của acid citric, một hợp chất hữu cơ. Để phát hiện khả năng sử dụng citrat của vi khuẩn người ta nuôi cấy vi khuẩn vào trong môi trường Simmons có natri citrat, đây là phân tử có chứa một anion, cũng là một nguồn carbon duy nhất và trong môi trường còn có $(\text{NH}_4) \text{H}_2\text{PO}_4$ chứa một nguồn nitro duy nhất. Nếu vi khuẩn có khả năng sử dụng citrat từ natri citrat thì sẽ kéo theo sự khử được nitro từ muối amoni với sản phẩm tạo thành aminoni hydroxyd (NH_4OH) làm kiềm hoá môi trường, do đó sẽ làm cho chất chỉ thị xanh bromthymol trong môi trường (thường là môi trường Simmonns) chuyển sang màu xanh nước biển.

5. Xác định men urease

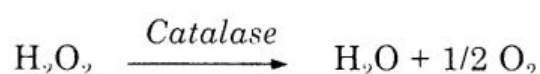
Urease là một enzym có ở một số loài vi khuẩn, nó có khả năng thủy phân urê $(\text{NH}_2\text{--CO--NH}_2)$ theo phản ứng:



Để phát hiện khả năng này của vi khuẩn người ta thường nuôi cấy chúng vào môi trường có urê (thường là môi trường lỏng urê-indol hoặc môi trường Christensen). Nếu vi khuẩn có enzym urease thì sẽ xuất hiện sản phẩm NH_3 trong môi trường, những NH_3 này phản ứng với dung dịch tạo thành amoni carbonat $[(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3]$ làm cho môi trường bị kiềm hoá. Do vậy, làm màu đỏ phenol của môi trường chuyển sang màu đỏ cánh sen.

6. Xác định men catalase

Đây là một enzym thủy phân hydro peroxyd (H_2O_2)



Ngoại trừ *Streptococci*, phần lớn vi khuẩn hiếu khí tùy tiện và kỵ khí có chứa enzym catalase. Thử nghiệm tìm enzym này có thể thực hiện trên phiến kính hoặc trong ống nghiệm bằng cách nhỏ một giọt oxy già (H_2O_2) lên phiến kính hoặc ống nghiệm. Nếu vi khuẩn có catalase thì thử nghiệm dương tính với hiện tượng nổi các bọt khí khi ta nghiền một khuẩn lạc vi khuẩn vào đó. Nếu âm tính thì không có hiện tượng gì xảy ra.

7. Khả năng sinh indol

Một số vi khuẩn có chứa enzym tryptophanase, enzym này có khả năng phân huỷ tryptophan tạo ra các sản phẩm là indol, acid pyruvic và hợp chất amoni. Để

xác định khả năng này người ta nuôi cấy vi khuẩn vào môi trường có tryptophan (thường là môi trường Urê – Indol), nếu vi khuẩn có enzym tryptophanase thì trong môi trường sẽ xuất hiện indol và nó được phát hiện khi nhỏ thuốc thử Kovac hoặc Erhlich. Nếu phản ứng dương tính, indol tan trong cồn isoamyllic sẽ bắt màu đỏ thẫm nổi lên thành một vòng tròn trên bề mặt môi trường).

8. Khả năng sinh H_2S

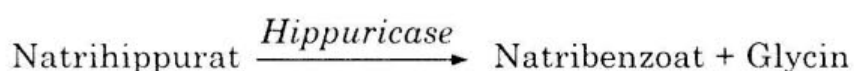
Một số loài vi khuẩn có khả năng giải phóng sulfua từ các acid amin hoặc hợp chất khác chứa lưu huỳnh ở dạng H_2S . Để xác định tính chất này của vi khuẩn thì ta sẽ nuôi cấy chúng vào môi trường phải thoả mãn hai điều kiện.

- Có dẫn xuất của S (thường là acid amin cystein hoặc methionin).
- Có chất phát hiện như: Ion Fe^{2+} (môi trường KIA), ion Pb^{2+} (môi trường thạch chì).

Nếu có H_2S sinh ra thì trong môi trường sẽ xuất hiện màu đen do sự tạo thành các muối sulfua (FeS hoặc PbS).

9. Khả năng thủy phân hippurat

Liên cầu B có chứa enzym hippuricase, nó có khả năng thủy phân acid hippuric. Do vậy người ta thường chẩn đoán liên cầu B bằng cách nuôi cấy vào môi trường có natrihippurat (môi trường lỏng natrihippurat) khoảng 20–24h thì sẽ xảy ra:



Vì vậy, nếu vi khuẩn có khả năng thủy phân hippurat (tức là có hippuricase) thì sau nuôi cấy 20–24h trong môi trường sẽ xuất hiện natribenzoat và chất này được phát hiện bằng cách nhỏ dư dung dịch $FeCl_3$ có chứa một lượng nhỏ HCl thì thấy có kết lắng xuống đáy (sắt III hippurat)

10. Thử nghiệm Bile–Esculin

Một số vi khuẩn (đặc biệt là liên cầu D) có khả năng phát triển trong môi trường có muối mật và thủy phân được esculin (dạng hợp chất glycosid) thành glucose và aglyconeasculetin. Để xác định khả năng này ta nuôi cấy vi khuẩn vào môi trường có 1–4% muối mật, bile–esculin và muối sắt (III) citrat. Nếu vi khuẩn có tính chất trên thì sau 18–24h nuôi cấy thì esculetin xuất hiện sẽ tác dụng với muối sắt (III) và làm cho môi trường có màu nâu đen hoặc màu đen.

11. Oxydase

Các vi khuẩn kỵ khí không có oxydase, còn các vi khuẩn hiếu khí tuyệt đối thì luôn có. Tuy nhiên các vi khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện thì thường không có oxydase.

Để phát hiện tính chất này ta sẽ nhỏ một giọt dung dịch dimethylparaphenylen diamin lên một miếng giấy lọc rồi lấy một khuẩn lạc của vi khuẩn để lên miếng giấy ẩm này. Nếu vi khuẩn có oxydase thì miếng giấy có màu hồng tím, còn không có oxydase thì miếng giấy không đổi màu.

12. Khả năng di động

Đó là những vi khuẩn có lông, chúng có thể được phát hiện bằng cách nuôi cấy vào môi trường thạch mềm khi chọc que cấy có vi khuẩn thành một vạch thẳng giữa ống. Nếu di động, vi khuẩn mọc lan xung quanh đường cấy và có thể lan cả trên mặt môi trường.

13. Khả năng làm tan máu

Một số vi khuẩn có các yếu tố gây tan máu. Khi nuôi cấy chúng trên môi trường thạch máu thì có thể gặp các hình thái tan máu sau:

- Tan máu (β): vòng tan máu trong suốt, hồng cầu bị phá huỷ hoàn toàn.
- Tan máu (α): vòng tan máu không hoàn toàn, xung quanh khuẩn lạc có vòng tan máu màu xanh, thường gặp ở liên cầu *Viridans* và phế cầu.
- Tan máu (γ): xung quanh khuẩn lạc không nhìn thấy vòng tan máu, hồng cầu trong thạch vẫn giữ màu hồng nhạt và thường gặp ở liên cầu D.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Thử nghiệm ONPG mục đích tìm xem vi khuẩn có enzym β -galactosidase không		
2	Phản ứng RM mục đích để tìm khả năng duy trì môi trường nuôi cấy ở pH $\geq 4,4$ của vi khuẩn		
3	Người ta thường dùng oxy già (H_2O_2) để xác định xem vi khuẩn có enzym catalase không		
4	Những vi khuẩn có indol (+) nghĩa là nó chứa enzym tryptophanase		
5	Phản ứng VP mục đích là tính chất chuyển hoá trung gian acetoin của vi khuẩn trong môi trường		

Trả lời ngắn các câu sau

6. Hai môi trường thường dùng để tìm khả năng lên men đường của vi khuẩn:

A.....B.....

7. Vi khuẩn có khả năng làm lỏng gelatin thì chứa enzym

8. Nêu hai hợp chất quan trọng trong môi trường Simmons giúp cho việc xác định khả năng sử dụng citrat của vi khuẩn:

A.....B.....

9. Để xác định khả năng sinh H_2S của vi khuẩn thì môi trường nuôi cấy phải thoả mãn hai điều kiện:

A.....B.....

10. Để xác định khả năng di động của vi khuẩn thì người ta nuôi cấy vào môi trường

11. Nêu tên ba acid amin thường dùng để xác định khả năng khử carboxyl của vi khuẩn:

A.....B.....

C.....

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

12. Môi trường Bile–Esculin dùng để tìm khả năng của vi khuẩn:

A. Sống được trong môi trường có muối mật

B. Phân huỷ urê

C. Thuỷ phân hippurat

D. Di động

13. ONPG là chất có cấu trúc tương tự:

A. Glucose

B. Saccharose

C. Lactose

D. Mannitol

14. Tan máu hoàn toàn là dạng tan máu:

A. α

B. β

C. γ

D. Cả A và B

15. Môi trường KIA có chứa đường:

A. Glucose

B. Lactose

C. Arabinose

D. Cả A và B

Phần II

CÁC VI KHUẨN GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

CÁC CẦU KHUẨN GÂY BỆNH

Cầu khuẩn là những vi khuẩn hình cầu, hiếu khí tuyệt đối hoặc hiếu khí kỵ khí tùy tiện. Những vi khuẩn gây bệnh hiếu khí kỵ khí tùy tiện được chia làm các nhóm sau dựa vào tính chất bắt màu:

Các cầu khuẩn Gram dương thuộc loại tụ cầu (*Staphylococcus*)

Các cầu khuẩn Gram dương thuộc loại liên cầu (*Streptococcus*) và song cầu (*Diplococcus* hay *Streptococcus pneumoniae*)

Các cầu khuẩn Gram âm thuộc loại *Neisseria*

TỤ CẦU

(*Staphylococcus*)

Tụ cầu là một trong những vi khuẩn được phát hiện sớm. Năm 1878 Robert Koch đã mô tả tụ cầu. Năm 1880 Louis Pasteur đã phân lập được tụ cầu. Năm 1881, Ogston đã gây bệnh thực nghiệm tụ cầu. Tụ cầu phân bố rộng rãi trong tự nhiên và thường ký sinh trên da và các hốc tự nhiên của người. Trong đó nhiều loài là những tụ cầu cộng sinh không gây bệnh và một số loài gây bệnh giới hạn.

Tụ cầu thuộc họ *Micrococcaceae*, họ này có các giống:

– *Planococcus*: không gây bệnh cho người

– *Micrococcus*: gây bệnh cho người

– *Staphylococcus*: gây bệnh cho người, giống này có 13 loài, trong đó có ba loài có vai trò quan trọng trong y học là: *S. aureus* (tụ cầu vàng), *S. epidermidis* (tụ cầu da) gây nhiễm khuẩn cơ hội và *S. saprophyticus* gây nhiễm khuẩn tiết niệu.

TỤ CẦU VÀNG

(*Staphylococcus aureus*)

(2 tiết)

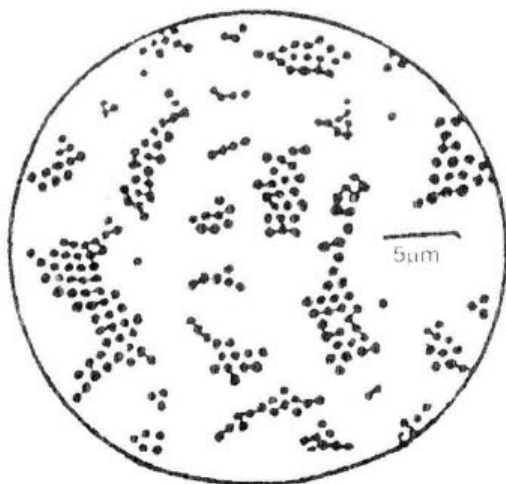
MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của tụ cầu vàng.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học tụ cầu vàng.

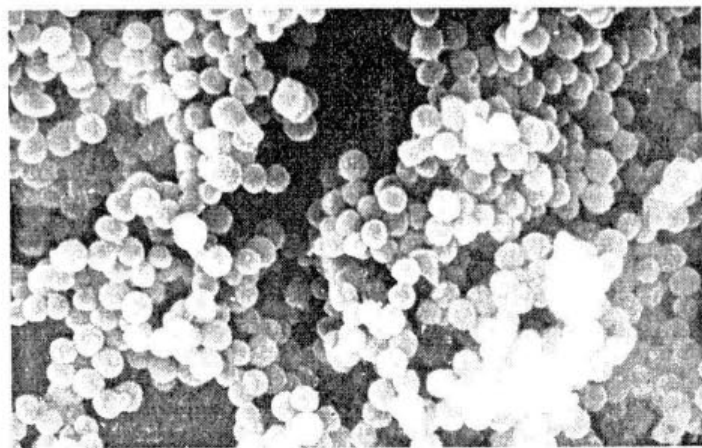
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Tụ cầu là những vi khuẩn hình cầu có đường kính 0,8–1 μm đứng tụ lại với nhau thành từng đám như chùm nho. Có thể đứng lẻ tẻ hoặc thành từng đôi, từng chuỗi ngắn. Tụ cầu thường không có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào, bắt màu Gram dương.



Staphylococcus aureus



Tụ cầu dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Tụ cầu khuẩn hiếu khí kỵ khí tùy tiện, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Phát triển được ở nhiệt độ 10–45°C và môi trường có nồng độ muối cao tới 10%.

– Trong môi trường canh thang sau 5–6 giờ vi khuẩn đã phát triển mạnh và làm đục đều môi trường, để lâu đáy có lắng cặn.

- Trên môi trường thạch thường khuẩn lạc dạng S, đường kính 1–2mm, sau 24 giờ khuẩn lạc có màu vàng chanh.
- Trên môi trường thạch máu tụ cầu phát triển nhanh, dạng S, tan máu hoàn toàn.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

Tụ cầu có hệ thống men rất phong phú, những men được dùng trong chẩn đoán xác định tụ cầu là:

- Coagulase (+), men này có khả năng làm đông huyết tương người và động vật.
- Tụ cầu lên men nhiều loại đường, quan trọng nhất là đường mannitol.
- Men catalase (+).
- Men desoxyribonuclease (+) (men phân giải ADN).

1.4. Kháng nguyên

– Acid teichoic: acid này gắn vào polysaccharid vách tụ cầu, đây là một thành phần của kháng nguyên O là kháng nguyên ngưng kết và làm tăng tác dụng hoạt hoá bổ thể, còn là chất bám dính của tụ cầu vào niêm mạc mũi.

– Protein A: là những protein bao quanh bề mặt vách tụ cầu và là một tiêu chuẩn xác định tụ cầu vàng. 100% tụ cầu vàng có kháng nguyên này, mang tính độc cao.

– Polysaccharid: một số chủng tụ cầu có vỏ thì có kháng nguyên này. Lớp vỏ bao gồm nhiều tính đặc hiệu kháng nguyên. Vỏ có tác dụng chống thực bào.

– Kháng nguyên adherin (yếu tố bám): đây là một protein bề mặt đặc hiệu của tụ cầu có tác dụng bám vào các điểm tiếp nhận đặc hiệu của tế bào.

1.5. Các men và độc tố

Các men:

– Men coagulase: có hai loại men coagulase: một loại tiết ra môi trường gọi là coagulase tự do, một loại bám vào vách tế bào gọi là coagulase cố định. Chúng có tác dụng tạo ra cục máu đông xung quanh tế bào vi khuẩn, do vậy tụ cầu tránh được tác dụng của kháng thể và thực bào.

– Men fibrinolysin: là men đặc trưng của tụ cầu gây bệnh. Men này làm tan cục máu tạo nên sự rời chỗ và hình thành những vật tắc mạch nhỏ tạo ra nhiễm khuẩn di căn.

– Men hyaluronidase: men phân giải các acid hyaluronic của mô liên kết giúp vi khuẩn lan tràn vào mô.

– Men β lactamase: men này làm cho penicillin mất tác dụng.

Độc tố:

- Độc tố ruột: đa số tụ cầu vàng tiết ra độc tố ruột gây nhiễm độc thức ăn và viêm ruột cấp.
- Ngoại độc tố: gây nên hội chứng phỏng rộp và chốc lở da trẻ em.
- Độc tố gây Shock nhiễm khuẩn: độc tố này thường gặp ở những người nhiễm trùng vết thương, độc tố này khó phân biệt với độc tố ruột.
- Ngoại độc tố sinh mủ: có tác dụng sinh mủ và phân bào lymphocyt và làm tăng nhạy cảm về một số phương diện đối với nội độc tố như gây sốc, hoại tử gan và cơ tim.
- Độc tố bạch cầu: độc tố này làm bạch cầu mất tính di động và bị phá hủy nhân, độc tố này chỉ tác dụng với bạch cầu đa nhân và đại thực bào.
- Dung huyết tố (hemolysin): tụ cầu vàng có bốn loại dung huyết tố:
 - + Dung huyết tố α : gây tan hồng cầu thỏ, cừu, gây hoại tử da thỏ và gây chết thỏ, hoại tử tế bào.
 - + Dung huyết tố β : gây tan hồng cầu người, cừu, bò. Liều cao gây chết thỏ, hoại tử tế bào.
 - + Dung huyết tố γ : gây tan hồng cầu người và nhiều động vật. Gây hoại tử nhẹ da thỏ và gây chết thỏ.
 - + Dung huyết tố δ : gây tan hồng cầu người, ngựa, thỏ, cừu... làm xơ cứng da thỏ, hoại tử tế bào.

1.6. Sức đề kháng

Tụ cầu vàng có sức đề kháng cao nhất trong các loại vi khuẩn không sinh nha bào. Bị chết ở 80°C/ giờ. Với các hoá chất, tụ cầu có sức đề kháng cao hơn các vi khuẩn khác.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Nhiễm khuẩn ngoài da

Tụ cầu có ở da và niêm mạc nên chúng có thể xâm nhập qua các vết thương hoặc lỗ chân lông gây nhiễm khuẩn sinh mủ: mụn nhọt, đầu đinh, các ổ áp xe, eczema, hậu bối...

2.2. Nhiễm khuẩn huyết

Thường xảy ra sau những nhiễm khuẩn tiên phát đặc biệt là các nhiễm khuẩn ngoài da. Đây là một nhiễm trùng nặng, từ máu tụ cầu đến các cơ quan khác gây các ổ áp xe (ở gan, phổi, não, xương...) có thể gây viêm tắc tĩnh mạch, tỷ lệ tử vong cao.

2.3. Nhiễm độc thức ăn và viêm ruột cấp

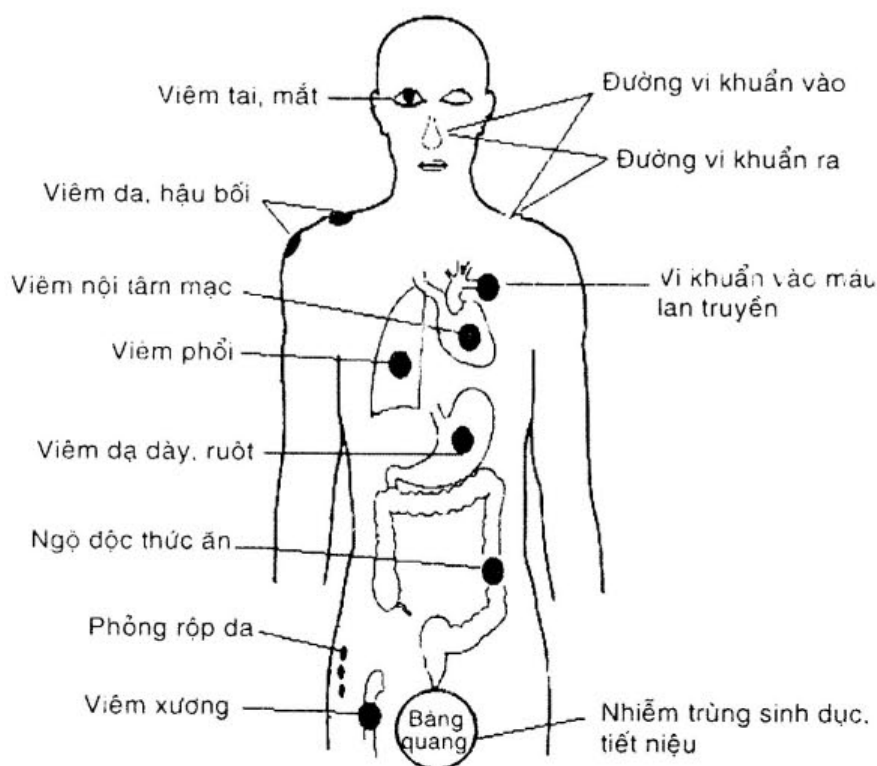
Nhiễm độc thức ăn thường do ăn uống phải độc tố ruột của tụ cầu hoặc do tụ cầu vàng vốn cư trú chiếm ưu thế ở đường ruột, khi dùng kháng sinh kéo dài, vi khuẩn chí bình thường bị chết nhiều thì tụ cầu có điều kiện thuận lợi phát triển nhanh về số lượng sẽ gây bệnh.

Triệu chứng ngộ độc rất cấp tính. Sau khi ăn phải thức ăn nhiễm độc tố vài giờ, bệnh nhân nôn và đi ngoài dữ dội, phân nhiều nước. Có thể dẫn đến shock do mất nước và điện giải.

2.4. Viêm phổi

Viêm phổi do tụ cầu vàng ít gặp, thường xảy ra sau viêm đường hô hấp do virus hoặc sau nhiễm khuẩn huyết. Có thể tiên phát, thường gặp ở trẻ em, người già và những người suy yếu.

Ngoài các bệnh thường gặp trên, tụ cầu còn có thể gây hội chứng phỏng rộp da, viêm da hoại tử, shock nhiễm độc do phụ nữ sử dụng bông gạc không sạch khi kinh nguyệt.



3. Miễn dịch

Miễn dịch thu được với tụ cầu thấp. Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào có thể xảy ra nhưng không làm tăng được sự diệt khuẩn. Miễn dịch dịch thể cũng xuất hiện để chống lại độc tố và enzym nhưng nó không có vai trò bảo vệ vì tụ cầu thường ít tiếp xúc với kháng thể do thường ở trong các ổ áp xe, cục máu.

4. Chẩn đoán vi khuẩn học

4.1. Lấy bệnh phẩm

Tuỳ theo từng bệnh mà lấy bệnh phẩm thích hợp. Bệnh phẩm phải lấy đúng vị trí, đúng thời gian và đảm bảo vô khuẩn. Trường hợp cấy máu để xác định phải lấy hai lần cách nhau 1–2 ngày.

4.2. Nhuộm soi trực tiếp

Phương pháp nhuộm soi cho phép chẩn đoán sơ bộ khi nhận định hình thể mà không có giá trị chẩn đoán quyết định vì trên da và nhiều bộ phận bình thường cũng có tụ cầu không gây bệnh.

4.3. Nuôi cấy và xác định tính chất sinh vật hoá học

Đây là phương pháp chẩn đoán xác định tụ cầu gây bệnh

– Bệnh phẩm là mủ, dịch: cấy bệnh phẩm vào môi trường thạch máu. Sau 24 giờ, nhận xét hình thái khuẩn lạc, xem tính chất tan máu. Nếu nghi ngờ là tụ cầu thì cấy chuyển sang các môi trường sinh vật hoá học và làm các phản ứng để kiểm tra các tính chất của tụ cầu.

– Bệnh phẩm là máu: lấy 5–10 ml máu tĩnh mạch bằng thủ thuật vô khuẩn cấy vào bình môi trường có khoảng 100–150 ml canh thang. Để tủ ấm 37°C, theo dõi hằng ngày. Nếu môi trường đục thì nhuộm soi, nếu có tụ cầu Gram dương thì cấy chuyển sang môi trường thạch máu và các môi trường sinh vật hoá học, làm các phản ứng để xác định tụ cầu.

– Bệnh phẩm là phân: cấy phân vào môi trường Schapman, để tủ ấm 37°C. Sau 24–48 giờ, chọn khuẩn lạc lên men đường mannit để cấy chuyển sang các môi trường xác định và kiểm tra các tính chất sinh vật hoá học của tụ cầu.

Tiêu chuẩn chẩn đoán tụ cầu vàng:

- Cầu khuẩn hình chùm nho bắt màu Gram dương.
- Khuẩn lạc dạng S, màu vàng, tan máu.
- Lên men đường mannit.
- Coagulase (+), catalase (+).

4.4. Chẩn đoán huyết thanh

Các phản ứng huyết thanh ít có giá trị thực tế trừ một số bệnh tụ cầu mạn tính ở các tổ chức xương.

5. Phòng và điều trị bệnh

5.1. Phòng bệnh

Vaccin phòng bệnh tụ cầu ít có kết quả. Phương pháp phòng bệnh chủ yếu là vệ sinh môi trường, vệ sinh cá nhân và quần áo, vệ sinh ăn uống, đặc biệt là vệ

sinh bệnh viện để tránh nhiễm khuẩn bệnh viện. Đối với các dụng cụ tiêm truyền, các dụng cụ dùng trong sản khoa, ngoại khoa phải đảm bảo vô khuẩn khi dùng cho bệnh nhân.

5.2. Điều trị

Tụ cầu bị tiêu diệt bởi nhiều kháng sinh như: tetracylin, oxacillin, kanamycin, gentamycin, vancomycin .. Tuy nhiên, do việc dùng kháng sinh rộng rãi và tùy tiện nên tụ cầu đã kháng lại nhiều loại kháng sinh. Việc điều trị cần thiết phải dựa vào kháng sinh đồ để chọn thuốc thích hợp.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Môi trường schapman nuôi cấy tụ cầu sẽ có màu:
A. Hồng cánh sen B. Đỏ C. Xanh D. Vàng
2. Bệnh phẩm là mủ để phân lập tụ cầu vàng cần được cấy vào:
A. Môi trường schapman B. Môi trường thạch máu
C. Môi trường KIA D. Môi trường canh thang
3. Tính chất sau không phải tiêu chuẩn chẩn đoán tụ cầu:
A. Cầu khuẩn tụ lại thành đám B. Lên men đường mannit
C. Catalase (-) D. Đông huyết tương
4. Loại men sau do tụ cầu tiết ra làm đông được huyết tương:
A. Catalase B. Fibrinolysin
C. Coagulase D. Hyaluronidase
5. Tụ cầu vàng có tính chất sau:
A. Phát triển dễ dàng ở môi trường thạch thường
B. Thích hợp ở nhiệt độ 25–30°C
C. Khí trường phải có 10% CO₂ mới phát triển
D. Không sinh sắc tố
6. Loại men sau làm cho tụ cầu lan tràn dễ dàng trong tổ chức của cơ thể:
A. Coagulase B. Hyaluronidase
C. Catalase D. Fibrinolysin
7. Trên môi trường thạch máu khuẩn lạc của tụ cầu vàng có tính chất:
A. Tan máu β B. Lên men đường mannit
C. Dạng M D. Làm đông huyết tương

8. Tính chất sinh vật hoá học sau để phân biệt tụ cầu vàng với liên cầu:
- A. Tan máu
 - B. Di động
 - C. Men catalase
 - D. Sinh nha bào
9. Tính chất mọc của tụ cầu vàng trên môi trường lỏng:
- A. Tạo thành vầng
 - B. Đục đều môi trường
 - C. Lắng cặn xuống đáy
 - D. Tạo màu vàng
10. Tụ cầu vàng được phân biệt với tụ cầu trắng bởi tính chất sau:
- A. Hình thể và tính chất bắt màu
 - B. Lên men đường mannit
 - C. Phát triển được ở môi trường thông thường
 - D. Men catalase(+)
11. Trên môi trường schapman khuẩn lạc của tụ cầu có màu vàng vì:
- A. Sinh sắc tố màu vàng
 - B. Sinh men coagulase
 - C. Lên men đường glucose
 - D. Lên men đường mannit
12. Biện pháp phòng bệnh sau không có hiệu quả đối với tụ cầu vàng:
- A. Vệ sinh ăn uống
 - B. Vệ sinh cá nhân
 - C. Dùng vaccin
 - D. Vệ sinh môi trường
13. Thử nghiệm xác định men coagulase của tụ cầu được tiến hành trên dụng cụ sau:
- A. Lam kính
 - B. Ống nghiệm
 - C. Khoanh giấy
 - D. Cả A và B
14. Yếu tố sau để phân biệt viêm ruột do tụ cầu với các trực khuẩn đường ruột:
- A. Phân nhiều nước
 - B. Diễn biến nhanh
 - C. Sốt cao
 - D. Đau bụng
15. Nồng độ muối của môi trường schapman phân lập tụ cầu:
- A. 9%
 - B. 6,5%
 - C. 9 ‰
 - D. 6,5‰

LIÊN CẦU KHUẨN

(*Streptococcus*)

(2 tiết)

MỤC TIÊU

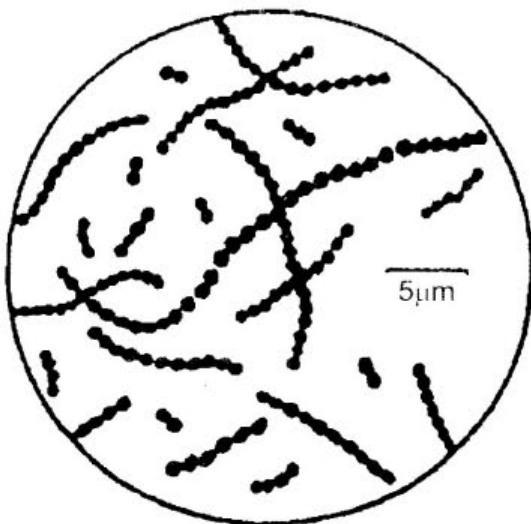
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của liên cầu khuẩn.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học liên cầu khuẩn.

Liên cầu được Billroth mô tả lần đầu tiên vào năm 1874 sau khi phân lập từ mũ các tổn thương và các vết thương nhiễm trùng. Năm 1880, L. Pasteur phân lập được liên cầu ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết.

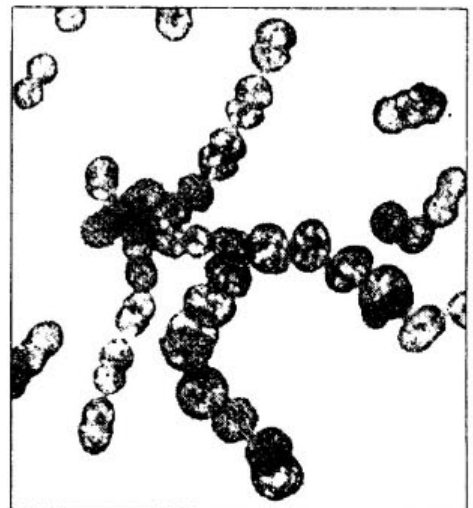
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Liên cầu là những cầu khuẩn hình cầu đường kính 0,6– 0,8 μm , xếp liên tiếp với nhau thành từng chuỗi, có thể đứng với nhau thành từng đôi hoặc từng đám. Đôi khi có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào, bắt màu Gram dương.



Liên cầu khuẩn



Liên cầu dưới kính hiển vi điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Liên cầu hiếu khí kỵ khí tùy tiện, môi trường nuôi cấy cần nhiều chất dinh dưỡng như máu, huyết thanh, đường... Vi khuẩn phát triển tốt hơn ở điều kiện

khí trường có thêm CO₂. Nhiệt độ thích hợp là 37°C, một số phát triển được ở 10–40°C như liên cầu đường ruột.

- Trong môi trường lỏng: liên cầu dễ tạo thành những chuỗi dài không bị gãy, sau đó tạo thành những hạt nhỏ hoặc những hạt như bông rồi lắng xuống đáy môi trường nuôi cấy. Do đó sau 24 giờ, môi trường trở nên trong và có lắng cặn.

- Trên môi trường đặc: các chuỗi liên cầu ngắn hơn, khuẩn lạc tròn, lồi, bóng khô, màu hơi xám trong. Những chủng có vỏ khuẩn lạc lầy nhầy.

- Trên môi trường thạch máu: liên cầu phát triển tốt, có thể làm tan máu dưới ba hình thức α , β , γ tùy thuộc từng nhóm liên cầu:

- + Tan máu (α): tan máu không hoàn toàn, xung quanh khuẩn lạc có vòng tan máu màu xanh, thường gặp ở liên cầu *Viridans*.

- + Tan máu (β): tan máu hoàn toàn, xung quanh khuẩn lạc có vùng tan máu trong suốt. Tan máu β chủ yếu ở liên cầu nhóm A, ngoài ra có thể gặp ở nhóm B, C, G, F.

- + Tan máu (γ): xung quanh khuẩn lạc không có vòng tan máu, hồng cầu trong thạch vẫn giữ màu hồng. Thường gặp tan máu kiểu này đối với liên cầu nhóm D (*S. faecalis*).

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Liên cầu không có men catalase.

- Liên cầu nhóm D (liên cầu đường ruột) có khả năng phát triển ở môi trường có mật, muối mật, etyl hydrocuprein.

- Liên cầu nhóm A nhạy cảm với bacitracin, kháng cotrimoxazol. Nhóm B,D: kháng bacitracin, kháng cotrimoxazol, nhóm C,G,F: kháng bacitracin, nhạy cotrimoxazol.

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

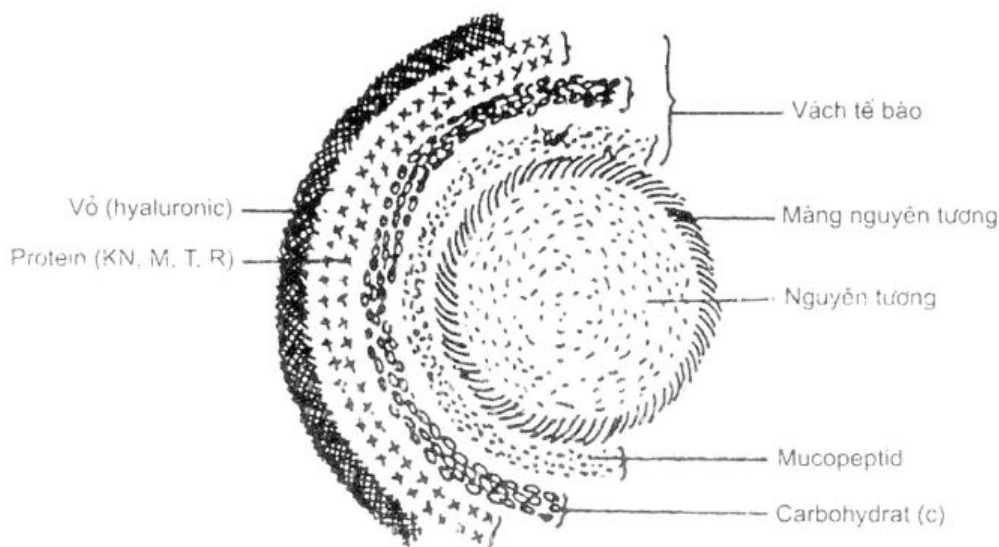
- **Kháng nguyên C đặc hiệu nhóm:** năm 1930, Lancefield dựa vào kháng nguyên C (carbohydrat) của vách tế bào vi khuẩn để xếp liên cầu thành các nhóm từ A, B, C... R. Liên cầu nhóm A và D có khả năng gây bệnh cho người. Các nhóm khác (B,C) gây bệnh cho súc vật hoặc không gây bệnh.

- **Kháng nguyên M đặc hiệu typ:**

Kháng nguyên M (Protein M) cũng nằm ở vách tế bào vi khuẩn.

Dựa vào kháng nguyên này Lancefiel xếp liên cầu nhóm A thành 80 typ huyết thanh khác nhau. Protein M nằm trên bề mặt tế bào nên dễ dàng kết hợp với kháng thể kháng protein M.

Kháng nguyên M có khả năng chống lại thực bào, vì vậy nó liên quan trực tiếp tới độc lực của liên cầu.



Sơ đồ cấu trúc kháng nguyên của liên cầu

– **Những kháng nguyên khác của liên cầu:**

+ Kháng nguyên T: là protein của vách tế bào vi khuẩn, bị phá huỷ bởi nhiệt độ ở pH acid.

+ Kháng nguyên P: bản chất là nucleoprotein, kháng nguyên này có phản ứng chéo với nucleoprotein của tụ cầu.

+ Kháng nguyên R: bản chất là protein, nằm ở vách tế bào vi khuẩn, có một số typ M của liên cầu nhóm A

Kháng nguyên vỏ acid hyaluronic: có ở những liên cầu có vỏ của nhóm A.

1.5. Các enzym và độc tố

1.5.1. Các enzym (men)

– **Men Streptokinase:** thường có ở liên cầu nhóm A, C, G. Men này là một kháng nguyên có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể anti streptokinase (ASK). Streptokinase có khả năng làm tan tơ huyết, hoạt hoá xung quanh vùng tổn thương tạo điều kiện cho vi khuẩn lan tràn.

– **Streptodornase (Desoxyribonuclease):** streptodornase có khả năng thủy phân ADN, do đó làm lỏng mủ nhưng chỉ có tác dụng khi có mặt của ion Mg. Men streptodornase có 4 loại A, B, C, D và đều là những kháng nguyên kích thích cơ thể hình thành những kháng thể đặc hiệu.

– **Hyaluronidase:** men có tác dụng phân huỷ acid hyaluronic của tổ chức, tạo điều kiện cho vi khuẩn lan truyền sâu rộng vào các mô. Men này cũng có tính kháng nguyên kích thích cơ thể sinh kháng thể anti streptohyaluronidase.

– **Diphospho pyridine nucleotidase (DPNase):** men này có ở liên cầu

nhóm A, C, G. Có độc tính với tế bào bạch cầu và gây chết bạch cầu. Đây cũng là men có tính kháng nguyên và kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

– **Proteinase:** có tác dụng phân huỷ protein và kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

1.5.2. Độc tố

Dung huyết tố: liên cầu tan máu α có khả năng hình thành hai loại dung huyết tố:

– Streptolysin O: hầu hết liên cầu tan máu β đều có khả năng sinh ra men này. Chúng bị mất hoạt tính bởi oxy nên trên môi trường nuôi cấy, chúng gây tan máu ở phía sâu trong thạch. Độc tố này mang tính chất của một ngoại độc tố, có tính kháng nguyên mạnh nên kích thích cơ thể hình thành kháng thể (anti streptolysin O). Việc định lượng kháng thể này có giá trị trong chẩn đoán bệnh liên cầu đặc biệt trong bệnh thấp tim và viêm cầu thận cấp.

– Streptolysin S: nhiều liên cầu tiết ra loại men này, men gây tan máu ở bề mặt môi trường nuôi cấy, tính kháng nguyên yếu nên không kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

Độc tố hồng cầu: còn được gọi là độc tố sinh đỏ, bản chất là protein gây phát ban trong bệnh tinh hồng nhiệt.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

2.1.1. Bệnh do liên cầu nhóm A

Liên cầu nhóm A gây bệnh quan trọng nhất ở người. Tùy từng typ huyết thanh học mà gây nên các thể lâm sàng:

Nhiễm khuẩn tại chỗ: viêm họng, eczema, chốc lở, nhiễm khuẩn vết thương, viêm tai giữa, viêm phổi, nhiễm trùng tử cung sau đẻ.

Các nhiễm khuẩn thứ phát: từ nhiễm khuẩn tại chỗ bệnh nhân có thể bị nhiễm khuẩn huyết, viêm màng trong tim ác tính.

Bệnh tinh hồng nhiệt: bệnh thường gặp ở các nước ôn đới, trẻ em trên 2 tuổi dễ mắc bệnh hơn. Các biểu hiện lâm sàng đáng chú ý nhất là ở thận và tim.

Các bệnh khác:

– **Viêm cầu thận sau nhiễm liên cầu nhóm A:** thường do typ 12, một số typ 4, 18, 25, 49, 52, 55. Bệnh thường xảy ra sau khi bị viêm họng và viêm da do liên cầu. Các giả thuyết cho rằng sự tác động của kháng thể chống lại kháng nguyên vách của liên cầu nhóm A phản ứng chéo với màng đáy của cầu thận.

– **Bệnh thấp (thấp tim, thấp khớp, viêm cầu thận cấp):** bệnh thường xảy ra sau nhiễm liên cầu nhóm A ở họng 2–3 tuần, sau khi cơ thể đã hình thành kháng

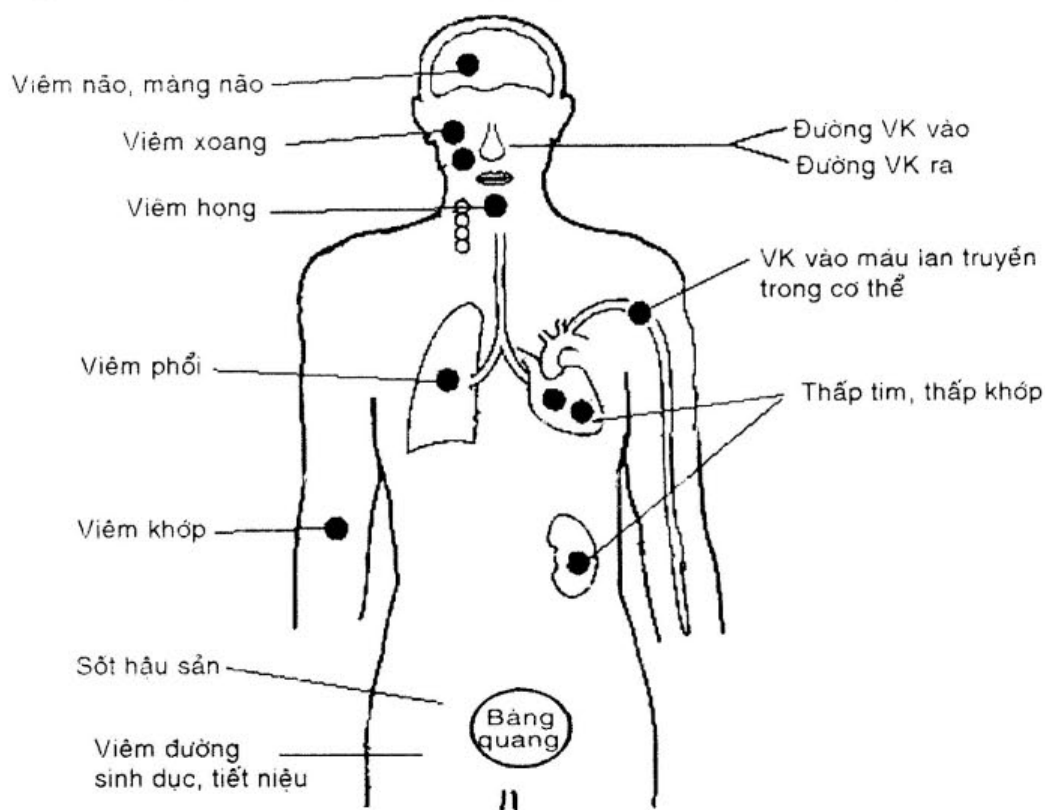
thể chống liên cầu. Thường gặp một số typ huyết thanh: 1, 3, 5, 6, 14, 18, 19, 24, 27, 29 gây thấp tim. Nguyên nhân do glycoprotein của van tim, bao khớp và cầu thận có kháng nguyên chung với kháng nguyên của liên cầu nên đã phản ứng với kháng thể của liên cầu nhóm A.

2.1.2. Bệnh do liên cầu nhóm D

Liên cầu nhóm D là một trong những vi khuẩn chí bình thường ở đường ruột và gây bệnh khi gặp điều kiện thuận lợi. Tuy nhiên liên cầu nhóm D có thể nhiễm khuẩn đường tiết niệu, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não, đôi khi viêm màng trong tim.

2.1.3. Bệnh do liên cầu Viridans

Liên cầu *Viridans* là vi khuẩn ký sinh ở đường hô hấp, không tan máu hoặc tan máu α , 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.



2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Thỏ là súc vật cảm nhiễm đối với liên cầu. Thỏ có thể biểu hiện các bệnh cảnh khác nhau như áp xe, viêm khớp, nhiễm khuẩn huyết.

2.3. Miễn dịch

Trong các loại kháng thể được tạo thành, chỉ có kháng thể chống protein M có khả năng chống lại quá trình nhiễm trùng, kháng thể này mang tính đặc hiệu typ. Các kháng thể không có khả năng bảo vệ cơ thể.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm có thể là mủ vết thương, dịch ngoáy họng, máu, nước, não tủy, dịch ổ áp xe... tùy từng thể bệnh. Các loại bệnh phẩm phải được nuôi cấy ngay, chậm nhất không quá 3 giờ. Đối với máu phải lấy vào lúc bệnh nhân đang sốt, trường hợp chẩn đoán viêm màng trong tim phải cấy máu nhiều lần.

3.1.2. Nhuộm soi

Bằng phương pháp nhuộm Gram, nếu có cầu khuẩn Gram dương xếp thành chuỗi thì tiếp tục phân lập xác định liên cầu.

3.1.3. Nuôi cấy phân lập

– Bệnh phẩm là máu, dịch não tủy:

Nuôi cấy vào bình canh thang glucose, để 37°C, theo dõi hằng ngày. Nếu môi trường trong suốt, đáy có lắng cặn thì nhuộm soi, khi thấy liên cầu thì tiếp tục cấy chuyển và kiểm tra các tính chất sinh vật hoá học.

– Bệnh phẩm là mủ, dịch ngoáy họng:

Nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường thạch máu, để tủ ấm 37°C theo dõi sự hình thành khuẩn lạc và tính chất tan máu. Nhuộm soi lại hình thể nếu là cầu khuẩn Gram dương đứng thành chuỗi thì xác định tính chất sinh vật hóa học. Đặc biệt xác định tính chất liên cầu nhóm A bằng thử nghiệm bacitracin. Phân biệt liên cầu với phẩy cầu bằng thử nghiệm Optochin và Neufeld.

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. Đây là phương pháp có độ đặc hiệu cao để phát hiện kháng nguyên carbohydrat đặc trưng của liên cầu nhóm A.

Tiêu chuẩn chẩn đoán liên cầu:

- Hình thể và tính chất bắt màu.
- Hình thái khuẩn lạc và tính chất tan máu trên môi trường thạch máu.
- Liên cầu nhóm A nhạy cảm với bacitracin.
- Optochin hoặc Neufeld (–).
- Catalase (–)

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tìm kháng thể trong huyết thanh chỉ áp dụng chẩn đoán bệnh nhân mắc bệnh do liên cầu nhóm A. Đặc biệt xét nghiệm anti streptolysin O (ASLO) là xét nghiệm được sử dụng trong chẩn đoán bệnh thấp tim và viêm cầu thận cấp ở trẻ em.

– Phản ứng huyết thanh tìm kháng thể ASO: phản ứng này thông dụng nhất. Ở người bình thường, hiệu giá kháng thể dưới 200 đơn vị. Hiệu giá kháng thể cao chứng tỏ bệnh nhân mắc bệnh do liên cầu. Tuy nhiên, trường hợp hiệu giá kháng thể thấp cũng chưa kết luận được bệnh nhân không mắc bệnh.

– Phản ứng huyết thanh tìm kháng thể ASK: phản ứng này ít được sử dụng hơn. Ở người bình thường, hiệu giá kháng thể là 900 đơn vị. trường hợp thấp khớp hiệu giá tăng rõ rệt.

– Phản ứng Dick: dùng để chẩn đoán bệnh nhân có kháng thể chống độc tố tinh hồng nhiệt do liên cầu.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh có hiệu quả nên chủ yếu vẫn là vệ sinh cá nhân, vệ sinh môi trường. Để tránh nhiễm trùng thứ phát và biến chứng thấp khớp, tim, thận thì cần phải phát hiện sớm và điều trị tích cực các ổ nhiễm khuẩn ở da, ở họng do liên cầu nhóm A gây nên. Sử dụng kháng sinh thích hợp phòng bệnh do liên cầu sau các phẫu thuật đường hô hấp, tiết niệu...

4.2. Điều trị

Các kháng sinh penicillin, tetracyclin, ampicillin... vẫn có tác dụng với liên cầu nhóm A, liên cầu *Viridans*. Liên cầu đường ruột kháng kháng sinh mạnh do đó điều trị phải dựa vào kháng sinh đồ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Loại bệnh phẩm nào không dùng cho chẩn đoán tụ cầu nhưng chẩn đoán bệnh do liên cầu:

- | | |
|--------------------|-----------------|
| A. Mủ | B. Huyết thanh |
| C. Chất ngoáy họng | D. Dịch não tủy |

2. Tính chất sau không có ở liên cầu khuẩn:

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| A. Catalase (–) | B. Có thể không tan máu |
| C. Khuẩn lạc nhỏ, trong | D. Chỉ có nhóm A mới gây bệnh |

3. Liên cầu nhóm A có tính chất sau, trừ:

- | | |
|-------------------------------|------------------------------------|
| A. Tan máu β | B. Nhạy cảm với bacitracin |
| C. Thường gây bệnh đường ruột | D. Đúng liên tiếp thành từng chuỗi |

4. Phản ứng Aslo để tìm kháng thể chống lại loại men nào của liên cầu:
A. Streptolysin O
B. Streptolysin S
C. Streptolysin K
D. Streptokinase
5. Môi trường sau để nuôi cấy máu chẩn đoán liên cầu:
A. Thạch máu
B. Canh thang
C. Canh thang glucose
D. Thạch sôcôla
6. Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc của liên cầu không có đặc điểm sau:
A. Nhỏ, tròn, lồi
B. Màu xám trong
C. Tan máu α hoặc β , ϕ
D. Dạng S, màu vàng
7. Bệnh phẩm là chất ngoáy họng chẩn đoán liên cầu nên cấy vào môi trường sau:
A. Thạch máu có gentamycin
B. Thạch máu
C. Canh thang glucose
D. Thạch máu có bacitracin
8. Thử nghiệm sau để phân biệt liên cầu nhóm A với các nhóm khác:
A. Optochin
B. Neufeld
C. Bacitracin
D. Opsonin
9. Liên cầu nhóm A tan máu dạng nào sau đây:
A. α
B. β
C. ϕ
D. 6
10. Môi trường sau dùng để cấy mủ chẩn đoán liên cầu:
A. Canh thang
B. Canh thang glucose
C. Thạch máu có gentamycin
D. Thạch máu
11. Đặc điểm sau để phân biệt hình thể của liên cầu với tụ cầu trên tiêu bản nhuộm Gram:
A. Kích thước
B. Tính chất bắt màu
C. Cách sắp xếp
D. Có vỏ
12. Đặc điểm khuẩn lạc của liên cầu trên môi trường thạch máu:
A. Dạng S, màu vàng
B. Tan máu α , β hoặc ϕ
C. Chỉ tan máu β
D. Nhày, dính quánh
13. Thử nghiệm Bacitracin được đọc kết quả dựa vào:
A. Đường kính vòng vô khuẩn
B. Đông huyết tương
C. Sự ly giải của vi khuẩn
D. Vi khuẩn mọc giữa hai khoanh giấy X, V
14. Loại vi khuẩn sau có thể gây thấp khớp:
A. Tụ cầu
B. Liên cầu
C. Phế cầu
D. Màng não cầu

PHẾ CẦU KHUẨN

(*Streptococcus pneumoniae*)

(2 tiết)

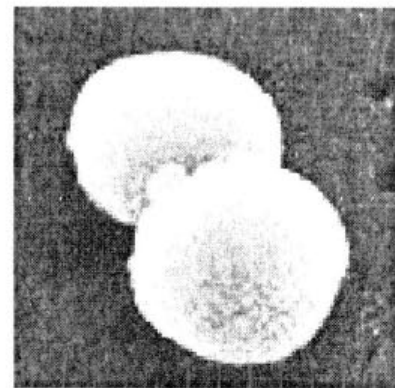
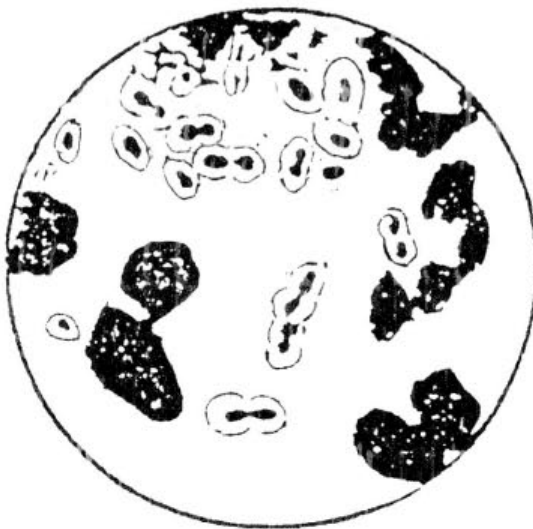
MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của phế cầu khuẩn.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học phế cầu khuẩn.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Phế cầu khuẩn là những song cầu hình ngọn nến hai đầu to giáp vào nhau, hai đầu nhọn quay ra ngoài, đường kính $0,5 - 1,25 \mu\text{m}$. Trong môi trường nuôi cấy có thể nhiều đôi xếp liên tiếp với nhau thành từng chuỗi dễ lẫn với liên cầu. Trong bệnh phẩm hay trong môi trường nuôi cấy có nhiều albumin thì có vỏ. Không có lông, không di động, không sinh nha bào, bắt màu Gram dương



Phế cầu dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Phế cầu khuẩn hiếu khí, kỵ khí tùy tiện, nhiệt độ thích hợp 37°C , dễ bị tiêu diệt ở điều kiện nhiệt độ thay đổi, phát triển dễ dàng ở môi trường có nhiều chất dinh dưỡng.

Trên môi trường thạch máu cừu khuẩn lạc nhỏ, tròn, dẹt, bóng, trong như giọt sương, xung quanh có vòng tan máu α . Trên môi trường thạch máu người có vòng tan máu β nên dễ nhầm với liên cầu tan máu β . Những phế cầu có vỏ khuẩn lạc thường lớn, hơi nhầy, màu xám nhạt. Trên môi trường thạch máu có gentamycin, khuẩn lạc của phế cầu có đỉnh. sau 24 giờ khuẩn lạc lõm xuống vì phế cầu tự ly giải.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Phế cầu không có men catalase.
- Bị ly giải bởi mật hoặc muối mật (thử nghiệm Neufeld dương).
- Không phát triển được ở môi trường có etylhydrocuprein (thử nghiệm Optochin +).

Hai thử nghiệm trên để phân biệt giữa phế cầu với liên cầu.

1.4. Cấu tạo kháng nguyên

Kháng nguyên vỏ: vỏ của phế cầu được cấu tạo bởi polysaccharid có tính kháng nguyên. Hiện nay đã có 85 typ huyết thanh của phế cầu đã được ghi nhận bởi kháng nguyên này. Mỗi typ phế cầu có thể kích thích cơ thể hình thành kháng thể bảo vệ và kháng thể opsonin (hiện tượng opsonin: kháng thể và bổ thể gắn lên bề mặt phế cầu làm phế cầu phình vỏ và kết tủa).

Mặc dù kháng nguyên vỏ polysaccharid của phế cầu khá đặc hiệu typ nhưng có một số phản ứng chéo giữa các typ phế cầu với một số vi khuẩn khác (liên cầu tan máu α và không tan máu, *Klebsiella*, *Salmonella*).

Kháng nguyên thân: phế cầu có ba loại kháng nguyên thân:

- Kháng nguyên polysaccharid C là kháng nguyên đặc hiệu loài
- Kháng nguyên M là những protein đặc hiệu typ
- Kháng nguyên R chưa được hiểu biết đầy đủ.

1.5. Sức đề kháng

Phế cầu dễ bị tiêu diệt bởi nhiệt độ ($60^{\circ}\text{C}/30\text{phút}$) và các thuốc sát khuẩn thông thường. Trong quá trình giữ chủng, phế cầu dễ bị giảm độc lực hoặc biến đổi từ khuẩn lạc dạng S sang dạng R. Phế cầu không chịu được nhiệt độ lạnh nên giữ chủng phải để ở nhiệt độ $18 - 30^{\circ}\text{C}$.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

Phế cầu không có nội độc tố hoặc ngoại độc tố, phế cầu gây bệnh chủ yếu do vỏ có tác dụng bảo hoà opsonin hoá, làm vô hiệu hoá tác dụng của IgG và bổ thể, do vậy làm giảm khả năng thực bào.

Ngoài ra phế cầu còn có khả năng tiết ra men proteinase thủy phân IgA làm mất đi tác dụng ngăn cản sự xâm nhập của phế cầu vào niêm mạc đường hô hấp.

Phế cầu sống ở ty hầu người lành với tỷ lệ cao 40 – 70%. Phế cầu gây nên các bệnh đường hô hấp, điển hình là viêm phổi, viêm phế quản phổi, áp xe phổi, viêm màng phổi. Viêm phổi do phế cầu thường xảy ra sau các bệnh nhiễm khuẩn đường hô hấp do virus thường gặp nhất là sau bệnh cúm hoặc do hoá chất. Các typ gây bệnh thường là typ 1, 2, 3 đối với người lớn và 4, 1, 6 đối với trẻ em.

Ngoài bệnh về đường hô hấp, phế cầu còn gây viêm tai, viêm xoang, viêm họng, viêm màng não, viêm phúc mạc, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng tim, viêm thận...

Ở các nơi tổn thương, có nhiều fibrin bao quanh tạo nên một vùng cách biệt ngăn không cho kháng sinh tác dụng với phế cầu, do đó việc điều trị bệnh kết quả sẽ hạn chế, vì vậy nên điều trị sớm và triệt để.

2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật cảm nhiễm là chuột nhắt, chuột bạch, thỏ, khỉ. Tiêm dưới da cho chuột có thể gây nhiễm khuẩn huyết và chuột chết nhanh.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm có thể là chất ngoáy họng, đờm, máu, dịch não tủy, dịch màng phổi, mủ... tùy theo từng tổn thương.

3.1.2. Nhuộm soi

Nhuộm Gram, nhuộm soi ít có giá trị trong trường hợp bệnh phẩm là chất ngoáy họng, dịch họng mũi hoặc đờm.

3.1.3. Nuôi cấy phân lập

Bệnh phẩm có nhiễm nhiều các vi khuẩn như đờm, chất ngoáy họng được cấy vào môi trường thạch máu có gentamycin 5µg/1ml môi trường. Để ủ ấm 37°C, những phế cầu có vỏ khuẩn lạc sẽ có đỉnh, sau 24 giờ khuẩn lạc lõm ở giữa. Tính chất này giúp phân biệt với *S. viridans*. Vi khuẩn thường gặp trong bệnh phẩm họng, mũi cũng tan máu α.

Đồng thời những bệnh phẩm trên cũng nuôi cấy vào môi trường thạch máu, thạch nước báng. Sau 24 giờ nhận xét hình thái khuẩn lạc, chọn khuẩn lạc điển hình nhuộm soi. Nếu thấy song cầu Gram dương hình ngọn nến thì tiếp tục kiểm tra các tính chất sinh vật hoá học.

Bệnh phẩm là máu, dịch não tủy: Nuôi cấy vào môi trường canh thang máu hoặc canh thang nước báng, để ủ ấm 37°C, theo dõi như phân lập liên cầu.

3.1.4. Các thử nghiệm xác định phế cầu

Thử nghiệm Neufeld:

Cho vào hai ống nghiệm nhỏ mỗi ống 0,25 ml nước muối sinh lý vô khuẩn. Sau đó trộn khuẩn lạc phế cầu vào để có độ đục bằng độ đục chuẩn rồi cho vào ống nghiệm thứ nhất 0,25 ml nước muối sinh lý vô khuẩn, ống thứ 2 cho 0,25 ml muối mật (Desoxycholate 2%). Để ủ ấm 37°C trong 2 giờ. Nếu là phế cầu thì sau khi nhuộm soi, ống thứ nhất vẫn còn vi khuẩn, ống thứ 2 không còn vi khuẩn do phế cầu đã bị ly giải. Hiện nay người ta thường dùng khoanh giấy Optochin thay thử nghiệm Neufeld

Thử nghiệm Optochin:

Dàn đều dung dịch vi khuẩn trên môi trường thạch máu đĩa, để cho khô mặt thạch rồi đặt khoanh giấy Optochin có etyl hydrocuprein, để 37°C, sau 24 giờ, nếu có vòng vô khuẩn ≥ 14 mm là phế cầu.

Để phân biệt phế cầu gây bệnh với các chủng ký sinh bằng cách xác định độc lực của phế cầu thì thường gây bệnh thực nghiệm những chủng phân lập được. Tiêm vi khuẩn vào phúc mạc chuột bạch, sau khi chuột chết phân lập lại vi khuẩn từ máu của tim chuột. Nếu tìm thấy vi khuẩn thì chắc chắn là phế cầu có độc lực.

Xác định vỏ của vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm vỏ hoặc dùng phương pháp phình vỏ (Quellung). Khi kháng thể kháng vỏ kết hợp với vỏ sẽ làm cho lớp vỏ phình to lên, có thể quan sát được hiện tượng này bằng phương pháp nhuộm vỏ.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Chẩn đoán gián tiếp không có ý nghĩa trong chẩn đoán phế cầu nên không được dùng trong phòng xét nghiệm.

Tiêu chuẩn chẩn đoán phế cầu:

- Hình thể và tính chất bắt màu.
- Hình thái khuẩn lạc trên môi trường thạch máu có gentamycin.
- Bị tan bởi muối mật hoặc sắc tố mật.
- Gây bệnh cho súc vật.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Vaccin phòng bệnh hiện nay đã được sử dụng ở các nước tiên tiến, tác dụng bảo vệ của vaccin không cao, nhưng có tác dụng ngăn cản những nhiễm phế cầu nặng như nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não mủ vì vaccin không đầy đủ các serotyp.

Phế cầu lây theo đường hô hấp nên việc phòng bệnh không đặc hiệu rất khó khăn, chủ yếu vệ sinh đường hô hấp.

4.2. Điều trị

Phế cầu còn nhạy cảm với các kháng sinh thường dùng như penicilin, gentamycin, cephalosporin. Một số kháng sinh đã bị phế cầu ngày càng kháng nhiều hơn là cloramphenicol, cotrimoxazol, penicilin G.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

- Thử nghiệm Neufeld được đọc kết quả sau:
A. 30 phút B. 5 phút C. 2 giờ D. 24 giờ
- Thử nghiệm optochin được đọc kết quả bằng:
A. Đường kính vòng vô khuẩn
B. Tính chất của khuẩn lạc
C. Sự tan dĩa của vi khuẩn
D. Màu của môi trường
- Trên môi trường thạch máu gentamycin, khuẩn lạc của phế cầu:
A. Không tan máu B. Màu vàng
C. Có đĩnh D. To, nhẵn nheo
- Phế cầu không có tính chất sau:
A. Đứng thành từng đôi B. Hình ngọn nến
C. Bị ly giải bởi mật D. Phát triển được trên thạch máu
E. Phát triển được ở môi trường có etyl hydrocuprein
- Bệnh phẩm để chẩn đoán phế cầu có thể là:
A. Đờm B. Máu
C. Chất ngoáy họng D. Cả A+B+C
- Loại cầu khuẩn sau có hiện tượng phình vỏ:
A. Tụ cầu B. Liên cầu
C. Phế cầu D. Tất cả đều đúng
- Thử nghiệm sau để phân biệt phế cầu với liên cầu:
A. Neufeld B. Men Catalase
C. Optochin D. Cả A+C
- Loại vi khuẩn sau là song cầu Gram(+):
A. Tụ cầu B. Liên cầu
C. Màng não cầu D. Phế cầu

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
9	Vỏ của phế cầu có vai trò gây bệnh		
10	Phế cầu không di động, không có men catalase		
11	Gentamycin trên môi trường thạch máu để kích thích phế cầu phát triển tốt.		
12	Môi trường nuôi cấy phế cầu cần phải có nhiều chất dinh dưỡng.		
13	Gây bệnh thực nghiệm nhằm mục đích xác định độc lực của phế cầu.		
14	Phế cầu không bị ly giải bởi muối mật.		
15	Để giữ chủng, phế cầu cần được để ở tủ lạnh		
16	Phế cầu chỉ gây bệnh ở đường hô hấp		
17	Nhuộm soi trực tiếp ít có giá trị chẩn đoán phế cầu trong các nhiễm khuẩn mũi họng.		

CÁC *NEISSERIA*

(3 tiết)

Neisseria là những cầu khuẩn Gram âm, không di động, không có vỏ, thường xếp thành từng đôi được chia thành hai nhóm:

1 Nhóm *Neisseria* phải phân lập trên môi trường đặc biệt, nhóm này không sinh sắc tố. Có hai loài vi khuẩn gây bệnh cho người là *N.meningitidis* (não mô cầu) và *N.gonorrhoeae* (cầu khuẩn lậu).

2. Nhóm các *Neisseria* phân lập được trên môi trường nuôi cấy thông thường, nhóm này có sắc tố, gồm 14 loài, ký sinh ở đường hô hấp trên và rất ít khi gây bệnh.

NÃO MÔ CẦU

(*Neisseria meningitidis*)

MỤC TIÊU

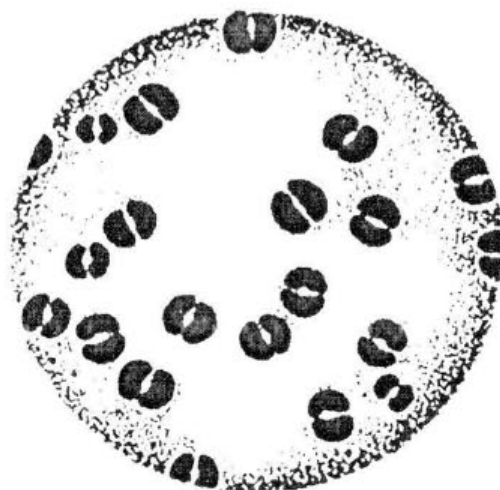
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của não mô cầu.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học não mô cầu.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Não mô cầu là loại song cầu hình hạt cà phê hai mặt lõm quay vào nhau, kích thước khoảng 1µm, đứng riêng rẽ từng đôi hoặc nhiều đôi tụ với nhau thành từng đám. Có thể nằm ở trong hoặc ngoài bạch cầu đa nhân. Trên tiêu bản nhuộm từ môi trường nuôi cấy vi khuẩn thường đa dạng, to nhỏ khác nhau và cách sắp xếp không điển hình. Vi khuẩn ở trong bệnh phẩm dịch não tuỷ thường có vỏ, ở các bệnh phẩm khác thường không có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào, bắt màu Gram âm. Nếu nhuộm xanh methylen, vi khuẩn bắt màu xanh.





Hình thể nấm mô cầu

1.2. Tính chất nuôi cấy

Khi mới nuôi cấy từ bệnh phẩm, nấm mô cầu chỉ phát triển tốt ở môi trường giàu chất dinh dưỡng như thạch máu, sôcôla và khí trường có 5 – 10% CO₂. Sau khi đã cấy chuyển nhiều lần thì sự đòi hỏi về dinh dưỡng của vi khuẩn giảm đi, thậm chí phát triển được ở môi trường dinh dưỡng bình thường. Nhiệt độ thích hợp là 37°C, có thể phát triển được ở nhiệt 25 – 42°C.

Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc tròn, nhẵn, lồi, bóng, sau 24 giờ đường kính khoảng 1mm, không tan máu, để lâu khuẩn lạc nhầy hơn và dính do tự ly giải.

Trên môi trường thạch sôcôla, khuẩn lạc dạng S, xám hoặc óng ánh.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

– Lên men không sinh hơi các loại đường mantose, glucose. Tính chất lên men đường mantose để phân biệt với cầu khuẩn lậu.

– Oxydase (+)

– ONPG (–): orthonitrophenyl β Galactophranocid để phát hiện orthonitrophenyl β galactosidase.

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Não mô cầu có kháng nguyên vỏ là polysaccharid. Dựa vào kháng nguyên này hiện nay đã có 13 nhóm kháng nguyên được biết, trong đó có 9 nhóm thường gặp là A, B, C, D, X, Y, Z, W-135, E29. Bốn nhóm còn lại là H, I, K, L hiếm gặp hơn. Các nhóm A, B, C thường gây thành dịch. Dựa vào protein màng ngoài tế bào lại chia mỗi nhóm kháng nguyên thành các typ huyết thanh. Các kháng nguyên vỏ polysaccharid của não mô cầu được tìm thấy trong dịch não tủy và máu. Có thể chẩn đoán nhanh kháng nguyên bằng kỹ thuật miễn dịch.

1.5. Độc tố

Não mô cầu có nội độc tố vững bền với nhiệt độ. Khi tiêm nội độc tố vào tĩnh mạch hay phúc mạc thỏ có thể gây chết thỏ, tiêm vào trong da thì gây hoại tử da.

1.6. Sức đề kháng

Não mô cầu có sức đề kháng yếu, dễ bị tiêu diệt bởi các chất sát khuẩn thông thường và điều kiện khô, nóng và ánh sáng mặt trời. Bị chết sau khi ra khỏi cơ thể 3 – 4 giờ, ở nhiệt độ 60° C / 10 phút

Ngoài ra vi khuẩn dễ bị chết do men tự ly giải.

2. Khả năng gây bệnh

Não mô cầu chỉ ký sinh ở người và gây bệnh cho người. Chúng thường ký sinh ở họng mũi người bình thường với tỷ lệ 2 – 8% và không gây bệnh. Khi điều kiện thuận lợi, não mô cầu gây viêm họng mũi nhưng thường nhẹ, không có triệu chứng. Có thể một số ít từ họng mũi vi khuẩn xâm nhập vào máu gây nhiễm khuẩn huyết. Từ máu, vi khuẩn đến màng não gây viêm màng não hoặc gây nên các ban xuất huyết – hoại tử (còn gọi là tử ban), hiểm hơn, có thể gặp não mô cầu gây các tổn thương ở khớp và phổi.

Nhiễm khuẩn huyết do não mô cầu có thể dẫn đến tình trạng Shock do nội độc tố.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm là dịch não tủy trong viêm màng não, là máu trong nhiễm khuẩn huyết hoặc là chất dịch họng mũi.

3.2. Nhuộm soi trực tiếp

Trong trường hợp viêm màng não, dịch não tủy ly tâm lấy cặn nhuộm soi có màng não cầu thì chẩn đoán là nguyên nhân gây bệnh. Hình thể điển hình là vi khuẩn nằm trong tế bào bạch cầu đa nhân. Nếu thấy vi khuẩn ở dịch trong mũi thì cần nuôi cấy phân lập phân biệt với các *Neisseria* khác không phải màng não cầu.

3.3. Nuôi cấy

Cấy dịch não tủy vào môi trường thạch máu hoặc sôcôla, để ở điều kiện khí trường có CO₂ và 37°C, sau 24 giờ chọn khuẩn lạc nghi ngờ xác định tính chất sinh vật hoá học và làm phản ứng ngưng kết trên lam kính với kháng thể mẫu.

Nếu không có điều kiện xác định, sau khi nuôi cấy dịch não tủy mà có *Neisseria* thì cũng chắc chắn là bệnh do não mô cầu.

3.4. Xác định tính chất sinh vật hoá học

- Oxydase (+)
- Glucose (+), Mantose (+). Mantose là tính chất quan trọng để phân biệt với cầu khuẩn lậu có mantose (–).

3.5. Tìm kháng nguyên

Lấy dịch não tủy làm phản ứng ngưng kết với kháng thể đặc hiệu đã được gắn trên các hạt latex, kỹ thuật này có thể chẩn đoán nhanh sự hiện diện của não mô cầu trong dịch não tủy. Đây là kỹ thuật có giá trị cao trong chẩn đoán bệnh viêm màng não do não mô cầu.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

4.1.1. Phòng đặc hiệu

Hiện nay đã có vaccin chế từ vỏ polysaccharid của não mô cầu. Vaccin 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. Nhóm B không có tính sinh miễn dịch ở người nên không dùng để sản xuất vaccin.

4.1.2. Phòng không đặc hiệu

Phát hiện sớm bệnh nhân và cách ly ngay vì bệnh viêm màng não do não mô cầu lây bằng đường hô hấp. Dùng kháng sinh phòng cho những người tiếp xúc với bệnh nhân hoặc ở trong vùng dịch. Thường dùng rifampicin hoặc minocyclin.

4.2. Điều trị

Nên điều trị sớm cho bệnh nhân bằng penicillin, có thể dùng erythromycin hoặc chloramphenicol.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Não mô cầu chỉ nằm trong tế bào bạch cầu		
2	Não mô cầu không có vỏ, có lông và di động		
3	Môi trường nuôi cấy não mô cầu cần có CO ₂ trong khí trường		
4	Não mô cầu chỉ phát triển được ở môi trường giàu chất dinh dưỡng		

5	Não mô cầu gây bệnh bằng ngoại độc tố		
6	Trong nước não tủy có màng não cầu thì có thể kết luận đó là vi khuẩn gây bệnh viêm màng não		
7	Não mô cầu có sức đề kháng cao		
8	Khi nhuộm soi chất ngoáy họng có song cầu hình hạt cà phê Gram âm thì kết luận đó là não mô cầu.		
9	Phản ứng ngưng kết trên lam kính để chẩn đoán tìm kháng thể trong huyết thanh.		
10	Não mô cầu có thể gây nhiễm khuẩn huyết		
11	Não mô cầu có men oxydase.		
12	Não mô cầu chết sau khi ra khỏi cơ thể 3 – 4 giờ nên nuôi cấy nước não tủy cần được tiến hành sớm sau khi lấy bệnh phẩm.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

13. Tính chất nào sau đây là của não mô cầu:

- A. Sinh nha bào
- B. Tan máu
- C. Song cầu Gram dương
- D. Phát triển tốt trên môi trường thạch thường
- E. Gây bệnh viêm màng não

14. Thử nghiệm nào sau đây không dùng để chẩn đoán não mô cầu:

- A. Nhuộm soi
- B. Xác định men oxydase
- C. Xác định lên men đường glucose
- D. Xác định tính sinh indol
- E. Cấy trên môi trường sôcôla

15. Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc của não mô cầu không có tính chất sau:

- A. Tròn, lồi
- B. Tan máu
- C. Dạng S
- D. Nhấn bóng
- E. Có sau 24h nuôi cấy

16. Nhuộm soi có giá trị chẩn đoán não mô cầu nếu bệnh phẩm là:

- A. Máu
- B. Chất ngoáy họng
- C. Dịch não tủy
- D. Dịch âm đạo
- E. Đờm

17. Môi trường sau không dùng để chẩn đoán phân lập não mô cầu:

- A. Thạch máu
- B. Thạch thường
- C. Macconkey
- D. Thạch sôcôla
- E. Cả B+C

CẦU KHUẨN LẬU

(*Neisseria gonorrhoeae*)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của cầu khuẩn lậu.
2. Nêu đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học cầu khuẩn lậu.

Bệnh lậu được mô tả từ năm 1550 trước công nguyên nhưng đến thế kỷ XIII mới được biết đó là bệnh lây qua đường tình dục. Năm 1879, Neisser là người đầu tiên mô tả vi khuẩn lậu là căn nguyên gây bệnh lậu. Năm 1882, Lestikow và Loeffler nuôi cấy thành công cầu khuẩn lậu.

1. Đặc điểm sinh vật học

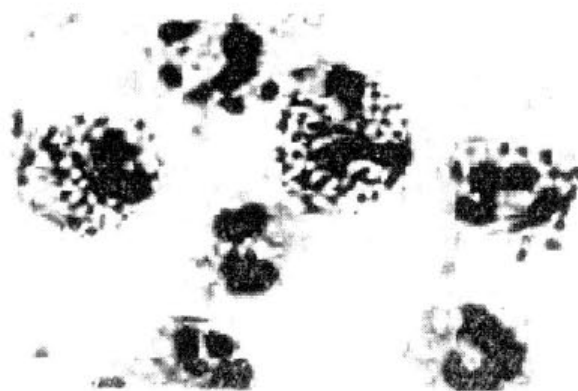
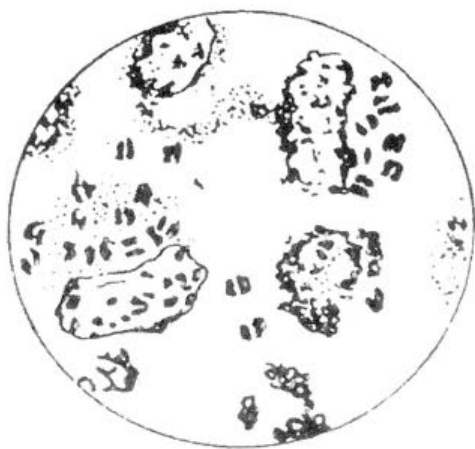
1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Cầu khuẩn lậu có hình thể giống náo mô cầu. Trên tiêu bản nhuộm Gram, cầu khuẩn hình hạt cà phê đứng thành từng đôi, bắt màu Gram âm. Nếu nhuộm xanh methylen vi khuẩn bắt màu xanh. Trong các trường hợp lậu điển hình, vi khuẩn đứng trong tế bào bạch cầu đa nhân trung tính thoái hoá, đôi khi như lèn chặt tế bào. Trong trường hợp lậu mạn tính, trên tiêu bản ít vi khuẩn và thường thấy vi khuẩn nằm ngoài tế bào. Trong môi trường nuôi cấy, cầu khuẩn lậu thường đa dạng, kích thước thay đổi và sắp xếp không điển hình. Cầu khuẩn lậu không có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào.

1.2. Tính chất nuôi cấy

Nuôi cấy cầu khuẩn lậu thường khó khăn, sau khi ra khỏi cơ thể vi khuẩn rất dễ chết. Môi trường nuôi cấy cầu khuẩn lậu phải giàu chất dinh dưỡng như máu, huyết thanh và các yếu tố phát triển. Khí trường phải có 3–10% CO₂ và nhiệt độ 35–37°C.

Trên các môi trường nuôi cấy như thạch sôcôla, Thayer–Martin (các môi trường này thường có các loại kháng sinh như colistin, vancomycin, nystatin, lincomycin để ức chế vi khuẩn khác và nấm nhưng không ảnh hưởng tới cầu khuẩn lậu). Sau 24 giờ kích thước của khuẩn lạc từ 0,4–1mm, xám trắng, mờ đục, lồi, tròn, lấp lánh sáng. Nếu để 48–72 giờ, khuẩn lạc có thể tới 3mm. Sau 72 giờ, vi khuẩn thường tự ly giải.



1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Oxydase(+)
- Catalase (+)
- Lên men đường glucose
- Không lên men đường mantose, levulose. Dựa vào sự lên men hai loại đường này để phân biệt cầu khuẩn lậu với não mô cầu.

Vi khuẩn	Glucose	Mantose	Levulose
Lậu cầu	+	–	–
Não mô cầu	+	+	–

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Cấu trúc kháng nguyên của cầu khuẩn lậu phức tạp có nhiều kháng nguyên đặc hiệu cho nhóm hoặc cho typ nhưng không có ý nghĩa trong chẩn đoán bệnh.

1.5. Độc tố

Cầu khuẩn lậu không có ngoại độc tố. Nội độc tố của cầu khuẩn lậu chưa được biết rõ. Nếu tiêm liều cao vào tĩnh mạch hoặc màng bụng có thể gây chết súc vật.

1.6. Sức đề kháng

Cầu khuẩn lậu có sức đề kháng yếu. Ở nhiệt độ 58°C vi khuẩn chết sau 5 phút. Sau khi ra khỏi cơ thể, vi khuẩn chết sau 1–2 giờ. Các chất sát khuẩn thông thường như phenol 1%, formol 0,1%, sublim 0,1% vi khuẩn chết sau 2–5 phút tiếp xúc.

2. Khả năng gây bệnh

Cầu khuẩn lậu chỉ có vật chủ duy nhất là người. Cầu khuẩn lậu có pili giúp cho vi khuẩn bám vào niêm mạc, loại không có pili thì không có độc lực. Bệnh lây

truyền chủ yếu bằng đường tình dục. Vi khuẩn gây viêm niệu đạo, triệu chứng chủ yếu là đái buốt, đái khó, đái mủ. Ở phụ nữ tăng tiết dịch niệu đạo, âm đạo, viêm cổ tử cung, đôi khi viêm tử cung, vòi trứng, buồng trứng. Ở nam có thể gặp viêm tiền liệt tuyến, viêm mào tinh hoàn.

Có thể gặp bệnh lậu ở trẻ em, thường gặp là viêm mủ kết mạc mắt sau đẻ 1–7 ngày do vi khuẩn lây từ đường sinh dục của người mẹ bị bệnh lậu sang trẻ sơ sinh khi qua đường sinh dục.

Ngoài ra có thể gặp nhiễm cầu khuẩn lậu lan toả: bệnh thường gặp ở những người bị bệnh lậu nhưng không được điều trị sẽ có biểu hiện viêm khớp, viêm gan, viêm màng não... Hầu hết bệnh gặp ở phụ nữ.

Bệnh lậu không được miễn dịch do kháng thể không có vai trò bảo vệ. Có thể chẩn đoán huyết thanh trong bệnh lậu ngoài đường sinh dục như viêm khớp.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Nhuộm soi trực tiếp

- Ở nam: lấy mủ niệu đạo vào sáng sớm trước khi đi tiểu.
- Ở nữ: lấy mủ niệu đạo, mủ cổ tử cung hoặc các lỗ của tuyến âm đạo.

Bệnh phẩm được nhuộm Gram hoặc xanh methylen, cầu khuẩn lậu có thể nằm ở ngoài hoặc trong tế bào bạch cầu đa nhân. Phương pháp này có giá trị cao trong chẩn đoán. Trường hợp bệnh nhân bị lậu mạn tính thì ít thấy vi khuẩn và vi khuẩn nằm ngoài tế bào. Nếu bệnh phẩm lấy từ nam giới hoặc trẻ em mà trên 1 vi trường có 4–10 bạch cầu, không có song cầu Gr(–) nội tế bào thì nhiều khả năng bệnh nhân viêm niệu đạo không phải lậu cầu. Nếu có >10 bạch cầu trong một vi trường và có song cầu Gr(–) nội tế bào thì chắc chắn bệnh nhân bị bệnh lậu. Trường hợp không lấy được mủ, có thể lấy nước tiểu ly tâm nhuộm soi cận nhưng thường ít có kết quả.

Nếu bệnh phẩm lấy từ dịch âm đạo thì nhuộm soi thường không chắc chắn vì độ đặc hiệu chỉ đạt 50–90%, cần kết hợp với nuôi cấy. Trường hợp bệnh nhân bị lậu mạn tính thì ít thấy vi khuẩn và vi khuẩn thường nằm ngoài tế bào.

3.2. Nuôi cấy

Bệnh phẩm được cấy vào các môi trường giàu chất dinh dưỡng như sôcôla, Thayer Martin có chất tăng sinh và chất ức chế, để ở nhiệt độ 35–37°C, khí trường 3–10% CO₂. Sau 48 giờ, nhận xét hình thái khuẩn lạc, nhuộm soi lại. Nếu là song cầu Gram âm thì xác định cầu khuẩn lậu bằng các phản ứng sinh vật hoá học như thử nghiệm oxydase, catalase và tính chất lên men đường.

3.3. Chẩn đoán gián tiếp

- Trong một số bệnh nhất là viêm khớp do cầu khuẩn lậu nuôi cấy kết quả

thường âm tính, có thể làm các phản ứng huyết thanh để chẩn đoán như ELISA, phản ứng kết hợp bổ thể.

– Kỹ thuật PCR chỉ được áp dụng ở những trung tâm chuyên sâu.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Vaccin phòng bệnh không có hiệu quả. Chủ yếu là giải quyết nạn mại dâm, tuyên truyền giáo dục các biện pháp phòng bệnh trong quan hệ tình dục. Phát hiện sớm và điều trị triệt để cho bệnh nhân. Đặc biệt điều trị cho phụ nữ có thai bị bệnh lậu tránh lây sang trẻ sơ sinh.

4.2. Điều trị

Kháng sinh penicillin vẫn còn tác dụng tốt với cầu khuẩn lậu. Tuy nhiên, hiện nay đã xuất hiện nhiều cầu khuẩn lậu kháng penicilin và các kháng sinh khác, do đó phải làm kháng sinh đồ để lựa chọn kháng sinh thích hợp. Trong trường hợp không làm được kháng sinh đồ có thể dùng các cephalosporin thích hợp. Cần chú ý điều trị triệt để tránh bệnh chuyển sang mạn tính rất khó chẩn đoán và điều trị.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Yếu tố sau dùng để phân biệt lậu cầu với não mô cầu sau khi nhuộm soi:
 - A. Phương pháp nhuộm
 - B. Cách sắp xếp của vi khuẩn
 - C. Tính chất bắt màu
 - D. Loại bệnh phẩm
2. Kháng sinh trên môi trường nuôi cấy cầu khuẩn lậu có tác dụng:
 - A. Kích thích cầu khuẩn lậu phát triển
 - B. Ức chế nấm
 - C. Tạo màu sắc của khuẩn lạc
 - D. Ức chế vi khuẩn khác
 - E. Cả B+D
3. Các cầu khuẩn Gram âm có tính chất sau:
 - A. Di động
 - B. Tan máu
 - C. Oxydase (+)
 - D. Song cầu hình ngọn nến
4. Cầu khuẩn lậu có các tính chất sau, trừ:
 - A. Chỉ gây bệnh cho người
 - B. Sức đề kháng yếu
 - C. Chỉ gây bệnh ở đường sinh dục
 - D. Bắt màu xanh khi nhuộm xanh methylen

5. Loại kháng sinh được điều trị tốt đối với cầu khuẩn lậu:

- A. Gentamycin B. Penicilin
C. Ampicilin D. Sulfamid

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
6	Cầu khuẩn lậu chỉ phát triển được ở môi trường giàu chất dinh dưỡng		
7	Khi nhuộm soi dịch đường sinh dục có song cầu hình hạt cà phê Gram âm nằm trong tế bào bạch cầu đa nhân thì có thể kết luận đó là cầu khuẩn lậu.		
8	Não mô cầu có men oxydase.		
9	Cầu khuẩn lậu có sức đề kháng cao.		
10	Trên tiêu bản nhuộm soi, cầu khuẩn lậu chỉ nằm trong tế bào.		
11	Cầu khuẩn lậu không phát triển trên các môi trường thông thường.		
12	Cầu khuẩn lậu không bao giờ xâm nhập vào máu.		
13	Các thuốc sát khuẩn thông thường giết chết cầu khuẩn lậu		
14	Nhuộm soi ít có giá trị chẩn đoán cầu khuẩn lậu		

VI KHUẨN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*

(2 tiết)

MỤC TIÊU

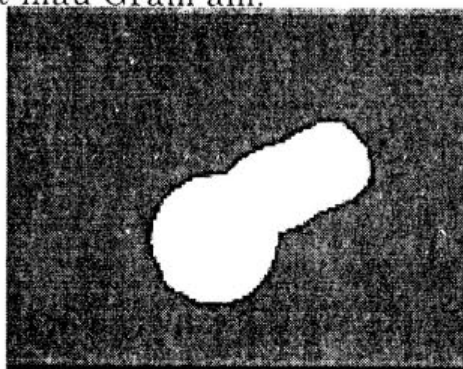
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của *Haemophilus influenzae*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học *Haemophilus influenzae*.

Haemophilus influenzae do Richard Pfeiffer phân lập từ một bệnh nhân bị chết trong vụ dịch cúm lớn năm 1892 và từ đó người ta cho rằng vi khuẩn này là căn nguyên gây bệnh cúm (*influenzae*) và đặt tên là *Bacterium influenzae*. Năm 1917, trên cơ sở những hiểu biết mới về vi khuẩn này, Winslow và cộng sự đã chuyển chúng sang giống *Haemophilus*, từ đó đến nay chúng được mang tên là *Haemophilus influenzae* (*Haemo*: máu, *Philus*: ưa, thích).

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

H. influenzae là vi khuẩn đa hình thái, có thể là trực khuẩn hoặc cầu khuẩn, kích thước $0,3\mu\text{m} \times 0,5 - 3\mu\text{m}$. Không có lông, không di động, có thể có vỏ, không sinh nha bào. Nhuộm bắt màu Gram âm.



Hình thể của *Haemophilus influenzae*

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí, chỉ phát triển trên môi trường có hai yếu tố X và V. Yếu tố X bao gồm các chất màu chứa sắt như hemin, hematin. Yếu tố này có trong môi trường thạch máu. *H. influenzae* dùng yếu tố X để tổng hợp một số men

catalase, peroxidase. Yếu tố V là NAD (nicotinamid adenin dinucleotid) nằm trong tế bào máu. Ở môi trường thạch sôcôla, NAD được giải phóng. Vì vậy, phải nuôi cấy *H. influenzae* trên môi trường sôcôla và khí trường có 3–5% CO₂, khuẩn lạc 1–2mm, dẹt, không màu. Những chủng có vỏ khuẩn lạc nhầy, màu xám nhạt.

Trên môi trường thạch máu nếu vi khuẩn có mọc được thì khuẩn lạc nhỏ và không tan máu. Có thể gặp những khuẩn lạc của *H. influenzae* xung quanh các khuẩn lạc bội nhiễm thì rất to trong khi đó những vùng xa thì không có khuẩn lạc hoặc khuẩn lạc rất bé. Đó là hiện tượng vi khuẩn bội nhiễm đã tiết ra yếu tố V nên *H. influenzae* phát triển mạnh.

Trên môi trường lỏng, vi khuẩn làm đục đều môi trường, lắc có gợn như sợi bông.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Lên men đường glucose.
- Catalase (+)

Dựa vào khả năng sinh indol, men urease và men ornithindecaboxylase để phân *H. influenzae* thành 8 typ sinh học:

Typ \ Tính chất	Indol	Urease	Ornithindec arboxylase
I	+	+	+
II	+	+	–
III	+	–	–
IV	+	–	+
V	–	+	+
VI	–	–	+
VII	–	+	–
VIII	–	–	–

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

H. influenzae có kháng nguyên vỏ có bản chất là polysaccharid có tính đặc hiệu typ. Dựa vào kháng nguyên vỏ chia *H. influenzae* ra 6 typ huyết thanh: a, b, c, d, e, f trong đó typ b gây bệnh cho người đặc biệt gây viêm màng não trẻ em. Vỏ có vai trò quan trọng giúp vi khuẩn chống lại hiện tượng thực bào. Vỏ của typ b được dùng để sản xuất vaccin.

1.5. Sức đề kháng

H. influenzae có sức đề kháng rất yếu, chúng dễ bị tiêu diệt bởi các chất sát khuẩn thông thường. Ra khỏi cơ thể vi khuẩn chết nhanh đặc biệt nếu dễ tiếp xúc với ánh sáng mặt trời hoặc điều kiện khô và lạnh.

2. Khả năng gây bệnh

H. influenzae và phế cầu là hai vi khuẩn hàng đầu gây nhiễm khuẩn đường hô hấp ở trẻ em dưới 5 tuổi.

H. influenzae ký sinh bắt buộc ở đường hô hấp của người, gặp nhiều ở trẻ em, khoảng 75% trẻ có mang vi khuẩn này ở mũi họng nhưng không gây bệnh. Bệnh do *H. influenzae* thường gây bệnh thứ phát sau bệnh cúm, sởi, thường gặp nhiều nhất ở trẻ 2 tháng – 5 tuổi.

Vi khuẩn có thể gây nhiễm khuẩn đường hô hấp trên, viêm họng, viêm mũi, viêm xoang, viêm tai giữa đặc biệt gây viêm phổi và viêm màng phổi. Vi khuẩn có thể xâm nhập vào máu rồi đến màng não gây viêm màng não. Viêm màng não ở trẻ nhỏ do *H. influenzae* thường rất nặng cần được chẩn đoán sớm và điều trị kịp thời.

Ngoài ra, *H. influenzae* còn gây viêm màng trong tim, viêm niệu đạo, nhiễm trùng sinh dục nhưng hiếm gặp.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Nhuộm soi

Trường hợp chẩn đoán viêm màng não, lấy dịch não tủy ly tâm lấy cặn nhuộm Gram thấy trực khuẩn Gram âm đa hình thái, to nhỏ không đều, bắt màu mờ nhạt trên vi trường có nhiều bạch cầu đa nhân, nhưng không có ý nghĩa xác định chẩn đoán.

3.2. Nuôi cấy

Bệnh phẩm là máu cấy vào môi trường canh thang máu glucose.

Bệnh phẩm là dịch ở các khoang kín (dịch não tủy, dịch màng phổi) thì cấy vào môi trường sôcôla thường.

Bệnh phẩm là đờm, mủ, chất ngoáy họng, dịch có nhiễm các vi khuẩn khác thì nuôi cấy vào môi trường thạch sôcôla có bacitracin (300µg/ml) để ức chế tạp khuẩn.

Các môi trường trên để tủ ấm 35–37°C và khí trường 3–5% CO₂. Sau 18–24 giờ nhuộm soi khuẩn lạc và xác định các tính chất sinh vật hoá học, tiến hành thử nghiệm X, V và định typ vi khuẩn. Đồng thời cấy bệnh phẩm vào môi trường thạch máu để xác định các vi khuẩn gây bệnh khác.

3.3. Thử nghiệm X và V

Lấy khuẩn lạc từ môi trường sôcôla hoà vào canh thang hoặc pepton, ria cấy đều trên mặt môi trường thạch thường, để tủ ấm 37°C sau 15–30 phút cho khô mặt thạch. Đặt hai khoanh giấy X và V cách nhau 2cm hoặc khoanh giấy XV, để

tử ám 37⁰C. Sau 18–24 giờ, *H. influenzae* sẽ mọc giữa hai khoanh giấy X và V hoặc xung quanh khoanh giấy XV.

Nếu không có đủ khoanh giấy X và V thì có thể dùng tụ cầu tiên hành kỹ thuật "vệ tinh" vì tụ cầu vàng có khả năng tổng hợp được yếu tố V, yếu tố này khuếch tán ra môi trường thạch máu giúp cho *H. influenzae* phát triển được.

3.4. Tìm kháng nguyên vỏ typ b trong bệnh phẩm

Để chẩn đoán nhanh các nhiễm trùng do *H. influenzae* typ b gây ra, ngày nay dùng các kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang, ngưng kết thụ động, đồng ngưng kết... để phát hiện kháng nguyên typ b trong dịch não tủy, máu, nước tiểu.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng đặc hiệu: vaccin được tinh chế từ vỏ polysaccharid của *H. influenzae* typ b. Đáp ứng miễn dịch đối với vaccin này tốt đối với trẻ hơn 2 tuổi nhưng rất kém với trẻ dưới 2 tuổi. Vì vậy, ngày nay người ta gắn kháng nguyên này vào một protein mang tạo nên một hỗn hợp trong đó protein mang hoạt động như một tá chất nên tính sinh miễn dịch tốt hơn.

Phòng không đặc hiệu: trường hợp bệnh nhân viêm màng não do *H. influenzae* phải được cách ly, dùng kháng sinh dự phòng cho những người tiếp xúc với bệnh nhân.

4.2. Điều trị

Ampicilin, cloramphenicol, cotrimoxazol thường được dùng để điều trị nhưng hiện nay đã có nhiều chủng *H. influenzae* kháng lại các thuốc trên nên tốt nhất điều trị theo kháng sinh đồ. Loại kháng sinh còn tác dụng tốt với *H. influenzae* là cephalosposin thế hệ 2,3 như cefotaxim, ceftriaxon.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Bệnh phẩm để chẩn đoán *H. influenzae*:

- | | |
|--------|------------------------|
| A. Máu | B. Chất ngoáy họng mũi |
| C. Đờm | D. Tuỳ theo từng bệnh |

2. Bệnh phẩm là dịch ngoáy họng để chẩn đoán *H. influenzae* cần được nuôi cấy vào:

- | | |
|-------------------------------|-----------------|
| A. Canh thang máu | B. Thạch máu |
| C. Thạch socola có bacitracin | D. Thạch thường |

3. Tụ cầu được cấy trên môi trường nuôi cấy *H. influenzae* với mục đích:
- Tạo yếu tố X
 - Tạo yếu tố V
 - Ức chế vi khuẩn khác
 - Sinh ra men làm thay đổi màu môi trường
4. Kết quả thử nghiệm X và V được đọc bởi:
- Đường kính vòng tan máu
 - Vi khuẩn mọc giữa hai khoanh giấy X và V
 - Vi khuẩn mọc xung quanh khoanh giấy X
 - Vi khuẩn mọc xung quanh khoanh giấy V
5. *H. influenzae* không phát triển được trên môi trường thạch máu vì:
- Không có yếu tố X
 - Không có yếu tố V
 - Không có đủ chất dinh dưỡng
 - Không có yếu tố X và V
6. Môi trường để làm thử nghiệm X và V chẩn đoán *H. influenzae*:
- Thạch máu
 - Thạch thường
 - Thạch socola
 - Cả A+B
7. Vi khuẩn *H. influenzae* được chia thành 6 typ huyết thanh dựa vào yếu tố nào sau đây:
- Kháng nguyên vỏ
 - Kháng nguyên thân
 - Kháng nguyên lông
 - Kháng nguyên bề mặt
8. Hình thể đặc trưng của vi khuẩn *H. influenzae*:
- Trực khuẩn Gr(–)
 - Song cầu Gr(–)
 - Cầu trực khuẩn Gr(–)
 - Trực khuẩn Gr(–) hai đầu bắt màu đậm
9. Yếu tố X trong chẩn đoán *H. influenzae* có trong môi trường nào:
- Thạch máu
 - Thạch socola
 - Thạch huyết thanh
 - Thayer martin
10. Trên môi trường thạch máu có thêm yếu tố V, khuẩn lạc của *H. influenzae* có đặc điểm sau:
- Tan máu
 - Màu vàng
 - Không tan máu
 - Xù xì
11. Vaccin chỉ có tác dụng phòng typ nào của *H. influenzae*:
- Typ a
 - Typ b
 - Typ d
 - Typ f
12. Vi khuẩn *H. influenzae* được phân lập từ bệnh phẩm nào sau đây không có ý nghĩa là tác nhân gây bệnh:

- A. Đờm
C. Chất ngoáy họng
- B. Dịch não tủy
D. Máu
13. Vi khuẩn *H.influenzae* được chia thành 8 typ sinh học dựa vào yếu tố nào:
A. Khả năng sinh indol
B. Men urease
C. Men ornithindecaboxylase
D. Cả ba yếu tố trên
14. Tính chất nào không phải của vi khuẩn *H.influenzae*:
A. Bắt màu Gram âm
B. Có thể có vỏ
C. Tạo thành lẩn cặn trong môi trường lỏng
D. Không di động
15. Vi khuẩn *H.influenzae* là tác nhân gây viêm màng não ở lứa tuổi nào nhiều nhất:
A. 6 tháng–2tuổi
B. 2–5 tuổi
C. Trẻ dưới 5 tuổi
D. Trẻ trên 5 tuổi

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
16	Thử nghiệm X và V được tiến hành trên môi trường thạch máu.		
17	Bacitracin là kháng sinh kích thích <i>H. influenzae</i> phát triển trong môi trường sôcôla có bacitracin.		
18	<i>H. influenzae</i> có hình thể dễ thay đổi, bắt màu Gram âm.		
19	Thử nghiệm " vệ tinh" được tiến hành trên môi trường thạch thường.		
20	Trên môi trường thạch thường, <i>H. influenzae</i> mọc xung quanh khoanh giấy XV.		

HỌ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT

(*Enterobacteriaceae*)

Họ vi khuẩn đường ruột bao gồm các trực khuẩn Gram âm có chung những tính chất sau:

- Di động hay không di động, nếu di động thì có lông xung quanh thân.
- Hiếu khí hoặc kỵ khí tùy tiện.
- Lên men đường glucose có kèm theo sinh hơi hoặc không.
- Phân giải nitrat thành nitrit.
- Không có men oxydase.
- Mọc dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường.
- Không sinh nha bào.

Với những tính chất trên, một số vi khuẩn mặc dù sống và gây bệnh ở đường tiêu hoá cũng không được xếp vào họ vi khuẩn đường ruột như phẩy khuẩn tả. Các vi khuẩn đường ruột gây bệnh quan trọng là:

- Trực khuẩn *Salmonella*.
- Trực khuẩn *Shigella*.
- Trực khuẩn *E.coli*.
- Trực khuẩn *Proteus*.
- Trực khuẩn *Klebsiella*.

Ngoài các vi khuẩn trên, vi khuẩn dịch hạch cũng được xếp vào họ vi khuẩn đường ruột.

TRỰC KHUẨN THƯƠNG HÀN

(*Salmonella*)

(2 tiết)

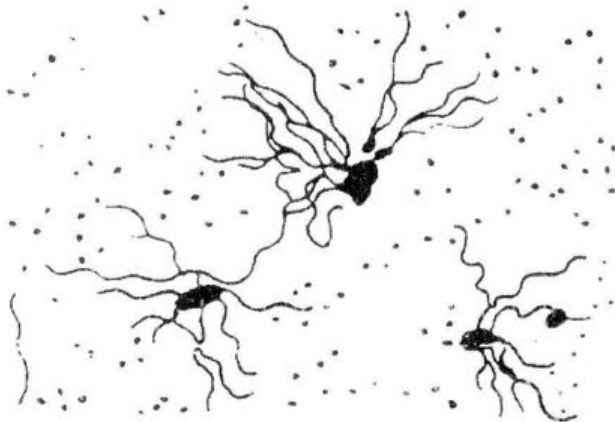
MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn *Salmonella*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn *Salmonella*.

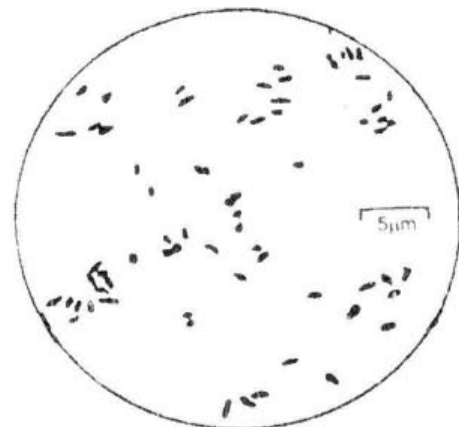
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

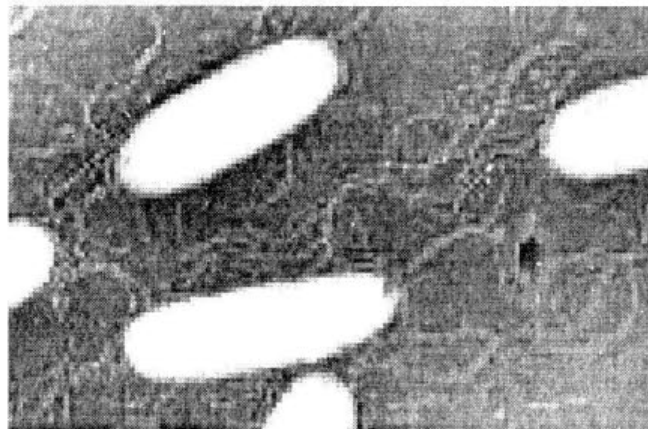
Salmonella là những trực khuẩn có kích thước trung bình dài 3 μm , rộng 0,5 μm , có nhiều lông xung quanh thân, rất di động, không có vỏ. Không sinh nha bào, nhuộm bắt màu Gram âm.



Salmonella typhi (lông của trực khuẩn)



Salmonella



Trực khuẩn *salmonella* dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí kỵ khí tùy tiện, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường, nhiệt độ thích hợp là 37°C, có thể phát triển được từ 6–42°C, pH thích hợp là 7,6 phát triển được ở pH từ 6–9.

- Trên môi trường lỏng:
 - + Sau 5–6 giờ nuôi cấy, vi khuẩn đã làm đục nhẹ
 - + Sau 18 giờ môi trường đục đều.
- Trên môi trường thạch thường khuẩn lạc tròn, lồi, bóng, thường không màu hoặc màu trắng xám.
- Trên môi trường phân lập có chất ức chế chọn lọc như SS, Istrati..., khuẩn lạc có cùng màu môi trường.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Lên men đường glucose kèm theo sinh hơi (trừ *S.typhi*).
- Không lên men đường lactose, saccharose.
- Sinh H₂S (trừ *S.paratyphi A* sinh chậm).
- LDC (+) (men lysin decarboxylase), trừ *S.paratyphi A*.
- RM (+), catalase (+), citratsimmons (±)
- Indol (–); urease (–); VP (–); ONPG (–).

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

– **Kháng nguyên O:** là kháng nguyên thân của vi khuẩn, Kauffmann và White đã nghiên cứu và xác định được gần 70 yếu tố kháng nguyên O khác nhau. Dựa vào kháng nguyên O chia *Salmonella* thành các nhóm A, B, C, D, E... Mỗi nhóm mang một yếu tố kháng nguyên đặc hiệu nhóm.

– **Kháng nguyên H:** là kháng nguyên lông của *Salmonella*, kháng nguyên H của *Salmonella* có tính đặc hiệu đơn hoặc kép. Những loài *Salmonella* có kháng nguyên H mang tính đặc hiệu đơn khi gặp kháng huyết thanh tương ứng sẽ mất khả năng di động. Một số *Salmonella* có kháng nguyên H mang đặc hiệu kép. Ví dụ: *S. paratyphi B* khi mới phân lập thì chỉ bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng b. Nếu chúng được nuôi cấy vào môi trường thạch mềm có huyết thanh kháng b thì chúng vẫn di động, lúc này chúng không bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng b nữa nhưng lại bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng 1,2. Nếu nuôi cấy vi khuẩn vào môi trường có huyết thanh kháng 1,2 thì sẽ có vi khuẩn bị ngưng kết bởi huyết thanh kháng b. Như vậy, kháng nguyên H của *S.paratyphi B* có hai pha: b và 1,2.

Kháng nguyên K: là kháng nguyên bề mặt của vi khuẩn. Kháng nguyên này chỉ có ở *Styphi* và *S.paratyphi C* được gọi là kháng nguyên Vi. Kháng nguyên Vi có thể bao phủ kín kháng nguyên O.

1.5. Độc tố

Nội độc tố: nội độc tố của *Salmonella* rất mạnh, tiêm cho chuột lang hoặc chuột nhắt liều thích hợp thì sau vài ngày chuột chết. Ruột non chuột xung huyết, mảng Payer phù nề, đôi khi hoại tử. Nội độc tố có vai trò quyết định trong tính chất gây bệnh của *Salmonella*.

Ngoại độc tố: ngoại độc tố chỉ hình thành trong điều kiện *invivo* và nuôi cấy kỵ khí, ngoại độc tố có thể điều chế thành giải độc tố.

1.6. Sức đề kháng

Trực khuẩn *Salmonella* bị chết ở nhiệt độ 50°C/1 giờ hoặc 100°C/5 phút. Với các thuốc sát khuẩn thông thường, trực khuẩn *Salmonella* dễ bị tiêu diệt. Trong nước trực khuẩn sống được 2–3 tuần, trong nước đá và trong phân sống được 2–3 tháng.

1.7. Phân loại

Salmonella typhi (trực khuẩn thương hàn): là *Salmonella* chỉ gây bệnh thương hàn ở người, thường gặp ở Việt Nam.

Salmonella paratyphi A (trực khuẩn phó thương hàn A): cũng chỉ gây bệnh thương hàn cho người. Ở Việt Nam, Vi khuẩn này phân lập được đứng thứ 2 sau *S.typhi*.

Salmonella paratyphi B (trực khuẩn phó thương hàn B) chủ yếu gây bệnh ở người nhưng có thể gây bệnh cho động vật.

Salmonella paratyphi C (trực khuẩn phó thương hàn C): gây bệnh thương hàn, viêm dạ dày – ruột và nhiễm khuẩn huyết. Thường gặp ở các nước Đông Nam châu Á.

Ngoài bốn loại *Salmonella* trên gây bệnh chủ yếu ở người, còn có một số *Salmonella* khác gây bệnh cho người và động vật, có ở khắp nơi trên thế giới.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Các *Salmonella* gây bệnh thương hàn

Bao gồm *S.typhi* và *S.paratyphi A, B, C* gây ra. *Salmonella* xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hoá, vào niêm mạc ruột non rồi đến các hạch mạc treo, sinh sản nhân lên ở đây rồi qua hệ thống bạch huyết và ống ngực vào máu. Từ máu vi khuẩn qua lách và các cơ quan khác. Sau khi qua gan, vi khuẩn theo đường dẫn mật đổ xuống ruột rồi được đào thải ra ngoài theo phân. Hoặc từ máu, vi khuẩn đến thận và được đào thải ra ngoài theo nước tiểu.

Trực khuẩn *Salmonella* gây bệnh bằng nội độc tố. Nội độc tố kích thích thần kinh giao cảm ở ruột gây hoại tử, chảy máu và có thể gây thủng ruột. Vi khuẩn

nhân lên và thường gây tổn thương ở các mảng Peyer. Nội độc tố theo máu lên kích thích trung tâm thần kinh ở não, bệnh nhân thường li bì, có thể hôn mê, truy tìm mạch, tử vong. Cơ chế gây bệnh thương hàn khá phức tạp và chưa biết đầy đủ.

2.2. Các *Salmonella* gây nhiễm khuẩn nhiễm độc thức ăn

Các serotyp thường gặp là *S.typhimurium*, *S.enteritidis*. Nguồn truyền nhiễm thường là các thức ăn nhiễm khuẩn. Sau khi ăn phải thức ăn có vi khuẩn 10–48 giờ, bệnh nhân sốt, nôn, ỉa chảy. Vi khuẩn không xâm nhập vào máu. Bệnh nhân rối loạn tiêu hoá 2–5 ngày rồi tự khỏi. Một số ít bệnh nhân trở thành người lành mang vi khuẩn.

2.3. Miễn dịch

Sau khi mắc bệnh thương hàn, trong huyết thanh bệnh nhân có các kháng thể chống kháng nguyên O, H và Vi đối với *S.typhi* và *S.paratyphi C*. Tuy nhiên, vai trò bảo vệ của các kháng thể không đầy đủ. Kháng thể IgA trong dịch tiết tại chỗ có vai trò quan trọng trong cơ chế bảo vệ.

Ngoài ra, còn có miễn dịch qua trung gian tế bào chống *Salmonella*.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Cấy máu

Cấy máu vào lúc bệnh nhân đang sốt, cần cấy máu khi bệnh nhân chưa điều trị kháng sinh. Lấy 5–10ml máu tĩnh mạch cấy vào bình canh thang, để ủ ấm 37°C, theo dõi hằng ngày, vi khuẩn *Salmonella* thường mọc sau 24–48 giờ. Khi vi khuẩn mọc, môi trường đục và có vẩn thì nhuộm soi hình thể và tính chất bất màu. Nếu là trực khuẩn Gram âm sẽ cấy chuyển sang môi trường đặc, quan sát hình thái khuẩn lạc, kiểm tra tính chất sinh vật hoá học, cuối cùng xác định tính kháng nguyên bằng kháng huyết thanh mẫu.

Nếu chưa điều trị kháng sinh, tỷ lệ dương tính khi cấy máu ở tuần đầu tới 90%, tuần thứ 2 từ 70–80%, tuần thứ 3 từ 40–60%. Khi cấy máu có vi khuẩn cho phép chẩn đoán chắc chắn bệnh nhân mắc bệnh thương hàn.

3.1.2. Cấy phân

Vì trong phân có nhiều vi khuẩn nên nuôi cấy vào môi trường có chất ức chế chọn lọc như môi trường SS, Endo, istrati, DCL... Sau 24 giờ, chọn khuẩn lạc không lên men đường lactose cấy chuyển sang các môi trường xác định tính chất sinh vật hóa học.

Kết quả cấy phân dương tính cũng chưa chẩn đoán chắc chắn bệnh nhân mắc bệnh vì người lành cũng có thể mang vi khuẩn thương hàn trong phân.

3.1.3. Xác định tính chất sinh vật hoá học

Từ môi trường nuôi cấy, chọn khuẩn lạc cấy vào các môi trường xác định vi khuẩn đường ruột như Kligler, ure-indol, manit di động, simmons, LDC... Để ở 37°C, sau 18–24 giờ đọc kết quả xác định tính chất sinh vật hoá học của trực khuẩn *Salmonella*.

3.1.4. Phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh

Xác định huyết thanh học là cần thiết và thường làm phản ứng ngưng kết trên lam kính giữa vi khuẩn *Salmonella* phân lập được với kháng huyết thanh mẫu. Để xác định kháng nguyên O thì nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường thạch thường, còn xác định kháng nguyên H thì phải nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường thạch mềm để thuận lợi cho lông vi khuẩn phát triển.

Trên lam kính, sau khi trộn vi khuẩn với kháng huyết thanh mẫu. Nếu có ngưng kết nhanh thành đám như bông là do kháng nguyên H. Nếu có ngưng kết thành những hạt nhỏ sau nhiều phút là do kháng nguyên O có trong nhiều typ huyết thanh của *Salmonella*. Để thuận tiện cho chẩn đoán, người ta dùng các kháng huyết thanh O hỗn hợp như OMA, OMB, OMC, OMD... Và các kháng huyết thanh H hỗn hợp như HMA, HMB, HMC... Phần lớn *Salmonella* gặp ở người đều ngưng kết với kháng huyết thanh O hỗn hợp OMA và OMB.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Sau khi nhiễm *Salmonella* vào cơ thể, 7–10 ngày sau trong máu xuất hiện kháng thể kháng O, 12–14 ngày sau xuất hiện kháng thể kháng H. Thời gian tồn tại kháng thể trong máu khoảng 3 tháng với kháng thể O, 1–2 năm đối với kháng thể H.

Tìm kháng thể trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết Widal. Kết quả ở lần xét nghiệm thứ nhất thường không cho phép xác định chắc chắn. Phản ứng cần được làm hai lần. Ở tuần thứ nhất và thứ 2 để xác định động lực kháng thể. Nếu động lực kháng thể cao mới cho phép chẩn đoán chắc chắn. Hiện nay có một số phương pháp chẩn đoán huyết thanh trên lam kính hoặc trên các plak nhựa thay cho Widal kinh điển.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh đặc hiệu

Vaccin TAB chết (bao gồm *S.typhi*, *S.paratyphi A* và *S.paratyphi B*) trước đây thường được dùng bằng đường tiêm nhưng hiệu lực bảo vệ của miễn dịch không cao và chỉ duy trì trong 6 tháng.

Ngày nay, nhiều nơi trên thế giới đã sản xuất vaccin sống giảm độc lực đưa vào cơ thể bằng đường uống để kích thích miễn dịch tiết tại chỗ. Tuy nhiên, kết quả miễn dịch được công bố rất khác nhau. Loại vaccin có hiệu quả nhất hiện nay

là vaccin tinh chế kháng nguyên Vi đang được dùng ở nhiều nước tiên tiến trên thế giới và sắp dùng ở Việt Nam.

Phòng không đặc hiệu: chủ yếu là các biện pháp như vệ sinh ăn uống, quản lý phân và xử lý phân tốt, phát hiện sớm bệnh nhân và cách ly kịp thời, tiêu diệt ruồi nhặng truyền bệnh...

4.2. Điều trị

Chloramphenicol và ampicillin trước đây rất có hiệu lực với *Salmonella*. Những năm gần đây nhiều nghiên cứu đã công bố *Salmonella* kháng lại hai kháng sinh trên với tỷ lệ khá cao. Có thể dùng ciprofloxacin, neomycin, cephalosporin thế hệ 3.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Trên môi trường Istrati, khuẩn lạc của *Salmonella* không có tính chất sau:
A. Màu xanh
B. Dạng S
C. Màu vàng
D. Nhấn bóng
2. Trên môi trường sau trực khuẩn *Salmonella* làm môi trường có màu đen:
A. Basiekow
B. Kligler
C. Manitt di động
D. Simmons
3. Trực khuẩn *Salmonella* không có tính chất sau:
A. Làm đục môi trường lỏng
B. Di động
C. Lên men đường lactose
D. Có nhiều lông xung quanh thân
4. Bệnh phẩm chẩn đoán trực khuẩn *Salmonella* là:
A. Máu
B. Phân
C. Chất nôn
D. Cả A+B
5. Biện pháp sau có khả năng phòng bệnh do *salmonella* tốt nhất:
A. Vệ sinh ăn uống
B. Cách ly bệnh nhân
C. Vaccin phòng bệnh
D. Tiêu diệt côn trùng truyền bệnh
6. Phản ứng Widal được tiến hành với mục đích sau:
A. Tìm kháng nguyên
B. Tìm độc tố
C. Tìm kháng thể
D. Tìm phức hợp kháng nguyên– kháng thể
7. Khuẩn lạc của trực khuẩn *Salmonella* có màu sau trên môi trường phân lập vi khuẩn đường ruột:
A. Màu hồng
B. Màu xanh
C. Màu đỏ
D. Cùng màu môi trường

8. Trên môi trường Itrati, khuẩn lạc của *Salmonella* có màu xanh vì:
- A. Chuyển hoá glucose B. Lên men đường lactose
C. Không lên men đường lactose D. Lên men đường mantose
9. Thử nghiệm Widal là phản ứng:
- A. Ngưng kết trên lam kính B. Ngưng kết trên ống nghiệm
C. Trung hoà D. Lên bông
10. Kháng nguyên Vi của trực khuẩn salmonella nằm ở:
- A. Vách B. Thân C. Bề mặt ngoài vách D. Lông
11. Loại *salmonella* sau sinh H₂S chậm:
- A. *Salmonella typhi* B. *Salmonella paratyphi A*
C. *Salmonella paratyphi B* D. *Salmonella paratyphi C*
12. Khi cấy máu chẩn đoán *Salmonella* cần chú ý điểm sau:
- A. Cấy vào canh thang glucose 2% B. Cấy vào môi trường có chất ức chế
C. Cấy ngay tuần đầu D. Cấy từ tuần thứ 2 trở đi
13. Để kiểm tra tính chất lên men đường glucose, trực khuẩn *Salmonella* được cấy vào môi trường sau:
- A. Basiekow B. Kligler
C. A hoặc B D. Istrati
14. Thuốc thử sau để kiểm tra tính chất sinh Indol của *Salmonella*:
- A. Oxy già B. Kowaca C. NaOH 16% D. Đỏ methyl

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
15	Kháng thể chống kháng nguyên O của <i>Salmonella</i> xuất hiện trong máu sau 1 tuần vì khuẩn xâm nhập vào cơ thể.		
16	Trực khuẩn thương hàn gây bệnh bằng nội độc tố.		
17	Sau khi phân lập được vi khuẩn, làm phản ứng ngưng kết trên lam kính để xác định kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân thương hàn.		
18	Trực khuẩn <i>Salmonella</i> không sinh indol.		
19	Trực khuẩn <i>Salmonella</i> có lông xung quanh thân, di động.		
20	Cấy máu tìm trực khuẩn <i>salmonella</i> có kết quả dương tính cao trong tuần đầu của bệnh		
21	Trên môi trường istrati khuẩn lạc của trực khuẩn <i>salmonella</i> có màu vàng		

TRỰC KHUẨN LỖY

(*Shigella*)

(2 tiết)

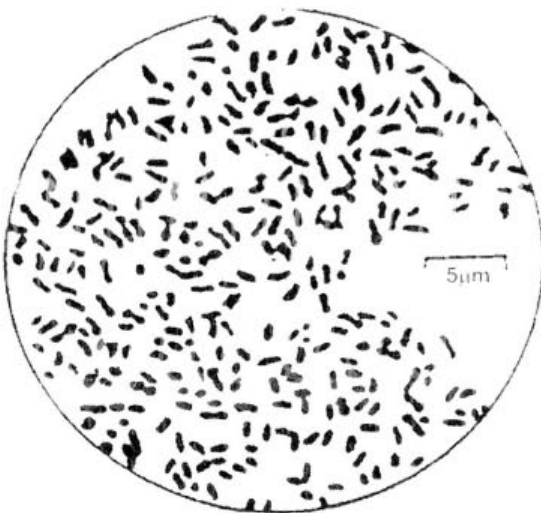
MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn *Shigella*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn *Shigella*.

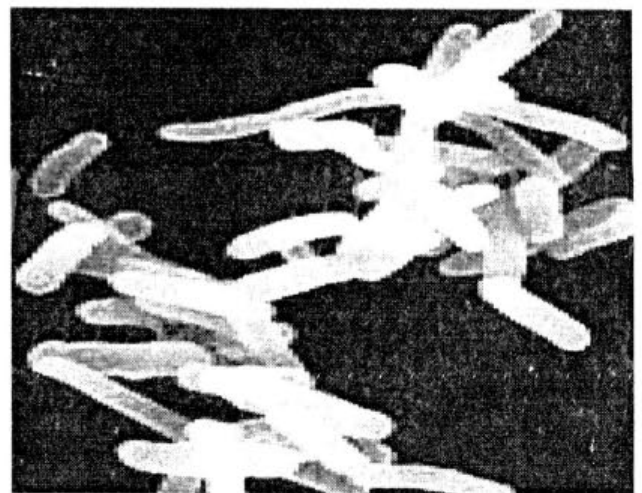
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Shigella là những trực khuẩn dài 1–3 μm , khi mới nuôi cấy vi khuẩn có dạng trực khuẩn điển hình. *Shigella* không có lông, không có vỏ, không sinh nha bào, bắt màu Gram âm.



Shigella



Trực khuẩn *shigella* dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Shigella là vi khuẩn hiếu khí kỵ khí tùy tiện, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Nhiệt độ thích hợp là 37°C nhưng phát triển được ở nhiệt độ 8–40°C. pH thích hợp là 7,8 nhưng phát triển được ở pH 6,6 – 8,8.

- Trên môi trường lỏng, vi khuẩn mọc sớm và làm đục đều môi trường.

– Trên môi trường đặc khuẩn lạc tròn, lồi, bờ đều, sau 24 giờ đường kính $\approx 2\text{mm}$.

– Trên môi trường phân lập có đường lactose như istrati, SS khuẩn lạc có màu cùng với màu môi trường.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

– Lên men đường glucose không sinh hơi (trừ *S.flexneri* 6, *S.boydii* 14 sinh hơi yếu).

– Không lên men đường lactose (trừ *S.sonnei* lên men chậm sau 2 ngày đến 2 tuần).

– Lên men đường mannitol (trừ *S.dysenteriae*)

– H_2S (–); Indol ($\pm$); Citrat (–); VP (–); RM (+).

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Tất cả các *Shigella* đều có kháng nguyên thân O, một số chủng có kháng nguyên bề mặt K nhưng kháng nguyên O quan trọng nhất. Tuy vậy giữa một số chủng trực khuẩn lỵ cũng có kháng nguyên chung, giữa *Shigella* nhóm B và *E.coli* cũng có kháng nguyên chéo.

1.5. Độc tố

– Các *Shigella* đều có nội độc tố và một số có ngoại độc tố.

– Nội độc tố: nội độc tố có tính độc mạnh, là một kháng nguyên yếu tác dụng chủ yếu là gây phản ứng trong ruột.

– Ngoại độc tố: ngoại độc tố có tính độc cao, có tác dụng đặc hiệu vào hệ thần kinh trung ương.

1.6. Phân loại

Dựa vào kháng nguyên thân O và tính chất sinh vật hoá học, các trực khuẩn *Shigella* được chia làm bốn nhóm.

– Nhóm A (*S.dysenteriae*) không có khả năng lên men đường mannitol, có 10 typ huyết thanh, các typ huyết thanh không có quan hệ kháng nguyên với nhau. Đáng chú ý là typ 1 (*S.shiga*) và typ 2 (*S.schmitzii*) có khả năng lên men đường mannitol.

– Nhóm B (*S.Flexneri*) có khả năng lên men đường mannitol. Có sáu typ huyết thanh, các typ huyết thanh này có cả thành phần kháng nguyên đặc hiệu typ và thành phần kháng nguyên chung cho cả sáu typ.

– Nhóm C (*S.boydii*) có khả năng lên men đường mannitol, gồm 15 typ huyết thanh.

– Nhóm D (*S.sonnei*) có khả năng lên men đường mannitol, chỉ có 1 typ huyết thanh.

1.7. Sức đề kháng

Shigella tồn tại được trong nước và thức ăn 7–10 ngày, trong đất 6–7 tuần. Tuy nhiên, vi khuẩn bị chết nhanh ở nước sôi, bị tiêu diệt bởi các thuốc sát khuẩn thông thường và ánh sáng mặt trời.

2. Khả năng gây bệnh

Trực khuẩn *Shigella* gây nên bệnh lỵ ở người và khỉ. Trực khuẩn xâm nhập vào cơ thể bằng đường ăn uống. Vi khuẩn đến cư trú và sinh sản rất nhanh ở niêm mạc đại tràng. Vi khuẩn gây bệnh nhờ khả năng xâm nhập và nội độc tố. Nội độc tố gây xung huyết, xuất tiết tạo thành những ổ loét và mang hoại tử niêm mạc đại tràng, tác động lên thần kinh giao cảm gây co thắt và tăng nhu động ruột. Bệnh biểu hiện bằng hội chứng lỵ: đau quặn, mót rặn, phân có máu, lẫn nhày.

Ngoại độc tố của trực khuẩn *Shigella* có tính độc với thần kinh trung ương, có thể gây viêm màng não và hôn mê. Tuy nhiên, ngoại độc tố chỉ có tác dụng sau khi vi khuẩn đã xâm nhập vào niêm mạc đại tràng.

Bệnh lỵ trực khuẩn thường ở thể cấp tính, một số ít trường hợp trở thành mạn tính. Bệnh do *S. shiga* thường gây nên những vụ dịch lớn và kéo dài, nặng hơn các chủng khác. Ở Việt Nam hiện nay, đa số các trường hợp lỵ trực khuẩn là do nhóm E và C.

Sau khi mắc bệnh lỵ trực khuẩn hoặc ở người lành mang khuẩn, cơ thể có kháng thể đặc hiệu, tuy nhiên hiệu lực bảo vệ của các kháng thể này rất kém. Vai trò bảo vệ chủ yếu là nhờ IgA tiết tại ruột.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Nhuộm soi trực tiếp

Lấy bệnh phẩm là phân, nên lấy ở chỗ có nhày lẫn máu hoặc lấy trực tiếp từ trực tràng. Làm tiêu bản nhuộm Gram để xác định mật độ bạch cầu đa nhân và vi khuẩn chí. Mật độ bạch cầu đa nhân thường cao, thường 30–50 bạch cầu trong một vi trường. Vi khuẩn *E.coli* thường giảm dưới 70% số vi khuẩn ái khí ở ruột.

3.2. Cấy phân

Cấy phân là phương pháp tốt nhất và được dùng chủ yếu để chẩn đoán bệnh lỵ trực khuẩn. Cấy phân càng sớm càng tốt vì trực khuẩn lỵ chết nhanh sau khi ra khỏi cơ thể. Nên cấy phân vào cả môi trường có chất ức chế và không có chất

ức chế. Môi trường phân lập thường dùng là SS, Endo, Istrati, DCL... Sau 24 giờ, chọn khuẩn lạc nghi ngờ xác định tính chất sinh vật hoá học.

3.3. Xác định tính chất sinh vật hoá học

Nuôi cấy vi khuẩn vào các môi trường xác định như Kligler, Mannit – di động, Clark lubs, Simmons... để xác định các tính chất của *Shigella*.

3.4. Phản ứng ngưng kết

Sau khi tiến hành các tính chất xác định *Shigella*, nuôi cấy vi khuẩn lên môi trường thạch thường để tiến hành phản ứng ngưng kết.

Trước hết dùng kháng huyết thanh đa giá nhóm: A₁A₂ (đại diện cho nhóm A), B (đại diện nhóm B), C₁C₂C₃ (đại diện nhóm C) và D (đại diện nhóm D). Nếu một trong các kháng huyết thanh đa giá nhóm trên ngưng kết thì tiến hành ngưng kết với các kháng huyết thanh đơn giá theo từng nhóm.

3.5. Chẩn đoán huyết thanh

Phản ứng huyết thanh rất ít được làm để chẩn đoán bệnh lý trực khuẩn vì đây là bệnh cấp tính, kháng thể có thể chưa xuất hiện trong máu khi bệnh có triệu chứng lâm sàng. Và lại phản ứng huyết thanh không có tính đặc cao vì *S.flexneri* (vi khuẩn gây bệnh lý chiếm tỷ lệ cao) có yếu tố kháng nguyên chung với một số vi khuẩn đường ruột khác. Phản ứng huyết thanh có thể tiến hành trong trường hợp lý mạn tính mà nuôi cấy phân lập không tìm được vi khuẩn.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

- Vaccin phòng bệnh chưa có kết quả tốt, hiện nay một số nước đã nghiên cứu sản xuất vaccin sống giảm độc lực được đưa vào cơ thể bằng đường uống.
- Giải độc tố để phòng bệnh có kết quả nhưng chủ yếu với *S.shiga*.
- Vệ sinh ăn uống, chẩn đoán sớm và cách ly bệnh nhân, xử lý chất thải bỏ, tiêu diệt ruồi nhặng truyền bệnh.

4.2. Điều trị

Các thuốc kháng sinh ampicillin, chloramphenicol, cotrimoxazol là những thuốc thường được dùng điều trị lý trực khuẩn nhưng kết quả nghiên cứu đã cho thấy hiện nay tới trên 80% *S.flexneri* kháng các thuốc điều trị chủ yếu trên. Vì vậy, cần phải làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp trong điều trị trực khuẩn lý.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Trực khuẩn <i>Shigella</i> có lông ở một đầu, di động.		
2	Trên các môi trường lỏng, <i>Shigella</i> làm đục môi trường.		
3	Trực khuẩn <i>Shigella</i> có khuẩn lạc màu vàng khi cấy trên môi trường Istrati.		
4	Trực khuẩn <i>Shigella</i> sinh H_2S .		
5	Phản ứng ngưng kết trên lam kính để xác định kháng nguyên của vi khuẩn <i>Shigella</i> phân lập được.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

6. Bệnh phẩm chẩn đoán trực khuẩn *Shigella* là:

- A. Máu B. Phân C. Chất nôn D. Cả A+B+C

7. Nội độc tố của trực khuẩn *Shigella* có đặc điểm:

- A. Tính độc mạnh
B. Là kháng nguyên mạnh
C. Tác động mạnh lên hệ thần kinh
D. Cả A+B
E. Cả A+B+C

8. Trực khuẩn *S. dysenteriae* có đặc điểm:

- A. Lên men đường mannitol
B. Có 6 typ huyết thanh
C. Có lông, di động
D. Có typ 1 là *S. shiga*
E. Tất cả đều sai

9. Trực khuẩn *Shigella* có các tính chất sau, trừ:

- A. Lên men glucose
B. Không sử dụng citrate
C. Sinh H_2S
D. Không di động
E. Gây hội chứng lỵ khi gây bệnh

10. Trục khuẩn lỵ gây ra hội chứng lỵ vì:
- A. Tổn thương ở ruột non
 - B. Tổn thương ở đại tràng
 - C. Gây nhiễm bằng đường tiêu hoá
 - D. Gây bệnh bằng ngoại độc tố
11. Trục khuẩn *Shigella* khác *salmonella* ở tính chất sau:
- A. Không di động
 - B. Không lên men đường lactose
 - C. Không sinh H_2S
 - D. Cả A+C
12. Trên môi trường lỏng, trục khuẩn *Shigella* làm môi trường:
- A. Trong
 - B. Đục
 - C. Tạo vầng
 - D. Hạt lơ lửng

TRỰC KHUẨN *ESCHERICHIA COLI*

(2 tiết)

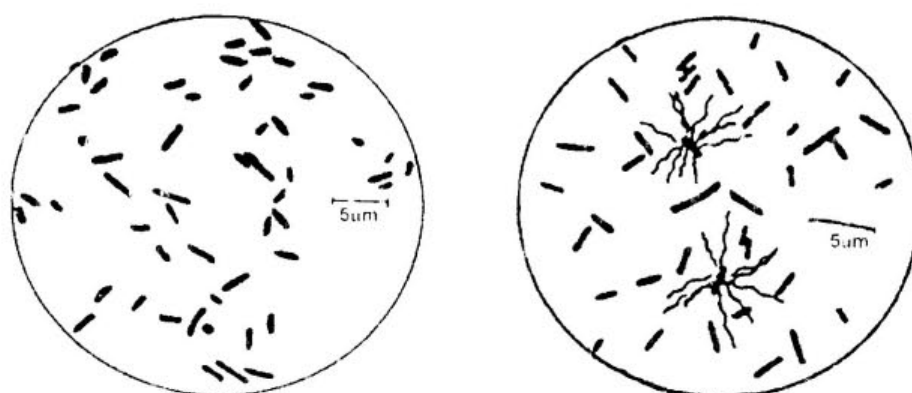
MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn *E.coli*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn *E.coli*.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn *E.coli* có hình thẳng, kích thước dài ngắn khác nhau, trung bình dài 2–8 μm , rộng 0,5 μm . Ở môi trường không thích hợp, trực khuẩn có thể dài như sợi chỉ. Một số ít chủng có vỏ, hầu hết có lông và di động, không sinh nha bào, bắt màu Gram âm.



Trực khuẩn *E.coli*

1.2. Tính chất nuôi cấy

– *E.coli* hiếu khí kỵ khí tùy tiện, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Nhiệt độ thích hợp là 37°C, phát triển được ở nhiệt độ 5–40°C.

– Trong môi trường lỏng, sau 4–5 giờ nuôi cấy vi khuẩn đã làm đục nhẹ, sau 24 giờ môi trường đục đều, sau hai ngày môi trường có vầng mỏng. Để lâu vi khuẩn lắng xuống đáy ống nghiệm.

– Trên môi trường thạch thường, sau 18–24 giờ khuẩn lạc có đường kính khoảng 1,5 mm, dạng S: tròn, bờ đều, lồi bóng, không màu hoặc màu xám nhạt. Có thể gặp khuẩn lạc dạng M hoặc R.

– Trên môi trường phân lập, vi khuẩn thường làm thay đổi màu môi trường vì lên men đường lactose, khuẩn lạc có màu vàng trên môi trường Istrati, màu đỏ trên môi trường SS.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- *E.coli* lên men nhiều loại đường và sinh hơi như glucose, mannitol, lactose (trừ loại EIEC lactose (-)).
- *E.coli* có khả năng sinh indol.
- ONPG (+); RM (+); LDC (+).
- H₂S (-); VP (-); Citratsimmons (-), urease (-).

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

- Kháng nguyên O: gần 160 yếu tố kháng nguyên O của *E.coli* đã được biết phân chia *E.coli* thành gần 160 typ huyết thanh.
- Kháng nguyên K: là kháng nguyên bề mặt. Có khoảng 100 yếu tố kháng nguyên K đã được xác định và được chia làm ba loại: A, B và L trong đó A dưới dạng vỏ, bền vững với nhiệt độ, quan sát được ở kính hiển vi thường. B và L dưới dạng màng rất mỏng chỉ quan sát được dưới kính hiển vi điện tử.
- Kháng nguyên H: là kháng nguyên lông, hiện đã xác định được hơn 50 yếu tố kháng nguyên H được ghi bằng các số 1, 2, 3...

1.5. Sức đề kháng

Các thuốc sát khuẩn thông thường như nước Javen 1/200, phenol 1/200 giết chết vi khuẩn sau 2–4 phút. Ở nhiệt độ 55°C vi khuẩn chết sau 1 giờ, 60°C chết sau 30 phút.

1.6. Phân loại

Dựa vào cấu trúc kháng nguyên, *E.coli* được chia thành nhiều typ huyết thanh. Có nhiều typ huyết thanh khác nhau, mỗi typ huyết thanh được ký hiệu bằng kháng nguyên O và K, ví dụ: O111B4 (yếu tố kháng nguyên O số 111, yếu tố kháng nguyên K số 4 loại B). Dựa vào tính chất gây bệnh *E.coli* được chia thành các loại:

- Nhóm *E.coli* gây bệnh EPEC (Enteropathogenic *E.coli*)
- Nhóm *E.coli* sinh độc tố ruột ETEC (Enterotoxigenic *E.coli*)
- Nhóm *E.coli* xâm nhập EIEC (Enteroinvasive *E.coli*).
- Nhóm *E.coli* bám dính đường ruột EAEC (Enteroadherent *E.coli*).
- Nhóm *E.coli* gây chảy máu đường ruột EHEC (Enterohaemorrhagic *E.coli*).

Các nhóm *E.coli* trên có những đặc điểm chung về tính chất sinh hoá nhưng chúng thuộc các typ huyết thanh khác nhau. Những typ huyết thanh có khả

năng gây bệnh trên lâm sàng là: O111B4, O86B7, O126B16, O55B5, O127B8, O26B6, O25B15, O128B12.

2. Khả năng gây bệnh

E.coli là vi khuẩn bình thường ở ruột người đặc biệt ở đại tràng, chiếm tỷ lệ cao nhất trong số các vi khuẩn hiếu khí (80%). *E.coli* là vi khuẩn gây bệnh quan trọng, đứng hàng đầu trong các vi khuẩn gây ỉa chảy, viêm đường tiết niệu, viêm đường mật. Đứng hàng thứ 2 sau tụ cầu khuẩn trong nhiễm khuẩn huyết. *E.coli* còn gây nhiều bệnh khác như viêm phổi, viêm màng não, nhiễm khuẩn vết thương, viêm phúc mạc đặc biệt sau thủng ruột. *E.coli* gây ỉa chảy ở trẻ em nhất là trẻ em dưới 2 tuổi, bệnh có tính chất dịch và gây tử vong ở trẻ em. Một số tính chất gây bệnh của các nhóm như sau:

- Nhóm ETEC: Gây bệnh do ngoại độc tố LT (Labiletoxin). LT là loại độc tố ruột giống độc tố của phẩy khuẩn tả. Loại độc tố này bám vào thụ thể ở ruột làm giảm hấp thu Na^+ , tăng tiết nước và ion Cl^- .
- Nhóm EIEC: gây bệnh do có khả năng xâm nhập vào niêm mạc đại tràng, gây bệnh giống trực khuẩn lỵ.
- Nhóm EAEC: gây bệnh do bám vào niêm mạc làm tổn thương chức năng ruột.
- Nhóm EHEC: làm tổn thương xuất huyết ở ruột, độc tố của nhóm này có cấu trúc kháng nguyên và cơ chế tác động giống ngoại độc tố của *S.shiga*.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Nhuộm soi

Lấy bệnh phẩm tùy theo từng bệnh, có thể là phân, nước tiểu, mủ dịch... khi lấy bệnh phẩm cần chú ý tránh nhiễm vi khuẩn từ ngoài vào. Bệnh phẩm là nước tiểu cần phải ly tâm lấy cặn. Với các loại bệnh phẩm không phải là phân thì nhuộm soi chẩn đoán sơ bộ.

3.2. Nuôi cấy

Bệnh phẩm là máu: cấy vào bình canh thang, để ủ ấm 37°C , theo dõi hằng ngày. Nếu môi trường đục thì nhuộm soi, nếu là trực khuẩn Gram âm thì xác định các tính chất sinh vật hoá học.

Bệnh phẩm là phân, dịch, mủ, nước tiểu: cấy vào môi trường chọn lọc như Endo, Macconkey, DCl, Istrati để ủ ấm 37°C trong 18–24 giờ, chọn khuẩn lạc nghi ngờ xác định các tính chất sinh vật hoá học của trực khuẩn *E.coli*.

Nếu bệnh phẩm là nước tiểu thì lấy nước tiểu giữa dòng tiến hành cấy đếm trên môi trường thạch thường. Khi kết luận vi khuẩn cần chú ý: trong viêm đường tiết niệu, nếu bệnh phẩm có nhiều bạch cầu thì sự có mặt của *E.coli* là có

giá trị chẩn đoán. Bệnh phẩm là phân chỉ kết luận khi phát hiện các typ *E.coli* đặc biệt.

Riêng đối với dịch não tủy, hiện nay đã tiến hành phương pháp chẩn đoán nhanh và đặc hiệu bằng kỹ thuật ngưng kết latex để xác định kháng nguyên *E.coli* trong dịch não tủy.

3.3. Xác định tính chất sinh vật hoá học

Nuôi cấy vi khuẩn vào các môi trường xác định như chẩn đoán các vi khuẩn đường ruột khác.

3.4. Phản ứng ngưng kết

Sau khi đã xác định tính chất sinh vật hoá học thì làm phản ứng ngưng kết trên lam kính với kháng huyết thanh đa giá và đơn giá.

Bốn loại kháng huyết thanh tam giá và mỗi loại có ba typ huyết thanh khác nhau là:

- Tam giá I gồm: O114B4 + O55B5 + O26B6.
- Tam giá II gồm: O86B7 + O119B14 + O12B8.
- Tam giá III gồm: O15B15 + O126B16 + O128B12.
- Tam giá IV gồm: O124B17 + O114K90 + O142K86.
- Tam giá I → III gồm những typ huyết thanh của *E.coli* thường gặp, tam giá IV gồm những typ huyết thanh ít gặp hơn.

Sau khi tiến hành phản ứng ngưng kết với các nhóm kháng huyết thanh tam giá, nếu xảy ra phản ứng ngưng kết ở một trong các tam giá nào đó thì tiếp tục ngưng kết với các kháng huyết thanh đơn giá trong nhóm đó. Trong trường hợp huyết thanh tam giá ngưng kết mà 3 huyết thanh đơn giá không ngưng kết thì coi là âm tính.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh đặc hiệu. Cần chú ý vệ sinh ăn uống, nhất là khi có dịch viêm dạ dày ruột ở trẻ em. Cần vệ sinh bộ phận sinh dục ngoài và thực hiện nghiêm túc nguyên tắc vô khuẩn khi tiến hành thăm dò hoặc đặt thông đường tiết niệu để phòng nhiễm khuẩn đường tiết niệu do *E.coli*.

4.2. Điều trị

Erythromyxin, chloramphenicol... là những thuốc điều trị *E.coli* nhưng hiện nay *E.coli* là vi khuẩn có tỷ lệ kháng thuốc cao, nhất là các chủng phân lập được từ nước tiểu. Vì vậy, phải làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp trong điều trị.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột D cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	D	S
1	Trực khuẩn <i>E.coli</i> không phát triển được ở nhiệt độ 5°C.		
2	Vì lên men đường lactose nên <i>E.coli</i> có khuẩn lạc màu vàng trên môi trường istrati.		
3	Trực khuẩn <i>E.coli</i> có oxydase (+)		
4	<i>E.coli</i> có khả năng sinh H ₂ S.		
5	Trực khuẩn <i>E.coli</i> có lông xung quanh thân.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

6. Trực khuẩn *E.coli* nào sau đây không có tính chất:

- A. Lên men glucose
- B. Di động
- C. Bắt màu đỏ khi nhuộm Gram
- D. Sinh H₂S

7. Bệnh phẩm dùng cho chẩn đoán trực khuẩn *E.coli*:

- A. Máu
- B. Phân
- C. Mủ vết thương
- D. Tuỷ theo từng bệnh

8. Trên môi trường Endo, khuẩn lạc của *E.coli* có màu đỏ tím vì:

- A. Chuyển hoá glucose
- B. H₂S (+)
- C. Lên men đường lactose
- D. Lên men đường mantose

9. Khuẩn lạc của trực khuẩn *E.coli* **không** có tính chất nào sau đây:

- A. Dạng S
- B. Có thể có dạng M hoặc R
- C. Có mùi thơm trên môi trường nuôi cấy
- D. Màu đỏ trên môi trường SS

10. Loại trực khuẩn đường ruột nào sau đây di động trên môi trường thạch mềm:

- A. *Salmonella*
- B. *E.coli*
- C. *Klebsiella*
- D. Cả A+B

TRỰC KHUẨN PROTEUS

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn *Proteus*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn *Proteus*.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

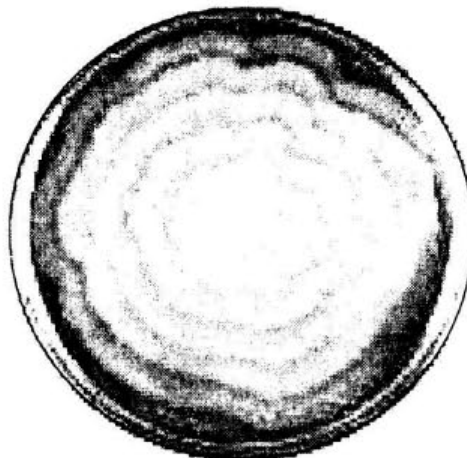
Trực khuẩn *Proteus* còn được gọi là trực khuẩn biến hình vì chúng rất đa dạng (*Proteus* = vật hay thay đổi).

Trực khuẩn hình thẳng dài 1–3 μ m, có lông ở xung quanh thân và di động. Không có vỏ, không sinh nha bào, bắt màu Gram âm. Trên môi trường thạch máu, trực khuẩn có thể dài 20–25 μ m.

1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn *Proteus* hiếu khí kỵ khí tùy tiện, nhiệt độ thích hợp 35–37°C, pH 7,5 – 7,8.

– Trên môi trường thạch thường vi khuẩn thường không tạo thành khuẩn lạc riêng rẽ mà mọc lan khắp bề mặt như những lớp sóng đồng tâm bao trùm lên các khuẩn lạc của các vi khuẩn khác làm cản trở việc phân lập vi khuẩn đó. Khi mở nắp môi trường nuôi cấy có mùi thối đặc biệt.



Trực khuẩn *Proteus* phát triển trên môi trường thạch thường

- Trên môi trường lỏng vi khuẩn tạo thành màng trên bề mặt.
- Trên môi trường phân lập SS, khuẩn lạc tròn, bờ đều, trung tâm đen, xung quanh là vòng trắng mờ.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Lên men đường glucose có sinh hơi.
- Không lên men đường lactose.
- H₂S (+); urease (+); indol (±); xitrat (±), catalase (+), RM (+).
- VP (-); oxydase (-).

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Proteus có kháng nguyên O và H, dựa vào hai kháng nguyên này *Proteus* được chia thành 100 typ huyết thanh. Một số typ huyết thanh OX2, OX19, OXK có cấu trúc kháng nguyên giống *Rickettsia*. Vì vậy, chúng được dùng làm kháng nguyên để chẩn đoán huyết thanh học bệnh do *Rickettsia* gây ra (phản ứng Weil Felix).

1.5. Phân loại

Dựa vào tính chất sinh hoá, *Proteus* được phân thành bốn loại:

Tính chất Vi khuẩn	Urease	Indol	Citrat
<i>P. Vulgeris</i>	+	+	±
<i>P. mirabilis</i>	+	–	+
<i>P. morganii</i>	+	+	–
<i>P. rettgeri</i>	+	+	+

2. Khả năng gây bệnh

Trực khuẩn sống bình thường ở ruột người và động vật. Chiếm tỷ lệ 1–2 % trong các vi khuẩn ở đường ruột. Vi khuẩn không gây bệnh đường ruột nhưng có thể là tác nhân gây tiêu chảy trong các trường hợp loạn khuẩn thường xảy ra sau khi điều trị kháng sinh diệt hết các vi khuẩn khác, chỉ còn có *Proteus* (vì *Proteus* thường kháng lại nhiều kháng sinh).

Vi khuẩn có thể gây viêm dạ dày, ruột đặc biệt ở trẻ em. Trực khuẩn *Proteus* còn có thể gặp ở các hốc tự nhiên, chúng gây bệnh cơ hội như viêm tai giữa, viêm đường tiết niệu. Ngoài ra có thể nhiễm khuẩn huyết, viêm mủ vết thương, ngộ độc thức ăn, nhiễm khuẩn vết bỏng.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm được lấy tùy theo từng bệnh, có thể là phân, mủ, dịch, nước tiểu...

3.2. Nuôi cấy

- Bệnh phẩm là phân nuôi cấy vào môi trường phân lập Endo, DCLS, SS...
- Bệnh phẩm là nước tiểu cấy vào môi trường thạch thường theo phương pháp cấy đếm khuẩn lạc.
- Bệnh phẩm là mủ, dịch vết thương cấy vào môi trường thạch máu.
- Bệnh phẩm là máu cấy vào bình canh thang.

Sau khi nuôi cấy, để ở nhiệt độ 37°C. Sau 18–24 giờ nhận xét hình thái khuẩn lạc, nhuộm soi hình thể, nếu là trực khuẩn Gram âm thì cấy vào các môi trường xác định để kiểm tra tính chất sinh vật hoá học.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Không có biện pháp phòng đặc hiệu. Các biện pháp phòng bệnh tích cực như vệ sinh ăn uống, vệ sinh cá nhân cũng ít có kết quả.

4.2. Điều trị

Proteus nhạy cảm với nitrofurantoin, ampicillin, cephalosporin, kanamycin. Tuy nhiên, *Proteus* đã kháng nhiều loại kháng sinh nên phải điều trị theo kháng sinh đồ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Đặc điểm phân biệt trực khuẩn *Proteus* với trực khuẩn *E.coli*:

- A. Khuẩn lạc trên môi trường phân lập
- B. Tính chất bất màu
- C. Sinh indol
- D. Vi khuẩn phát triển trong môi trường lỏng

2. Trực khuẩn *Proteus* trên môi trường đặc có tính chất:

- A. Có mùi thơm
- B. Có mùi thối
- C. Mọc lan như lớp sóng
- D. Cả B + C



3. Trục khuẩn *Proteus* không có tính chất sau:
- Không sinh vỏ
 - Sinh H_2S
 - Khuẩn lạc có màu vàng trên môi trường istrati
 - Kháng lại nhiều loại kháng sinh
4. Loại vi khuẩn sau sinh H_2S :
- Klebsiella* và *E.coli*
 - Shigella* và *Salmonella*
 - Proteus* và *E.coli*
 - Proteus* và *Salmonella*
5. Hai loại vi khuẩn sau sinh indol:
- Klebsiella* và *E.coli*
 - Shigella* và *Salmonella*
 - Proteus* và *E.coli*
 - Proteus* và *Salmonella*
6. Bệnh phẩm chẩn đoán *Proteus* là:
- Máu
 - Phân
 - Mủ
 - Tuỷ theo thể bệnh
7. Để phân lập trục khuẩn *Proteus*, bệnh phẩm là mủ cần được cấy vào môi trường sau:
- Endo
 - Thạch thường
 - Manit di động
 - Ure indol
8. Trên môi trường kligler, trục khuẩn *Proteus* làm môi trường chuyển màu đen vì:
- Sinh indol
 - Sinh H_2S
 - Citrat(+)
 - Chuyển hoá muối kali telurit
9. Trên môi trường phân lập, khuẩn lạc của trục khuẩn sau có màu đen ở trung tâm:
- Trục khuẩn *Proteus*
 - Trục khuẩn *E.coli*
 - Trục khuẩn *Shigella*
 - Cả B+C
10. Loại trục khuẩn đường ruột sau có hình thể dễ bị biến hình:
- Trục khuẩn *Klebsiella*
 - Trục khuẩn *E.coli*
 - Trục khuẩn *Shigella*
 - Trục khuẩn *Proteus*
11. Môi trường để tiến hành phản ứng VP:
- Basiekow
 - Clark-lubs
 - Simmons
 - Kligler
12. Tính chất mọc lan như làn sóng trên môi trường thạch thường là của vi khuẩn sau:
- Salmonella*
 - Klebsiella*
 - Shigella*
 - Proteus*

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
13	Trực khuẩn <i>Proteus</i> chỉ gây bệnh ở đường tiêu hoá		
14	Trực khuẩn <i>Proteus</i> hay thay đổi về hình thể		
15	Kháng nguyên của trực khuẩn <i>Proteus</i> có cấu trúc giống với <i>rickettsia</i>		
16	Trực khuẩn <i>Proteus</i> có men oxydase		
17	Trên môi trường manit di động nuôi cấy <i>Proteus</i> , sau 24 giờ môi trường có màu vàng		

TRỰC KHUẨN KLEBSIELLA

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn *Klebsiella*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn *Klebsiella*.

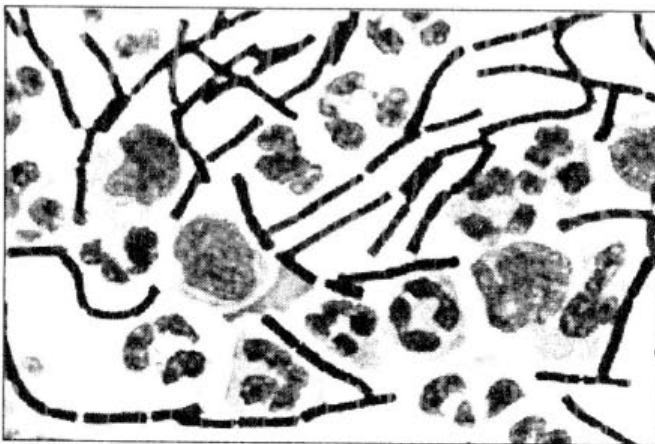
Klebsiella là vi khuẩn có trong các nguồn nước, một số chủng cộng sinh ở đường ruột của người hoặc ở đường hô hấp trên.

Klebsiella có nhiều loại trong đó *Klebsiella pneumoniae* là loại thường gây bệnh cho người.

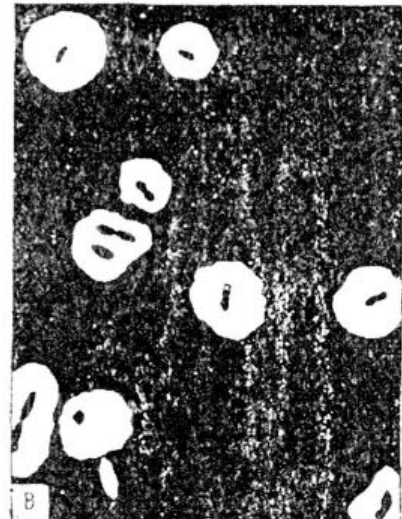
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Klebsiella có hình trực khuẩn thẳng, thường đứng thành từng đôi, không có lông, không di động, không sinh nha bào, có vỏ dày. Nhuộm bắt màu Gram âm.



Trực khuẩn *Klebsiella* trên tiêu bản nhuộm Gram



Klebsiella pneumoniae
Vòng trắng tròn là vỏ của vi khuẩn
trực khuẩn đen nằm giữa vòng trắng

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí kỵ khí tùy tiện, phát triển tốt trên các môi trường nuôi cấy thông thường, nhiệt độ thích hợp 35 – 37°C, pH 7,2 – 7,5.

- Trên môi trường lỏng: vi khuẩn phát triển nhanh làm đục đều môi trường, sau lắng cặn và cặn thường nhót.
- Trên môi trường Endo khuẩn lạc có màu tím, đường kính 3–4 mm dạng M, nhầy tuy nhiên có thể gặp một số khuẩn lạc dạng R.
- Trên môi trường Macconkey khuẩn lạc màu hồng đỏ.
- Trên môi trường thạch thường, sau 24 giờ khuẩn lạc lầy nhầy, màu xám. Khi lấy que cấy chấm vào khuẩn lạc kéo lên, khuẩn lạc kéo thành sợi to, dài 2–3 mm.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Lên men sinh hơi nhiều loại đường như glucose, lactose, saccharose, mantose.
- Citrat (+), Catalase (+), VP (+).
- Oxydase (–), H₂S (–), indol (–).

Một số sự khác biệt về tính chất sinh hoá của các loại *Klebsiella* như sau:

Tính chất	Vi khuẩn	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. ozaenae</i>	<i>K. rhinoscleromatis</i>
Urease		+	Yếu	–
RM		–	+	+
VP		+	–	–
Citrat simmons		+	Yếu	–
LDC		+	–	–
Lactose		+	+25%	+70%
Glucose sinh hơi		+	Yếu	–

1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Klebsiella pneumoniae có kháng nguyên O và K. Dựa vào kháng nguyên O chia *K. pneumoniae* thành 5 nhóm, dựa vào kháng nguyên K vi khuẩn này được chia thành 80 typ huyết thanh khác nhau. Các typ huyết thanh 1 và 2 hay gây nhiễm khuẩn đường hô hấp. Một số kháng nguyên vỏ của vi khuẩn có liên quan với kháng nguyên A của một số *E.coli*.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

Bệnh quan trọng nhất do *K. pneumoniae* gây ra là viêm phổi, thường gặp ở

trẻ sơ sinh, bệnh không gặp nhiều nhưng thường nặng, tỷ lệ tử vong cao nếu không điều trị sớm.

Ngoài ra vi khuẩn còn có khả năng gây viêm ruột, viêm xoang, viêm màng não, viêm tai giữa, nhiễm khuẩn đường tiết niệu, viêm màng tim, nhiễm khuẩn vết thương... *Klebsiella* không phải là tác nhân gây bệnh ỉa chảy.

2.2. Gây bệnh cho súc vật

Súc vật cảm nhiễm là chuột nhắt. Tiêm vi khuẩn vào màng bụng chuột, sau 24–48 giờ chuột chết vì nhiễm khuẩn huyết, các phủ tạng đều có vi khuẩn.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Lấy bệnh phẩm

Bệnh phẩm là đờm, nước tiểu, mủ... tùy theo từng bệnh.

3.2. Nhuộm soi

Nhuộm Gram, trực khuẩn thường to hơn các trực khuẩn khác.

3.3. Nuôi cấy

Có thể nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường thạch thường, thạch Endo. Sau 24 giờ nhuộm soi hình thể, cấy chuyển sang các môi trường sinh vật hoá học.

3.4. Xác định tính chất sinh vật hoá học

Chọn khuẩn lạc nhày từ các môi trường phân lập để xác định tính chất sinh vật hoá học giống như các trực khuẩn đường ruột khác. Chú ý phân biệt trực khuẩn này với trực khuẩn *E. coli*.

3.5. Gây bệnh thực nghiệm

Trong chẩn đoán *Klebsiella*, nếu thấy cần thiết thì tiêm truyền cho chuột nhắt vì thực nghiệm này cho kết quả tốt.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Không có vaccin phòng bệnh, các biện pháp phòng bệnh khác ít có kết quả.

4.2. Điều trị

Klebsiella ngày càng kháng lại nhiều loại kháng sinh có hoạt phổ rộng. Các thuốc thường điều trị như: tetracyclin, cloramphenicol, ampicillin. Tốt nhất nên điều trị theo kháng sinh đồ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Trên các môi trường phân lập như Endo, Macconkey, khuẩn lạc của <i>Klebsiella</i> thường làm đổi màu môi trường.		
2	Trực khuẩn <i>Klebsiella</i> thường đứng thành từng đôi, có vỏ.		
3	<i>Klebsiella</i> không phải là nhóm trực khuẩn đường ruột vì không sống ở ruột.		
4	Trên các môi trường nuôi cấy, khuẩn lạc của <i>Klebsiella</i> thường nhày.		
5	Trực khuẩn <i>Klebsiella</i> không lên men đường lactose.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

6. Trực khuẩn *Klebsiella* thường không gây bệnh ở bộ phận sau:

- A. Đường hô hấp
- B. Đường tiêu hoá
- C. Đường tiết niệu
- D. Nhiễm khuẩn vết thương

7. Loại trực khuẩn đường ruột sau thường đứng thành từng đôi:

- A. *E.coli*
- B. *Klebsiella*
- C. *Shigella*
- D. *Proteus*

8. Thuốc thử của phản ứng RM:

- A. Xanh methylen
- B. Đỏ methyl
- C. Kowaca
- D. Dung dịch KOH 16%

9. Khuẩn lạc của trực khuẩn *Klebsiella* nhày, dính là vì lý do sau:

- A. Vi khuẩn tiết ra ngoại men
- B. Vi khuẩn có vỏ
- C. Vi khuẩn sinh chất dính quánh
- D. Khuẩn lạc dạng M

10. Trực khuẩn *Klebsiella* có tính chất sau:

- A. Khuẩn lạc dạng S
- B. Khuẩn lạc nhày dính
- C. Không có vỏ
- D. Sinh nha bào
- E. Oxydase (+)

11. Trên môi trường Endo, khuẩn lạc của *Klebsiella* có màu tím vì:
- A. Chuyển hoá glucose
 - B. H_2S (+)
 - C. Màu của môi trường tím
 - D. Lên men đường lactose
 - E. Lên men đường mantose
12. Trên môi trường lỏng, trực khuẩn *Klebsiella* phát triển:
- A. Đục đều môi trường
 - B. Cặn thường nhớt
 - C. Môi trường trong
 - D. Mọc thành vầng
 - E. Cả A+B

VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI*

(1 tiết)

MỤC TIÊU

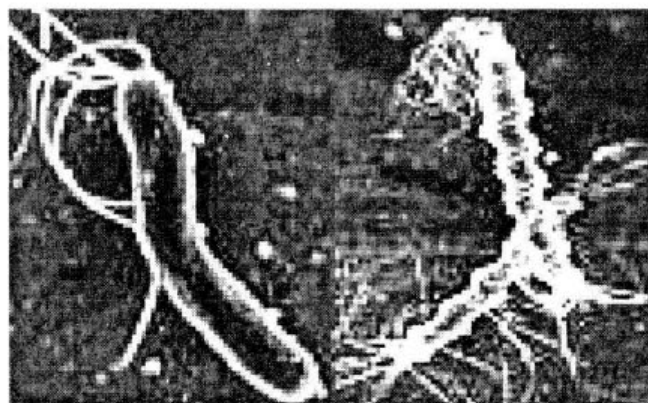
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của vi khuẩn *H.pylori*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học của *H.pylori*.

Năm 1979, Warren (Australia) đưa ra nhận xét ở những tiêu bản giải phẫu bệnh lý của bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng có một loại vi khuẩn hình xoắn nằm ở lớp niêm mạc. Năm 1981, Marshall (Australia) bắt đầu phân lập vi khuẩn và chính thức công bố vi khuẩn này vào năm 1983. Năm 1989, Goodwin nghiên cứu về cấu trúc tế bào và đề nghị đặt tên là *H.pylori*.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

H.pylori có hình xoắn hoặc hơi cong dạng sừng bò hoặc như hình chữ U, C..., kích thước $0,5\mu\text{m} \times 3-5\mu\text{m}$. Trong bệnh phẩm có hình cong, mảnh, hoặc hình dấu hỏi, hình chữ S... Trên môi trường nuôi cấy lâu ngày có thể hình cầu. Có chùm lông ở một đầu, di động mạnh, không có vỏ, không sinh nha bào, bắt màu Gram âm.



Vi khuẩn *H.pylori*

1.2. Tính chất nuôi cấy

Nuôi cấy *H.pylori* rất khó. Môi trường nuôi cấy phải giàu chất dinh dưỡng như thạch pylori (thạch có huyết thanh ngựa) hoặc thạch não tim có 7% huyết

thanh ngựa. Thường dùng môi trường thạch máu có thêm vitamin và một số kháng sinh như amphotericin ($2\mu\text{g/ml}$); trimethoprim ($5\mu\text{g/ml}$)... để ức chế nấm và một số vi khuẩn khác. Vi khuẩn thích hợp ở nhiệt độ 37°C và khí trường $7\% \text{CO}_2$. Vi khuẩn phát triển ở nhiệt độ từ $30-40^{\circ}\text{C}$. Một số môi trường khác như Thayer Martin, môi trường sữa – lòng đỏ trứng nuôi cấy cũng có hiệu quả tốt. Mặc dù vi khuẩn sống được ở pH thấp của dạ dày nhưng khi nuôi cấy vi khuẩn thích hợp ở pH từ 5,7–8.

Trên môi trường nuôi cấy, khuẩn lạc trong hoặc xám nhạt, đường kính 1mm, có sau 48–72 giờ, đôi khi tan máu.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Men urease (+++): đây là tính chất quan trọng để phân biệt với *Campylobacter*.
- Catalase (+), oxydase (+).
- Nitrat (–).
- Nhạy cảm với cephalothin.
- Đề kháng với acid nalidixic.

1.4. Sức đề kháng

H.pylori có sức đề kháng cao hơn một số vi khuẩn đường ruột khác. Qua các nghiên cứu cho thấy thực chất *H.pylori* không phải là vi khuẩn ưa acid vì chúng bị tiêu diệt rất nhanh ở môi trường có pH là 3,1–3,5 trong khi chúng tồn tại lâu ở dạ dày có pH là 2,5 – 3,0. Có hiện tượng trên vì *H.pylori* có khả năng tiết men urease rất mạnh, phân giải urê trong dạ dày tạo thành amoniac bao quanh vi khuẩn làm cho vi khuẩn chịu được môi trường acid của dạ dày..

1.5. Kháng nguyên và phân loại

- Kháng nguyên lông *H*: có bản chất là protein.
- Kháng nguyên thân *O*: có bản chất là lipopolysaccharid chịu nhiệt, kháng nguyên này có tính độc với tế bào túc chủ.
- Kháng nguyên là các men: một số kháng nguyên là các men có vai trò quan trọng liên quan đến khả năng gây bệnh như urease, catalase, hismatase, adhezine giúp vi khuẩn bám vào tế bào niêm mạc.

Hiện nay đã tìm thấy 12 loài trong giống *Helicobacter*, trong đó có bốn loài ký sinh ở người nhưng chỉ có *H.pylori* gây bệnh.

2. Khả năng gây bệnh

H.pylori gây viêm loét dạ dày tá tràng do tiết ra các men làm suy thoái màng nhầy bảo vệ dẫn đến viêm và loét. Theo các nghiên cứu ở Úc và Pháp, có khoảng 95% bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng và trên 80% bệnh nhân ung thư dạ dày

có nhiễm *H.pylori*. *H.pylori* còn tiết ra độc tố gây độc và phá huỷ tế bào và độc tố gây tăng tiết dịch vị. Gần đây người ta phát hiện thấy kháng nguyên CagA làm tăng tiết interleukin 8, đó là một trong các yếu tố làm cho bệnh tiến triển đến ung thư.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Bệnh phẩm

Bệnh phẩm phải là mảnh sinh thiết từ vùng viêm hoặc ổ loét của dạ dày tá tràng.

3.1.2. Nhuộm soi

Nhuộm Gram hoặc giemsa, thường dùng kỹ thuật nhuộm Gram để xem tính chất bắt màu của *H.pylori*. Ở những nơi có điều kiện có thể nhuộm huỳnh quang miễn dịch trên lam kính.

3.1.3. Nuôi cấy

Nghiên bệnh phẩm rồi nuôi cấy vào môi trường thạch pylori, thạch nảo tim hoặc một số môi trường khác, để nhiệt độ 37°C và khí trường 10% CO₂, sau 48–72 giờ nhuộm soi khuẩn lạc rồi xác định tính chất sinh vật hoá học của vi khuẩn.

3.1.4. Test urease

– *Test urease trong bệnh phẩm*: dựa vào khả năng sinh urease rất mạnh của *H.pylori*: cho vào môi trường urê có phenol làm chỉ thị pH một mẫu bệnh phẩm, lắc đều, để nhiệt độ 37°C/10–15 phút. Urease của vi khuẩn sẽ chuyển urê thành amoniac làm tăng pH môi trường, môi trường sẽ chuyển từ màu vàng sang màu đỏ. Đây là một loại test nhanh, độ nhạy cao 89–98%.

– *Test urease trong hơi thở*: phát hiện sự có mặt của men urease trong trường hợp viêm niêm mạc dạ dày bị nhiễm *H.pylori* thông qua việc gắn chất đồng vị phóng xạ 14C (carbon) vào dạ dày, nếu có men urease thì sẽ nhanh chóng phân giải urê 14C thành amoniac và dioxyd phóng xạ 14C. Chất phóng xạ này sẽ nhanh chóng vào máu và tới phổi, có thể phát hiện chúng qua hơi thở của bệnh nhân.

3.1.5. Kỹ thuật khuếch đại gen PCR (polymerase chain reaction)

Kỹ thuật này cho phép 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 bệnh nhân.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tìm kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân. Phương pháp này có giá trị cao trong chẩn đoán dịch tễ học.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh. Đây là bệnh phụ thuộc nhiều vào điều kiện kinh tế xã hội. Chủ yếu là nâng cao đời sống, vệ sinh môi trường, vệ sinh ăn uống.

4.2. Điều trị

– Dùng kháng sinh diệt khuẩn: amoxicillin, penicillin, cephalothin, erythromycin, tetracyclin, gentamycin, nên dùng phối hợp hai loại kháng sinh có hiệu quả hơn.

– Điều trị viêm loét và tăng tiết dịch vị do *H.pylori* gây ra.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

- Test urease trong bệnh phẩm được đọc kết quả bởi:
 - Đường kính vòng vô khuẩn
 - Sự thay đổi màu khuẩn lạc
 - Bệnh phẩm bị hoà tan
 - Sự thay đổi màu môi trường
 - Đo pH môi trường
- Bệnh phẩm chẩn đoán *H. pylori* là:
 - Máu
 - Phân
 - Dịch não tủy
 - Sinh thiết ổ loét dạ dày
 - Tuỳ theo từng tổn thương
- Vi khuẩn *H. pylori* có tính chất sau:
 - Hình cong như sừng bò
 - Bất màu Gram dương
 - Nhiệt độ thích hợp là 27°C
 - Men urease (–)
 - Khuẩn lạc có trên môi trường sau nuôi cấy 24 giờ
- Đặc điểm sau không có ở vi khuẩn *H. pylori*
 - Phát triển ở môi trường nuôi cấy giàu chất dinh dưỡng
 - Gây viêm loét dạ dày tá tràng
 - Không di động
 - Có thể gây ung thư dạ dày
- Bệnh phẩm nào để tiến hành test urease trong chẩn đoán trực khuẩn *H. pylori*:
 - Máu
 - Huyết thanh
 - Tổ chức sinh thiết ổ loét
 - Chất nôn

6. Loại vi khuẩn nào sau đây gây viêm loét dạ dày tá tràng:
A. *H.influenzae* B. *H.pylori*
C. *Campylobacter* D. *Withmore*
7. Phương pháp nào sau đây được sử dụng trong chẩn đoán trực khuẩn *H. pylori*:
A. Nhuộm soi B. Nuôi cấy từ mảnh sinh thiết ổ loét
C. Test urease trong hơi thở D. Test urease trong mảnh sinh thiết
E. Tất cả các phương pháp trên
8. Trên môi trường nuôi cấy, khuẩn lạc của trực khuẩn *H. pylori* có đặc điểm sau:
A. Màu xám nhạt B. Dạng R
C. Màu vàng D. Dẹt, nhầy dính
9. Vi khuẩn *H.pylori* gây bệnh theo cơ chế:
A. Tiết ra men gây viêm B. Tiết ra độc tố
C. Kích thích thần kinh D. Tiết ra men và độc tố
10. Phản ứng nào là phản ứng huyết thanh chẩn đoán viêm loét dạ dày tá tràng:
A. PCR B. Test urease
C. ELISA D. Test cephalothin
11. Phương pháp nào sau đây có giá trị nhất trong chẩn đoán trực khuẩn *H. pylori*:
A. Nhuộm soi
B. Nuôi cấy từ mảnh sinh thiết ổ loét
C. Test urease trong hơi thở
D. Test urease trong mảnh sinh thiết
12. Khuẩn lạc của trực khuẩn *H. pylori* có sau khi nuôi cấy:
A. 24 giờ B. 24 – 48 giờ
C. 48 – 72 giờ D. 2 – 5 ngày
13. Vi khuẩn *H.pylori* sống được với pH dạ dày nhờ có men sau:
A. Oxydase B. Urease
C. Coagulase D. Catalase

VI KHUẨN CAMPYLOBACTER

(1 tiết)

MỤC TIÊU

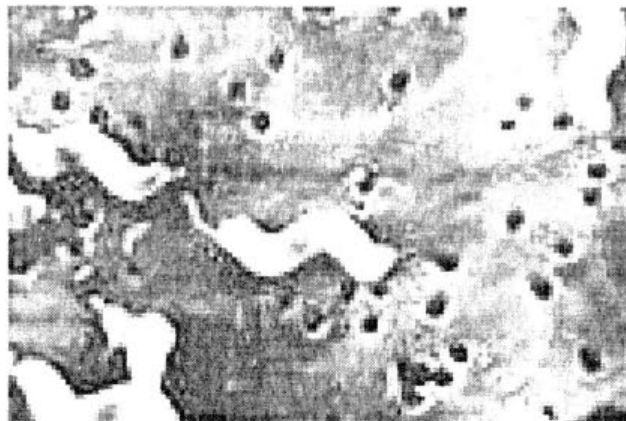
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của *Campylobacter*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học *Campylobacter*.

Campylobacter là vi khuẩn gây bệnh tả chảy hoặc bệnh toàn thân được Smibert phân lập từ người năm 1947. Năm 1969 Dekeyer phân lập được từ phân bệnh nhân tả chảy. Sau đó vi khuẩn được đặt tên là *Campylobacter* (campylo: cong; bacter: que) để phân biệt với *Vibrio*.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Vi khuẩn có hình cong, nhỏ, mảnh, có thể xoắn hoặc như cách chim hải âu. Kích thước $0,3-0,4\mu\text{m} \times 1,5-3\mu\text{m}$, có một lông ở một đầu, di động theo kiểu vẩy nút chai, không có vỏ, không sinh nha bào, nhuộm bắt màu Gram âm.



Vi khuẩn *Campylobacter* dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn phát triển ở nhiệt độ $30-47^{\circ}\text{C}$, tốt nhất là $42-45^{\circ}\text{C}$, không phát triển ở nhiệt độ 21°C , phát triển được ở pH 4,8–8,0, tốt nhất là 6,5–7,5. Khí trường có 5–10% oxy và 5–10% CO_2 . Không phát triển ở khí trường bình thường. *Campylobacter* sử dụng các chất acid amin và những chất trung gian của acid

tricarboxylic để phát triển, vi khuẩn phát triển trên môi trường giàu chất dinh dưỡng như thạch máu, thạch có huyết thanh cừu, ngựa.

- Trên môi trường thạch máu khuẩn lạc màu trắng xám, tròn, nhỏ, dẹt hay lồi, bóng ướt và không tan máu, sau 48 giờ màu xám hay nâu.

- Trên môi trường thạch mềm, vi khuẩn lan thành màng mỏng, hơi mờ.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Oxydase (+), catalase (+)

- H_2S (+) ở môi trường có 0,02% cystein + giấy thấm chì acetat. H_2S (–) trên môi trường có sắt như Kligler.

- Mọc được trên môi trường có 1% glycin, 3% mật.

- Urease (–), indol (–)

1.4. Cấu tạo kháng nguyên

- *Kháng nguyên thân O*: bản chất là lipopolisaccharid vững bền với nhiệt độ. Dựa vào kháng nguyên O chia vi khuẩn thành hơn 90 typ huyết thanh khác nhau.

- *Kháng nguyên lông H*: dễ bị nhiệt độ phá huỷ, dựa vào kháng nguyên H chia vi khuẩn 112 typ huyết thanh khác nhau.

2. Khả năng gây bệnh

- *Campylobacter* có trong phân các gia súc như chó, mèo, trâu bò và từ đó lây lan sang người. Có thể gây bệnh cho các gia súc non.

- Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể qua đường tiêu hoá đến cư trú ở niêm mạc đại tràng, thường gặp là *C.jejuni*. Thời gian ủ bệnh 3–5 ngày, triệu chứng không đặc hiệu nên khó phân biệt với các bệnh đường ruột khác. Thường gặp những triệu chứng đau bụng, buồn nôn hoặc nôn. Sốt 38–41°C, ỉa chảy 10–20 lần/ngày, phân nhiều nước và máu. Bệnh gặp nhiều hơn ở trẻ 1–2 tuổi. Theo một số điều tra, bệnh chiếm tỷ lệ 6–10% trong các bệnh tiêu chảy. Cơ chế bệnh chưa rõ ràng nhưng có thể do độc tố ruột như phẩy khuẩn tả và yếu tố xâm nhập như trực khuẩn lỵ. Bệnh có khuynh hướng tự giới hạn 3–5 ngày, có thể kéo dài 1–2 tuần.

- *Campylobacter* có thể gây nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não, viêm nội tâm mạc, viêm màng trong tim, viêm khớp... Bệnh rất hiếm gặp ở trẻ đẻ non hoặc người suy giảm miễn dịch.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm: phân, máu, nước não tủy... tùy theo từng bệnh.

3.1.1. Soi tươi

Làm tiêu bản soi tươi ở kính hiển vi nền đen trong vòng vài giờ sau khi đi ngoài, thấy hiện tượng vi khuẩn di động như chim hải âu. Kết quả này rất có ý nghĩa trong các trường hợp bệnh cấp tính.

3.1.2. Nhuộm soi: nhuộm Gram tìm vi khuẩn Gram âm có hình dạng đặc biệt.

3.1.3. Nuôi cấy

Cấy phân và cấy máu có ý nghĩa trong chẩn đoán *Campylobacter*.

Cấy phân vào môi trường thạch máu ngựa có vancomycin, polymyxin B, trimethoprim hoặc thạch máu có cephalothin. Có thể cấy bệnh phẩm vào môi trường Mueller Hinton có 5% máu ngựa, để ở nhiệt độ 42°C trong điều kiện khí trường 5% O₂, 10% CO₂. Sau 48 giờ nếu có khuẩn lạc xác định tính chất sinh vật hoá học. Cần chú ý phân biệt với vi khuẩn *H. pylori* bởi men urease.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Hầu hết các bệnh nhân nhiễm *Campylobacter* đều sinh kháng thể đặc hiệu. Các phản ứng huyết thanh thường được dùng như phản ứng ngưng kết trong ống nghiệm, ngưng kết hồng cầu thụ động, miễn dịch huỳnh quang trực tiếp ...

4. Chẩn đoán gián tiếp

4.1. Phòng bệnh

Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh, vì vậy phòng bệnh chung giống như đối với các bệnh đường ruột khác.

4.2. Điều trị

Campylobacter nhạy cảm với erythromycin, cloramphenicol, tetracyclin, clindamycin. Nhưng vi khuẩn kháng các kháng sinh penicillin, cephalosporin, rifamycin, trimethoprim, vancomycin...

Bù nước và điện giải vì bệnh nhân ỉa chảy mất nước.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu hỏi sau đây:

1. Về hình thể *Campylobacter* có đặc điểm nào sau đây:

- A. Có hình dạng cong như hình dấu phẩy, bắt màu Gram âm
- B. Có hình dạng cong như hình cánh chim hải âu, bắt màu Gram dương
- C. Có hình dạng cong như hình cánh chim hải âu, bắt màu Gram âm
- D. Có hình dạng xoắn, không có lông, bắt màu Gram âm

2. *Campylobacter* có tính chất nào sau đây:
- A. Oxydasse âm
 - B. Không lên men đường glucose
 - C. Môi trường nuôi cấy cần có 5 – 10% CO₂
 - D. Hô hấp kiểu hiếu khí tuyệt đối
3. Môi trường nào sau đây thường được dùng để nuôi cấy trực khuẩn *Campylobacter*
- A. Muller–Hinton
 - B. Thạch thường
 - C. Thạch não tim
 - D. Thạch máu ngựa

PHẪY KHUẨN TẢ

(*Vibrio cholerae*)

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của phẩy khuẩn tả.
2. Nêu được các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học phẩy khuẩn tả.

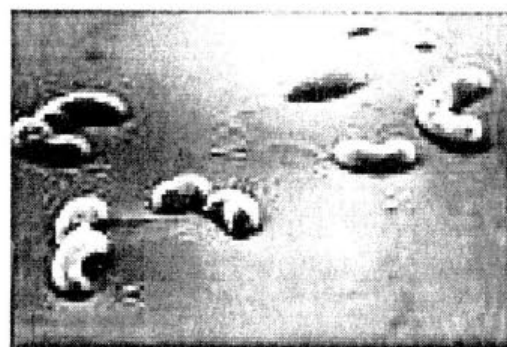
Vibrio thuộc họ *Vibrionaceae*, họ này có năm giống trong đó có ba giống quan trọng trong Y học là *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*.

Có tới hơn 30 loài thuộc giống *Vibrio* trong đó có một số loài mới được phát hiện, sự hiểu biết về vi khuẩn và khả năng gây bệnh của chúng còn hạn chế. *Vibrio cholerae* (được R. Kock phát hiện năm 1883) và *Vibrio parahaemolyticus* (được Fujino phát hiện 1951) là hai loài có vai trò quan trọng nhất.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Phẩy khuẩn tả có hình que hơi cong như dấu phẩy, dài 2–4 μ m, rộng 0,3–0,6 μ m. Nuôi cấy lâu ngày hình thẳng hơn. Vi khuẩn có một lông ở một đầu, di động rất nhanh và mạnh không có vỏ, không sinh nha bào, nhuộm bắt màu Gram âm.



Phẩy khuẩn tả dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Phẩy khuẩn tả hiếu khí, nhiệt độ thích hợp 37°C nhưng có thể phát triển ở 16 – 42°C. Phát triển tốt trong môi trường kiềm (pH 8,5 – 9,5) và nồng độ muối cao (3%).

- Trong môi trường pepton kiềm vi khuẩn mọc nhanh, sau 6–8 giờ đã tạo thành vầng trên mặt môi trường.
- Trên môi trường thạch kiềm sau 18 giờ khuẩn lạc tròn, lồi, nhẵn và trong suốt.

Trên môi trường Macconkey khuẩn lạc trong (không lên men đường lactose).

Trên môi trường TCBS (Thiosulfate, Citrate Bile Salts, Saccharose). Sau 18 giờ khuẩn lạc tròn, bóng, màu vàng (lên men đường saccharose).

1.3. Tính chất sinh vật hoá học.

- Lên men không sinh hơi đường glucose, saccharose, mantose, mannitol.
- Không lên men đường lactose, arabinose.
- Oxydase (+); indol (+) sớm, citratsimons (+), LDC (Lysin decarboxylase) (+), ODC (ornithin decarboxylase) (+), ONPG (+).
- H_2S (–), urease (–), VP (±); ADH (arginin dihydrolase): (–)

1.4. Cấu tạo kháng nguyên và phân loại

Vibrio cholerae là một loài bao gồm các vi khuẩn gây bệnh tả và cả những vi khuẩn không gây bệnh tả nhưng có sự giống nhau về cấu trúc của ADN, do đó có sự giống nhau về tính chất sinh vật hoá học. Phẩy khuẩn tả có hai loại kháng nguyên:

- Kháng nguyên H (kháng nguyên lông): là kháng nguyên chung cho tất cả các loại vi khuẩn tả, dễ bị phá huỷ ở $100^{\circ}C/2$ giờ.
- Kháng nguyên O (kháng nguyên thân): Là một lipopolysaccharid, có tính đặc hiệu cao, bị phá huỷ ở $100^{\circ}C/1$ giờ. Căn cứ vào sự khác nhau của kháng nguyên O, *Vibrio cholerae* được chia thành hơn 100 nhóm, các chủng gây dịch tả trước đây đều thuộc nhóm O_1 . Năm 1992 xuất hiện một nhóm mới là O_{139} gây dịch tả ở nhiều nước trên thế giới. *Vibrio cholerae* O_1 chia ra ba typ huyết thanh:

Typ huyết thanh	Thành phần kháng nguyên
Ogawa	A, B
Inaba	A, C
Hikojima	A, B, C

A, B, C là các loại quyết định kháng nguyên

Dựa vào tính chất sinh học, vi khuẩn tả được chia thành hai typ sinh học (sinh typ): *V.cholerae* sinh typ cổ điển (gọi tắt là *V.cholerae*) và *V. cholerae* sinh typ Eltor (gọi tắt là *V. Eltor*). Eltor là tên trạm cách ly bệnh nhân tả, nơi mà Gotschlich phân lập được vi khuẩn từ tử thi bệnh nhân năm 1905. Sự khác nhau về tính chất giữa hai typ sinh học này là:

Tính chất	V. cổ điển	V. <i>Eltor</i>
Làm tan hồng cầu cứu	—	+
Ngưng kết hồng cầu gà	—	+
Nhạy cảm với polymycin B.	+	—
Ly giải bởi phage IV	+	—
Ly giải bởi phage V.	—	+

1.5. Sức đề kháng

Phẩy khuẩn tả có sức đề kháng yếu, dễ bị tiêu diệt bởi các chất sát khuẩn thông thường, có thể sống được một số giờ trong phân và một số ngày trong nước.

2. Khả năng gây bệnh

Dịch tả là một trong những bệnh tối gây hiểm: lây lan nhanh, tử vong cao. Hiện nay bệnh tả vẫn tản phát ở nhiều tỉnh nước ta, đặc biệt là đồng bằng sông Cửu Long.

Phẩy khuẩn tả xâm nhập vào cơ thể bằng đường tiêu hoá, chỉ gây bệnh cho người. Chúng chỉ gây bệnh khi vượt qua dạ dày ở người có độ acid giảm. Vi khuẩn dễ chết khi qua dạ dày ở người (bình thường có pH xấp xỉ 3). 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 mới có thể gây bệnh được. Sau khi xuống ruột non, vi khuẩn bám vào niêm mạc nhưng không xâm nhập nên không gây tổn thương cấu trúc niêm mạc ruột. Vi khuẩn phát triển nhanh nhờ pH thích hợp ($\text{pH} \approx 8$), vi khuẩn tiết ra độc tố ruột LT (thermolabile toxin), LT gắn vào thụ thể phù hợp trên màng tế bào niêm mạc ruột non làm hoạt hoá men adenyl cyclase dẫn đến tăng quá nhiều AMP vòng, làm cho tế bào niêm mạc ruột giảm hấp thu Na^+ , tăng tiết nước và Cl^- gây ỉa chảy cấp tính. Bệnh nhân chết vì mất nước và điện giải. Thời gian ủ bệnh ngắn, có thể một vài ngày. Sau khi khỏi bệnh miễn dịch khá bền vững. Một số nghiên cứu cho thấy 90% số người mắc bệnh tả ở vùng lưu hành không mắc lại. Thời gian bảo vệ của kháng thể khoảng ba năm. Chủ yếu do kháng thể IgA được tiết tại ruột quyết định.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Lấy bệnh phẩm là phân hoặc chất nôn của bệnh nhân, cần lấy sớm trước khi bệnh nhân uống kháng sinh, xét nghiệm trước 2 giờ, nếu chưa xét nghiệm được thì phải cấy vào môi trường bảo quản Carry–Blair.

3.1.1. Soi tươi và nhuộm soi

Trên tiêu bản soi tươi thấy vi khuẩn hình hơi cong và di động, phương pháp

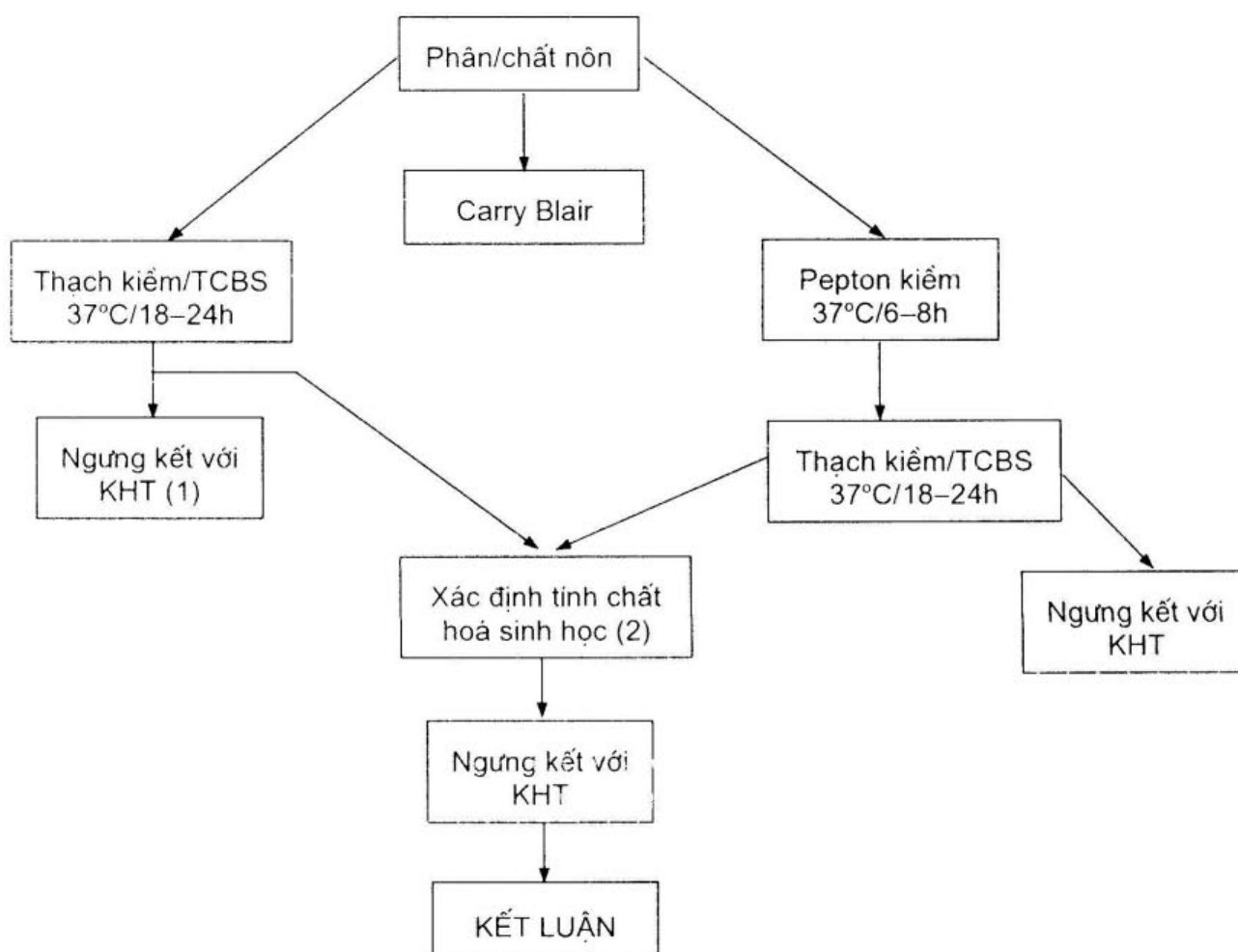
này để quan sát tính di động của vi khuẩn tả như sao đổi ngôi nếu quan sát ở kính hiển vi nền đen.

Nhuộm soi để quan sát hình thể, tính chất bắt màu của phẩy khuẩn tả và bạch cầu trong phân, thường rất ít.

3.1.2. Nuôi cấy

Bệnh phẩm được nuôi cấy vào môi trường pepton, sau 6 giờ lấy váng trên mặt môi trường nhuộm soi và cấy chuyển sang các môi trường phân lập và một ống pepton khác.

Đồng thời cấy bệnh phẩm vào môi trường như thạch kiềm, TCBS, để ủ ấm 37°C, sau 18–24 giờ nhuộm soi và xác định tính chất sinh vật hoá học.



(1) KHT: kháng huyết thanh

(2) Dương tính: oxydase, idol, glucose, saccharose, manose, di động

Âm tính: H_2S , urease, lactose, arabinose

Sơ đồ phân lập và xác định vi khuẩn tả

3.1.3. Phản ứng ngưng kết

Sau khi vi khuẩn đã được xác định tính chất sinh vật hoá học thì tiến hành phản ứng ngưng kết trên lam kính với kháng huyết thanh đa giá. Nếu ngưng kết

thì tiếp tục làm phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh đơn giá Ogawa, Inaba.

3.1.4. Kỹ thuật kháng thể huỳnh quang trực tiếp

Làm tiêu bản từ bệnh phẩm hoặc từ váng môi trường pepton kiềm, nhuộm tiêu bản bằng kháng thể gắn huỳnh quang rồi soi kính hiển vi huỳnh quang. Phương pháp này cho kết quả nhanh và tính đặc hiệu cao.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Trên thực tế thường không làm vì bệnh tả có thời kỳ ủ bệnh nhanh, kháng thể có thể chưa xuất hiện, kết quả chậm. Nhưng có thể dùng để điều tra dịch tễ học.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh đặc hiệu: trước đây thường dùng vaccin tả chết, đưa vào cơ thể bằng đường tiêm, hiệu lực miễn dịch không cao. Hiện nay đã có các loại vaccin dùng bằng đường uống kích thích đáp ứng miễn dịch tại ruột. Có hai loại vaccin sống giảm độc lực và vaccin chết, vaccin sống giảm độc lực có khả năng tạo miễn dịch bảo vệ trên 80%. Vaccin phòng tả hiện nay ở Việt Nam đang dùng gồm cả O₁ và O₁₃₉ là vaccin chết.

Phòng không đặc hiệu: những biện pháp phòng bệnh quan trọng là vệ sinh ăn uống, phát hiện sớm và cách ly triệt để bệnh nhân, xử lý phân và chất nôn bệnh nhân. Diệt ruồi nhặng trung gian truyền bệnh.

4.2. Điều trị

Bù nước và điện giải: có vai trò quan trọng nhất để cứu sống bệnh nhân, cho bệnh nhân uống oresol (ORS) và các chất lỏng tương đương với số nước mất. Truyền tĩnh mạch khi cần thiết.

Kháng sinh: thường dùng tetracyclin, cloramphenicol, bactrim. Tốt nhất nên điều trị theo kháng sinh đồ.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Bệnh phẩm để chẩn đoán phẩy khuẩn tả:

- A. Phân B. Chất nôn C. Máu D. Phân và chất nôn

2. Trên môi trường pepton kiềm, phẩy khuẩn tả phát triển:

- A. Tạo váng trên mặt môi trường
B. Nằm lơ lửng trong môi trường

- C. Lắng xuống đáy môi trường
D. Môi trường chuyển màu vàng
3. Phẩy khuẩn tả có tính chất sau:
- A. Citrat simmons (-)
B. Không di động
C. Hiếu khí kỵ khí tùy tiện
D. Mọc nhanh trên môi trường pepton kiềm
4. Bệnh nhân tả chết thường do:
- A. Nhiễm nội độc tố B. Nhiễm ngoại độc tố
C. Hoại tử ruột D. Mất nước mất muối
5. Phẩy khuẩn tả không có tính chất:
- A. Có hình dấu phẩy
B. Chỉ phát triển trên môi trường kiềm cao muối mặn
C. Có lông, không sinh nha bào
D. Kháng nguyên O có bản chất là lipopolysacchari
6. Trên môi trường urê indol nuôi cấy phẩy khuẩn tả, môi trường có đặc điểm:
- A. Đục đều B. Tạo vầng
C. Màu hồng cánh sen D. Màu đỏ tươi E. Màu vàng
7. Bệnh phẩm là phân để chẩn đoán phẩy khuẩn tả sẽ được nuôi cấy vào môi trường sau để xem tính chất của khuẩn lạc:
- A. Thạch máu B. Pepton kiềm
C. Thạch TCBS D. Cả A+B E. Cả A+C
8. Tính chất sau để phân biệt phẩy khuẩn tả với vi khuẩn đường ruột:
- A. Men catalase B. Di động
C. Men oxydase D. Sinh indol
9. Trên môi trường TCBS, khuẩn lạc của phẩy khuẩn tả có màu vàng vì:
- A. Lên men đường lactose
B. Lên men đường glucose
C. Lên men đường saccharose
D. Lên men đường arabinose
10. Trên môi trường pepton kiềm, phẩy khuẩn tả mọc thành vầng sau thời gian:
- A. 3–4 giờ B. 6–8 giờ
C. 18–24 giờ D. Sau 24 giờ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
11	Sau khi nuôi cấy, làm phản ứng ngưng kết trong chẩn đoán phẩy khuẩn tả để xác định kháng thể		
12	Phẩy khuẩn tả phát triển được ở môi trường có kiềm cao muối mặn		
13	Phẩy khuẩn tả không lên men đường arabinose		
14	Trên môi trường Macconkey, khuẩn lạc của phẩy khuẩn tả có màu vàng		
15	Phẩy khuẩn tả di động nhanh		
16	Tim kháng thể trong huyết thanh là kỹ thuật thường dùng khi chẩn đoán phẩy khuẩn tả		
17	Phẩy khuẩn tả có sức đề kháng yếu		
18	Phẩy khuẩn tả thuộc nhóm vi khuẩn đường ruột		
19	Phẩy khuẩn tả là vi khuẩn chí đường ruột		
20	Phẩy khuẩn tả phát triển nhanh trên môi trường pepton kiềm		

TRỰC KHUẨN *PSEUDOMONAS PSEUDOMALLEI*

(1 tiết)

MỤC TIÊU

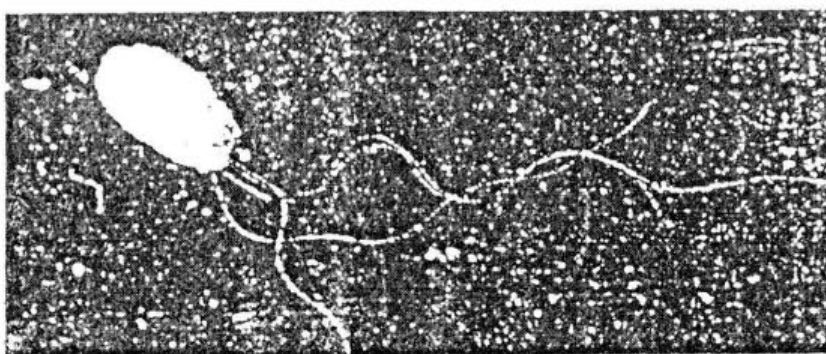
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn *Pseudomonas pseudomallei*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học vi khuẩn *Pseudomonas pseudomallei*.

Pseudomonas pseudomallei được Alfred Whitmore – người Anh mô tả đầu tiên năm 1912 ở Myanmar nên còn có tên là trực khuẩn Whitmore. Qua nhiều giai đoạn, vi khuẩn được mang nhiều tên gọi khác nhau, đến năm 1957 có tên là *Pseudomonas pseudomallei*. Năm 1993 được mang tên là *Burkholderia pseudomallei*.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể

Vi khuẩn có hình thẳng hoặc hình cầu trực khuẩn có một chùm lông ở một đầu. Kích thước $0,8 \times 1,5 \mu\text{m}$, di động, không có vỏ, không sinh nha bào. Nhuộm Gram bắt màu Gram âm, thường hai cực bắt màu đậm hơn.



Pseudomonas pseudomallei dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí tuyệt đối, mọc dễ trên các môi trường nuôi cấy thông thường, thường toả ra mùi thơm nhẹ như mùi nho. Nhiệt độ thuận lợi để phát triển $30-37^{\circ}\text{C}$. Phát triển được ở nhiệt độ $5-42^{\circ}\text{C}$.

– Trên môi trường lỏng vi khuẩn tạo thành vầng trên bề mặt, để lâu vầng dày và có thể bám vào thành ống.

– Trên môi trường đặc khuẩn lạc thường khô, nhăn nheo, bờ không đều, màu trắng đục hoặc màu kem. Trên cùng một đĩa môi trường có thể có các dạng khuẩn lạc dạng S, M và R với kích thước khác nhau, có thể khuẩn lạc có ánh kim loại.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

-- Sử dụng nhiều loại đường như glucose, lactose, mannitol... bằng hình thức oxy hoá có sinh acid.

– Oxydase (+), catalase (+), citratsimmons (+),

– Urease (–), H₂S (–).

-- Phát triển được ở 42⁰C.

1.4. Sức đề kháng

P. pseudomallei sống ở môi trường tự nhiên như trong nước, nơi bùn lầy, trên cánh đồng lúa nước. Ở ngoại cảnh chúng có khả năng chịu được các yếu tố tương tự như trực khuẩn mủ xanh, sống được hằng tuần. Bị tiêu diệt bởi nhiệt độ 100⁰C và các hoá chất sát khuẩn.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

P. pseudomallei là loại vi khuẩn hay gây bệnh do các loại gấm nhám, đó là các ổ chứa mầm bệnh và đào thải ra ngoại cảnh. Vi khuẩn từ bên ngoài xâm nhập vào cơ thể người chủ yếu qua những chỗ xây xước trên da hoặc qua vết thương gây nên những mụn mủ nhỏ, đôi khi thành các ổ áp xe to, được gọi là bệnh Melioidosis. Có thể vi khuẩn vào người qua đường tiêu hoá và hô hấp. Bệnh biểu hiện lâm sàng thường đa dạng: viêm mủ da, áp xe, nhiễm khuẩn tiết niệu... Bệnh có thể diễn biến cấp tính, bán cấp, mạn tính hoặc tiềm tàng. Vi khuẩn vào máu gây nên tình trạng nhiễm khuẩn huyết do vi khuẩn Gram âm. Bệnh thường biểu hiện nặng, có tỷ lệ tử vong cao. Thể mạn tính có những tổn thương ở phổi có thể nhầm lẫn với lao phổi. Bệnh thường gặp hơn ở nông dân, những vùng trồng lúa nước có tỷ lệ cao hơn. Sau khi mắc bệnh, kháng thể tăng cao và tồn tại vài tháng nhưng không có vai trò bảo vệ, bệnh nhân có thể tái nhiễm dễ dàng.

2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Nhiều loại súc vật có thể bị bệnh do *P. pseudomallei* như chuột lang, thỏ, chim...

Có thể gây bệnh thực nghiệm bằng nhiều đường khác nhau như chà xát vào da, tiêm bắp, tiêm phúc mạc...

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm có thể là máu, nước não tủy, mủ, đờm... tùy theo bệnh cảnh lâm sàng...

– Bệnh phẩm là máu hoặc dịch các khoang kín như nước não tủy, dịch màng phổi, dịch màng tim thì cấy vào các môi trường thông thường không có chất ức chế như thạch thường, canh thang, thạch máu.

– Bệnh phẩm có bội nhiễm như mủ, đờm, nước tiểu... thì nuôi cấy vào môi trường có chất ức chế chọn lọc. Hai môi trường thường được dùng hiện nay là canh thang Galimand và thạch Ashdown (có chất ức chế là gentamycin). Để ở nhiệt độ 42°C trong vòng một tuần, khuẩn lạc trên môi trường Ashdown có màu hồng ánh tím, khô, nhăn nheo, bờ không đều.

Sau khi nuôi cấy, nhuộm soi hình thể, nếu là cầu trực khuẩn Gram âm thì xác định các tính chất sinh vật hoá học của vi khuẩn.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

Trong điều tra dịch tễ thường xác định kháng thể trong huyết thanh bằng phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động, phản ứng này đơn giản, nhạy và đặc hiệu.

Trong chẩn đoán bệnh: dùng phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động hoặc miễn dịch men ELISA.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Hiện chưa có vaccin phòng bệnh, chủ yếu là vệ sinh cá nhân, tăng cường sức đề kháng chung. Những người có xây xước ngoài da hoặc viêm nhiễm da không nên làm việc ở các ruộng nước.

4.2. Điều trị

- Vi khuẩn bị tiêu diệt bởi chloramphenicol, cotrimoxazol, tetracyclin, ceftazidim.
- Vi khuẩn kháng các thuốc gentamycin, ampicillin, polymyxin.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Trên môi trường nuôi cấy, trực khuẩn *P.pseudomallei* có đặc điểm:

- A. Khuẩn lạc mọc lan
- B. Chỉ có một loại khuẩn lạc
- C. Mùi thối
- D. Có mùi thơm nhẹ như mùi nho
- E. Khuẩn lạc màu hồng trên môi trường thạch thường

2. Tính chất sau không có ở trực khuẩn *P.pseudomallei*:
 - A. Hiếu khí tuyệt đối
 - B. Phát triển được ở nhiệt độ 5–42°C
 - C. Catalase (+)
 - D. Sinh nha bào
3. Trực khuẩn *P.pseudomallei* gây bệnh khi xâm nhập vào cơ thể bằng đường sau:
 - A. Tiêu hoá
 - B. Vết xây xước da
 - C. Hô hấp
 - D. Tất cả các đường trên
4. Bệnh nhân có thể bị mắc bệnh do *P.pseudomallei* nhiều lần vì:
 - A. Không có kháng thể
 - B. Kháng thể không có khả năng bảo vệ
 - C. Kháng thể tồn tại trong thời gian ngắn
 - D. Cả A+B
5. Trực khuẩn *P.pseudomallei* có đặc điểm sau:
 - A. Vi khuẩn có nhiều trong nước, bùn lầy
 - B. Vi khuẩn có sức đề kháng cao
 - C. Vi khuẩn có nhiều trong đất
 - D. Đối tượng mắc bệnh là nông dân
6. Khuẩn lạc của trực khuẩn *P.pseudomallei* có màu hồng ánh tím trên môi trường sau:
 - A. Thạch thường
 - B. Macconkey
 - C. Galimand
 - D. Ashdown
7. Đặc điểm phát triển của trực khuẩn *P.pseudomallei* trên môi trường lỏng:
 - A. Tạo thành vầng trên bề mặt
 - B. Lắng cặn xuống đáy
 - C. Chuyển môi trường có màu xanh
 - D. Môi trường đục đều
8. Trực khuẩn *P.pseudomallei* gây nên bệnh sau:
 - A. Nhiễm khuẩn huyết
 - B. Viêm phổi
 - C. Nhiễm khuẩn tiết niệu
 - D. Tất cả các bệnh trên

Vẽ sơ đồ tóm tắt quy trình phân lập *P. pseudomallei*.

TRỰC KHUẨN MỦ XANH

(*Pseudomonas aeruginosa*)

(2 tiết)

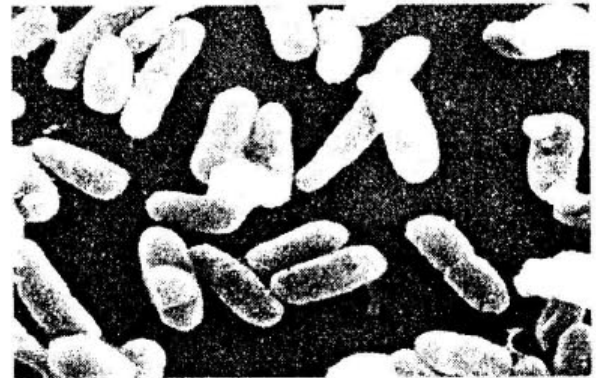
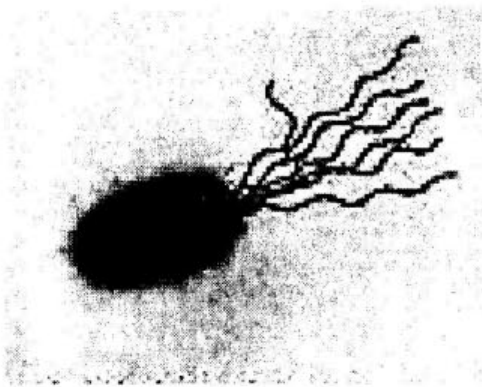
MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn mủ xanh.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn mủ xanh.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn thẳng hoặc hơi cong, hai đầu tròn, kích thước $0,5-1\mu\text{m} \times 1-5\mu\text{m}$. Có một lông ở một đầu, di động, ít khi có vỏ, không sinh nha bào. Nhuộm bắt màu Gram âm.



Hình thể của trực khuẩn mủ xanh dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn mủ xanh mọc dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường, hiếu khí. Nhiệt độ thích hợp 37°C nhưng phát triển được ở nhiệt độ $5-42^{\circ}\text{C}$, pH thích hợp 7,2 – 7,5 nhưng phát triển được ở pH 4,5 – 9,0.

– Trên môi trường đặc: có thể gặp hai loại khuẩn lạc: một loại to, nhẵn, dẹt, trung tâm lõm, có xu hướng mọc lan. Một loại xù xì, bờ không đều, đôi khi có loại khuẩn lạc nhày. Trên môi trường thạch máu đa số gây tan máu. Trong các nuôi cấy từ bệnh phẩm thường gặp loại khuẩn lạc thứ nhất. Trong các nuôi cấy từ môi trường, thường gặp khuẩn lạc thứ hai.

– Trong môi trường lỏng vi khuẩn mọc thành vầng ở trên mặt môi trường, môi trường đục.

Trực khuẩn mũ xanh mọc được trên môi trường SS, đây là đặc điểm phân biệt với trực khuẩn Whitmore.

1.3. Sắc tố

Tính chất đặc trưng của trực khuẩn mũ xanh là sinh sắc tố và chất thơm. Có hai loại sắc tố chính:

– *Pyocyanin*: có màu xanh lá cây, tan trong nước và clorofoc, khuếch tán ra môi trường làm môi trường có màu xanh. Đa số trực khuẩn mũ xanh sinh sắc tố này. Sắc tố này làm cho mũ vết thương trực khuẩn có màu xanh.

– *Pyoverdine*: là loại sắc tố huỳnh quang, tan trong nước nhưng không tan trong clorofoc, phát màu xanh khi chiếu tia cực tím. Sắc tố này không bền vững, dễ bị mất đi trong điều kiện nuôi cấy không tốt.

Sắc tố của trực khuẩn mũ xanh dưới ảnh hưởng của các nhân tố hoá học có thể thay đổi thành sắc tố nâu, đen...

Chất thơm do trực khuẩn mũ xanh sinh ra là kimetylamin.

1.4. Tính chất sinh vật hoá học

Sử dụng một số loại đường bằng hình thức oxy hoá có sinh acid như glucose, mannitol, arabinose, galactose, fructose.

- Không lên men đường lactose.
- Oxydase (+); citratsimmons (+), catalase (+).
- Indol (–); H₂S (–); LDC (–).
- Urease (±).

1.5. Cấu tạo kháng nguyên

– *Kháng nguyên lông H*: kháng nguyên này chung cho cả giống, dễ bị phá huỷ bởi nhiệt độ.

– *Kháng nguyên thân O*: đặc hiệu cho từng typ. Bản chất là lipopolysaccharid, vững bền với nhiệt độ. Dựa vào kháng nguyên này chia trực khuẩn mũ xanh thành 12 nhóm.

1.6. Sức đề kháng

Trực khuẩn mũ xanh bị tiêu diệt ở nhiệt độ 100°C và các thuốc sát khuẩn thông thường. Trực khuẩn sống ở trong đất, nước. Ở nơi có không khí, đủ độ ẩm và không có ánh sáng mặt trời, vi khuẩn sống được hàng tuần. Trong môi trường có chất dinh dưỡng tối thiểu để trong tủ lạnh, chúng có thể sống được 6 tháng.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

Trực khuẩn mủ xanh thường sống ở trong đất, nước hoặc trên da và niêm mạc người và động vật. Là loại vi khuẩn gây bệnh có điều kiện, khi cơ thể bị suy giảm miễn dịch, bị mắc bệnh ác tính hoặc mạn tính...

Trực khuẩn mủ xanh có ở nhiều nơi, nhiều dụng cụ máy móc trong bệnh viện như ống thông, máy hô hấp nhân tạo... Chúng xâm nhập vào cơ thể qua da (nhất là sau khi bị bỏng) hoặc qua vết thương, do phẫu thuật. Tại chỗ vi khuẩn gây viêm có mủ, điển hình là mủ có màu xanh. Nếu cơ thể giảm sức đề kháng hoặc do bệnh toàn thân, vi khuẩn xâm nhập và gây viêm các cơ quan như viêm bàng quang, viêm tai giữa, viêm màng não, viêm màng bụng... Có thể vi khuẩn vào máu gây nhiễm khuẩn huyết, viêm nội tâm mạc. Ngoài ra, ngày nay trực khuẩn mủ xanh được coi là tác nhân gây nhiễm khuẩn bệnh viện mắc phải ở những bệnh nhân nằm viện lâu ngày. Nhiễm khuẩn do trực khuẩn mủ xanh ngày càng trở nên trầm trọng do sự kháng kháng sinh rất mạnh của vi khuẩn.

Về cơ chế gây bệnh, có giả thuyết cho rằng các sản phẩm ngoại tiết như ngoại độc tố, yếu tố tan máu, sắc tố, độc tố ruột có vai trò chủ yếu.

2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật cảm nhiễm là chuột lang, tiêm vào màng bụng 0,1–0,5 ml canh khuẩn, khoảng 50% chuột chết sau vài giờ. Những con chuột sống dần dần hình thành những ổ mủ.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

Bệnh phẩm để chẩn đoán trực khuẩn mủ xanh có thể là mủ, dịch màng phổi, dịch màng bụng, dịch não tủy, nước tiểu, máu... tùy theo từng thể bệnh.

3.1. Nhuộm soi trực tiếp

Nhuộm Gram, soi có trực khuẩn nhỏ, mảnh, Gram âm thì có định hướng bước phân lập tiếp theo với trực khuẩn mủ xanh.

3.2. Nuôi cấy

Những bệnh phẩm là máu hoặc các dịch khoang kín (ổ mủ chưa vỡ, dịch màng phổi, dịch màng não): cấy vào môi trường thạch thường, thạch máu, canh thang, để ủ ấm 37°C, sau 24 giờ nhận xét hình thái khuẩn lạc, nhuộm soi hình thể.

Bệnh phẩm có nhiễm tạp khuẩn (mủ đã vỡ, đờm, nước tiểu) cấy vào môi trường có chất ức chế là cetrimid, để ủ ấm 37°C. Sau 18–24 giờ nhận xét khuẩn lạc, chọn khuẩn lạc màu xanh và làm xanh môi trường nhuộm soi rồi xác định tính chất sinh vật hoá học.

3.3. Xác định tính chất sinh vật hoá học

Đầu tiên là xác định men oxydase để phân biệt với các trực khuẩn đường ruột. Sau đó xác định các tính chất để xác định trực khuẩn mủ xanh.

Hiện nay bằng kỹ thuật gen, người ta có thể xác định chính xác được nguồn gốc của các chủng trực khuẩn mủ xanh trong các vụ nhiễm trùng bệnh viện.

Một số chủng trực khuẩn mủ xanh không sinh sắc tố nên trong chẩn đoán vi khuẩn học gặp khó khăn, cho nên phải dùng các môi trường tăng sinh sắc tố như môi trường King A để tăng sinh pyocyanin, môi trường King B để tăng sinh pyoverdine.

3.4. Xác định tính kháng nguyên

Sau khi xác định vi khuẩn phân lập là trực khuẩn mủ xanh, làm phản ứng ngưng kết trên lam kính với kháng huyết thanh mẫu. Có 13 nhóm kháng nguyên O từ O₁ đến O₁₃.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng bằng các biện pháp tích cực để ngăn ngừa nhiễm trực khuẩn mủ xanh như giữ gìn vệ sinh, thực hiện các quy trình tiệt trùng, vô khuẩn trong các thao tác kỹ thuật tránh lây chéo trong bệnh viện. Đối với cá nhân cần vệ sinh sạch sẽ, tăng cường sức đề kháng, tránh lạm dụng kháng sinh và thuốc gây suy giảm miễn dịch. Nếu có dịch xảy ra trong bệnh viện phải khẩn trương điều tra và xử lý dịch.

4.2. Điều trị

Trực khuẩn mủ xanh đã kháng lại rất nhiều kháng sinh thông dụng như: penicillin, ampicillin, cloramphenicol, tetracyclin. Hiện nay các loại kháng sinh còn tác dụng là amikacin, carbenicilin, cytaizidim, gentamycin.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Tính chất sau để phân biệt trực khuẩn mủ xanh và các trực khuẩn đường ruột:
A. Bất màu B. Oxydase C. Indol
D. Khuẩn lạc có màu hồng trên môi trường SS E. Cả A+B
2. Tính chất nào sau đây để phân biệt trực khuẩn mủ xanh với trực khuẩn whitmore:
A. Bất màu Gram âm B. Oxydase (+) C. Phát triển ở 42°C
D. Phát triển trên môi trường SSE: Citratsimmons (+)

3. Trực khuẩn mủ xanh có thể gây các bệnh:
 - A. Viêm màng não
 - B. Nhiễm khuẩn huyết
 - C. Viêm phổi
 - D. Cả A+B E. Cả A+B+C
4. Trực khuẩn mủ xanh có các tính chất sau, trừ:
 - A. Sinh sắc tố
 - B. Bị tiêu diệt bởi các thuốc sát khuẩn thông thường
 - C. Không lên men đường lactose
 - D. Chỉ phát triển ở môi trường giàu chất dinh dưỡng
 - E. Khuẩn lạc có sau 18–24 giờ
5. Trên môi trường nuôi cấy, trực khuẩn mủ xanh có đặc điểm:
 - A. Sinh ra chất thơm
 - B. Tạo vầng ở môi trường lỏng
 - C. Khuẩn lạc dạng S hoặc R
 - D. Màu xanh trên môi trường thạch thường
 - E. Tất cả đều đúng
6. Khuẩn lạc của trực khuẩn mủ xanh có đặc điểm:
 - A. Tạo màu xanh lá cây trên môi trường simmons
 - B. Tạo màu xanh nước biển trên môi trường simmons
 - C. Màu xanh của môi trường Istrati không thay đổi
 - D. Cả B+C
7. Trực khuẩn mủ xanh tạo thành vầng trên môi trường lỏng vì:
 - A. Có nhiều chất dinh dưỡng
 - B. Hiếu khí
 - C. Di động
 - D. Không phát triển ở nơi có độ ẩm cao
8. Trên môi trường thạch máu khuẩn lạc của trực khuẩn mủ xanh có tính chất:
 - A. Tan máu B. Dạng R hoặc S
 - C. Không tan máu D. Cả A+B
9. Pyovecdin của trực khuẩn mủ xanh là yếu tố sau:
 - A. Độc tố sinh mủ B. Yếu tố gây viêm
 - C. Sắc tố màu huỳnh quang D. Sắc tố màu xanh lá cây

10. Điều kiện sau giúp trực khuẩn mủ xanh dễ gây bệnh:
- A. Niêm mạc và tổ chức bị tổn thương B. Sức đề kháng giảm
C. Trẻ em D. Cả A+B
11. Bệnh phẩm để chẩn đoán trực khuẩn mủ xanh:
- A. Mủ vết thương B. Dịch mật
C. Nước tiểu D. Tuỷ theo từng bệnh
12. Trên môi trường nuôi cấy trực khuẩn mủ xanh có mùi sau:
- A. Thơm B. Thơm mùi nho
C. Thối D. Hắc
13. Mùi thơm trên môi trường nuôi cấy trực khuẩn mủ xanh là do:
- A. Pyoverdine B. Kimetylamin
C. Pyocyanin D. LDC
14. Những chủng trực khuẩn mủ xanh không sinh sắc tố cần được nuôi cấy vào môi trường sau:
- A. Môi trường có cloramphenicol
B. Môi trường King A
C. Môi trường thông thường
D. Khí trường có CO₂
15. Nuôi cấy trực khuẩn mủ xanh trên môi trường King B nhằm mục đích:
- A. Tăng sinh sắc tố B. Xác định typ sinh học
C. Tạo khuẩn lạc R D. Ưc chế tạp khuẩn

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
16	Vì có khả năng sinh sắc tố nên vi khuẩn được gọi là trực khuẩn mủ xanh		
17	Trực khuẩn mủ xanh hiếu khí kỵ khí tuỳ tiện		
18	Trực khuẩn mủ xanh có men oxydase		
19	Sau khi xác định vi khuẩn, làm phản ứng ngưng kết trên lam kính để xác định kháng thể của bệnh nhân mắc bệnh do trực khuẩn mủ xanh		
20	Nhuộm soi mủ vết thương có trực khuẩn Gram âm thì đó là trực khuẩn mủ xanh		
21	Trực khuẩn mủ xanh không phát triển trên các môi trường nuôi cấy thông thường		

TRỰC KHUẨN DỊCH HẠCH

(*Yersinia pestis*)

(2 tiết)

MỤC TIÊU

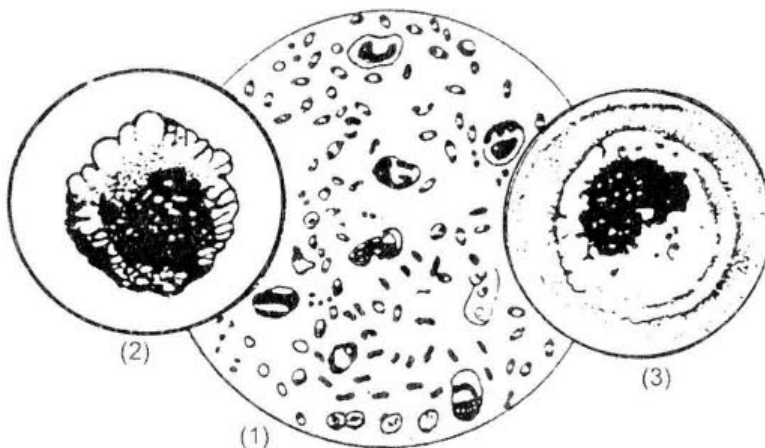
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn dịch hạch.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn dịch hạch.

Vi khuẩn dịch hạch thuộc giống *Yersinia*, họ vi khuẩn đường ruột. Vi khuẩn này là tác nhân gây bệnh dịch hạch được Alexandre Yersin (người Thụy Sĩ) phân lập đầu tiên năm 1894, trong một vụ dịch hạch ở Hồng Kông.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Vi khuẩn dịch hạch có hình bầu dục (cầu trực khuẩn), kích thước $0,3-0,7 \times 1-2 \mu\text{m}$. Không có lông, không di động, không sinh nha bào. Nếu nuôi cấy ở 37°C thì có vỏ. Nhuộm Gram thì bắt màu Gram âm, nhuộm Wayson thì bắt màu xanh. Cả hai phương pháp nhuộm vi khuẩn đều bắt màu đậm ở hai đầu. Trong bệnh phẩm thường đứng riêng rẽ hoặc thành đôi, ít khi thành từng đám. Trên môi trường nuôi cấy có thể gặp nhiều loại khác nhau (đa hình thái – nhất là trên môi trường đã cấy nhiều lần).



Yersinia peptis nhuộm từ nước chọc hạch (1) và khuẩn lạc của nó trên môi trường thạch thường (2 và 3)

1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí kỵ khí tùy tiện, nhiệt độ thích hợp là 28°C, có thể phát triển được ở nhiệt độ 0 – 42°C. Mọc được trên các môi trường nuôi cấy thông thường nhưng chậm.

Trên môi trường canh thang: vi khuẩn phát triển lúc đầu làm đục môi trường, sau đó dần dần lắng xuống đáy ống nghiệm làm cho môi trường trở nên trong.

Trên môi trường thạch thường: ở nhiệt độ 30–37°C, sau 24 giờ khuẩn lạc rất nhỏ (0,1mm), sau 48 giờ khuẩn lạc có đường kính 1–2 mm, màu xám nhạt, dẹt, mặt có hạt.

Trên môi trường thạch máu: ở nhiệt độ 28°C, sau 24 giờ khuẩn lạc nhỏ, tròn, bóng ướt. Sau 48–72 giờ khuẩn lạc lồi, bờ không đều, không tan máu, bờ có hình "dạng ten", khuẩn lạc dạng R.



Vi khuẩn dịch hạch

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Lên men không sinh hơi các loại đường glucose, mannitol, mantose, arabinose.
- Không lên men đường lactose, saccharose.
- RM (+), catalase (+).
- Urease (–); oxydase (–); indol (–); VP (–); H₂S (–), citratsimmons (–).

Dựa vào tính chất lên men glycerol và khử nitrat (NO₃) thành nitrit (NO₂), vi khuẩn dịch hạch được chia thành ba loài sau:

Tính chất Loài	Glycerol	NO ₃ → NO ₂
Y. pestis orientalis	–	+
Y. pestis antiqua	+	+
Y. pestis medialis	+	–

1.4. Độc tố

Vi khuẩn dịch hạch có một loại nội độc tố đặc biệt có bản chất là protein mang tính chất của một ngoại độc tố, kém bền vững với nhiệt độ. Độc tố này kém tính độc hơn các ngoại độc tố nhưng độc hơn các nội độc tố. Ngoài ra vi khuẩn dịch hạch có ngoại độc tố nhưng ít có vai trò trong cơ chế gây bệnh.

1.5. Cấu trúc kháng nguyên

– *Kháng nguyên vỏ* (còn gọi là kháng nguyên F₁) có trong điều kiện nuôi cấy ở 37°C trên môi trường thạch máu, bị phá huỷ ở nhiệt độ 100°C trong 1 giờ, kháng nguyên này có tính sinh miễn dịch cao.

– *Kháng nguyên thân*: nuôi cấy vi khuẩn ở 28°C, kháng nguyên vỏ bị mất còn kháng nguyên thân, kháng nguyên thân chịu được 100°C trong 1 giờ, là một bộ phận của nội độc tố.

– *Kháng nguyên độc lực*: kháng nguyên này chỉ có ở vi khuẩn có độc lực.

1.6. Sức đề kháng

Vi khuẩn dịch hạch dễ bị tiêu diệt bởi các yếu tố lý hoá như các chất sát khuẩn thông thường, ở 100°C vi khuẩn chết sau 1 phút, ở 55°C chết sau 15 phút. Ở điều kiện khô hanh hoặc phơi nắng vi khuẩn chết sau vài giờ. Trong đờm vi khuẩn tồn tại 8–14 ngày. Tuy nhiên ở điều kiện lạnh vi khuẩn sống được nhiều tháng đến nhiều năm.

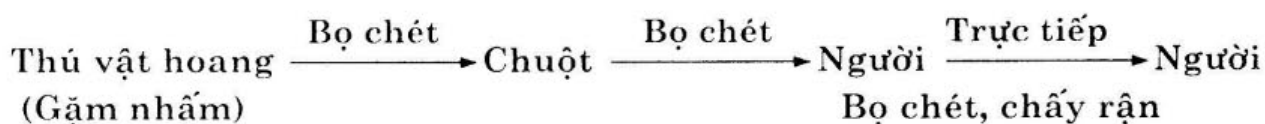
2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

Vi khuẩn dịch hạch tồn tại trong thiên nhiên ở các loài gặm nhấm hoang dã, thường là chuột. Vi khuẩn dịch hạch xâm nhập vào cơ thể do côn trùng đốt hoặc qua da bị xây xước có tiếp xúc với vật phẩm mang vi khuẩn. Môi giới trung gian truyền bệnh là bọ chét, chủ yếu là *Xenopsylla cheopis*. Khi bọ chét hút máu chuột có vi khuẩn dịch hạch vào ống tiêu hoá, vi khuẩn sẽ phát triển nhanh gây tắc nghẽn đường tiêu hoá. Nếu bọ chét đốt người hút máu vào đường tiêu hoá nhưng vì bị tắc nghẽn nên máu lại trào ra kèm theo vi khuẩn xâm nhập vào người. Từ nơi xâm nhập, vi khuẩn theo mạch lympho đến hạch khu vực, tại đây vi khuẩn phát triển rồi theo hệ bạch huyết đến các hạch xa hơn, cuối cùng vào máu.

Bệnh dịch hạch ở người có ba thể lâm sàng: thể hạch (thường gặp nhất), thể phổi và thể nhiễm khuẩn huyết, hai thể này ít gặp hơn nhưng thường nặng và tỷ lệ tử vong cao. Dịch hạch được coi là một trong những bệnh dịch tối nguy hiểm. Hiện nay ở Tây nguyên vẫn xảy ra dịch lẻ tẻ, nhưng có thể bùng phát thành dịch lớn ở bất cứ nơi nào đó trong cả nước.

Sơ đồ lan truyền bệnh dịch hạch



2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật cảm nhiễm đối với vi khuẩn dịch hạch là chuột lang. Đưa vi khuẩn vào bằng bất kỳ đường nào cũng gây nhiễm khuẩn huyết và dẫn đến chuột chết.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Lấy bệnh phẩm

– *Bệnh phẩm từ người*: phải lấy bệnh phẩm ngay khi có biểu hiện bệnh và trước khi dùng kháng sinh điều trị. Bệnh phẩm là dịch chọc hút ở hạch (thường là hạch bẹn và hạch nách bị sưng to) hoặc là đờm, máu, dịch màng phổi tùy theo từng thể bệnh. Trường hợp bệnh nhân chết lấy các phủ tạng là gan, phổi, lách.

– *Bệnh phẩm từ chuột*: lấy từ các phủ tạng của chuột.

– *Bệnh phẩm từ bọ chét*: bắt chuột chài lấy bọ chét, nghiền nát trong nước muối sinh lý.

3.1.2. Nhuộm soi trực tiếp

Làm tiêu bản từ các bệnh phẩm, nhuộm Gram hoặc Wayson, quan sát hình thể và tính chất bắt màu. Phương pháp này cho kết quả nhanh và có giá trị định hướng cao. Với dịch chọc hạch thấy vi khuẩn dịch hạch nằm trong và ngoài tế bào, độ chính xác 90%.

3.1.3. Nuôi cấy phân lập

Cấy bệnh phẩm vào các môi trường như thạch thường, thạch máu, canh thang. Nếu bệnh phẩm bị tạp nhiễm nhiều như đờm thì cấy lên môi trường có chất ức chế như DOC (deoxycholate). Để ở nhiệt độ 28°C trong 24 – 48 giờ, chọn khuẩn lạc nghi ngờ nhuộm soi và xác định tính chất sinh vật hoá học.

3.1.4. Tiêm truyền cho súc vật thí nghiệm

Đối với bệnh phẩm là dịch hạch, máu, nước não tủy, nước màng phổi thì tiêm dưới da cho chuột bạch, chuột lang, chuột nhắt trắng. Với bệnh phẩm là đờm thì vì có nhiều loại vi khuẩn nên chà sát lên da hoặc bôi bệnh phẩm vào mũi chuột. Chuột thường chết trong khoảng 3–5 ngày, mổ chuột thấy gan ứ máu nặng, lách sưng to có nhiều nốt mủ trắng hoặc xám, trong các phủ tạng trên có nhiều vi khuẩn dịch hạch.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Dùng phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động, phản ứng trung hoà, phản ứng ELISA để phát hiện kháng thể F₁ trong huyết thanh. Phương pháp này ít có ý nghĩa trong chẩn đoán 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

Phòng đặc hiệu: hiện nay đã có hai loại vaccin phòng bệnh dịch hạch: vaccin

chết tiêm hai lần gây miễn dịch được 6 tháng. Vaccin sống tiêm một lần gây miễn dịch nhanh và thời gian tồn tại miễn dịch 6 tháng đến 1 năm.

Phòng không đặc hiệu:

- Diệt chuột, diệt bọ chét để cắt đứt dây chuyền dịch tễ của bệnh.
- Sớm phát hiện và cách ly triệt để bệnh nhân.
- Dùng thuốc dự phòng cho những người nhà bệnh nhân trong vùng dịch xảy ra.
- Nếu có chuột chết hàng loạt phải tiến hành phun ngay thuốc diệt bọ chét.

4.2. Điều trị

Vi khuẩn dịch hạch nhạy cảm với nhiều loại kháng sinh như streptomycin, tetracyclin, cloramphenicol, ampicillin. Có thể dùng đơn lẻ hoặc phối hợp kháng sinh.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của vi khuẩn dịch hạch là 37°C		
2	Trực khuẩn dịch hạch gây tan máu trên môi trường thạch máu.		
3	Trực khuẩn dịch hạch phát triển được trên các môi trường thông thường		
4	Nhuộm soi có giá trị cao trong chẩn đoán bệnh dịch hạch		
5	Do vi khuẩn dịch hạch không di động nên không làm đục môi trường canh thang		
6	Trực khuẩn dịch hạch chỉ phát triển được ở môi trường giàu chất dinh dưỡng		
7	Trong cơ thể người bình thường cũng có trực khuẩn dịch hạch		
8	Trực khuẩn dịch hạch không lên men đường saccharose		
9	Trực khuẩn dịch hạch theo phân bọ chét ra ngoài rồi xâm nhập vào cơ thể qua vết đốt		
10	Trực khuẩn dịch hạch thuộc họ vi khuẩn đường ruột		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

11. Thể nào của bệnh dịch hạch lây trực tiếp từ người sang người:
A. Thể phổi
B. Thể nhiễm khuẩn huyết
C. Thể hạch
D. Thể tiêu hoá
E. Thể viêm niêm mạc
12. Trên môi trường thạch máu ở 28°C, sau 72 giờ khuẩn lạc của trực khuẩn dịch hạch có đặc điểm sau:
A. Dạng S
B. Tan máu
C. Dạng R
D. Bờ có hình "dângten"
E. Cả C+D
13. Chẩn đoán gián tiếp bệnh dịch hạch với mục đích:
A. Tìm kháng nguyên
B. Tìm kháng thể
C. Tìm phức hợp kháng nguyên–kháng thể
D. Tìm độc lực
E. Gây bệnh thực nghiệm
14. Vi khuẩn dịch hạch sau khi vào cơ thể người qua bộ chết dốt sẽ tiếp tục vào bộ phận sau:
A. Máu và hệ bạch huyết
B. Phổi
C. Hạch
D. Tùy theo vị trí dốt
15. Vaccin phòng bệnh dịch hạch gây miễn dịch được khoảng:
A. 3 tháng
B. 1 năm
C. 6 tháng–1 năm
D. 6 tháng
16. Vi khuẩn dịch hạch không có tính chất sau:
A. Oxydase (+)
B. Bất màu Gram âm
C. Tạo thành lẩn cặn trong môi trường lỏng
D. Không có KN lông
17. Người mắc bệnh dịch hạch chủ yếu do:
A. Bộ chết dốt
B. Muỗi dốt
C. Truyền máu
D. Lây qua đường hô hấp
18. Trực khuẩn dịch hạch phát triển thích hợp ở nhiệt độ sau:
A. 37°C
B. 27°C
C. 20–40°C
D. 42°C

19. Loại vi khuẩn nào sau đây bắt màu gram(-), đậm ở hai đầu:

- A. Trực khuẩn *E.coli*
- B. Trực khuẩn dịch hạch
- C. Trực khuẩn mũ xanh
- D. Trực khuẩn *klebsiella*

20. Môi giới trung gian truyền bệnh dịch hạch:

- A. Bọ chét
- B. Chuột
- C. Bọ chét *Xenopsylla cheopis*
- D. Thú hoang

21. Bệnh phẩm chẩn đoán tìm vi khuẩn dịch hạch:

- A. Máu
- B. Dịch chọc hạch
- C. Đờm
- D. Tuỷ tủy thể bệnh

TRỰC KHUẨN BẠCH HẦU

(*Corynebacterium Diphtheriae*)

(2 tiết)

MỤC TIÊU

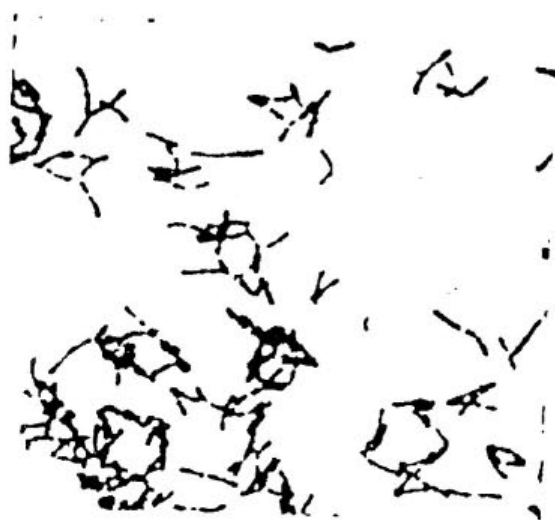
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn bạch hầu.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn bạch hầu.

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. Năm 1884, Loffler đã phân lập được trực khuẩn bạch hầu và xác định vai trò gây bệnh, do đó trực khuẩn bạch hầu còn mang tên là vi khuẩn Klebs-Loffler.

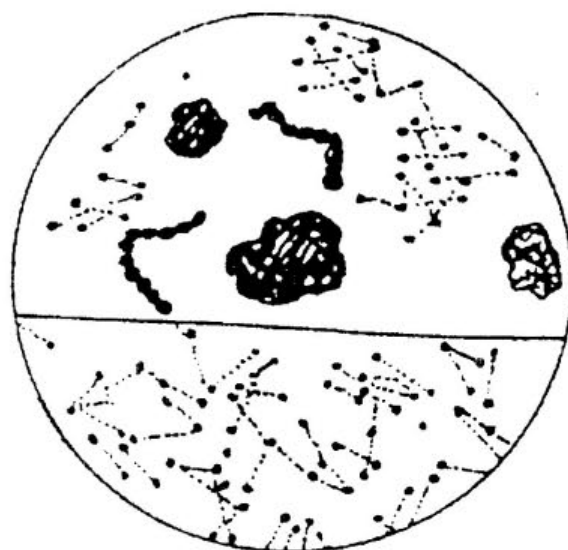
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn hình thẳng, có một hoặc hai đầu phình to như hình chùy, dài 2–8 μm , rộng 0,5 μm , không có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào.



Nhuộm Gram



Nhuộm Albert

Nhuộm Gram bắt màu Gram dương, nhuộm Albert vi khuẩn bắt màu xanh, trên thân có các hạt nhiễm sắc bắt màu đậm, đó là các không bào chứa polime

của polyphosphoric. Trên môi trường nuôi cấy, vi khuẩn thường đa hình thái (hình chùy, hình vệt). Trong bệnh phẩm, vi khuẩn thường đứng với nhau từ 2–4 con giống như hình chữ X, Y, V, T, N...

1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn bạch hầu hiếu khí kỵ khí tùy tiện, phát triển trên môi trường giàu chất dinh dưỡng, nhiệt độ thích hợp là 37°C.

Trên môi trường huyết thanh đông (Löffler), trực khuẩn bạch hầu phát triển nhanh. Sau 12–18 giờ, khuẩn lạc xám và dẹt.

Trên môi trường trứng, vi khuẩn mọc sau 18–24 giờ nhưng không rõ khuẩn lạc, hạt nhiễm sắc to dần theo thời gian.

Trên môi trường Schroer (thạch máu có muối kali telurit), khuẩn lạc có sau 48 giờ, khuẩn lạc nhỏ, đen như hạt dền. Ở môi trường này, kali telurit ức chế các vi khuẩn khác có trong họng miệng nhưng ít ức chế trực khuẩn bạch hầu và vi khuẩn chuyển hoá muối làm khuẩn lạc có màu đen.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

– Men urease (–), đây là tính chất quan trọng để phân biệt với trực khuẩn giả bạch hầu.

– Men catalase (+), indol (–).

– Lên men không sinh hơi đường glucose, mantose.

– Không lên men đường lactose.

Dựa vào tính chất sinh vật hoá học để phân biệt trực khuẩn bạch hầu và trực khuẩn giả bạch hầu có ở họng:

Tính chất \ Vi khuẩn	Urease	Glucose	Mantose	Lactose
Trực khuẩn bạch hầu	–	+	+	–
Trực khuẩn giả bạch hầu	+	–	–	–

Giữa các trực khuẩn bạch hầu có sự khác nhau về đặc điểm sinh học, trên cơ sở này trực khuẩn bạch hầu được chia thành ba typ sinh học là: *Gravis*, *Mitis* và *Intermedius* với các đặc điểm sau:

Tính chất \ Typ vi khuẩn	<i>Gravis</i>	<i>Mitis</i>	<i>Intermedius</i>
Hình thể	TK ngắn	TK dài	TK trung bình
Khuẩn lạc	R	S	Trung gian
Thuỷ phân tinh bột	Có	Không	Không



1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Trực khuẩn bạch hầu có hai loại kháng nguyên thân O và kháng nguyên bề mặt K. Có thể dựa vào hai loại kháng nguyên này để định typ trực khuẩn bạch hầu. Nhưng giữa kháng nguyên này và độc lực của trực khuẩn bạch hầu không có sự liên quan, vì thế người ta không định loại vi khuẩn theo kháng nguyên.

1.5. Độc tố

Trực khuẩn bạch hầu có ngoại độc tố, bản chất là glycoprotein, gồm hai phần: phần B (binding) bám vào màng tế bào cảm thụ, giúp cho phần 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.

1.6. Sức đề kháng

Trực khuẩn bạch hầu có khả năng đề kháng tương đối cao nếu tránh được ánh sáng mặt trời nhất là trong bệnh phẩm. Vi khuẩn có thể sống được 2-3 tuần trong đồ dùng dụng cụ, 5 tuần trong bụi. Bị tiêu diệt ở nhiệt độ 58°C trong 10 phút, 100°C trong 1 phút. Bị chết dưới ánh sáng mặt trời trong vài giờ.

2. Khả năng gây bệnh

Trực khuẩn bạch hầu xâm nhập vào cơ thể bằng đường hô hấp và cư trú ở phần trên đường hô hấp, thường gặp nhất là vùng hầu họng. Trực khuẩn phát triển ở đó tiết ra ngoại độc tố gây hoại tử lớp biểu mô, kích thích tăng xuất tiết tạo ra màng giả. Màng giả trắng xám, dai, khó bóc tách, khi bóc hay chảy máu. Màng giả có thể lan xuống thanh quản, khí quản gây bí tắc đường hô hấp. Ngoại độc tố bạch hầu thấm vào máu gây nhiễm độc toàn thân. Các cơ quan bị tổn thương nặng do ngoại độc tố bạch hầu là tim (bệnh nhân thường chết do biến chứng tim), thần kinh ngoại biên (có thể gặp biến chứng liệt), tuyến thượng thận và gan.

Bệnh bạch hầu thường gặp ở trẻ em, sau khi khỏi bệnh có thể thu được miễn dịch. Đây là một bệnh dịch nguy hiểm ở trẻ em không được tiêm phòng vaccin.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Nhuộm soi

Dùng que tăm bông vô khuẩn cọ sát vào màng giả hoặc nếu chưa có màng giả thì ngoáy họng bệnh nhân. Bệnh phẩm thường được nhuộm hai phương pháp gram và Albert hoặc xanh methylen hay Neisser. Nếu thấy trực khuẩn hình chùy có hạt nhiễm sắc và cách sắp xếp của nó thì rất có ý nghĩa với chẩn đoán bạch hầu. Tuy nhiên cần chú ý phân biệt với trực khuẩn giả bạch hầu có trong họng của người lành. Có thể nhuộm xanh methylen kiểm thay cho nhuộm Albert vẫn quan sát được hạt nhiễm sắc và tế bào vi khuẩn.

3.2. Nuôi cấy phân lập

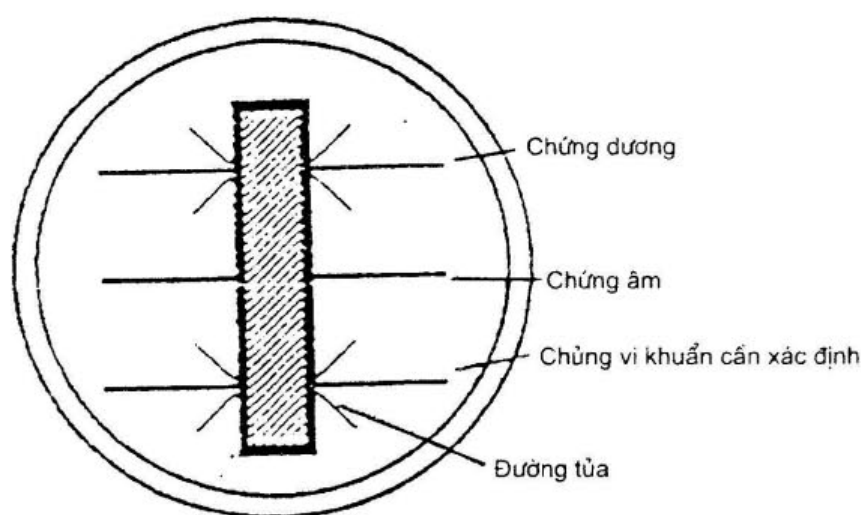
Bệnh phẩm được nuôi cấy vào môi trường phân lập như môi trường trứng, môi trường huyết thanh đông và môi trường Schroer. Trên môi trường trứng trực khuẩn bạch hầu mọc sau 18 giờ nhưng không thành khuẩn lạc. Trên môi trường Schroer, sau 48 giờ khuẩn lạc có màu đen và dạng S (nếu là *C. mitis*) hoặc dạng R (nếu là *C. gravis*). Nhuộm soi khuẩn lạc, nếu là trực khuẩn Gram dương thì kiểm tra các tính chất của trực khuẩn bạch hầu, cuối cùng xác định độc tố bạch hầu.

3.3. Xác định độc tố bạch hầu

Để khẳng định trực khuẩn bạch hầu độc lực cần xác định độc tố của chúng, có thể dùng hai phản ứng sau:

Phản ứng trung hoà trên chuột lang: Chọn hai con chuột lang, mỗi con nặng 250–300g. Tiêm vào màng bụng con A 250 đơn vị kháng độc tố bạch hầu, con B không tiêm. Sau 24 giờ tiêm vào dưới da đùi hoặc màng bụng mỗi con 1ml hỗn dịch vi khuẩn bạch hầu phân lập được trong dung dịch nước muối sinh lý. Theo dõi chuột từ 2–5 ngày, nếu những chứng vi khuẩn có độc tố sẽ gây viêm, thâm nhiễm và hoại tử nơi tiêm của chuột B, trong khi đó chuột A được tiêm kháng độc tố bạch hầu nên tại nơi tiêm không bị tổn thương.

Phản ứng Elek: đặt miếng giấy thấm kích thước 1×8 cm đã vô khuẩn vào hộp lồng, nhỏ 0,2–0,25 ml kháng huyết thanh bạch hầu có nồng độ 100 đơn vị /1ml. Để ở 37°C trong 1–2 giờ cho khô. Đổ thạch Elek đun nóng chảy trùm lên mặt giấy. Nếu không có thạch Elek có thể dùng thạch thường. Sau đó cấy lên mặt thạch những đường cấy vuông góc với chiều ngang mảnh giấy những chủng vi khuẩn bạch hầu cần xác định. Nếu là những chủng vi khuẩn bạch hầu có độc tố sẽ gây nên hiện tượng kết tủa, tạo nên những đường trắng đục gần miếng giấy. Kỹ thuật này cần làm cùng với một chủng bạch hầu gây bệnh để so sánh, đối chứng. Kỹ thuật Elek có độ nhạy thấp nên chỉ dùng được các phòng thí nghiệm chuyên khoa



4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

– *Phòng đặc hiệu*: dùng vaccin là giải độc tố bạch hầu hoặc vaccin tam liên bạch hầu, uốn ván, ho gà cho trẻ em.

– *Phòng không đặc hiệu*: phát hiện sớm và cách ly triệt để bệnh nhân, dập tắt kịp thời khi có dịch xảy ra.

4.2. Điều trị

Nếu phát hiện sớm và điều trị ngay từ ngày đầu thì tỷ lệ tử vong dưới 5%. Nếu điều trị muộn thì tử vong rất cao.

– Dùng kháng độc tố bạch hầu SAD (serum anti diphterique)

– Dùng kháng sinh diệt khuẩn: Tốt nhất là penicillin, erythromycin. Có thể dùng amoxicillin, rifampicin...

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Bệnh bạch hầu không gây miễn dịch		
2	Trên môi trường Schroer, khuẩn lạc trực khuẩn bạch hầu có sau 24 giờ		
3	Hạt nhiễm sắc của trực khuẩn bạch hầu trên môi trường trứng lớn dần theo thời gian		
4	Trực khuẩn bạch hầu gây bệnh bằng cả nội độc tố và ngoại độc tố		
5	Vì có một hoặc hai đầu phình to nên trực khuẩn bạch hầu bắt màu đậm ở hai đầu		
6	Trực khuẩn bạch hầu có men urease.		
7	Ngoáy họng nhuộm soi chẩn đoán trực khuẩn bạch hầu chỉ thực hiện ở bệnh nhân có màng giả.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

8. Phương pháp nhuộm sau đây vi khuẩn bạch hầu bắt màu xanh:

- A. Gram
- B. Albert
- C. Xanh methylen
- D. Cả A+B

9. Trên môi trường nuôi cấy sau, hạt nhiễm sắc của trực khuẩn bạch hầu to dần theo thời gian:

- A. Môi trường trứng
- B. Môi trường schroer
- C. Môi trường thạch máu
- D. Môi trường huyết thanh đông

10. Trực khuẩn bạch hầu không có tính chất sau:

- A. Gây bệnh bằng đường hô hấp
- B. Tạo màng giả ở đường hô hấp
- C. Không xâm nhập vào máu
- D. Gây bệnh bằng nội độc tố

11. Hạt nhiễm sắc của trực khuẩn bạch hầu quan sát được khi nhuộm:

- A. Gram
- B. Albert
- C. Xanh methylen
- D. Neisser

12. Bệnh phẩm chẩn đoán bệnh bạch hầu là:

- A. Đờm
- B. Máu
- C. Dịch ngoáy họng
- D. Tuỷ tủy tổn thương

13. Phản ứng Elek dùng chất biết trước là:

- A. Kháng nguyên
- B. Kháng thể
- C. Độc tố
- D. Vi khuẩn

14. Bệnh nhân bạch hầu chết là do:

- A. Rối loạn chức năng hô hấp
- B. Co giật
- C. Dị ứng
- D. Độc tố
- E. Vi khuẩn vào máu

15. Đặc điểm sau để phân biệt trực khuẩn bạch hầu với trực khuẩn giả bạch hầu:

- A. Hình thể và cách sắp xếp
- B. Tính chất bắt màu
- C. Men urease
- D. Vị trí tổn thương

16. Vị trí tổn thương thường gặp của bệnh bạch hầu:

- A. Phổi
- B. Thanh quản
- C. Tỵ hầu
- D. Phế quản

17. Loại trực khuẩn gây bệnh sau bắt màu Gram dương:
- A. Trực khuẩn bạch hầu
 - B. Trực khuẩn dịch hạch
 - C. Trực khuẩn thương hàn
 - D. Trực khuẩn *proteus*
18. Vi khuẩn sau trong quá trình gây bệnh không xâm nhập vào máu:
- A. Tụ cầu khuẩn
 - B. Trực khuẩn dịch hạch
 - C. Trực khuẩn thương hàn
 - D. Trực khuẩn bạch hầu
19. Đối tượng sau dễ mắc bệnh bạch hầu:
- A. Trẻ em
 - B. Trẻ dưới 2 tuổi
 - C. Trẻ sơ sinh
 - D. Người già

TRỰC KHUẨN HO GÀ

(*Bordetella pertussis*)

MỤC TIÊU

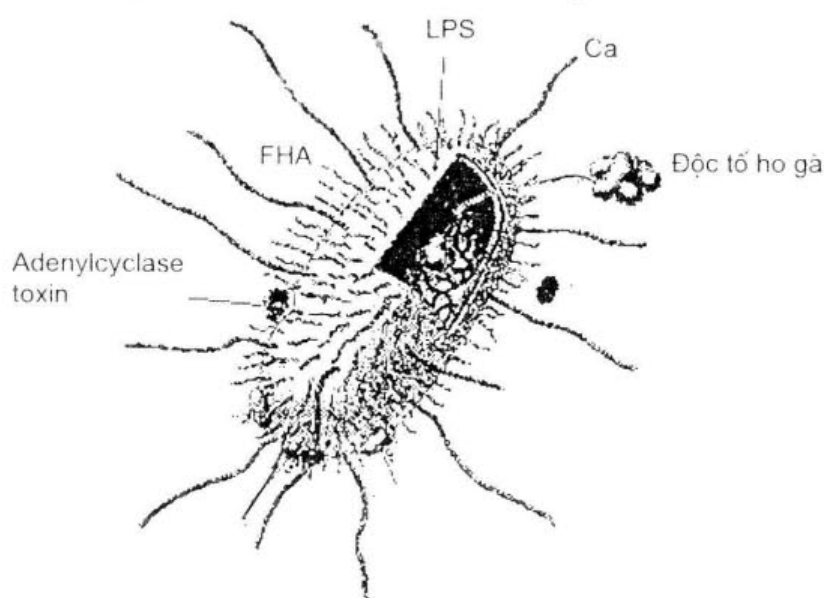
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn *Bordetella pertussis*.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn *Bordetella pertussis*.

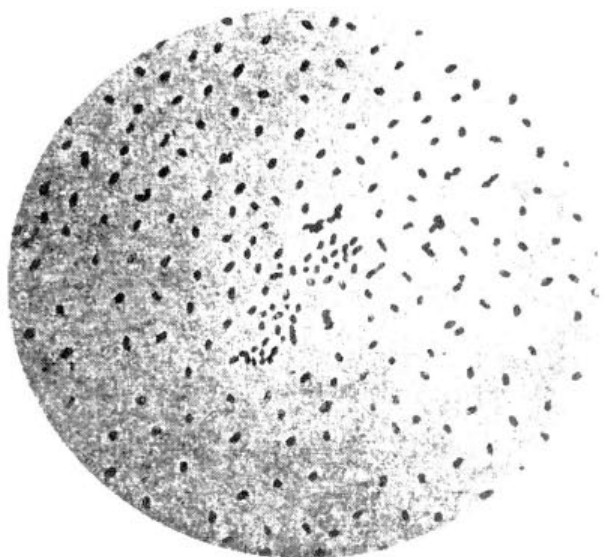
Trực khuẩn ho gà thuộc giống *Bordetella*, họ *Alcaligenaceae* được Jules Bordet và Octave Gengou phân lập lần đầu tiên năm 1906 và sau đó bào chế được vaccin phòng bệnh ho gà. Giống *Bordetella* hiện nay có bốn loài: *Bordetella pertussis*, *B. para pertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. avium*. Trong đó loài *Bordetella pertussis* là loài gây bệnh quan trọng nhất. Năm 1923, Bergey đặt tên là *Haemophilus pertussis* (*Haemo*: máu, *philus*: a, thích, *per*: tiếp đầu ngữ tiếng La tinh nghĩa là trầm trọng, *tussis*: ho). Năm 1952, chúng được chuyển sang giống *Bordetella*.

1. Đặc điểm sinh vật học

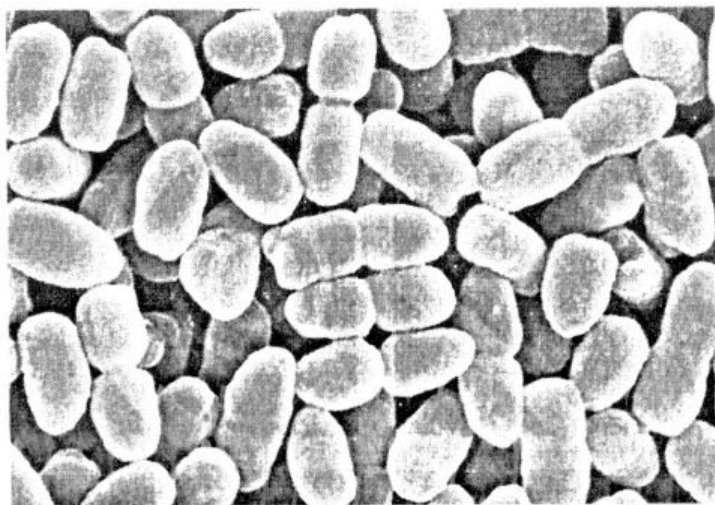
1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn ho gà hình cầu trực khuẩn, kích thước khoảng $0,3 \times 0,8 \mu\text{m}$, đứng riêng rẽ hoặc thành từng đôi, có thể thành từng chuỗi. Vi khuẩn không có lông nhưng có các sợi ngưng kết hồng cầu giống như các pili, không di động, không có vỏ, không sinh nha bào, nhuộm bắt màu Gram âm, thường hai đầu bắt màu đậm hơn.





Trực khuẩn ho gà trên tiêu bản nhuộm Gram



Trực khuẩn ho gà dưới KHM điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn ho gà hiếu khí tuyệt đối, khó nuôi cấy, phát triển chậm và khó trên môi trường nuôi cấy thông thường. Mọc chậm trên môi trường giàu chất dinh dưỡng Bordet – Gengou (B–G, môi trường không có pepton, có khoai tây, glycerol và máu). Không phát triển ở môi trường acid béo. Phát triển độc trên môi trường thạch máu, nhiệt độ thích hợp là 37°C, khuẩn lạc có sau 3–5 ngày.

Trên môi trường B–G, sau 3–5 ngày, khuẩn lạc nhỏ, mặt lồi, nhẵn bóng và sáng màu ngọc trai, có thể tan máu nhẹ. Khi cấy chuyển nhiều lần, vi khuẩn *Bordetella pertussis* trải qua bốn pha:

– Pha I: khuẩn lạc nhỏ, nhẵn, có độc tố và có kháng nguyên ngưng kết hồng cầu.

- Pha IV: là giai đoạn cuối cùng, khuẩn lạc xù xì, phát triển được trên môi trường nuôi cấy thông thường, không độc, không có kháng nguyên ngưng kết hồng cầu.
- Pha II và III: là các dạng trung gian giữa pha I và IV.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

Trực khuẩn ho gà sử dụng đường theo hình thức oxy hoá, không bao giờ lên men. Phân giải được một số acid amin theo hình thức oxy hoá sinh ra amoniac và CO_2 .

1.4. Độc lực

Trực khuẩn ho gà tiết ra ngoại độc tố có vai trò quan trọng trong cơ chế gây bệnh.

- Độc tố ho gà (pertussis toxin– PT) là một protein có phổ tác động sinh học rộng làm tăng tế bào lympho nên còn được gọi là yếu tố tăng lympho bào (LPF– lymphocytosis promoting factor).

- Trực khuẩn ho gà còn tiết ra men adenylcyclase có khả năng xâm nhập vào các tế bào viêm ở đường hô hấp làm tăng lượng adenosinmonophosphat (AMP vòng) ức chế miễn dịch tại chỗ bằng cách ức chế khả năng di động của bạch cầu đa nhân trung tính và ức chế hiện tượng thực bào.

- Độc tố tế bào khí quản (tracheal cytotoxin) gây tổn thương các tế bào có lông chuyển của biểu mô đường hô hấp.

1.5. Sức đề kháng

Trực khuẩn ho gà có sức đề kháng yếu, dễ bị tiêu diệt bởi các thuốc sát khuẩn thông thường. Vi khuẩn chết nhanh sau khi ra khỏi cơ thể.

1.6. Kháng nguyên và miễn dịch

- Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu FHA và độc tố ho gà PT là những kháng nguyên mạnh và quan trọng nhất.

- Kháng nguyên thân O chung cho các giống *Bordetella*, kháng nguyên này chịu được nhiệt độ cao.

Sau khi mắc bệnh khỏi, miễn dịch tồn tại lâu dài trong cơ thể.

2. Khả năng gây bệnh

Bệnh ho gà lây truyền bằng đường hô hấp. Trực khuẩn ho gà ký sinh bắt buộc trên tế bào niêm mạc đường hô hấp như mũi, hầu, họng, khí quản và phế quản của người. Vi khuẩn bám vào các tế bào có lông chuyển bằng các sợi ngưng kết hồng cầu mà không xâm nhập vào tế bào và máu. Vi khuẩn kết thành từng khối, tiết ra độc tố và các yếu tố khác gây tổn thương và phá huỷ tế bào, giải phóng histamin từ tổ chức tổn thương làm tăng tiết dịch, dờm dãi kích thích gây ho. Lượng dờm dãi nhiều có thể bít kín các khí quản gây xẹp phổi, nhiễm trùng

phổi nặng, ngạt thở và tử vong. Lymphocytosis promoting factor (LPF) làm tăng lympho bào ở máu ngoại vi.

Bệnh thường gặp ở trẻ em, chiếm 75% trong các trường hợp tử vong của trẻ dưới 1 tuổi. Thời gian ủ bệnh khoảng 1 tuần. Bệnh khởi phát với các triệu chứng sốt nhẹ, hắt hơi, chảy nước mũi và ho.

Thời kỳ toàn phát xuất hiện từng cơn ho đặc hiệu. Ho gà có thể có các biến chứng viêm phổi, xuất huyết kết mạc, thiếu oxy não.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Nhuộm soi

Bệnh phẩm là đờm dãi được nhuộm Gram hoặc nhuộm miễn dịch huỳnh quang trực tiếp. Kết quả cho chẩn đoán sơ bộ mà ít có giá trị chẩn đoán.

3.1.2. Nuôi cấy

Lấy bệnh phẩm ở họng mũi bằng que tăm bông mềm hoặc hứng trực tiếp bệnh phẩm vào môi trường trong cơn ho của bệnh nhân. Bệnh phẩm được cấy vào môi trường B-G, để tủ ấm 37°C, theo dõi từ 3–5 ngày, khi có khuẩn lạc thì nhuộm soi lại hình thể và xác định tính chất sinh vật hoá học. Sau đó làm phản ứng ngưng kết với kháng huyết thanh. Vi khuẩn chỉ tồn tại trong bệnh phẩm 3 tuần đầu, nuôi cấy sau đó sẽ không có kết quả.

3.1.3. Kỹ thuật khuếch đại gen PCR

Phương pháp này tìm ADN trong bệnh phẩm là đờm dãi.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

– Phòng đặc hiệu: vaccin phòng ho gà được bào chế lần đầu tiên vào năm 1926. Vaccin dùng hiện nay được làm từ vi khuẩn ho gà pha I, thường được sản xuất dưới dạng tam liên: bạch hầu, uốn ván, ho gà. Vaccin dùng cho trẻ 2, 3 và 4 tháng tuổi, dùng nhắc lại vào lúc trẻ 6–12 tháng tuổi và 4–6 tuổi. Vaccin không tạo ra miễn dịch hoàn toàn 100%, khoảng 10–20% trẻ tiêm vaccin vẫn có khả năng mắc bệnh.

– Phòng không đặc hiệu: cách ly bệnh nhân, xử lý đờm dãi, chất thải bỏ.

4.2. Điều trị

Trẻ bị ho gà cần được chăm sóc ở bệnh viện nhất là những trường hợp bệnh nặng, những cơn kịch phát. Phải bù đủ lượng dinh dưỡng và nước cần thiết cho trẻ.

Bệnh nhân thường được điều trị kháng sinh đầu tiên là erythromycin, azithromycin, co-trimoxazol trong 3–4 tuần. Ngoài ra, vi khuẩn còn nhạy cảm với amoxicillin, ampicillin, ciprofloxacin.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

1. Vi khuẩn ho gà là:

A. Trục khuẩn Gr(+)

B. Cầu trục khuẩn Gr(–)

C. Cầu trục khuẩn Gr(+)

D. Song cầu Gr(–)

2. Pha nào sau đây của trục khuẩn ho gà có độc lực cao nhất:

A. Pha I

B. Pha II

C. Pha III

D. Pha IV

3. Bệnh phẩm chẩn đoán xét nghiệm trục khuẩn ho gà:

A. Máu

B. Dịch ngoáy họng

C. Đờm dãi

D. Nước bọt

4. Đối tượng sau cần được dùng vaccin phòng ho gà:

A. Trẻ sơ sinh

B. Trẻ em

C. Trẻ bị bệnh ho gà

D. Tất cả mọi người

TRỰC KHUẨN THAN

(*Bacillus anthracis*)

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn than.
2. Nêu đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn than.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn than có hình gậy, hai đầu vuông, dài 1–5 μ m, rộng 1–2 μ m đứng riêng rẽ hoặc xếp với nhau thành chuỗi, không có lông, không di động, có nha bào, nhuộm bắt màu Gram dương... Trong bệnh phẩm vi khuẩn thường có vỏ. Nha bào hình trứng hoặc hình trụ, kích thước khoảng 1 μ m, thường ở giữa và không làm biến dạng thân vi khuẩn.

Trong môi trường nuôi cấy vi khuẩn xếp thành từng chuỗi, không có vỏ, hình thành nha bào rất sớm.



Nha bào trực khuẩn than trên tiêu bản nhuộm

1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn than hiếu khí, rất hiếm khi kỵ khí tùy tiện, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường ở nhiệt độ 35°C và pH 7–7,4. Để có trực khuẩn than không có vỏ thì nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường máu ngựa có fibrin, nhiệt độ 44°C và có CO₂. Để có trực khuẩn than không sinh nha bào thì

nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường có một lượng kalibicromat và acid, nhiệt độ 42,5 °C.

- Trong môi trường lỏng, vi khuẩn phát triển lắng xuống đáy ống như bông, nước ở phía trên trong.

- Trên môi trường đặc khuẩn lạc to, vàng nhạt và xù xì (dạng R). Ở nhiệt độ 20–30°C thì hình thành nha bào.

- Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc xù xì, dẹt, màu trắng xám có nhiều hình phẩy mọc ngoài khuẩn lạc, không tan máu hoặc tan máu rất yếu.

1.3. Tính chất sinh vật hoá học

- Lên men không sinh hơi đường glucose, mantose, levulose, saccharose.
- Không lên men đường lactose, galactose, arabinose.
- Có khả năng ly giải protein, làm lỏng gelatin.
- VP (+).

1.4. Độc tố

Trực khuẩn than có nội độc tố và ngoại độc tố. Độc tố gồm hai yếu tố: yếu tố A là lipo protein, yếu tố B là protein. Hai yếu tố này kết hợp chặt chẽ với nhau, tác dụng gần giống như độc tố của trực khuẩn Gram âm. Fish đã xác định độc tố của trực khuẩn có ba yếu tố: yếu tố gây phù, kháng nguyên bảo vệ và yếu tố gây chết.

1.5. Cấu trúc kháng nguyên

- Kháng nguyên vỏ là polypeptid, đó là chất trùng hợp của acid D- glutamic.
- Kháng nguyên thân là polyozid.
- Kháng nguyên phức hợp hoà tan, có tác dụng gây độc và gây miễn dịch khi là vaccin.

1.6. Sức đề kháng

Trực khuẩn than dễ bị chết ở 58°C/1 giờ, nhạy cảm với các chất sát khuẩn thông thường. Nha bào bị chết ở 100°C trong 10 phút hoặc các chất giàu oxy (H_2O_2 , thuốc tím). Tuy nhiên nha bào tồn tại 20–30 năm ở trong đất.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho động vật

Trực khuẩn than gây bệnh cấp tính ở động vật ăn cỏ, có thể gây bệnh cho một số động vật khác. Thường gặp thể nhiễm khuẩn huyết gây tử vong. Sau khi súc vật chết, dù được chôn sâu nhưng nha bào có thể lên mặt đất do nhiều nguyên nhân nên nha bào có trong cây cỏ, súc vật ăn cỏ sẽ dễ mắc bệnh.

2.2. Gây bệnh cho người

Người bị mắc bệnh than do tiếp xúc với da hay thịt, lông động vật bị bệnh. Bệnh thường gặp ba thể:

– *Thể da*: vi khuẩn xâm nhập qua da do tiếp xúc gây tổn thương tại chỗ. Da xuất hiện nốt phỏng, sau đó ở giữa có màu đen rồi hoại tử. Bệnh hay gặp ở người làm nghề sát sinh và thuộc da. Thể này chiếm tới 90%.

– *Thể phổi*: người mắc bệnh do vi khuẩn xâm nhập bằng đường hô hấp gây viêm phổi nặng, viêm thận, nhiễm độc, có thể nhiễm khuẩn huyết và tử vong. Thể này chiếm khoảng 5%.

– *Thể ruột*: do bệnh nhân nhiễm vi khuẩn bằng đường tiêu hoá gây xuất huyết và hoại tử hạch lympho ruột và hạch mạc treo, có thể tổn thương bạch lympho hầu, họng. Thể này rất nặng nhưng ít khi gặp.

Ở các thể bệnh trên, đa số bệnh nhân nhiễm nha bào, sau khi vào cơ thể, nha bào trở thành thể hoạt động gây phù keo tổ chức và xung huyết các mô. Trục khuẩn than tới các hạch lympho, lách rồi đến máu, từ máu đến các tổ chức cơ quan sau khi đã nhân lên rất nhanh ở máu. Do tạo thành nha bào có khả năng đề kháng cao nên vi khuẩn than được dùng làm chiến tranh sinh học. Vấn đề này đã xảy ra ở nước Mỹ năm 2001.

2.3. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật cảm nhiễm là chuột nhắt, chuột lang. Chuột chết sau khi đưa một liều nhỏ vi khuẩn vào cơ thể.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Lấy bệnh phẩm

Tuỳ thuộc vào thể bệnh mà bệnh phẩm có thể là các nốt mủ ở da, đờm, máu, nước não tủy.

3.2. Nhuộm soi

Nhuộm soi có giá trị định hướng, nhuộm Gram tìm vi khuẩn, nhuộm Ziehl Neelsen để phát hiện nha bào.

3.3. Nuôi cấy

– Bệnh phẩm là mủ, đờm, chất tiết nuôi cấy vào môi trường thông thường hoặc thạch máu, để 35–37°C, sau 24–48 giờ, quan sát khuẩn lạc và xác định các tính chất sinh vật hoá học.

– Bệnh phẩm là máu: thường tiến hành cấy máu ở tất cả bệnh nhân mắc bệnh than, thường phải theo dõi ít nhất một tuần, nếu có vi khuẩn thì xác định tính chất sinh vật hoá học.

3.4. Xác định sự có mặt của trực khuẩn

Tiến hành phản ứng ascoli: lấy một mảnh phủ tạng nghiền nhỏ, nát. Sau cho thêm một ít nước muối sinh lý, đun sôi vài phút lọc lấy nước trong cho vào ống nghiệm, nhỏ tiếp vài giọt kháng huyết thanh đặc hiệu của trực khuẩn than. Sau 15 phút nếu có hiện tượng kết tủa là phản ứng dương tính, có nghĩa là trong bệnh phẩm có trực khuẩn than.

3.5. Gây bệnh thực nghiệm

Tiêm trực tiếp bệnh phẩm vào dưới da hoặc phúc mạc của chuột lang, chuột chết sau 24–72 giờ do nhiễm khuẩn huyết.

3.6. Tìm kháng thể trong huyết thanh

Tiêm vào trong da bệnh nhân hoặc người mắc bệnh đã khỏi 0,1ml kháng nguyên chiết xuất từ màng ngoài của vi khuẩn có tính chất gây dị ứng. Sau 24–48 giờ, nếu xuất hiện một quầng đỏ tại chỗ tiêm đường kính $\geq 8\text{mm}$ là dương tính, nghĩa là trong máu bệnh nhân có kháng thể kháng lại trực khuẩn than.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

4.1.1. Phòng bệnh chung

– Phát hiện sớm động vật mắc bệnh, cách ly và điều trị kịp thời, nếu động vật chết cần chôn sâu và xử lý cùng hoá chất như vôi bột, chôn xa các nguồn nước, bãi cỏ.

– Trang bị bảo hộ lao động cho công nhân thuộc da, người giết mổ động vật.

– Đảm bảo vệ sinh môi trường ở cơ sở sát sinh, thuộc da.

4.1.2. Phòng bệnh đặc hiệu

Dùng vaccin phòng bệnh, có hai loại vaccin:

– Vaccin sống giảm độc lực chứa nha bào của chủng trực khuẩn than không còn khả năng sinh vỏ, đưa vào cơ thể bằng đường tiêm, miễn dịch khoảng một năm.

– Vaccin chứa các kháng nguyên chiết xuất từ môi trường nuôi cấy các chủng trực khuẩn than không có vỏ, đưa vào cơ thể bằng đường tiêm, miễn dịch được một năm.

4.2. Điều trị

Penicillin, tetracyclin, streptomycin là thuốc có tác dụng với trực khuẩn than, trường hợp vi khuẩn kháng penicillin thì nên phối hợp các loại kháng sinh trong điều trị.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột D cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	D	S
1	Nha bào trực khuẩn than hình thành sau khi vào cơ thể người.		
2	Trực khuẩn than chỉ phát triển được trên môi trường giàu chất dinh dưỡng		
3	Trực khuẩn than gây bệnh bằng cả nội và ngoại độc tố.		
4	Phản ứng ascoli để xác định kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân mắc bệnh than.		
5	Bệnh than thường gặp nhất là thể nhiễm trùng hoại tử da.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

6. Trực khuẩn than có tính chất sau:

- A. Có lông, di động
- B. Có nha bào
- C. Bất màu Gram âm
- D. Lên men đường lactose

7. Khuẩn lạc của trực khuẩn than không có tính chất sau:

- A. Khuẩn lạc to
- B. Khuẩn lạc vàng nhạt và xù xì
- C. Trên môi trường thạch máu ở 20–30°C thì tan máu rất ít
- D. Khuẩn lạc dạng S trên môi trường thạch thường

8. Đối tượng sau dễ bị mắc bệnh do trực khuẩn than:

- A. Người lớn
- B. Trẻ em
- C. Người làm nghề sát sinh, thuộc da
- D. Người làm ruộng

9. Bệnh phẩm chẩn đoán trực khuẩn than là:

- A. Mủ ở da
- B. Đờm
- C. Máu
- D. Tuỷ tủy thể bệnh

10. Trực khuẩn than sinh nha bào khi nuôi cấy ở điều kiện:

- A. Môi trường đặc ở 20–30°C

- B. Môi trường thạch máu
C. Môi trường máu ngựa có fibrin
D. Môi trường có kalibieromat và 42,5°C
11. Nha bào trực khuẩn than có thể tồn tại trong đất được:
A. 1–2 tháng
B. 1–2 năm
C. 10–20 năm
D. 20–30 năm
12. Loại vi khuẩn sau có khả năng sinh nha bào:
A. Trực khuẩn bạch hầu
B. Trực khuẩn than
C. Xoắn khuẩn vàng da chảy máu
D. Trực khuẩn Whitmore

TRỰC KHUẨN LAO

(*Mycobacterium tuberculosis*)

(2 tiết)

MỤC TIÊU

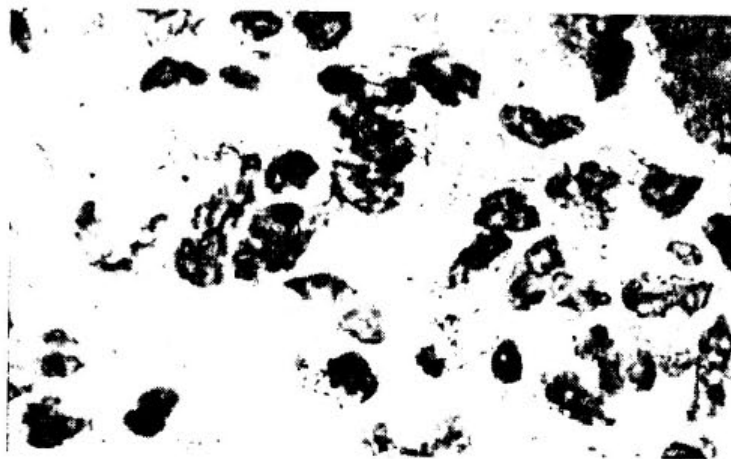
1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn lao.
2. Nêu được các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học trực khuẩn lao.

Trực khuẩn lao do Robert Koch phân lập được năm 1884 nên còn gọi là trực khuẩn Koch.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn lao có hình thẳng hoặc hơi cong, mảnh, kích thước $0,3 - 0,5 \times 2,5 \mu\text{m}$, đứng riêng rẽ hoặc thành từng đám. Vi khuẩn không có lông, không di động, không có vỏ, không sinh nha bào. Nhuộm Ziehl Neelsen vi khuẩn bắt màu đỏ. Có thể nhuộm huỳnh quang, quan sát ở kính hiển vi huỳnh quang, vi khuẩn có màu vàng sáng trên nền xanh đậm.



Trực khuẩn lao trên tiêu bản nhuộm Ziehl Neelsen

1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn lao rất hiếu khí, trong môi trường kỵ khí cũng phát triển được nhưng cần cồi và thưa thớt. Vi khuẩn phát triển rất chậm, thường sau 1–2 tháng trên môi trường mới có khuẩn lạc. Nhiệt độ thích hợp là 37°C , pH 6,7–7,0. Môi trường nuôi cấy đòi hỏi phải giàu chất dinh dưỡng.

- Trên môi trường đặc Loewenstein, vi khuẩn mọc sau khoảng một tháng, khuẩn lạc dạng R: khô, xù xì màu trắng vàng giống như chiếc súp lơ.
- Trên môi trường lỏng Sauton (môi trường tổng hợp) trực khuẩn lao mọc thành vầng nhàn nhèo, khô và dính vào thành bình, đáy có lắng cặn.

1.3. Cấu tạo

Trực khuẩn lao gồm có các thành phần:

- Lipid (lớp sáp): chiếm 40% trọng lượng khô, các chất lipid có mối liên hệ chặt chẽ với cấu trúc vách tế bào làm cho vi khuẩn có tính kháng acid. Đây là đặc điểm cấu tạo của trực khuẩn lao khác với các vi khuẩn khác. Lớp sáp đã được phân tích có nhiều yếu tố, có yếu tố gây bệnh tích, có yếu tố chỉ mang tính kháng nguyên.
- Các thành phần khác như protein, polysaccharid... Vi khuẩn có nhiều yếu tố sợi ở vách và chất nguyên sinh là những yếu tố gây bệnh.

Trên thân vi khuẩn lao có những hạt nhiễm sắc bất màu không đều, những hạt đó có tên là hạt Much. Trước đây người ta cho rằng những hạt Much có vai trò trong việc sinh sản ra các vi khuẩn mới. Sau đó hạt Much đã được xác định chỉ là những điểm nguyên sinh chất có cấu tạo khác nhau nên bất màu khác nhau mà không có vai trò trong sinh sản.

1.4. Tính chất sinh vật hoá học

- Men catalase (+).
- Men niacin (+); phosphatase (+).

1.5. Phân loại

Gây bệnh lao cho người gồm:

- *M. tuberculosis* (trực khuẩn lao người)
- *M. bovis* (trực khuẩn lao bò)
- *M. avium* (trực khuẩn lao chim)

Chúng được phân biệt với nhau bởi các tính chất:

Tính chất Loài	Màu khuẩn lạc	Nhiệt độ thích hợp	Thời gian mọc	Gây bệnh cho chuột lang	Gây bệnh cho người
<i>M.tuberculosis</i>	Vàng	37°C	30 ngày	(++)	(++)
<i>M.bovis</i>	Trắng	37°C	30 ngày	(+)	(+)
<i>M. avium</i>	Hồng	40°C	10 ngày	(-)	(+)

1.6. Sức đề kháng

Trực khuẩn lao có sức đề kháng tương đối cao với các yếu tố lý hoá so với các vi khuẩn không sinh nha bào khác.

Vi khuẩn không bị tiêu diệt bởi một số kháng sinh như penicillin hoặc với

thuốc nhuộm malachit nên những chất này thường được cho vào môi trường nuôi cấy để ức chế tập khuẩn. Vi khuẩn bị tiêu diệt ở nhiệt độ 70–80°C trong 10 phút. Trong đờm ảm vi khuẩn có thể sống được một tháng, trong sữa có thể sống được nhiều tuần. Các thuốc sát khuẩn như cresyl, javel, formaldehyt có thể tiêu diệt được vi khuẩn.

1.7. Sinh sản

Vi khuẩn lao chia đôi chậm, sau 24–36 giờ mới chia đôi một lần, ngoài ra vi khuẩn còn có hình thức sinh sản giống nấm: hai vi khuẩn tạo ra cầu nối để tạo vi khuẩn mới.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

Bệnh lao là một bệnh xã hội, lây lan dễ ở các nước kém phát triển. Nước ta có tỷ lệ bệnh lao cao. Bệnh lao gặp trên 50% ở những người bị bệnh AIDS. Trực khuẩn lao xâm nhập vào cơ thể chủ yếu theo đường hô hấp qua các giọt nước bọt gây lao phổi (90% các bệnh lao). Các mô của phế nang bị vi khuẩn xâm nhập tạo ra các ổ chứa vi khuẩn, sau đó đến hạch lympho trong vùng rồi đến các mô khác. Trực khuẩn lao có thể xâm nhập vào cơ thể qua đường tiêu hoá (thường qua sữa bò tươi) gây lao dạ dày, ruột. Ngoài ra, trực khuẩn lao còn có thể vào cơ thể qua da, giác mạc, sinh dục nhưng rất hiếm.

Từ các cơ quan bị nhiễm lao đầu tiên, trực khuẩn lao theo đường máu hay đường bạch huyết đi khắp cơ thể gây bệnh lao thứ phát như lao màng não, lao màng bụng, lao xương, khớp, hạch, thận...

Vi khuẩn lao không có nội và ngoại độc tố, người ta chưa xác định được yếu tố độc lực của trực khuẩn lao, có thể là tập hợp của nhiều yếu tố trong đó sợi và lớp sáp (lipid) ở vách tế bào có ý nghĩa quan trọng.

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.

2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Chuột lang là súc vật thường được dùng nhất để gây bệnh thực nghiệm. Ngoài ra thỏ, khỉ cũng cảm nhiễm đối với trực khuẩn lao.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

Bệnh phẩm có thể là đờm, phân, nước não tủy, nước tiểu... tùy theo từng thể bệnh lao. Bệnh phẩm có thể được tiến hành xét nghiệm trực tiếp hoặc sau khi xử lý với hoá chất để làm lỏng đờm và diệt tập khuẩn. Sau đó ly tâm lấy cặn nhuộm soi hoặc nuôi cấy.

3.1. Nhuộm soi trực tiếp

Làm tiêu bản từ bệnh phẩm, nhuộm Ziehl Neelsen hoặc nhuộm huỳnh quang. Phát hiện vi khuẩn kháng acid trong bệnh phẩm cho chẩn đoán sơ bộ vì chưa xác định được vi khuẩn lao. Trên thực tế, dựa vào số lượng từ 10–99 vi khuẩn trên 100 vi trường kết hợp với các dấu hiệu lâm sàng và X quang là rất có giá trị trong chẩn đoán. Nhuộm soi trực tiếp là phương pháp được sử dụng chủ yếu trong chẩn đoán bệnh lao, nếu dương tính được gọi là AFB + (Acid Fast Bacillus – trực khuẩn kháng acid), trước đây gọi là BK (+).

3.2. Nuôi cấy

Bệnh phẩm sau khi đã được xử lý nuôi cấy trên môi trường lỏng Sauton hoặc môi trường đặc Loewenstein, hoặc cả hai môi trường. Để nhiệt độ 37°C, theo dõi vài tuần đến vài tháng. Nếu có khuẩn lạc thì nhận xét hình thái, nhuộm soi hình thể. Khi thấy có trực khuẩn kháng acid thì xác định tính chất sinh vật hoá học. Kỹ thuật nuôi cấy tìm vi khuẩn lao cho kết quả rất chậm nên chẩn đoán thường dựa vào các kỹ thuật khác. Hiện nay một số môi trường nuôi cấy nhanh đang được nghiên cứu để sử dụng vào chẩn đoán bệnh lao.

3.3. Gây bệnh thực nghiệm

Đây là phương pháp nhạy nhất và được dùng trong trường hợp cả hai phương pháp trên không xác định được.

Tiêm bệnh phẩm hoặc vi khuẩn đã nuôi cấy được vào dưới da đuôi chuột lang, theo dõi chuột từ 2–5 tuần, chuột gầy mòn và chết nhanh. Mổ chuột thấy hạch lympho to. Phổi có nốt bã đậu, có hoại tử và có các hạt lao. Gan có nhiều hạt lao, dễ nát. Lách to nhanh gấp 2–3 lần bình thường, có những hạt lao.

3.4. Phản ứng mantoux

Mantoux là một phản ứng có nguyên lý là đưa một lượng kháng nguyên tuberculin được tinh chế từ trực khuẩn lao vào trong da bệnh nhân. Đọc kết quả sau 72 giờ, ở những bệnh nhân lao hoặc những người đã nhiễm trực khuẩn lao thì tại nơi tiêm sẽ xuất hiện một phản ứng dị ứng đặc hiệu trong da: nổi quầng đỏ quanh chỗ tiêm, nền cứng, đường kính to nhỏ khác nhau tùy mức độ. Nếu đường kính nền cứng từ 1cm trở lên là phản ứng dương tính, tức là cơ thể có miễn dịch đối với trực khuẩn lao. Đường kính nhỏ hơn 1cm là phản ứng âm tính, cơ thể chưa có hoặc chưa đầy đủ miễn dịch với vi khuẩn lao. Khi đường kính nền cứng từ 2cm trở lên là bệnh nhân đang mắc bệnh lao. Tuy nhiên, cơ thể những người đang bị bệnh lao nhưng cơ thể suy giảm miễn dịch hoặc đang bị lao nặng cơ thể đã suy kiệt có thể cho phản ứng âm tính.

3.5. Phản ứng khuếch đại gen PCR

Phản ứng cho kết quả nhanh, chính xác, áp dụng tốt cho các chẩn đoán lao ngoài

phổ biến nhưng chỉ thực hiện được ở cơ sở có điều kiện. Đây là kỹ thuật có độ nhạy và đặc hiệu cao nhưng đắt.

Tiêu chuẩn chẩn đoán trực khuẩn lao:

- Trực khuẩn kháng cồn và acid.
- Men niacin (+), catalase (+).
- Gây bệnh cho chuột lang.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng đặc hiệu: dùng vaccin BCG (Bacillus Calmette Guerin) cho trẻ sơ sinh. Trẻ lớn và người lớn chỉ dùng khi phản ứng Mantoux âm tính. Đây là loại vaccin sống lấy trực khuẩn lao bò cấy chuyển nhiều lần trên môi trường có mật bò làm cho trực khuẩn mất khả năng gây bệnh nhưng gây được miễn dịch tốt.

Các biện pháp khác: nâng cao đời sống vật chất và tinh thần, cải thiện điều kiện sống và làm việc. Phát hiện sớm bệnh nhân lao và điều trị triệt để.

4.2. Điều trị

Các thuốc điều trị trực khuẩn lao như INH, rifampicin, pyrazinamid, ethambutol được dùng phối hợp và điều trị trong thời gian dài trong 6–9 tháng (trừ pyrazinamid điều trị trong 2 tháng).

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Phản ứng Mantoux để đánh giá tình trạng cơ thể có nhiễm vi khuẩn lao		
2	BCG là loại vaccin được sản xuất từ trực khuẩn lao bò		
3	Trực khuẩn lao gây miễn dịch qua trung gian tế bào		
4	Trực khuẩn lao chia đôi sau 20–30 phút một lần		
5	Vì kháng cồn và acid nên sau khi nhuộm Ziehl Neelsen, trực khuẩn lao bắt màu đỏ		
6	Trên các môi trường nuôi cấy trực khuẩn lao, khuẩn lạc có sau 24 giờ		
7	Trực khuẩn lao chỉ phát triển trên môi trường giàu chất dinh dưỡng		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

8. Trục khuẩn lao không có tính chất sau:

- A. Kháng cồn và acid
- B. Hiếu khí
- C. Bất màu đỏ khi nhuộm Gram
- D. Phát triển chậm

9. Trên môi trường nuôi cấy, mỗi lần chia đôi của trục khuẩn lao cần thời gian:

- A. 30 phút
- B. 20–30 phút
- C. 24–36 giờ
- D. 24 giờ

10. Phản ứng Mantoux được đọc kết quả sau:

- A. 24 giờ
- B. 72 giờ
- C. 2–5 ngày
- D. 24–48 giờ

11. Trên môi trường đặc, khuẩn lạc của trục khuẩn lao có đặc điểm:

- A. Dạng S
- B. Dạng R
- C. Nhày dính
- D. Dạng M

12. Vaccin BCG phòng bệnh lao là:

- A. Vi khuẩn *mycobacterium* sống
- B. Vi khuẩn *mycobovis* chết
- C. Vi khuẩn *mycobovis* sống giảm độc lực
- D. Độc tố của trục khuẩn lao

13. Trục khuẩn lao kháng cồn và acid do:

- A. Lớp vỏ dày
- B. Lớp sáp nhiều
- C. Không bị kháng sinh tiêu diệt
- D. Có nha bào

14. Bệnh phẩm chẩn đoán bệnh lao là:

- A. Đờm
- B. Phân
- C. Nước não tủy
- D. Tủy theo từng bệnh

15. Vaccin BCG được dùng tốt nhất cho:

- A. Trẻ sơ sinh
- B. Trẻ 9–11 tháng
- C. Tất cả mọi người
- D. Người tiếp xúc với bệnh nhân lao

16. Miễn dịch chủ yếu sau khi bệnh nhân mắc bệnh lao khỏi là:

- A. Miễn dịch dịch thể
- B. Miễn dịch qua trung gian tế bào
- C. Miễn dịch dị ứng
- D. Miễn dịch thu được thụ động

17. Đặc điểm nào là đặc trưng của nhóm vi khuẩn kháng acid:

- A. Phát triển chậm
- B. Lớp sáp nhiều
- C. Phát triển dễ dàng trong môi trường
- D. Không nuôi cấy được trên môi trường

18. Trục khuẩn lao có thể bị tiêu diệt bởi yếu tố nào sau đây:

- A. Cồn
- B. Ánh sáng mặt trời
- C. INH
- D. Cả ba yếu tố trên

19. Kết quả của thử nghiệm mantoux có giá trị chẩn đoán bệnh lao trong trường hợp nào:

- A. $\geq 2\text{cm}$
- B. $\geq 1\text{cm}$
- C. $\geq 14\text{mm}$
- D. 1–2cm

20. Thời gian đọc kết quả của thử nghiệm mantoux:

- A. 24–48 giờ
- B. 72 giờ
- C. 2–5 ngày
- D. 48 giờ

TRỰC KHUẨN PHONG

(*Mycobacterium leprae*)

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn phong.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học của trực khuẩn phong.

Trực khuẩn phong được Hansen, người Na Uy phát hiện năm 1874 nên còn được gọi là trực khuẩn Hansen. Ở Việt Nam còn có tên khác là trực khuẩn hủi hoặc cùi.

1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn phong có hình dạng giống trực khuẩn lao nhưng mập hơn và kháng cồn acid ít hơn, kích thước $0,5 \times 1-5 \mu\text{m}$. Nhuộm Ziehl Neelsen bắt màu đỏ nhưng dễ bị mất màu hơn khi tẩy bằng cồn và acid. Trên tiêu bản thường thấy vi khuẩn đứng với nhau thành từng đám như bó củi, thường có ở tế bào bị xâm nhập. Trực khuẩn phong không có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào.



Mycobacterium leprae

1.2. Cấu tạo

Trực khuẩn phong có cấu tạo giống trực khuẩn lao nhưng lớp sáp ít hơn nên ít kháng cồn và acid hơn trực khuẩn lao.

1.3. Tính chất nuôi cấy và tiêm truyền

Hiện nay chưa nuôi cấy được trực khuẩn phong trên môi trường nhân tạo. Năm 1959 đã tiêm truyền trực khuẩn phong cho chuột thuần chủng thấy vi khuẩn nhân lên chậm ở lòng bàn chân chuột. Năm 1970, việc tiêm truyền trực khuẩn phong cho con Trút (Armadillos) đã đem lại hy vọng cho việc nuôi cấy vi khuẩn phong vì đây là động vật có nhiệt độ cơ thể thấp nên là ký chủ thích hợp của trực khuẩn phong. Khi tiêm truyền vào chuột Hamster, trực khuẩn phong sinh sản nhanh tại chỗ tiêm, như vậy có thể giữ chủng vi khuẩn để nghiên cứu.

1.4. Độc tố và enzym

Chưa hiểu biết đầy đủ về độc tố và enzym, tuy nhiên đã phát hiện được một số chất gây dị ứng của trực khuẩn phong.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Vấn đề lây truyền của bệnh phong

Trực khuẩn phong gây bệnh tự nhiên cho người. Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể chủ yếu qua đường da, có thể đường qua niêm mạc. Bệnh phong có lây nhưng khó lây hơn bệnh lao, không di truyền. Thời gian ủ bệnh trung bình 3–5 năm. Có trường hợp ủ bệnh rất dài tới vài chục năm. Về đối tượng mắc bệnh thì theo một số điều tra cho thấy người trưởng thành có tỷ lệ mắc bệnh nhiều hơn trẻ em. Lứa tuổi 11–15 dễ mắc bệnh hơn, người ta cho rằng ở tuổi dậy thì có nhiều biến loạn về nội tiết do đó cơ thể dễ mắc bệnh hơn.

2.2. Các thể bệnh

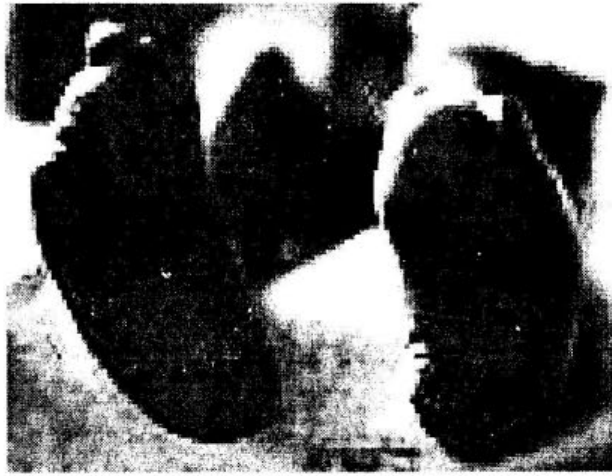
Bệnh phong có ba thể lâm sàng:

– *Phong ác tính (phong u):* Leprae Lepromateur – Ký hiệu LL: có những thương tổn lớn ở da, niêm mạc và các cơ quan. Tổn thương thần kinh nặng, tê liệt dây thần kinh, tổn thương thần kinh dẫn đến teo cơ, co rút các ngón tay, chân, rụng các đốt xương gây tàn phế. Tổn thương tạo thành u cục lớn ngoài da, nhất là vùng sụn mũi khiến bệnh nhân có bộ mặt dị dạng.

Thể này trong nước mũi có nhiều trực khuẩn, có khả năng lây mạnh nhất.

– *Phong củ:* Leprae Tuberculoide – ký hiệu LT.

Thể này còn gọi là phong lành tính, tổn thương thường thấy ở da và niêm mạc, tổn thương thần kinh nhẹ. Các tổn thương ít vi khuẩn. Đây là thể nhẹ nhất, bệnh tiến triển chậm.



– *Phong bất định*: Leprae Indeterminer – ký hiệu LI. Còn gọi là phong trung gian. Biểu hiện lâm sàng trung gian giữa hai thể trên. Có thể trở thành phong ác tính hoặc phong củ.

Sau khi nhiễm trực khuẩn phong hoặc sau mắc bệnh phong, miễn dịch trong bệnh phong là miễn dịch qua trung gian tế bào.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Lấy bệnh phẩm

– Dùng que tăm bông vô khuẩn ngoáy lấy dịch tiết ở hốc mũi. Kỹ thuật này phải tiến hành 3–7 ngày liên mới kết luận được có vi khuẩn trong hốc mũi hay không. Nếu bệnh nhân không có nước mũi có thể cho uống thuốc để kích thích sự xuất tiết.

– Tại các tổn thương: dùng kẹp có móc kẹp một miếng da vùng tổn thương làm tiêu bản, chú ý lấy vùng ranh giới giữa nơi lành và nơi tổn thương.

– Trong thể phong ác tính, ngoài chất tiết niêm mạc mũi có trực khuẩn phong, máu, nước tiểu, dịch hầu họng cũng có trực khuẩn.

3.2. Nhuộm soi trực tiếp

Làm tiêu bản nhuộm Ziehl Neelsen hoặc nhuộm huỳnh quang, có thể thấy trực khuẩn phong đứng thành từng đám, như bó củi, bắt màu đỏ nhạt.

3.3. Sinh thiết

Sinh thiết tổ chức làm tiêu bản nhuộm tế bào để nhận định tế bào tổn thương và tìm vi khuẩn trong tế bào.

Trong thể phong ác tính thường có tế bào Virchow có nhiều lỗ hồng, trong có nhiều trực khuẩn phong xếp thành từng cụm.

Trong thể phong củ thường có tế bào khổng lồ, trong có rải rác trực khuẩn phong.

Ở thể phong bất định tế bào thượng bì hay teo, ít khi tìm thấy vi khuẩn.

3.4. Phản ứng Mitsuda

Phản ứng này để đánh giá và tiên lượng bệnh phong. Lấy kháng nguyên là nước nghiền từ phong củ tiêm vào trong da, đọc kết quả sau 2– 3 tuần bằng cách đo đường kính nốt quầng đỏ khi tiêm.

- 3 – 5 mm là +.
- 5 – 10 mm là ++.
- > 10 mm là +++.

Phản ứng Mitsuda dương tính ở thể phong củ và âm tính ở thể phong ác tính, thể bất định có thể âm tính hoặc dương tính. Tuy nhiên, bệnh nhân lao hoặc người đã tiêm BCG cũng cho phản ứng dương tính.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

- Cách ly bệnh phong ác tính kịp thời. Các thể khác có thể điều trị tại nhà hoặc tại các trại điều trị tập trung.
- Tiêm vaccin BCG có tác dụng phòng bệnh phong.
- Cải thiện đời sống cộng đồng, vệ sinh cá nhân tốt.

4.2. Điều trị

Trước đây người ta quan niệm bệnh phong không chữa được. Hiện nay có nhiều thuốc điều trị khỏi hoàn toàn bệnh phong. Thuốc thường được dùng điều trị là DDS (Diamino Diphenyl Sulfon)

Các thuốc điều trị khác: rifampicin, dapson, clofazimin.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Trực khuẩn phong có khả năng kháng cồn và acid.		
2	Khi phản ứng Mitsuda (+) chứng tỏ bệnh nhân đã nhiễm trực khuẩn phong.		
3	Nhuộm soi có thể không thấy trực khuẩn phong trong thể phong củ.		
4	Trực khuẩn phong phát triển trên môi trường giàu chất dinh dưỡng.		
5	Bằng phương pháp nhuộm Ziehl Neelsen trực khuẩn phong bắt màu đỏ.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

- 6.** Điểm khác biệt giữa trực khuẩn phong với trực khuẩn lao là
- A. Bắt màu đỏ khi nhuộm Ziehl Neelsen
 - B. Không có vỏ
 - C. Kháng cồn và acid
 - D. Không nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo
- 7.** Bệnh phẩm sau được dùng cho chẩn đoán bệnh phong:
- A. Đờm
 - B. Lấy tổn thương da
 - C. Dịch tiết hốc mũi
 - D. Cả B+C
- 8.** Triệu chứng chủ yếu của phong củ:
- A. Bệnh nhân có vẻ mặt sư tử
 - B. Rụng các đốt chân tay
 - C. Tổn thương ở da và niêm mạc
 - D. Tổn thương thần kinh nặng
- 9.** Trực khuẩn phong có các tính chất sau, trừ:
- A. Kháng cồn và acid ít hơn trực khuẩn lao
 - B. Không có vỏ
 - C. Thường đứng với nhau thành từng đám
 - D. Khuẩn lạc dạng R
- 10.** Phản ứng Mitsuda có đặc điểm:
- A. Kháng nguyên biết trước
 - B. Kháng thể biết trước
 - C. A hoặc B
 - D. Chỉ (+) ở thể phong u

XOẮN KHUẨN GIANG MAI

(*Treponema pallidum*)

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của xoắn khuẩn giang mai.
2. Nêu đầy đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học của xoắn khuẩn giang mai.

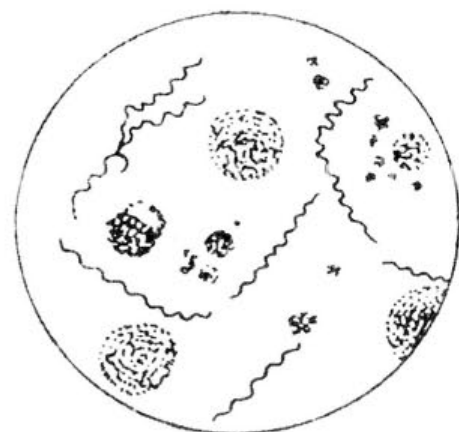
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

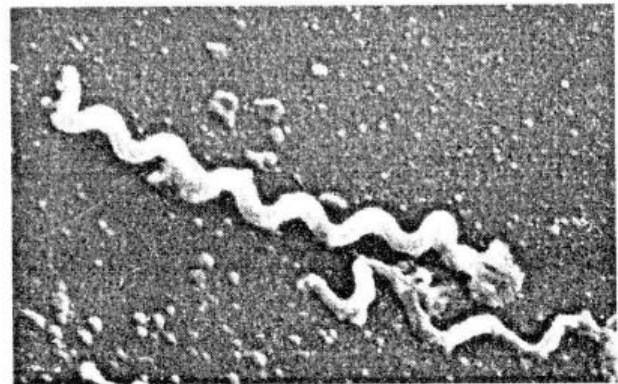
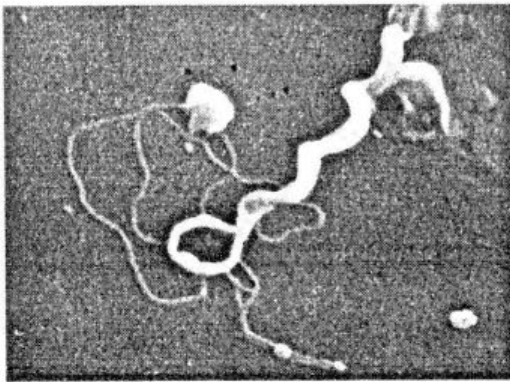
Xoắn khuẩn giang mai rất mảnh, hình xoắn như lò xo, kích thước rộng $0,2\mu\text{m}$, dài $5-15\mu\text{m}$, thường có 8-14 vòng xoắn đều đặn. Vi khuẩn không sinh nha bào. Trên kính hiển vi điện tử thấy hai đầu có lông nhưng vi khuẩn không di động bằng lông mà chuyển động chủ yếu do sự uốn khúc các vòng xoắn và quay quanh một trục. Soi tươi trên kính hiển vi nền đen thấy xoắn khuẩn chuyển động quay tròn gần như không di chuyển vị trí. Nhuộm bằng phương pháp Fontana Tribondeau xoắn khuẩn có màu vàng nâu trên nền vàng, hình sin đều đặn.



Treponema pallidum
trên kính hiển vi nền đen



Treponema pallidum
trên tiêu bản nhuộm



Xoắn khuẩn giang mai dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Hiện nay chưa có môi trường nhân tạo nuôi cấy xoắn khuẩn giang mai. Năm 1984, Nelson và Mayer đã điều chế được môi trường cơ bản có thể giữ cho xoắn khuẩn sống được vài ngày (gọi là môi trường sống dư). Nhờ có môi trường này để có xoắn khuẩn làm các phản ứng huyết thanh đặc hiệu. Phương pháp giữ chủng giang mai từ năm 1911 đến nay vẫn là tiêm truyền liên tục vào tinh hoàn thỏ, sau 7–9 ngày tinh hoàn thỏ bị viêm, tiếp tục lấy dịch tiêm cho con thỏ khác.

1.3. Cấu trúc kháng nguyên

Xoắn khuẩn giang mai có bốn nhóm kháng nguyên được nghiên cứu:

- Kháng nguyên cardiolipid: kháng nguyên này chung cho tất cả các *Treponema* và có trong tổ chức của động vật, đặc biệt trong tim và gan có nhiều chất này. Kháng nguyên này dùng để phát hiện kháng thể trong phản ứng VDRL, KLINE.
- Kháng nguyên protein chuyên biệt cho nhóm, có ở tất cả các *Treponema* gây bệnh và không gây bệnh, dùng để phát hiện kháng thể trong phản ứng kết hợp bổ thể.
- Kháng nguyên polyozid của vỏ: đây là kháng nguyên đặc hiệu của xoắn khuẩn giang mai dùng trong phản ứng miễn dịch huỳnh quang.
- Kháng nguyên thân: kháng nguyên này tạo ra kháng thể được ứng dụng trong phản ứng bất động xoắn khuẩn của Nelson.

1.4. Sức đề kháng

Xoắn khuẩn giang mai rất nhạy cảm với các yếu tố lý học, hoá học. Vi khuẩn bị tiêu diệt bởi các chất sát khuẩn thông thường như thuỷ ngân, bismuth, với pH và kháng sinh. Xoắn khuẩn này dễ chết ở nhiệt độ phòng đặc biệt ở điều kiện khô. Ở nhiệt độ 40⁰C vi khuẩn chết sau 3 giờ, ở nhiệt độ 50⁰C chết sau 1 giờ. Ở tủ lạnh, xoắn khuẩn giang mai tồn tại trong máu được 3–4 ngày.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

2.1.1. Giang mai mắc phải

Giang mai là một bệnh xã hội hiện nay rất ít gặp. Xoắn khuẩn giang mai xâm nhập vào cơ thể chủ yếu qua đường tình dục. Có thể lây nhiễm qua da xây xát, niêm mạc mắt, miệng nhưng rất hiếm. Bệnh diễn biến qua ba thời kỳ:

– *Giang mai thời kỳ I*: sau khi xâm nhập vào cơ thể, khoảng 10–30 ngày sau xuất hiện các vết loét (chancre), hay còn gọi là vết trọt ở bộ phận sinh dục. Vết loét không ngứa, không đau, loét nông và nền cứng. Trong vết loét có nhiều xoắn khuẩn, thời kỳ này dễ lây lan. Nếu không điều trị thì sau vài tuần vết loét cũng lành mà không để lại sẹo. Vi khuẩn sẽ tiếp tục vào máu. Thời kỳ này có các hạch vùng lân cận sưng rắn.

– *Giang mai thời kỳ II*: giai đoạn này bắt đầu từ 4–8 tuần sau khi có vết loét hoặc lâu hơn. Tổn thương ngoài da xuất hiện khắp người với các dát màu hoa đào (vì vậy còn gọi là giai đoạn đào ban), hay gặp nhất ở cổ và gáy. Trong các dát có ít vi khuẩn nhưng vẫn có khả năng lây lan. Giai đoạn này có thể bệnh nhân sốt nhẹ, nhức đầu, rụng tóc.

– *Giang mai thời kỳ III*: thời kỳ này chỉ có ở ít bệnh nhân không được điều trị. Sau thời gian dài từ vài năm tới vài chục năm, tổn thương ăn sâu vào tổ chức tạo nên các "gôm" (gumma) giang mai ở da, xương, gan, tim mạch và đặc biệt là hệ thần kinh. Rất ít khi thấy vi khuẩn trong các "gôm" giang mai. Giai đoạn này bệnh nhân sốt, nhức đầu, đau khớp.

2.1.2. Giang mai bẩm sinh

Phụ nữ bị bệnh giang mai khi có thai từ tháng thứ 4 trở đi xoắn khuẩn có thể qua rau thai vào thai nhi gây sảy thai, thai chết lưu, quái thai hoặc giang mai bẩm sinh: trẻ đẻ ra có những mụn phỏng ở lòng bàn tay bàn chân trong có nhiều xoắn khuẩn. Có thể giang mai chậm phát sau 5–6 năm, thậm chí khi trưởng thành mới biểu hiện bệnh.

2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Có thể gây bệnh thực nghiệm bằng cách đưa xoắn khuẩn vào da hoặc mắt thỏ. Hoặc tiêm truyền để nhân giống thì tiêm xoắn khuẩn vào tinh hoàn thỏ.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Thường áp dụng cho giang mai thời kỳ I bằng cách lấy bệnh phẩm là chất tiết ở các vết loét bộ phận sinh dục. Có thể lấy bệnh phẩm ở các nốt đào ban thời kỳ II nhưng ít được sử dụng. Nếu có hạch có thể dùng bơm kim tiêm chọc hút dịch hạch.

– Soi tươi trên kính hiển vi nền đen: chỉ áp dụng được ở những nơi có kính hiển vi nền đen.

– Nhuộm soi: nhuộm Fontana Tribondeau: xoắn khuẩn có màu vàng nâu trên nền vàng.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Việc tìm kháng thể trong huyết thanh thường được tiến hành ở giai đoạn mai thời kỳ II hoặc III. Có thể ở cuối thời kỳ I cũng có kháng thể trong huyết thanh.

3.2.1. Các phản ứng dùng kháng nguyên không đặc hiệu

Sử dụng kháng nguyên là lipoid để phát hiện kháng thể reagin trong huyết thanh bệnh nhân. Nguồn kháng nguyên này dễ sản xuất vì là cardiolipin chiết xuất từ tim bò nhưng có cấu trúc gần giống chất lipoid của xoắn khuẩn giang mai, cho nên khi gặp kháng thể do xoắn khuẩn giang mai kích thích cơ thể sinh ra thì vẫn cho phản ứng.

Tuy nhiên, vì là kháng nguyên không đặc hiệu nên có thể có những trường hợp phản ứng dương tính giả trong một số bệnh khác như sốt rét, thận hư nhiễm mỡ, phong, lupus... Do đó cần phải làm hai lần hoặc những trường hợp nghi ngờ dương tính giả nên kết hợp nhiều phương pháp để kiểm tra kết quả.

Với kháng nguyên cardiolipin có thể làm các phản ứng sau:

– Phản ứng lên bông VDRL hoặc phản ứng RPR: hai phản ứng này được dùng để chẩn đoán và để theo dõi điều trị bệnh giang mai vì sau điều trị 6–18 tháng, phản ứng sẽ cho kết quả âm tính. Ngoài ra, trong điều tra hàng loạt, có thể dùng phản ứng giọt máu Citochol, kỹ thuật đơn giản và cho kết quả nhanh.

– Phản ứng kết hợp bổ thể BW: phản ứng này tiến hành phức tạp, kết quả cũng có giá trị như các phản ứng khác nên hiện nay ít được dùng.

– Phản ứng KLINE hiện nay ít dùng.

3.2.2. Các phản ứng dùng kháng nguyên đặc hiệu

Các phản ứng dùng kháng nguyên đặc hiệu đều có độ nhạy cao, chính xác.

– *Phản ứng TPI* (Treponema pallidum Immobilisation): 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, xoắn khuẩn giang mai sẽ bị bất động.

– *Phản ứng FIA* (Fluorescence Treponema Antibody): phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp. Dùng xoắn khuẩn đã bị giết trộn với huyết thanh bệnh nhân và kháng kháng thể gắn huỳnh quang. Nếu có kháng thể đặc hiệu, xoắn khuẩn sẽ phát sáng dưới kính hiển vi huỳnh quang.

– *Phản ứng TPHA* (Treponema Pallidum Haemagglutination): phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động. Dùng kháng nguyên là xoắn khuẩn giang mai hấp

phụ trên mặt tế bào hồng cầu. Nếu trong huyết thanh có kháng thể, kháng thể sẽ kết hợp với xoắn khuẩn giang mai làm cho hồng cầu bị ngưng kết lại với nhau.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

- Giải quyết các tệ nạn xã hội.
- Giáo dục nếp sống lành mạnh, tình yêu chung thủy.
- Giáo dục tình dục an toàn.
- Phát hiện sớm và điều trị kịp thời bệnh nhân giang mai.

4.2. Điều trị

Penicillin, tetracyclin. Penicillin có tác dụng điều trị rất tốt để tiêu diệt được xoắn khuẩn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Môi trường nuôi cấy xoắn khuẩn giang mai phải giàu chất dinh dưỡng vì khuẩn mới phát triển được		
2	Chẩn đoán huyết thanh giang mai có thể tiến hành ở cuối giai đoạn I		
3	Có thể quan sát sự di động của xoắn khuẩn giang mai ở kính hiển vi nền đen		
4	Giang mai giai đoạn III có khả năng lây mạnh nhất		
5	Các phản ứng huyết thanh được dùng phổ biến hiện nay để chẩn đoán bệnh giang mai có kháng nguyên đặc hiệu		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

6. Xoắn khuẩn giang mai có tính chất sau:

- A. Phát triển được ở môi trường giàu chất dinh dưỡng
- B. Có vỏ và sinh nha bào
- C. Di động nhờ sự uốn khúc
- D. Không bị kháng sinh tiêu diệt

7. Mục đích của phản ứng VDRL:

- A. Tìm kháng nguyên
- B. Tìm kháng thể
- C. Xác định độc tố
- D. Tìm vi khuẩn

8. Thử nghiệm nào sau đây phải sử dụng kính hiển vi nền đen:

- A. VDRLB.
- B. BW
- C. FIA
- D. TPI

9. Bệnh phẩm nào sau đây được dùng để chẩn đoán bệnh giang mai giai đoạn II trở đi:

- A. Máu
- B. Dịch niệu đạo
- C. Dịch vết trọt
- D. Nước tiểu

10. Tính chất sau không có ở xoắn khuẩn giang mai:

- A. Dễ bị tiêu diệt bởi xà phòng
- B. Bất màu nâu đen khi nhuộm Fantana Tribondeau
- C. Gây viêm tinh hoàn thỏ
- D. Phát triển tốt ở môi trường thạch máu

11. Tổn thương của bệnh giang mai giai đoạn I có tính chất

- A. Vết trọt sâu, rộng
- B. Vết trọt nông, nền cứng
- C. Vết trọt nhiều mủ
- D. Vết trọt không có xoắn khuẩn

12. Phụ nữ bị giang mai có thể dẫn đến hậu quả:

- A. Sảy thai
- B. Đẻ non
- C. Quái thai
- D. Tất cả các trường hợp trên

13. Soi tươi tìm xoắn khuẩn giang mai bằng dụng cụ sau:

- A. Kính hiển vi nền đen
- B. Kính hiển vi quang học
- C. Kính hiển vi huỳnh quang
- D. Kính hiển vi điện tử

XOẮN KHUẨN *LEPTOSPIRA*

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của xoắn khuẩn *Leptospira*.
2. Nêu đủ các phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học của xoắn khuẩn *Leptospira*.

Bệnh do xoắn khuẩn *Leptospira* do Weil (người Đức) phát hiện năm 1886 nhưng đến năm 1915 mới tìm thấy xoắn khuẩn.

Leptospira thuộc họ *Spirochetaceae*, gồm hai loại là *L.biflexa* sống hoại sinh trong nước và *L.interrogans* gây bệnh *Leptospirose* cho người và động vật.

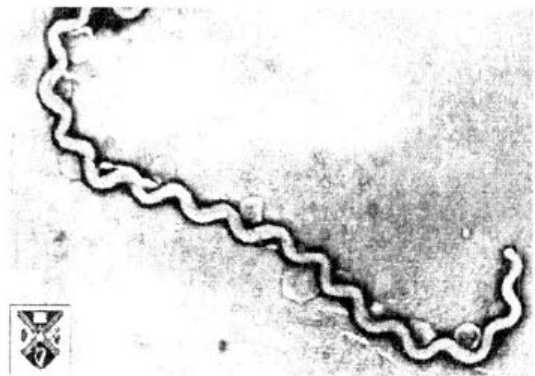
1. Đặc điểm sinh vật học

1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Vi khuẩn hình sợi dài, rất mảnh, dài 4–25 μm , rộng 0,1– 0,2 μm gồm 15–30 vòng xoắn nhỏ và sát nhau, hai đầu cong như hình chữ C. Soi tươi trên kính hiển vi nền đen thấy xoắn khuẩn di động mạnh. Nhuộm phương pháp thẩm bạc Fontana Tribondeau vi khuẩn bắt mau vàng nâu trên nền vàng, các vòng xoắn không đều nhau.



Xoắn khuẩn *Leptospira* dưới KHV nền đen



Xoắn khuẩn *Leptospira* dưới KHV điện tử

1.2. Tính chất nuôi cấy

Leptospira là xoắn khuẩn duy nhất nuôi cấy được trong điều kiện hiếu khí. Vi khuẩn thích hợp ở nhiệt độ 28–30°C, pH 7,2–7,5. Thường nuôi cấy xoắn khuẩn

trong môi trường lỏng có thêm huyết thanh tươi của thỏ, *Leptospira* phát triển chậm, sau 5–10 ngày làm vẩn nhẹ môi trường như khói thuốc lá.

1.3. Cấu trúc kháng nguyên

– *Kháng nguyên thân*: bản chất là lipopolysaccharid, kháng nguyên này chung cho tất cả các *Leptospira*.

– *Kháng nguyên bề mặt*: kháng nguyên gây ngưng kết, kháng nguyên này khác nhau giữa các typ. Hiện nay người ta đã chia *Leptospira* ra 23 nhóm bao gồm 140 typ huyết thanh. Giữa các typ có ngưng kết chéo một phần gây khó khăn cho chẩn đoán. Ở Việt Nam đã phát hiện được 12 typ huyết thanh.

1.4. Sức đề kháng

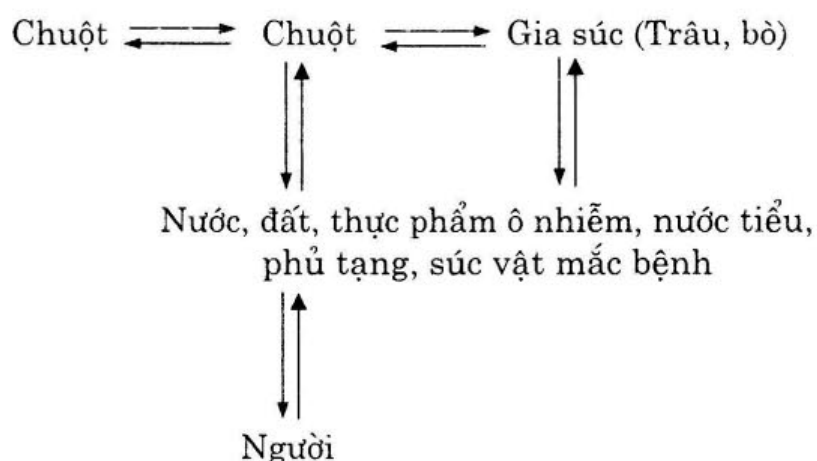
Leptospira có sức đề kháng yếu song còn cao hơn các xoắn khuẩn khác. Vi khuẩn bị tiêu diệt ở 50°C/10 phút, chết nhanh ở các môi trường acid. Ánh sáng và các thuốc sát khuẩn thông thường dễ tiêu diệt được xoắn khuẩn. Tuy nhiên, xoắn khuẩn chịu được lạnh, trong nước sống được khoảng ba tuần. Sống dai dẳng trong bùn lầy, nước đọng, thích hợp nhất là nước cống rãnh, đồng ruộng, khe suối.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Gây bệnh cho người

– *Dây chuyền dịch tễ*:

Leptospira gây nhiễm khuẩn cấp tính chủ yếu cho động vật và gia súc, từ động vật lây sang người. ổ chứa mầm bệnh thường xuyên là các loài gặm nhấm và chúng đào thải vi khuẩn qua nước tiểu. Đường lây truyền chủ yếu qua da xây xước, vết thương hoặc niêm mạc. Có thể lây nhiễm qua đường tiêu hoá, cá biệt là đường hô hấp.



– *Diễn biến bệnh*:

+ *Thời kỳ I*: thời gian ủ bệnh 1–2 tuần. Sau đó sốt cao đột ngột kéo dài 3–8 ngày.

Triệu chứng chính là đau cơ, xung huyết và xuất huyết da và niêm mạc. Thời kỳ này trong máu có nhiều vi khuẩn.

+ *Thời kỳ II*: xoắn khuẩn khu trú và gây tổn thương các cơ quan nội tạng. Biểu hiện lâm sàng là hội chứng nhiễm trùng nhiễm độc, hội chứng gan mật như vàng da, vàng mắt, nước tiểu vàng. Ngoài ra còn các biểu hiện tổn thương thận, màng não và xuất huyết da, niêm mạc hoặc nội tạng.

Bệnh mang tính chất nghề nghiệp, thường gặp hơn ở những người làm nghề chăn nuôi, giết mổ gia súc, nông dân, công nhân địa chất, lâm nghiệp. Sau khi khỏi bệnh, cơ thể được miễn dịch vững bền.

2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật cảm nhiễm với xoắn khuẩn *Leptospira* là chuột lang. Tiêm bệnh phẩm hoặc vi khuẩn vào phúc mạc thì chỉ sau 10 phút xoắn khuẩn đã xâm nhập được vào máu trong khi các vi khuẩn khác có trong bệnh phẩm chưa vào máu được.

3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Lấy bệnh phẩm tùy theo thời kỳ của bệnh. Thời kỳ một bệnh phẩm là máu lúc bệnh nhân đang sốt. Thời kỳ hai bệnh phẩm là nước tiểu, dịch não tủy, dịch màng bụng. Có thể là dịch nghiền các nội tạng của động vật.

3.1.1. Soi tươi

Soi tươi các loại bệnh phẩm qua kính hiển vi nền đen thấy xoắn khuẩn di động.

3.1.2. Nhuộm soi

Làm tiêu bản nhuộm Fontana Tribondeau.

3.1.3. Nuôi cấy

Nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường cơ bản là Terskikh, EMTH thêm 10% huyết thanh thỏ.

3.1.4. Tiêm truyền cho súc vật

Tiêm truyền bệnh phẩm vào phúc mạc chuột lang, chuột thường chết vào tuần thứ 2 hoặc tuần thứ 3, lấy máu tìm chuột nuôi cấy tìm vi khuẩn.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Phản ứng ngưng kết tan Martin–Pettit: cho kháng nguyên là xoắn khuẩn *Leptospira* sống kết hợp với huyết thanh bệnh nhân pha loãng ở nhiều nồng độ khác nhau. Nơi có tỷ lệ kháng nguyên – kháng thể thích hợp nhất sẽ có hiện tượng "Ngưng kết sao". Vì *Leptospira* có nhiều kháng nguyên chéo nên hiệu giá kháng thể lần đầu phải cao hơn 1/800 mới nghi ngờ và làm tiếp lần thứ 2 để xác

định động lực kháng thể. Nếu hiệu giá kháng thể ở lần 2 gấp 2–4 lần so với lần 1 thì mới có giá trị.

Có thể tiến hành phản ứng miễn dịch huỳnh quang, phản ứng ELISA.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng đặc hiệu: dùng vaccin chết cho các đối tượng tiếp xúc với mầm bệnh, có nguy cơ mắc bệnh.

Phòng không đặc hiệu: cắt đứt dây chuyền dịch tễ bằng cách diệt chuột, phát hiện và điều trị kịp thời cho gia súc bị bệnh. Trang bị phòng hộ lao động cho người tiếp xúc với nguồn lây.

4.2. Điều trị

Dùng kháng sinh diệt xoắn khuẩn như penicillin, tetracyclin, erythromycin kết hợp với điều trị triệu chứng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Xoắn khuẩn <i>Leptospira</i> không phát triển trên môi trường nhân tạo		
2	Xoắn khuẩn <i>Leptospira</i> gây bệnh vàng da chảy máu		
3	Bệnh do xoắn khuẩn <i>Leptospira</i> có miễn dịch vững bền		
4	Xoắn khuẩn <i>Leptospira</i> xâm nhập vào cơ thể người để gây bệnh bằng nhiều đường khác nhau		
5	Bệnh phẩm để chẩn đoán xoắn khuẩn <i>Leptospira</i> chỉ là máu		
6	Xoắn khuẩn <i>Leptospira</i> có sức đề kháng yếu hơn xoắn khuẩn giang mai		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

7. Nhiệt độ thích hợp nhất để nuôi cấy xoắn khuẩn *Leptospira*:

A. 25–27°C

B. 28–30°C

C. 30–37°C

D. 37°C–42°C

8. Xoắn khuẩn *Leptospira* không có tính chất sau:
- A. Gây bệnh chủ yếu cho động vật
 - B. Sống được khoảng 3 tuần trong nước
 - C. Phát triển nhanh trên môi trường lỏng
 - D. Hiếu khí
9. Bệnh phẩm chẩn đoán xoắn khuẩn *Leptospira* thời kỳ I là:
- A. Máu
 - B. Dịch màng bụng
 - C. Nước tiểu
 - D. Tuỷ tủy thể bệnh
10. Phương pháp nhuộm xoắn khuẩn *Leptospira* là:
- A. Gram
 - B. Ziehl Neelsen
 - C. Fantaña tribondeau
 - D. Wayson
11. Xoắn khuẩn *Leptospira* tồn tại trong thiên nhiên ở:
- A. Trâu bò
 - B. Nước, bùn lầy
 - C. Các loại gia súc
 - D. Cả B+C

Phần III

CÁC VIRUS GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

VIRUS CÚM, VIRUS SỞI VÀ VIRUS QUAI BỊ

(4 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học, khả năng gây bệnh của virus cúm, sởi và quai bị.
2. Trình bày các phương pháp chuẩn đoán, phòng, điều trị bệnh cúm, sởi và quai bị.

VIRUS CÚM

(Influenza virus)

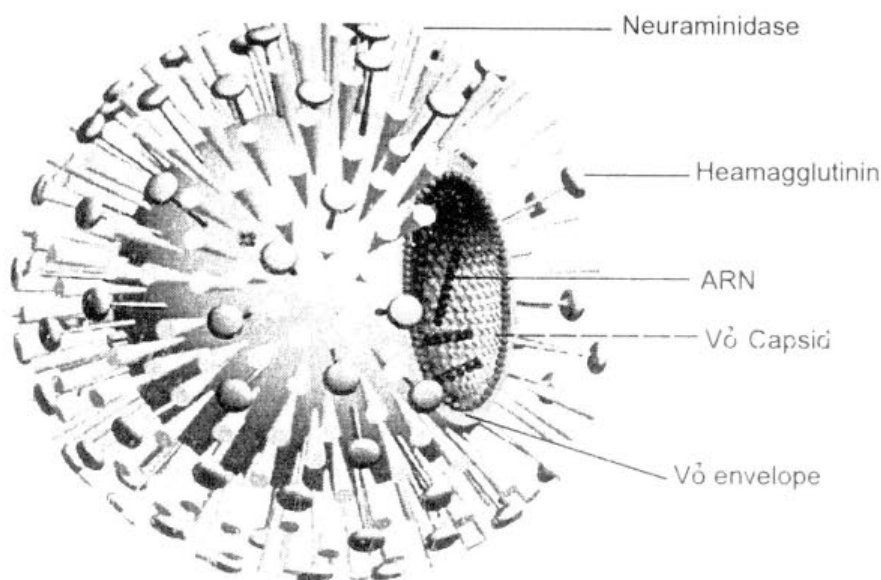
Virus cúm là thành viên chính của nhóm orthomyxovirus và là căn nguyên của bệnh cúm. Orthomyxovirus gồm có ba typ miễn dịch:

Cúm A, B, C.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Dưới kính hiển vi điện tử virus cúm có hình cầu không đều đường kính từ 80–120nm. ARN đơn chuỗi (gồm có 8 đoạn với cúm A, B hoặc 7 đoạn với cúm C) cùng với các nucleoprotein (NP) tạo nên nucleocapsid đối xứng xoắn. Vỏ bao ngoài của virus là lớp lipid kép, từ đó có các cấu trúc glycoprotein nhô ra là hemagglutinin (H) và neuraminidase (N). Mặt trong của vỏ lipid được phủ bởi các phân tử protein khuôn (matrix protein) có chức năng chưa rõ hết nhưng liên quan đến sự hợp đoàn virus và ổn định vỏ lipid. Giữa các typ cúm thì có sự khác biệt về thành phần của protein này và cấu trúc ARN.



1.2. Sức đề kháng

Virus cúm dễ bị tiêu diệt bởi các yếu tố vật lý, hoá học như: 56°C , tia cực tím ánh sáng mặt trời và các dung môi hoà tan lipid (ether, formalin...). Tuy nhiên, ở 0°C đến 4°C virus cúm có thể sống được hàng tuần và ở -20°C đến -70°C thì sống được hàng năm.

1.3. Nuôi cấy

Virus cảm thụ với các tế bào tiên phát như: tế bào xơ non bào thai gà, bào thai người... Tế bào thường trực cảm thụ virus cúm là: tế bào BHK, Vero... cũng được dùng trong nuôi cấy virus.

1.4. Sự nhân lên

Một chu kỳ nhân lên của virus cần 12 giờ. Sự tổng hợp ARN của virus thực hiện trong nhân tế bào cảm thụ với enzym là ARN – polymerase, còn quá trình tổng hợp các protein cấu trúc và các thành phần khác của virus lại xảy ra ở bào tương. Cuối cùng sự lắp ráp của virus thực hiện ở bào tương và chúng thoát ra khỏi tế bào chủ bằng hình thức nảy chồi có mang theo màng của tế bào để làm thành vỏ envelope của hạt virus hoàn chỉnh.

1.5. Kháng nguyên và cách gọi tên của virus

1.5.1. Kháng nguyên

– *Kháng nguyên S*: được tạo bởi nucleoprotein. Đó là kháng nguyên kết hợp bổ thể, hoà tan. Kháng nguyên S đặc hiệu typ và không có khả năng xâm nhiễm.

– *Kháng nguyên V* gắn với các cấu trúc bề mặt của hạt virus. Đó là kháng nguyên ngưng kết hồng cầu, gồm có:

+ Kháng nguyên H (Hemagglutinin): đặc trưng cho typ. Hiện nay có 13 cấu trúc kháng nguyên H, từ H_1 đến H_{13} .

+ Kháng nguyên N (Neuraminidase): Đặc trưng cho thứ typ, gồm có 9 cấu trúc kháng nguyên từ N_1 đến N_9 .

Trong đó kháng nguyên H có vai trò gây nhiễm của virus, còn kháng nguyên N giúp cho virus lan tràn trong cơ thể nó có giáng hoá các cảm thụ quan (receptor) và thúc đẩy phóng thích các hạt virus ra khỏi tế bào. Ngoài ra cấu trúc (H) và (N) thường dễ thay đổi để trở thành typ và thứ typ mới. Cho nên, miễn dịch thu được của mỗi bệnh nhân bị mắc cúm cho lần mắc sau là rất ít giá trị.

1.5.2. Cách gọi tên

Trước hết gọi typ virus, sau đó là nguồn gốc virus (động vật cảm thụ hoặc địa danh phân lập), số bệnh phẩm phân lập được virus, năm phân lập virus và cấu trúc H và N.

Ví dụ: A/ Victoria/3/79/ H_3N_2

B/ Singapor/7/79/ H_1N_2 ...

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Các đợt cúm hầu như xuất hiện quanh năm. Sự lan tràn và độ trầm trọng của đợt bệnh thay đổi rất nhiều. Các đợt khu trú thường là 1 đến 3 năm một lần. Các vụ dịch toàn thể hay đại dịch xuất hiện thường là quãng 10 đến 15 năm một lần. Trong đó, đợt cúm lan tràn và nghiêm trọng nhất là do virus cúm A gây nên. Virus cúm B gây các vụ bùng nổ thường ít lan rộng hơn và phối hợp với bệnh ít trầm trọng hơn. Virus cúm C cũng có thể lan rộng, nhưng bệnh lý thường ít trầm trọng. Sở dĩ virus cúm có thể lây lan mạnh đến như vậy là do chúng lan truyền qua đường hô hấp.

2.2. Khả năng gây bệnh

Sau khi virus xâm nhập vào cơ thể bằng đường hô hấp thì ủ bệnh từ 1 đến 3 ngày rồi mới xuất hiện các dấu hiệu khởi phát như: sốt cao $39-40^{\circ}\text{C}$, nhức đầu đau mình mẩy, mệt mỏi, gai rét và hắt hơi, chảy nước mắt, nước mũi nhiều. Sang giai đoạn toàn phát, bệnh nhân tiếp tục sốt cao $39-40^{\circ}\text{C}$, mệt mỏi, đuối sức rõ rệt, mất xung huyết đỏ ngầu và có thể thấy xuất hiện xuất huyết trên da. Thêm vào đó bệnh nhân đau đầu dữ dội, thường ở trán, hốc mắt kèm theo đau mình mẩy và các bắp thịt, xoa bóp thấy dễ chịu hơn. Ở một số bệnh nhân có bội nhiễm phổi thì thể trạng cơ thể sẽ tồi tệ hơn rất nhiều.

Diễn biến của bệnh trong vòng 7 ngày thì bệnh nhân khỏi đột ngột (nếu không có bội nhiễm). Tuy nhiên, quá trình lại sức kéo dài khoảng 3–6 tháng với các dấu hiệu ăn kém, mất ngủ và mất sức lao động khá lâu.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Phân lập và xác định virus

Bệnh phẩm: lấy vào các ngày đầu của bệnh từ nước xúc họng, nước mũi, nước bọt và dịch tỵ hầu.

Nuôi cấy và phân lập: trước hết dùng kháng sinh diệt tạp khuẩn, rồi cấy vào tế bào như tế bào bào thai gà, thận khỉ hoặc tế bào thường trực Vero... Hay dùng nhất là cấy bệnh phẩm vào màng ối của bào thai gà 8–12 ngày.

Xác định virus bằng phản ứng ngưng kết hồng cầu. Sau đó định typ bằng phản ứng trung hoà trong tế bào hoặc ức chế ngưng kết hồng cầu với kháng thể mẫu.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Bệnh phẩm là huyết thanh bệnh nhân, lần 1 lấy vào tuần lễ đầu và lần 2 lấy cách lần 1 khoảng 7–10 ngày. Các phản ứng dùng để xác định là kết hợp bổ thể, ngưng kết hồng cầu. Kháng thể lần 2 phải tăng gấp 4 lần so với lần 1 mới kết luận được bệnh nhân có mắc bệnh.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Chủ yếu là phòng bệnh không đặc hiệu như: cách ly bệnh nhân, nhỏ thuốc sát khuẩn đường mũi họng, sát khuẩn đồ dùng dụng cụ của bệnh nhân. Tuy nhiên, hiện nay các thuốc chống virus như amantadin và rimantadin đã được chứng minh là có hiệu quả trong phòng ngừa virus cúm A khi mà dịch lưu hành. Còn đối với phòng bệnh đặc hiệu thì hiện nay thường dùng vaccin bất hoạt typ A và typ B cho những người chưa có miễn dịch, nhưng kháng thể hình thành chỉ kháng lại virus vaccin mà không miễn dịch chéo với thứ typ mới.

4.2. Điều trị

Chủ yếu là điều trị triệu chứng, chăm sóc điều dưỡng và chống bội nhiễm. Các thuốc chống virus cũng được dùng là amantadin và rimantadin đối với cúm A. Tuy nhiên, đã có thông báo là rimantadin có hiệu quả chống cả virus cúm A và B khi được dùng bằng đường khí dung.

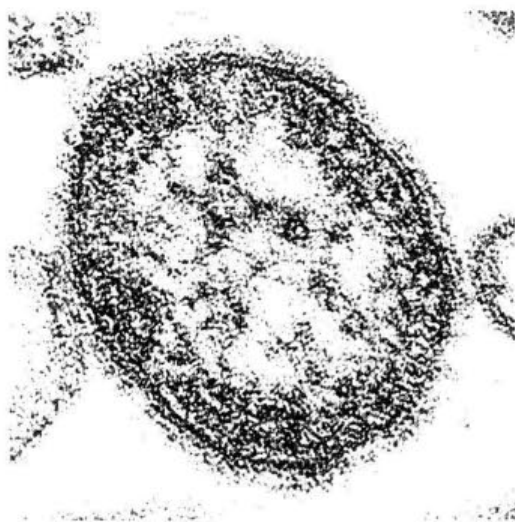
VIRUS SỞI

(*Measle virus*)

1. Các tính chất của virus

1.1. Hình thể và cấu trúc

Hình thể chủ yếu của virus là hình cầu, nhưng có khi là hình sợi chỉ, kích thước khoảng 140nm. Virus chứa ARN một sợi, nucleocapsid đối xứng hình xoắn ốc, có vỏ bọc. Trên bề mặt vỏ bọc của virus có các yếu tố ngưng kết hồng cầu.



1.2. Sức đề kháng

Virus nhạy cảm đối với ether. Virus sởi có một sức đề kháng cao. Nó có thể sống sót nhiều ngày ở 36°C, ở 22°C sống được trên 2 tuần.

1.3. Tính chất kháng nguyên

- Kháng nguyên ribonucleoprotein hay còn gọi là kháng nguyên kết hợp bổ thể.
- Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu: nằm trên bề mặt vỏ bọc. Virus sởi làm ngưng kết hồng cầu khi.
- Dung huyết tố: tính chất dung huyết của virus sởi được Peries mô tả năm 1961. Hạt virus nguyên vẹn cũng như yếu tố ngưng kết hồng cầu tách rời, đều có hoạt tính tan huyết.

1.4. Nuôi cấy

Để nuôi cấy virus sởi, người ta hay dùng nuôi cấy tế bào thận người và thận khỉ, tế bào màng ối người, tế bào phôi gà... Virus sởi trong quá trình phát triển ở

nuôi cấy tế bào đã gây ra hiệu ứng tế bào bệnh lý như tạo ra những đám tế bào khổng lồ có nhiều nhân và những hạt vùi ưa eosin trong bào tương và trong nhân.

2. Khả năng gây bệnh của virus

Bệnh sởi là một bệnh phát ban truyền nhiễm và gây dịch do virus sởi gây nên.

2.1. Sự lan truyền của virus trong cơ thể

Virus sởi xâm nhiễm vào đường hô hấp trên hoặc có thể vào mắt và nhân lên ở các tế bào biểu mô và mô bạch huyết kế cận. Qua đợt nhiễm virus máu tiên phát, virus được phân tán đến mô bạch huyết xa hơn. Sự nhân lên của virus ở đường hô hấp và ở kết mạc gây nên những triệu chứng như: sổ mũi, ho khan, đau đầu, viêm kết mạc, sốt và dấu hiệu Koplick ở niêm mạc miệng. Nhiễm virus máu xảy ra ở cuối thời kỳ ủ bệnh làm cho virus phân tán sâu rộng hơn nữa vào mô bạch huyết và làm phát ban ngoài da. Virus sởi cũng nhân lên và phá hủy đại thực bào và lympho bào gây nên suy giảm miễn dịch nhất là miễn dịch qua trung gian tế bào và quá mẫn muộn. Sự suy giảm miễn dịch ở trẻ em mắc bệnh sởi có vai trò quan trọng trong cơ chế nhiễm lao hoặc các vi khuẩn khác sau sởi (lao sơ nhiễm, viêm phế quản phổi sau sởi,...)

2.2. Dịch tễ học

Bệnh sởi là một trong những bệnh dễ lây nhất, lưu hành ở vùng mật độ dân số cao, thỉnh thoảng lại phát sinh thành dịch, người lớn thường đã qua một lần mắc bệnh.

Bệnh lây trực tiếp qua đường hô hấp và niêm mạc mắt. Lây nhất ở thời kỳ khởi phát và trong khi phát ban. Trẻ em trên 6 tháng tuổi, miễn dịch do người mẹ truyền cho đã hết, lúc đó tính cảm thụ tăng rất cao.

Bệnh sởi trên toàn thế giới đều do một giống virus độc nhất và bền vững gây nên. Miễn dịch thu được sau khi khỏi bệnh bền vững suốt đời, những trường hợp mắc bệnh lần thứ hai rất hiếm.

3. Chẩn đoán phòng thí nghiệm

3.1. Phân lập và xác định virus

– Soi dưới kính hiển vi: bệnh phẩm là dịch bài tiết ty hầu ở giai đoạn khởi phát của bệnh, thấy nhiều tế bào khổng lồ, nhiều nhân đặc trưng cho bệnh sởi. Phương pháp này có thể cho chẩn đoán nhanh và thuận tiện hơn so với phương pháp nuôi cấy.

– Phản ứng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp và gián tiếp: được sử dụng rộng rãi để xác định kháng nguyên sởi có trong tế bào ở bệnh phẩm dịch tiết ty hầu.

Kỹ thuật này cũng có thể được áp dụng đối với bệnh phẩm nước tiểu, bởi vì tế bào này xuất hiện trong nước tiểu 2 – 5 ngày sau khi có triệu chứng hồng ban mọc.

– Phân lập virus:

+ Bệnh phẩm: có thể từ nhiều nguồn khác nhau, như từ nước rửa họng và máu 48 giờ trước khi ban xuất hiện và 30 giờ sau khi nổi ban, đờm.

+ Phân lập: dùng các bệnh phẩm nuôi cấy vào trong các nuôi cấy tế bào cảm thụ. Tốt nhất tế bào thận người nguyên phát HEK (Primary human kidney), ngoài ra tế bào thận khỉ có thể sử dụng tốt.

+ Xác định virus bằng cách tìm các tế bào khổng lồ, các tiểu thể ưa acid trong bào tương và trong nhân. Hoặc dùng phản ứng trung hòa trong các nuôi cấy tế bào.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

Chẩn đoán huyết thanh sởi có thể được xác định bằng sự gia tăng kháng thể 4 lần giữa giai đoạn cấp và giai đoạn hồi phục hoặc tìm kháng thể IgM đặc hiệu kháng sởi. Các phản ứng có thể dùng, đó là:

- Phản ứng trung hòa
- Phản ứng kết hợp bổ thể.
- Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu.
- ELISA

3.3. Các xét nghiệm chẩn đoán khác

– Có thể cho thấy giảm và tăng tương đối. Khi bội nhiễm vi khuẩn gây viêm tai giữa hay viêm phổi thì tế bào đa nhân trung tính có thể tăng cao. Đây cũng là dấu hiệu có ích trong phát hiện biến chứng bội nhiễm.

– Chỉ thực hiện khi trẻ có biểu hiện tổn thương thần kinh. Trong trường hợp này, protein tăng cao, tế bào ít tăng và chủ yếu là các tế bào lympho, glucose dịch não tủy bình thường.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

- Cách ly bệnh nhân sởi cho đến khi khỏi bệnh.
- Đối với các trẻ em có tiếp xúc với bệnh nhân sởi thì nên dùng huyết thanh của người đã mắc bệnh sởi có chứa lượng lớn gamma globulin đặc hiệu chống sởi để có thể ngăn ngừa không cho bệnh xuất hiện hay ít nhất cũng có thể làm cho sự tiến triển của bệnh nhẹ đi rất nhiều.
- Phòng bệnh đặc hiệu bằng vaccin: là biện pháp phòng bệnh có hiệu quả nhất. Có hai loại vaccin:



+ Vaccin sởi chết: hiện nay không dùng vì phải tiêm nhiều lần, gây miễn dịch yếu và hay gây hiện tượng quá mẫn khi tiêm nhắc lại.

+ Vaccin sởi sống giảm độc lực: vaccin được tiêm 1 mũi x 0,5ml dưới da phía ngoài cánh tay. Hiệu lực của vaccin đến 95%.

Phản ứng tại chỗ và toàn thân nhẹ sau khi tiêm chủng 6 – 8 ngày. Không nên tiêm vaccin sởi cho trẻ ít tháng tuổi quá vì dưới 6 tháng trẻ vẫn còn kháng thể sởi của mẹ truyền cho. Tốt nhất là tiêm cho trẻ 9 – 11 tháng tuổi.

Hiện nay ở nước ta đang dùng loại vaccin sởi sống giảm độc lực trong chương trình tiêm chủng mở rộng.

4.2. Điều trị

Trong các trường hợp không có biến chứng, chữa bệnh chỉ nhằm giải quyết các triệu chứng. Cho trẻ nằm nghỉ, ăn các thức ăn dễ tiêu. Chỉ dùng thuốc kháng sinh khi có biến chứng nhiễm khuẩn thứ phát. Dùng gamma globulin đặc hiệu chống sởi để điều trị, có tác dụng rất tốt.

VIRUS QUAI BỊ

(Mump Virus)

Virus quai bị là thành viên chính của nhóm Paramyxovirus và là tác nhân gây nhiễm trùng cấp tính không sùng mủ với đặc trưng là sưng to các tuyến nước bọt và đôi khi tổn thương tinh hoàn, màng não, tủy và các cơ quan khác.

1. Tính chất sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus có hình cầu và đường kính trung bình khoảng 120–200nm. Trong cùng là nucleocapsid hình xoắn ốc không kín do các nucleoprotein và một sợi ARN đơn liên tục tạo thành. Ở ngoài cùng là vỏ envelope có cấu trúc là lớp lipid kép với mặt trong của lớp lipid này được bao phủ bởi các protein khuôn (matrix protein) và bề mặt ngoài cùng của lớp lipid kép có chứa glycoprotein của hemagglutinin –neuraminidase (HN) và cấu trúc hemolysin (F-glycoprotein).

1.2. Sức đề kháng

Virus quai bị là loại không bền vững, chúng dễ dàng bị tiêu diệt bởi các nhân lý hoá học như: ở 56°C trong 20 phút, tia cực tím và các dung môi hoà tan lipid (ether, formol...)

1.3. Nuôi cấy

Virus quai bị có thể được nuôi cấy trên tế bào thai gà và tế bào thường trực vero... Quá trình cấy truyền qua bào thai gà thì virus giảm khả năng gây bệnh, do đó bằng phương pháp này người ta đã ứng dụng sản xuất vaccin quai bị. Đặc điểm của quai bị khi nuôi cấy trong tế bào là thường tạo nên tế bào khổng lồ nhiều nhân.

1.4. Sự nhân lên

Quá trình tổng hợp ARN xảy ra trong nhân của tế bào. Protein cấu trúc và các thành phần khác của virus được tổng hợp tại bào tương. Sau đó quá trình lắp ráp các hạt virus được thực hiện ở bào tương và giải phóng theo phương thức nảy chồi có lấy một phần màng tế bào chủ thực hiện sắp xếp tạo hạt virus hoàn chỉnh.

1.5. Kháng nguyên

– *Kháng nguyên "S"*: là thành phần protein của nucleocapit, đây là kháng nguyên kết hợp bổ thể, hoà tan.

– *Kháng nguyên "V"*: xuất phát từ Hemagglutinin và Neuraminidase bề mặt, là kháng nguyên ngưng kết hồng cầu. Kháng nguyên này thường không biến đổi và có thể bị ức chế bởi huyết thanh đặc biệt kháng quai bị.

2. Định tế học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tế học

Người là túc chủ tự nhiên độc nhất của virus quai bị. Bệnh có ở trên toàn thế giới và dịch có thể xảy ra tại các địa phương hoặc cộng đồng trong thành phố. Bệnh thường xuất hiện trong mùa xuân, đặc biệt là tháng 4 hoặc tháng 5 và lây truyền qua đường nước bọt. Quai bị hiếm gặp ở trẻ em dưới 2 tuổi và sau đó tần suất tăng dần, đạt đỉnh cao ở 10 – 19 tuổi, nam thường nhiễm hơn nữ. Khoảng 30–40% trường hợp nhiễm quai bị mà không có triệu chứng và đây là nguồn lây khó tránh nhất.

2.2. Khả năng gây bệnh

Virus xâm nhập qua đường hô hấp, trong thời kỳ ủ bệnh 12–25 ngày virus có thể nhân lên trong đường hô hấp trên và các hạch ở cổ, từ đó virus được phân tán theo dòng máu đi đến các cơ quan khác, kể cả màng não, tinh hoàn, tụy, buồng trứng, gan thận... Xét về phương diện lâm sàng thì ta có thể thấy các biểu hiện của bệnh quai bị như sau:

– Viêm tuyến nước bọt: bệnh nhân thấy đau vùng mang tai, khó há miệng. Sốt cao, kém ăn và kèm theo nhức đầu. Sưng tuyến nước bọt thường một bên,

sau 1–2 ngày thì sưng nốt phía bên kia. Tùy theo mức độ sưng mà có thể thấy biến đổi khuôn mặt.

– Viêm tinh hoàn: thường gặp ở thanh thiếu niên, xuất hiện sau sưng tuyến nước bọt 7–10 ngày. Bệnh nhân thấy sốt cao và rét run và thấy đau ở tinh hoàn, đau tăng khi vận động. Khám thì thấy da bìu đỏ, sờ tinh hoàn thấy đau và to hơn bình thường.

– Viêm buồng trứng: chẩn đoán rất khó và dễ nhầm với viêm ruột thừa. Bệnh nhân thường thấy sốt và đau một bên hoặc hai bên hố chậu.

Ngoài ra, virus quai bị còn gây viêm tụy cấp, viêm màng não... nhưng các thể này ít gặp hơn.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Phân lập và xác định virus

Bệnh phẩm lấy từ nước bọt, máu, nước tiểu hoặc dịch não tủy. Sau đó xử lý tạp khuẩn rồi phân lập trong bào thai gà hoặc các tế bào nuôi (tế bào sơ non bào thai gà hoặc tế bào thường trực vero...). Có thể phát hiện các tế bào nuôi cấy dương tính trong 2–3 ngày hoặc lâu nhất là 6 ngày. Ngoài ra, có thể dùng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang để phát hiện nhanh chóng kháng nguyên của virus trong bệnh phẩm một cách trực tiếp.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Có thể phát hiện kháng thể chống quai bị trong huyết thanh bằng nhiều cách như: kết hợp bổ thể, ức chế ngưng kết hồng cầu... Nhưng tốt nhất vẫn là ELISA tìm IgM và IgG đặc hiệu kháng quai bị.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh không đặc hiệu với tránh tiếp xúc và cách ly bệnh nhân là rất khó khăn. Do vậy trong vụ dịch thường phòng bệnh thụ động bằng cách tiêm globulin kháng quai bị cho trẻ em, tuy nhiên tác dụng phòng bệnh này chỉ tồn tại ngắn.

Phòng bệnh đặc hiệu bằng cách dùng vaccin sống rất có hiệu quả. Các vaccin này có tác dụng bảo vệ tối thiểu là 8 năm và thường tiêm chủng cho trẻ sau 1 tuổi, khi mà kháng thể do mẹ truyền đã hết hiệu lực.

4.2. Điều trị

Không có thuốc đặc hiệu chống virus quai bị. Do vậy, khi mắc quai bị thường quan tâm đến chăm sóc điều dưỡng và điều trị phòng ngừa các biến chứng do virus gây ra bằng Corticoides.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Virus cúm có ARN chia đoạn còn ARN của virus quai bị thì không chia đoạn.		
2	Cả virus cúm và virus quai bị đều có cấu trúc Hemagglutinin và Neuraminidase bề mặt.		
3	Nucleocapsid của virus cúm và virus quai bị đều có cấu trúc đối xứng xoắn.		
4	Giữa các typ cúm thì cấu trúc ARN không có gì khác biệt.		
5	Virus quai bị có kích thước nhỏ hơn virus cúm.		
6	Cả virus cúm và virus quai bị đều dễ bị tiêu diệt bởi nhiệt độ cao, tia cực tím và các dung môi hoà tan lipid.		
7	Virus cúm và virus quai bị đều giải phóng bằng phương thức phá vỡ tế bào chủ.		
8	Kháng nguyên "S" và "V" đều có ở virus cúm và virus quai bị.		
9	Kháng nguyên "V" của virus quai bị thường không biến đổi, do vậy vaccin quai bị sử dụng rất có hiệu quả.		
10	Ở virus cúm, kháng nguyên H có cấu trúc từ H ₁ đến H ₉ và kháng nguyên N có cấu trúc từ N ₁ đến N ₁₃ .		
11	Bệnh quai bị thường xảy ra ở nữ nhiều hơn nam.		
12	Phòng bệnh đặc hiệu đối với virus cúm bằng vaccin rất có hiệu quả.		
13	Xác định virus cúm trong chẩn đoán trực tiếp bằng phản ứng ngưng kết hồng cầu và định typ bằng phản ứng trung hoà hoặc phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu với kháng thể mẫu.		
14	Chẩn đoán huyết thanh tìm kháng thể chống quai bị, tốt nhất là dùng phản ứng ELISA.		
15	Amantadin và rimantadin thường được dùng để phòng và điều trị virus cúm typ A.		
16	Virus sởi dễ bị tiêu diệt bởi các dung môi hòa tan lipid		

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau

17. Virus cúm lan truyền qua đường
18. Virus quai bị lan truyền qua đường.....
19. Virus cúm thuộc nhóm....., còn quai bị thuộc nhóm.....
20. Hemagglutinin và Neuraminidase bản chất là.....
21. Kháng nguyên "S" gọi là....., còn kháng nguyên "V" là.....

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

22. Loại tế bào tốt nhất dùng để nuôi cấy virus sởi:
 - A. Tế bào Hela
 - B. Tế bào thận lợn
 - C. Tế bào BHK
 - D. Tế bào thận khỉ
23. Sau khi nuôi cấy, virus sởi thường được xác định bằng phản ứng nào sau đây:
 - A. Phản ứng trung hòa
 - B. Phản ứng kết hợp bổ thể.
 - C. Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu.
 - D. ELISA

VIRUS VIÊM NÃO NHẬT BẢN

(Japanese Encephalitis Virus)

(1 tiết)

MỤC TIÊU

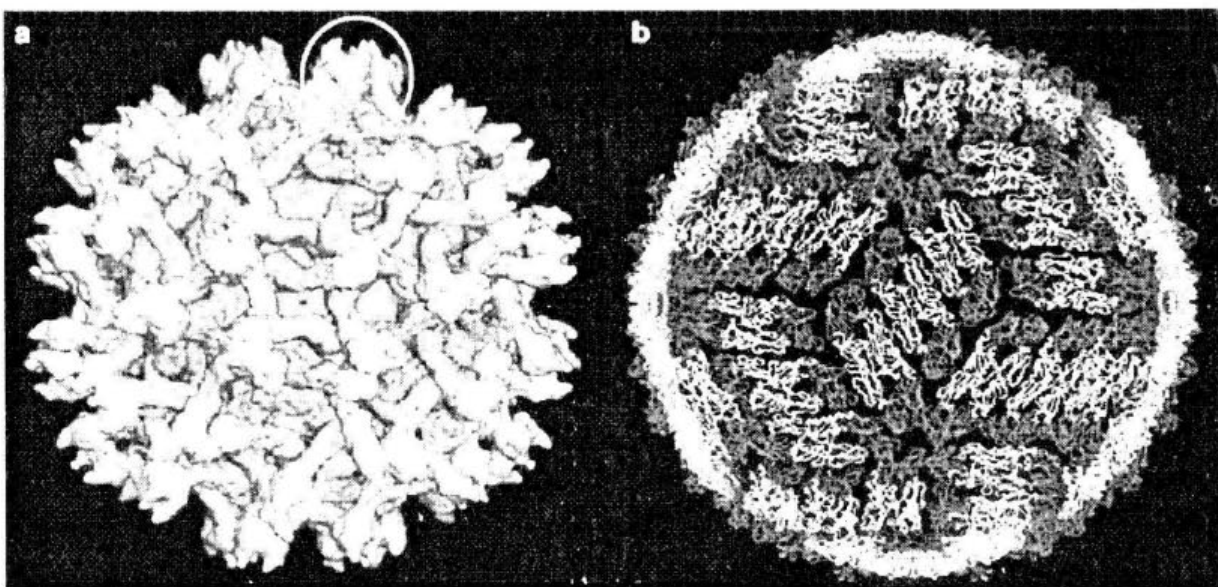
1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học và khả năng gây bệnh của virus viêm não Nhật Bản.
2. Nêu các phương pháp chẩn đoán, phòng và điều trị virus viêm não Nhật Bản.

Được gọi là virus viêm não Nhật Bản bởi vì virus này được Hayashi phát hiện năm 1934 tại Nhật Bản. Ngoài ra, do virus thuộc nhóm Flavivirus của Arbovirus cho nên được gọi là virus viêm não Nhật Bản B.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus viêm não Nhật Bản có hình cầu đường kính khoảng 40–50nm, capsid đối xứng hình khối 20 mặt và chứa duy nhất ARN một sợi dương. Envelop bản chất là lipoprotein.



1.2. Sức đề kháng

Giống như virus Dengue, virus viêm não Nhật Bản dễ dàng bị tiêu diệt bởi các dung môi hoà tan lipid (ether, xà phòng, formalin...), tia cực tím và nhiệt độ cao. Ở 60°C bị tiêu diệt sau 30 phút, ở 4°C bị tiêu diệt sau vài giờ, nhưng nếu bảo quản trong dung dịch glycerol 50% hoặc đông lạnh ở -70°C thì có thể tồn tại hàng tháng đến hàng năm.

1.3. Nuôi cấy

Virus viêm não Nhật Bản có thể nuôi cấy trên các tế bào thận khỉ, tế bào thận lợn, đặc biệt là phát triển rất tốt ở tế bào muỗi C₆/36. Ngoài ra, virus này cũng có thể nuôi cấy được trên chuột nhắt trắng 1-3 ngày tuổi (phát triển làm cho chuột liệt) và cấy vào lòng đỏ trứng gà ấp được 8-9 ngày (sau 48-96 giờ virus làm bào thai chết).

1.4. Kháng nguyên

Cũng như các virus thành viên của nhóm Flavivirus, virus viêm não Nhật Bản có kháng nguyên trung hoà, kháng nguyên ngăn ngưng kết hồng cầu và kháng nguyên kết hợp bổ thể. Trong đó, kháng nguyên ngăn ngưng kết hồng cầu có phản ứng chéo với các virus cùng nhóm.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Bệnh viêm não Nhật Bản lưu hành ở vùng Viễn Đông từ Nga đến Indonesia, từ Guam đến Ấn Độ. Các vụ dịch thường xảy ra vào mùa hè. Virus được duy trì ở các động vật có xương sống hoang dã, một số loài chim (chim liếu diều) và đặc biệt ở một số loài gia súc chăn nuôi như lợn, bò, chó, ngựa... Vectơ truyền bệnh là muỗi Culex và Aedes, trong đó muỗi Culex tritaeniorhynchus là vectơ chính. Do muỗi có thể duy trì virus qua mùa đông, cho nên sự lây truyền cao.

2.2. Khả năng gây bệnh

Ngoài khả năng gây bệnh cho người, virus viêm não Nhật Bản có thể gây bệnh cho chuột trắng hoặc các loài chim như: gà, cò...

Ở người, sau khi bị muỗi truyền virus viêm não Nhật Bản thường ở dạng nhiễm trùng thể ẩn hoặc không điển hình. Bệnh chủ yếu gặp ở trẻ em dưới 15 tuổi, biểu hiện lâm sàng thường ở hai thể sau đây:

- Thể nhẹ: bệnh nhân chỉ đau đầu, sốt nhẹ, mệt mỏi trong 1-3 ngày.
- Thể nặng: do có tổn thương não, nên từ các triệu chứng nhẹ đột ngột xuất

hiện các triệu chứng nặng như: đau đầu dữ dội, sốt cao, rối loạn cảm giác, rối loạn vận động và thường có rối loạn ý thức ở nhiều mức độ. Khoảng 10–12% bệnh nhân tử vong trong "cơn bão táp", các bệnh nhân thoát khỏi thời kỳ nặng có thể có các biến chứng về thần kinh và tâm thần.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Phân lập và xác định virus

Bệnh phẩm: có thể lấy từ máu và dịch não tủy bệnh nhân sau khi phát bệnh 1–3 ngày hoặc não tử thi chết chưa quá 6 giờ. Ngoài ra, có thể lấy bệnh phẩm là vectơ truyền bệnh (*Culex tritaeniorhynchus*).

Phân lập: người ta thường dùng hai kỹ thuật sau 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 $C_6/36$.

Xác định: thường xác định virus này bằng ba phương pháp:

- Kỹ thuật ngăn ngưng kết hồng cầu.
- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang.
- Kỹ thuật ELISA.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

Là phương pháp chủ yếu. Hiện nay thường dùng ELISA để tìm động lực kháng thể giữa huyết thanh lấy lần 1 và lần 2.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

– **Phòng bệnh không đặc hiệu:** chủ yếu là hạn chế, tiêu diệt muỗi truyền bệnh và hạn chế – tránh muỗi đốt.

– **Phòng bệnh đặc hiệu:** tiêm phòng vaccin cho trẻ em dưới 15 tuổi, nhất là ở những vùng có dịch lưu hành.

4.2. Điều trị

Hiện nay chưa có thuốc điều trị đặc hiệu virus, chủ yếu là điều trị triệu chứng kết hợp với chăm sóc điều dưỡng. Đối với thể nặng thì phải điều trị kịp thời, tránh các biến chứng và phải phục hồi chức năng cho bệnh nhân ở giai đoạn lui bệnh.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột D cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	D	S
1	Virus viêm não Nhật Bản có ADN một sợi dương.		
2	Virus viêm não Nhật Bản có ADN dễ bị tiêu diệt bởi các dung môi hoà tan lipid.		
3	Virus viêm não Nhật Bản có thể cấy được vào tế bào muỗi $C_6/36$ hoặc não chuột trắng mới đẻ.		
4	Kháng nguyên ngăn ngưng kết hồng cầu của virus viêm não Nhật Bản có phản ứng chéo với các virus cùng nhóm.		
5	Virus viêm não Nhật Bản giữ được lâu trong glycerol 50%.		
6	Đối tượng mắc viêm não Nhật Bản chủ yếu là trẻ em.		
7	Bệnh viêm não Nhật Bản thường gặp về mùa đông.		
8	Muỗi Aedes là vectơ chính truyền bệnh viêm não Nhật Bản.		
9	Điều trị phục hồi chức năng ở giai đoạn lui bệnh của viêm não Nhật Bản là rất quan trọng.		

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau:

10. Nếu hai thể lâm sàng của bệnh viêm não Nhật Bản:

A.....B.....

11. Nêu hai kỹ thuật thường dùng phân lập virus viêm não Nhật Bản:

A.....B.....

12. Nêu ba kỹ thuật thường dùng để chẩn đoán huyết thanh virus viêm não Nhật Bản:

A.....B.....C.....

13. Tiêm phòng vaccin viêm não Nhật Bản chủ yếu cho trẻtuổi

VIRUS DENGUE XUẤT HUYẾT

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học và khả năng gây bệnh của virus Dengue.
2. Trình bày chẩn đoán vi sinh và phòng bệnh, điều trị bệnh Dengue xuất huyết.

Virus Dengue được xếp vào nhóm B (Flavivirus) của Arbovirus. Đây là căn nguyên chủ yếu gây ra bệnh sốt xuất huyết và có thể trở thành dịch, thường gặp ở Việt Nam.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus Dengue có hình cầu với đường kính khoảng 35–50nm. Cấu trúc của virus này gồm có: phía ngoài là vỏ envelope có bản chất lipoprotein bao bọc quanh vỏ capsid có 32 capsomer và đối xứng hình khối 20 mặt, phía trong là ARN một sợi dương nằm trong vỏ capsid có trọng lượng khoảng $3,8 \times 10^6$ dalton.

1.2. Sức đề kháng

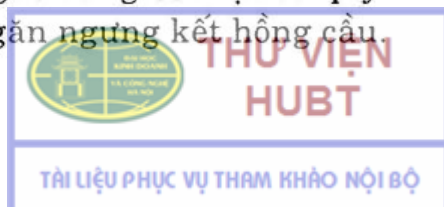
Virus dễ dàng bị tiêu huỷ bởi các dung môi hoà tan lipid (Ví dụ: ether, xà phòng, formalin...), tia cực tím và nhiệt độ cao. Tuy nhiên ở 60⁰ virus bị tiêu diệt sau 30 phút, ở 4⁰C bị tiêu diệt sau vài giờ, nhưng nếu ở trong dung dịch glycerol 50% hoặc bảo quản ở –70⁰C thì virus có thể sống từ vài tháng đến vài năm.

1.3. Nuôi cấy

Virus Dengue có thể nuôi cấy trên các tế bào nuôi như: tế bào Hela, tế bào KB, đặc biệt là tế bào muỗi C₆/36. Ngoài ra, virus Dengue còn có thể được cấy truyền vào não chuột nhắt trắng mới đẻ, làm cho chuột bị liệt từ ngày thứ 3 trở đi và cũng có thể cấy vào cơ thể muỗi Aedes aegypti hoặc muỗi Toxorhynchites.

1.4. Kháng nguyên

Virus Dengue gồm có các kháng nguyên kết hợp bề mặt, trung hoà và ngăn ngưng kết hồng cầu. Do cấu trúc của các quyết định kháng nguyên khác nhau, cho nên virus Dengue được chia ra làm 4 typ được ký hiệu là: D₁, D₂, D₃, D₄. Tuy vậy, các typ của virus Dengue cũng có một số quyết định kháng nguyên chung, đặc biệt là kháng nguyên ngăn ngưng kết hồng cầu.

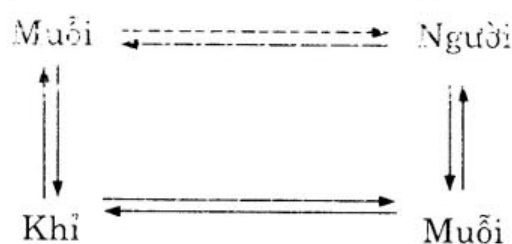


2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Virus Dengue có ổ chứa là người, khỉ và muỗi. Trong đó, đường lây truyền của virus này là do muỗi đốt, chủ yếu là *Aedes albopictus* sống ở trong rừng. Vì vậy, bệnh sốt xuất huyết Dengue có mặt hầu khắp thế giới, nơi mà có muỗi *Aedes aegypti* lưu hành như châu Á, châu Phi, châu Mỹ và châu Úc. Ở Việt Nam do có hệ thống ao hồ, kênh rạch phức tạp và có khí hậu nóng ẩm, cho nên bệnh Dengue xuất huyết có thể gặp quanh năm, đặc biệt là vào mùa mưa. Ngoài ra, bệnh Dengue xuất huyết có thể gặp ở mọi lứa tuổi.

Sơ đồ về quá trình lây nhiễm của virus Dengue:



2.2. Khả năng gây bệnh

Ngoài khả năng gây bệnh cho người, virus Dengue có thể gây bệnh cho khỉ và chuột nhắt trắng mới đẻ.

Ở người virus Dengue thường ủ bệnh 4–6 ngày (ít nhất là 3 ngày và nhiều nhất là 10 ngày) sau khi bị muỗi truyền. Thời kỳ khởi phát thường cấp tính và chuyển sang toàn phát với một trong hai thể:

Dengue xuất huyết không có sốc (shock): bệnh nhân sốt cao 39–40°C, kèm theo xung huyết nhiều (mắt đỏ, mặt đỏ, lưng – ngực đỏ rực) và đau đầu, đau mỗi cơ – khớp dữ dội. Ngoài ra, thăm khám có thể thấy bệnh nhân có xuất huyết dưới da, chảy máu chân răng, kinh nguyệt kéo dài (Do virus Dengue gây giảm tiểu cầu, giảm fibrin và gây tăng tính thấm thành mạch).

Dengue xuất huyết có sốc: ngoài các triệu chứng như trên bệnh nhân có các biểu hiện, dấu hiệu của sốc giảm tuần hoàn (do tăng tính thấm thành mạch): bệnh nhân mệt lả, tinh thần vật vờ, mạch nhanh nhỏ, chi lạnh, nổi vân tím trên da và bệnh nhân có thể xuất huyết tiêu hóa (nôn ra máu và ỉa phân đen). Nếu không điều trị kịp thời, bệnh nhân có thể tử vong.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

3.1.1. Bệnh phẩm

– Máu bệnh nhân (2–4 ml có chống đông) khi bệnh nhân đang sốt và thời gian phải không quá 4 ngày kể từ cơn sốt đầu. Ngoài ra, bệnh phẩm có thể là tổ

chức gan, lách, hạch lympho... lấy từ tử thi chết không quá 6 giờ và được bảo quản bởi glycerol 50%.

– Vectơ: muỗi *Aedes aegypti* (bắt 20–40 con).

Bệnh phẩm lấy xong phải được bảo quản lạnh, riêng muỗi phải giữ cho sống trước khi gửi đến phòng thí nghiệm.

3.1.2. *Phân lập virus*

Hiện nay, thường dùng ba phương pháp để phân lập virus Dengue:

– *Phân lập trên chuột bạch mới đẻ*: bệnh phẩm được tiêm vào não chuột 1–3 ngày tuổi và theo dõi hàng ngày. Nếu chuột bị bệnh, chuột sẽ liệt hai chân sau. Mổ lấy não để tiêm tiếp hai lần nữa. Sau khi gây nhiễm được một tuần, cho dù chuột có ốm hay không cũng mổ lấy não để xác định virus. Dùng kỹ thuật này, người ta đã phân lập được cả 4 typ Dengue. Nhưng đòi hỏi rất nhiều thời gian, độ nhạy thấp, lại rất tốn kém nên rất ít được sử dụng.

– *Phân lập trên muỗi sống*: bệnh phẩm được tiêm vào ngực muỗi *Toxorhynchites*. Sau khi tiêm, nuôi muỗi trong lồng ở 28°C trong 14 ngày, bắt những con muỗi sống và giữ trong –70°C để xác định virus. Phương pháp này có độ nhạy cao, cho nên có thể được sử dụng trong chẩn đoán virus trên lâm sàng.

– *Phân lập trên tế bào nuôi*: cấy bệnh phẩm vào tế bào nuôi một lớp C₆/36. Sau 7 ngày, thu hoạch tế bào để xác định virus. Phương pháp này phân lập virus nhanh hơn và ít tốn kém hơn, nhưng lại không nhạy bằng phương pháp lây nhiễm trực tiếp vào muỗi.

3.1.3. *Xác định virus*

Sau khi phân lập virus, chúng ta có thể xác định được virus bằng một trong các phương pháp sau:

- Phản ứng kết hợp bổ thể.
- Phản ứng trung hoà (làm giảm mảng hoại tử trên các tế bào nuôi cấy một lớp)
- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp.
- Kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction).

3.2. *Chẩn đoán gián tiếp (huyết thanh)*

– *Bệnh phẩm*: lấy máu bệnh nhân ngay từ lúc vào viện và lần thứ hai cách đó 7 ngày. Máu phải để đông, ly tâm lấy huyết thanh và giữ trong tủ lạnh ở –20°C cho tới khi làm xét nghiệm ở cùng một thời gian.

– *Các kỹ thuật thường dùng hiện nay*:

- + Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu.
- + Phản ứng kết hợp bổ thể.
- + Phản ứng trung hoà.
- + Kỹ thuật ELISA, thường được dùng hiện nay.
- + Kỹ thuật huỳnh quang gián tiếp.

Dựa vào các phản ứng huyết thanh chúng ta có thể tìm được hiệu giá kháng thể lần 1 và hiệu giá kháng thể lần hai. Từ đó, nếu hiệu giá kháng thể lần 2 lớn hơn lần 1 bốn lần thì có chẩn đoán dương tính. Hoặc có thể chẩn đoán huyết thanh bằng phát hiện IgM (Mac – ELISA).

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Do hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh sốt xuất huyết Dengue, do vậy để hạn chế mắc bệnh này thì chủ yếu dựa vào phòng bệnh không đặc hiệu. Đó là:

- Hạn chế và tiêu diệt vectơ truyền bệnh, bao gồm các nội dung:
 - + Khơi thông cống rãnh, các bể nước – chum vại phải có nắp đậy và phát quang bụi rậm để muỗi không còn nơi đẻ trứng, trú ẩn.
 - + Phun thuốc diệt muỗi.
- Hạn chế và tránh muỗi đốt: đó là khi đi ngủ thì mọi người phải nằm màn. Những nơi có nhiều muỗi có thể tắm màn bằng permethrin 0,2g/m².

4.2. Điều trị

Hiện nay không có thuốc đặc hiệu điều trị virus. Chủ yếu là điều trị triệu chứng và biến chứng kết hợp với nâng cao thể trạng cho bệnh nhân.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Virus Dengue thuộc nhóm B của Arbovirus		
2	Envelope của virus Dengue bản chất là lớp lipid kép.		
3	Virus Dengue có vỏ capsid đối xứng 20 mặt và gồm 32 capsomer.		
4	Genome của virus Dengue là ARN một sợi dương.		
5	Virus Dengue có khả năng đề kháng với các dung môi hoà tan lipid, nhưng dễ bị tiêu diệt bởi tia cực tím và nhiệt độ cao.		
6	Virus Dengue có thể nuôi cấy được trên tế bào muỗi C ₆ /36 và gây bệnh thực nghiệm cho chuột nhắt trắng mới đẻ.		
7	ở Việt Nam bệnh Dengue xuất huyết có thể gặp quanh năm.		
8	Bệnh phẩm để phân lập virus Dengue chỉ là máu bệnh nhân hoặc một số tổ chức khác lấy từ tử thi bệnh nhân chết không quá 6 giờ.		

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau

9. Nêu ba kháng nguyên của virus Dengue:

A..... B..... C.....

10. Virus Dengue gồm có.....typ.

11. Virus Dengue có ổ chứa là..... và muỗi

12. Truyền virus Dengue cho người chủ yếu là muỗi.....ở trong nhà.

13. Nêu hai thể lâm sàng của Dengue xuất huyết:

A..... B.....

14. Nêu ba phương pháp phân lập virus Dengue thường dùng hiện nay:

A..... B..... C.....

15. Nêu bốn phương pháp xác định virus Dengue

A..... B.....

C..... D.....

16. Nêu năm phương pháp chẩn đoán huyết thanh bệnh Dengue xuất huyết thường dùng hiện nay:

A..... B..... C.....

D..... E.....

17. Nêu hai cách phòng bệnh không đặc hiệu bệnh Dengue xuất huyết:

A..... B.....

VIRUS DẠI

(*Rabies virus*)

(1 tiết)

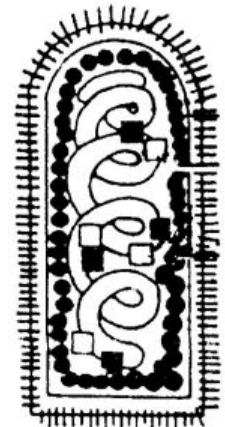
MỤC TIÊU

1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học và khả năng gây bệnh của virus dại.
2. Trình bày các phương pháp chẩn đoán phòng và điều trị bệnh dại.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus dại thuộc nhóm Rhabdovirus nên có hình trụ giống như hình viên đạn với một đầu hình tròn và đầu kia phẳng, virus có kích thước khoảng $180 \times 75\text{nm}$. Vỏ envelope là một lớp lipid kép, bao phủ mặt ngoài của envelope là glycoprotein và mặt trong bởi một lớp protein (matrix protein). Nucleo-capsid bao gồm một phân ARN một sợi âm uốn lượn và bao quanh là vỏ capsid.



Sơ đồ Rabie virus

1.2. Sức đề kháng

Virus lại kháng yếu, dễ bị bất hoạt bởi nhiệt độ ($56^{\circ}\text{C}/30$ phút hoặc $80^{\circ}\text{C}/10$ phút), tia cực tím, ánh sáng mặt trời và các dung môi hoà tan lipid như: ether, formalin, xà phòng...

Virus dại bền vững trong các môi trường có glycerol và phenol. Chúng có thể được bảo quản trong môi trường ở nhiệt độ $0-4^{\circ}\text{C}$ và $\text{pH} = 7,5-9,0$.

1.3. Nuôi cấy

Virus dại có thể nuôi cấy vào bào thai gà 7 ngày và các tế bào thường trực như: tế bào vero, tế bào thận chuột đất BHK-21.

1.4. Sự nhân lên

Virus hoà vỏ envelope với màng tế bào chủ và bơm nucleocapsid vào bào tương. Quá trình sao mã, giải mã tổng hợp protein cấu trúc và cuối cùng là sự lắp ráp xảy ra ở bào tương. Virus được giải phóng theo hình thức nảy chồi.

1.5. Kháng nguyên

Virus dại gồm có các loại kháng nguyên sau:

- Kháng nguyên V: là kháng nguyên kích thích cơ thể sinh kháng thể trung hoà.
- Kháng nguyên S: chỉ có ở hạt virions vừa tách ra khỏi tế bào, nó 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 $\text{pH} = 6,4$.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Virus dại lưu hành khắp thế giới, nhưng tập trung nhiều ở các vùng nhiệt đới như: Đông Nam Á, Châu Phi, Nam Mỹ... và ổ chứa chủ yếu là động vật máu nóng. Bệnh dại có hai thể dịch tễ:

- Thể thành thị: lan truyền chủ yếu do chó, mèo không được tiêm chủng.
- Thể hoang dã: lây truyền do chồn hôi, cáo, gấu, cây, sói....

2.2. Khả năng gây bệnh

Virus dại có khả năng gây bệnh cho người, các động vật máu nóng bằng cách nhân lên trong cơ thể chủ rồi lan theo thần kinh ngoại biên đến các dây thần kinh trung ương và não với các tổn thương đặc hiệu. Bất kể ở người hay động vật khi mà có biểu hiện bệnh này thì tiến triển rất nặng nề và kết thúc là chết.

Biểu hiện lâm sàng ở người: sau khi ủ bệnh 1–3 tháng thì xuất hiện tiên triệu kéo dài 1–4 ngày với các triệu chứng như sốt nhẹ, nhức đầu, buồn nôn, chảy nước mắt, nước mũi. Đến thời kỳ toàn phát bệnh nhân bị kích thích mọi giác quan, cho nên bệnh nhân chết trong tình trạng liệt cơ hô hấp và rối loạn tuần hoàn.

3. Chẩn đoán vi sinh

Rất ít làm vì lấy bệnh phẩm khó khăn và không có ý nghĩa trong điều trị. Có các phương pháp chẩn đoán sau:

3.1. Tìm tiểu thể Negri

Đối với chó nghi dại, mổ lấy não nhuộm tiêu bản tìm thể Negri, đó là những tiểu thể do virus gây biến đổi tế bào bắt màu eosin, kích thước 0,25–25nm.

3.2. Phân lập virus

Bệnh phẩm là nước dãi người hoặc chó lúc đang mắc bệnh hoặc não khi đã chết. Não phải được giữ trong dung dịch glycerol nguyên chất, trung tính và vô khuẩn. Tiêm truyền bệnh phẩm và não chuột mới đẻ, sau 7–8 ngày chuột xuất hiện liệt mềm.

3.3. Chẩn đoán huỳnh quang tìm kháng nguyên

Có thể lấy nước dãi hoặc não của bệnh nhân hay súc vật bị đại phết lên tiêu bản. Virus (kháng nguyên) sẽ được phát hiện bằng nhuộm kháng thể gắn huỳnh quang đã biết.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Khi chưa có dịch: hạn chế nuôi chó, nếu nuôi chó thì phải nhốt xích, ra đường phải rọ mõm. Diệt chó vô chủ. Tiêm phòng vaccin đại và quản lý tốt đàn chó trong cụm dân cư.

Khi có dịch: thì phải diệt hết chó dại và cả những chó đã tiêm phòng. Người tiếp xúc với chó, mèo cắn thì phải tiêm phòng ngay.

4.2. Điều trị dự phòng trường hợp bị chó cắn

– Điều trị tại chỗ: rửa vết cắn bằng xà phòng, sau đó là nước muối sinh lý và sát khuẩn bằng cồn. Tiêm phòng uốn ván và dùng kháng sinh.

– Điều trị vaccin và huyết thanh phòng dại:

– Nếu vết cắn vào chỗ nguy hiểm (gần đầu, sâu) hoặc nếu chó bị mất tích, bị đánh chết hoặc chó con thì phải tiêm vaccin và huyết thanh phòng dại ngay.

– Nếu vết cắn nông, xa đầu thì theo dõi chó: nếu sau 10 ngày chó bị chết thì phải tiêm vaccin và huyết thanh ngay.

– Vaccin hiện nay thường dùng là: vaccin sống giảm độc lực như Fuenzalida hoặc vaccin chết Semple.

– Huyết thanh thường tinh chế từ ngựa và thường dùng trước 72 giờ với tổng liều là 40đv/kg ở bệnh nhân có vết cắn gần thần kinh trung ương.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Virus đại thuộc nhóm Rhabdovirus có hình thể như đầu viên đạn.		
2	Vỏ envelope của virus đại là một lớp lipid kép.		
3	Virus đại tương đối bền vững, chúng không bị bất hoạt bởi nhiệt độ và các dung môi hoà tan lipid.		

4	Virus đại lưu hành nhiều ở các vùng nhiệt đới và chỉ gây bệnh cho người.		
5	Khi người có biểu hiện bệnh dại thì thường tử vong.		
6	Phải tiêu diệt hết chó khi có dịch virus dại xảy ra.		
7	Tất cả các trường hợp chó cắn đều phải tiêm phòng dại.		
8	Nếu vết cắn của chó vào chỗ nguy hiểm (gần đầu, sâu) hoặc chó bị đánh chết hay chó con thì phải tiêm phòng ngay.		
9	Khi vết cắn nông, xa đầu thì theo dõi chó trong vòng 10 ngày. Nếu sau 10 ngày chó bị chết thì phải tiêm phòng ngay.		

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau:

10. Nêu ba kháng nguyên của virus dại:

A.....B.....C.....

11. Nêu tên hai loại vaccin phòng dại hay sử dụng:

A.....B.....

12. Nêu ba phương pháp chẩn đoán virus dại đã biết:

A.....B.....C.....

VIRUS BẠI LIỆT

(Poliovirus)

(1 tiết)

MỤC TIÊU

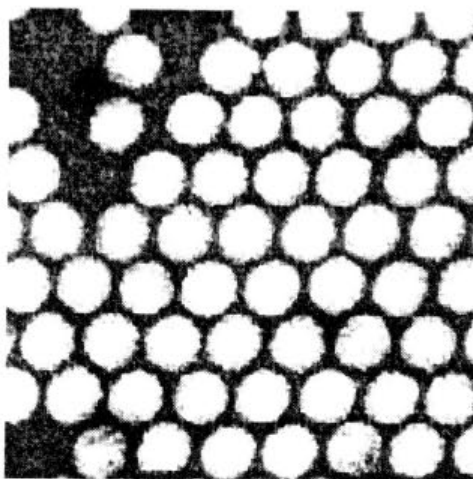
1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học và khả năng gây bệnh của virus bại liệt
2. Trình bày các phương pháp chẩn đoán, phòng và điều trị virus bại liệt.

Virus bại liệt (poliovirus) được tìm ra từ năm 1904, thuộc nhóm Picornavirus gồm có ba typ trong Enterovirus. Virus này gây bệnh bại liệt, hiện nay đã thanh toán ở Việt Nam.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus bại liệt là virus chứa ARN một sợi, capsid được cấu tạo bởi 32 capsommer đối xứng hình khối 20 mặt. Đường kính khoảng 27–30nm. ARN có trọng lượng phân tử là $2,5 \times 10^6$ dalton (7,7 kilôbase).



Virus bại liệt ở KHV điện tử

1.2. Sức đề kháng

Virus bại liệt có sức đề kháng cao, trong nước có thể sống được khoảng bốn tháng, trong phân sống được trên sáu tháng, chịu được pH chênh lệch từ 4–10 mà không bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipid (ether, xà phòng...). Ở nhiệt độ

-70°C đến -20°C virus sống được nhiều năm. Tuy nhiên, virus lại dễ bị tiêu diệt ở nhiệt độ $56^{\circ}\text{C}/30$ phút và các chất sát khuẩn.

1.3. Nuôi cấy

Virus bại liệt có thể nuôi cấy trên các tế bào tiên phát như: tế bào thận khỉ *Macacus Rhesus*, tế bào thận người, tế bào màng ối người hoặc các tế bào thứ phát như: tế bào Hela, tế bào KB. Trong đó, nuôi cấy tốt nhất là tế bào vỏ thận khỉ.

1.4. Kháng nguyên

Năm 1949, Bodian, Sessel và Pait đã chứng minh được virus bại liệt có 3 typ huyết thanh khác nhau, đó là Typ I, giống điển hình là Bruhilde; Typ II, giống điển hình là Lansing; Typ III, giống điển hình là Leon.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Virus bại liệt phân bố rộng rãi hầu khắp thế giới. Đường lây truyền được coi là trực tiếp hay gián tiếp qua đường phân – miệng. Nước bị nhiễm chất thải, thức ăn bị nhiễm hoặc côn trùng trung gian (ruồi, gián...) đôi khi cũng là nguồn lây nhiễm. Ngoài ra virus bại liệt có thể lây qua đường hô hấp. Bệnh thường xảy ra ở mùa hè và ở trẻ em cao nhất là dưới ba tuổi, giảm dần ở lứa tuổi sắp đi học.

2.2. Khả năng gây bệnh

Virus bại liệt gây nhiễm trùng đa số (khoảng 90%) là thể ẩn hay rất nhẹ. Khi bệnh xảy ra, thời kỳ ủ bệnh có thể là 4–35 ngày, thường là 7–14 ngày. Lâm sàng bệnh chia ra làm ba thể:

– *Bại liệt không thành*: đó là bệnh nhân chỉ có sốt nhẹ kéo dài 2–3 ngày mà không có dấu hiệu về thần kinh.

– *Viêm màng não vô khuẩn*: có dấu hiệu về thần kinh, nhưng lành tính và khỏi trong vòng một vài ngày.

– *Bại liệt có liệt chi*: ở trẻ em dưới 5 tuổi liệt một chi thường gặp nhất, ở từ 5–15 tuổi thì yếu một tay hay liệt nhẹ thường gặp, còn người trưởng thành thì hay liệt cả 4 chi.

Ngoài ra, bệnh bại liệt còn một thể rất nặng là thể hành tủy và bệnh nhân có thể chết do rối loạn về hô hấp, tuần hoàn.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Phân lập và xác định virus

Bệnh phẩm: tốt nhất là phân, nên lấy vào 3 ngày liên tiếp. Nếu là tử thi, lấy não (vùng bó tháp) bảo quản trong dung dịch nước muối đậm có 50% glycerol. Bệnh phẩm phải được bảo quản và đưa về phòng xét nghiệm trong điều kiện lạnh.

Phân lập: hiện nay, được sử dụng rộng rãi nhất là phương pháp nuôi cấy tế bào:

- Tế bào nguyên phát: tế bào thận khỉ, tế bào thận người và màng ối người.
- Tế bào thường trực: tế bào Hela, tế bào KB.

Xác định:

- Xác định sự có mặt của virus trong bệnh phẩm là những đám hoại tử tế bào.
- Định typ virus bằng phản ứng trung hoà trên nuôi cấy tế bào.

3.2. Chẩn đoán huyết thanh

Bệnh phẩm: huyết thanh bệnh nhân. Phải lấy hai lần cách nhau khoảng 7 ngày để tìm động lực kháng thể.

Các phản ứng thường dùng: phản ứng trung hoà, phản ứng kết hợp bổ thể và phản ứng ELISA.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh không đặc hiệu: đảm bảo vệ sinh ăn uống, vệ sinh thực phẩm, vệ sinh nguồn nước và tăng cường diệt côn trùng gieo mầm bệnh (ruồi giấm...). Ngoài ra, phải phát hiện sớm bệnh nhân để cách ly và xử lý các chất thải, đồ dùng có liên quan đến bệnh nhân bằng chloramin 1% trong 1 giờ.

Phòng bệnh đặc hiệu: hiện nay, trên thế giới có hai loại vaccin thường được sử dụng là: vaccin Salk và vaccin Sabin. Trong đó, qua quá trình sử dụng người ta thấy vaccin Sabin dùng thuận tiện hơn và khả năng tạo miễn dịch mạnh hơn.

4.2. Điều trị

Chủ yếu là điều trị triệu chứng, phục hồi chức năng để phòng biến chứng và nâng cao thể trạng cho bệnh nhân.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Virus bại liệt chứa ARN một sợi.		
2	Virus bại liệt dễ bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipid.		
3	Virus bại liệt không bị tiêu diệt bởi nhiệt độ 56°C trong 30 phút.		
4	Tế bào vỏ thận khỉ thích hợp nhất cho nuôi cấy virus bại liệt.		

5	Bệnh bại liệt chủ yếu ở trẻ tuổi đi học.		
6	Bại liệt lây chủ yếu qua đường hô hấp.		
7	Bệnh phẩm nuôi cấy virus bại liệt tốt nhất là phân.		
8	Virus bại liệt thường gây nhiễm trùng thể ẩn hoặc biểu hiện rất nhẹ		

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau

9. Virus bại liệt gồm.....typ huyết thanh.

10. Nêu ba thể lâm sàng của bệnh bại liệt:

A.....B.....C.....

11. Phương pháp phân lập virus bại liệt được sử dụng rộng rãi nhất là.....

12. Xác định sự có mặt của virus bại liệt trong môi trường tế bào nuôi cấy bằng

13. Định typ virus bại liệt bằng phản ứng

14. Nêu ba phản ứng miễn dịch thường dùng trong chẩn đoán huyết thanh bệnh bại liệt:

A.....B.....C.....

15. Hai vaccin phòng bệnh bại liệt thường được dùng là.....và.....

ROTAVIRUS

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học và khả năng gây bệnh của Rotavirus.
2. Nêu các phương pháp chẩn đoán Rotavirus.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Rotavirus là thành viên của gia đình Reoviridae. Dưới kính hiển vi điện tử, virus này trông giống hình bánh xe và có capsid đối xứng hình khối gồm có hai lớp bao bọc quanh một ARN sợi kép chứa 11 đoạn. Rotavirus không có vỏ envelope, đường kính của virus vào khoảng từ 70–75 nm.

1.2. Sức đề kháng

Rotavirus tương đối bền vững, chúng có thể tồn tại nhiều ngày trong phân ở nhiệt độ thường và không chịu tác dụng của các chất hoà tan lipid. Nhưng Rotavirus rất dễ bị bất hoạt bởi pH acid và kiềm pH acid ($\text{pH} < 3$ hoặc $\text{pH} > 10$), do vậy mà người ta có thể xử lý virus này bằng ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA).

1.3. Nuôi cấy

Rotavirus có thể được nuôi cấy trên tế bào tiên phát như: tế bào ruột, tế bào thai người, tế bào thai lợn ... Tuy nhiên tỷ lệ virus gây nhiễm giảm dần và bị mất đi sau 2–5 lần cấy truyền.

1.4. Sự nhân lên trong cơ thể

Rotavirus thường gây nhiễm các tế bào có nhung mao trưởng thành ở ruột non và quá trình nhân lên của chúng diễn ra hoàn toàn trong bào tương của tế bào.

1.5. Kháng nguyên

Đối với Rotavirus thì hai lớp capsid mang hai kháng nguyên riêng biệt, lớp capsid ngoài mang kháng nguyên đặc hiệu typ và lớp capsid trong mang kháng nguyên đặc hiệu nhóm. Nhân không mang kháng nguyên.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Nhiễm Rotavirus xuất hiện khắp thế giới. Đến 3 tuổi, gần như mỗi một cá thể đã bị nhiễm Rotavirus một lần. Ở những vùng khí hậu ôn hoà, nhiễm Rotavirus là theo mùa, xuất hiện vào những tháng đông lạnh là nhiều hơn. Ở những vùng nhiệt đới, nhiễm Rotavirus có xu hướng xuất hiện suốt năm, với đôi lần tăng lên về tần suất trong mùa mưa lạnh nhiều. Rotavirus chủ yếu gây tiêu chảy ở trẻ < 3 tuổi nhưng chúng cũng có thể gây bệnh ở người lớn, đặc biệt là những đối tượng suy giảm miễn dịch, HIV... Sự lây truyền của Rotavirus là theo con đường phân – miệng.

2.2. Khả năng gây bệnh

Rotavirus thường gây viêm dạ dày, ruột. Biểu hiện bao gồm từ nhiễm trùng ẩn, ỉa chảy nhẹ, đến mức nghiêm trọng, đôi khi gây chết. ủ bệnh thường chỉ 1–2 ngày. Đợt toàn phát xảy ra đột ngột với các triệu chứng nôn mửa kèm theo ỉa chảy và bệnh nhân có sốt nhẹ. Dấu hiệu mất nước nặng hay nhẹ tùy theo mức độ ỉa chảy và quyết định mức độ toàn thân. Phân thường có nhày và không có máu.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm là phân lấy trong tuần đầu của bệnh. Sau đó ta có thể xác định sự có mặt của virus trực tiếp từ bệnh phẩm bằng:

- Kỹ thuật miễn dịch men (ELISA)
- Miễn dịch huỳnh quang (Immuno Fluorescence)
- Miễn dịch phóng xạ (RIA)
- Ngưng kết hồng cầu (hoặc hạt Latex) thụ động.
- Tìm và quan sát độ lớn và hình thái hạt virus bằng kính hiển vi điện tử.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp (huyết thanh học)

Lấy huyết thanh bệnh nhân để tìm kháng thể bằng các phương pháp: phản ứng ELISA, phản ứng huỳnh quang miễn dịch, phóng xạ và kết hợp bổ thể. Tuy nhiên, chẩn đoán gián tiếp thường ít có giá trị vì có kết quả chậm.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh, nhưng sự tiến bộ về một số vaccin sống giảm độc lực gợi ý rằng có thể dự phòng bằng đường uống trong tương lai. Cho nên chỉ có thể phòng bệnh không đặc hiệu với những công việc sau:

- Vệ sinh ăn uống.
- Quản lý và xử lý tốt những chất thải của bệnh nhân.

4.2. Điều trị

Chủ yếu là bồi phụ nước và điện giải kết hợp với nâng cao thể trạng cho bệnh nhân đến khi hồi phục hoàn toàn.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Rotavirus có ARN đơn chuỗi 11 đoạn, hình khối 20 mặt có vỏ envelope.		
2	Rotavirus bị tiêu diệt bởi các dung môi hoà tan lipid.		
3	Rotavirus có thể cấy truyền trên các tế bào ruột, tế bào thai người.		
4	Quá trình nhân lên của Rotavirus hoàn toàn xảy ra trong bào tương tế bào chủ.		
5	Hai lớp capsid của Rotavirus mang hai kháng nguyên riêng biệt.		
6	Rotavirus lây qua con đường phân – miệng		
7	Chẩn đoán huyết thanh Rotavirus thường ít có giá trị trên lâm sàng.		
8	Hiện nay đã có vaccin Rotavirus sống – giảm độc lực.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

9. Rotavirus chủ yếu gây tiêu chảy:

- A. Trẻ từ 3–15 tuổi
- B. Trẻ em dưới 3 tuổi
- C. Người già
- D. Cả A,B và C

10. Có thể chẩn đoán virus trực tiếp từ bệnh phẩm bằng kỹ thuật:

- A. ELISA
- B. Miễn dịch huỳnh quang
- C. Ngưng kết hồng cầu thụ động
- D. Cả A, B và C

CÁC VIRUS GÂY VIÊM GAN

(*Hepatitis viruses*)

(3 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học và khả năng gây bệnh của các virus viêm gan A, B, C.
2. Trình bày các phương pháp chẩn đoán, phòng và điều trị bệnh viêm gan do các virus viêm gan A, B, C
3. Nêu những nét chính về virus viêm gan D và E.

Các virus gây viêm gan là những virus có ái tính với tế bào gan. Những virus này xâm nhập, nhân lên và gây tổn thương chủ yếu ở tế bào gan sau khi vào trong cơ thể. Hiện nay các virus gây viêm gan được chia thành năm loại chính: A, B, C, D, E.

VIRUS GÂY VIÊM GAN A (HAV)

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc: HAV là typ thứ 72 của *Enterovirus*, thuộc nhóm *Picornavirus* và không có vỏ envelope. Ngoài cùng là vỏ capsid gồm có 32 capsomer được tạo bởi 4 protein cấu trúc và làm cho virus có hình đối xứng 20 mặt với đường kính khoảng 27nm. Phía trong là ARN sợi dương duy nhất, trọng lượng khoảng $2,5 \times 10^6$ dalton.

1.2. Sức đề kháng: HAV có thể tồn tại 18 giờ ở 4°C, sau 72 giờ ở 37°C, 1 giờ ở 60°C và có thể sống hằng năm ở -20°C. Ngoài ra, HAV cũng không bị bất hoạt bởi các dung môi hoà tan lipid thông thường như ether. Nhưng HAV lại dễ dàng bị bất hoạt bởi tia cực tím, formalin nồng độ 1/400 hoặc ở 100°C trong vòng 5 phút (đây là đặc điểm quan trọng trong sản xuất vaccin).

1.3. Nuôi cấy: HAV có thể nuôi cấy được trên các tế bào lưỡng bội phổi người, tế bào Vero hoặc tế bào vượn tinh tinh (Chimpanzee) hay tế bào khỉ xanh châu Phi và tế bào thai khỉ đuôi ngắn Ấn Độ

1.4. Sự nhân lên của HAV: xảy ra trong bào tương của tế bào chủ.

1.5. Kháng nguyên: HAV chỉ có một kháng nguyên chung là HA_{Ag}, do đó virus này chỉ có 1 typ đồng nhất. Đối với những người mắc bệnh HAV thì cơ thể sẽ đáp ứng miễn dịch với kháng thể là IgG tồn tại trong nhiều năm và có thể là suốt đời.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

HAV có mặt khắp thế giới và lây truyền qua đường phân miệng. Nguồn lây chính là người mang virus không biểu hiện triệu chứng bệnh (chiếm 40–60%) và người bệnh. Những người nhiễm HAV chủ yếu là trẻ em và những người sống mất vệ sinh. Trong đó bệnh viêm gan A có tỷ lệ cao ở vùng nhiệt đới, đặc biệt là các nước nghèo có điều kiện vệ sinh thấp kém.

2.2. Khả năng gây bệnh

HAV chỉ gây bệnh cho người, nhưng có thể gây bệnh thực nghiệm cho tinh tinh.

Ở người thường HAV ủ bệnh khoảng 20–30 ngày rồi biểu hiện các triệu chứng nhẹ như: sốt 38–38,5°C, vàng da niêm mạc, nước tiểu vàng... và rất hiếm có các triệu chứng nặng. Khoảng 40–60% người mắc HAV không có biểu hiện lâm sàng.

3. Chẩn đoán

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Bệnh phẩm là phân hoặc mảnh sinh thiết gan. Có thể xác định trực tiếp virus trong bệnh phẩm bằng kính hiển vi điện tử hay kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang và miễn dịch phóng xạ. Ngoài ra có thể nuôi cấy phân lập virus trong các tế bào Vero hoặc tế bào lưỡng bội phổi người.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Bệnh phẩm là huyết thanh bệnh nhân. Có thể tìm thấy IgM ngay từ những ngày đầu của bệnh với một hiệu giá kháng thể rất cao bằng phản ứng ELISA, trong đó IgG cũng tìm được giai đoạn này bởi các phản ứng kết hợp bổ thể, phản ứng trung hoà, miễn dịch phóng xạ hoặc ELISA... nhưng rất khó tìm thấy sự gia tăng 4 lần của IgG trong máu lần 2.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

– Phòng bệnh không đặc hiệu: bằng cách quản lý bệnh nhân và xử lý tốt chất thải, đồ dùng của bệnh nhân.

– Phòng bệnh đặc hiệu: vaccin sống giảm độc lực đã được chứng minh là có tác dụng bảo vệ tốt, tuy nhiên chưa được sử dụng rộng rãi cho người. Hiện nay thường dùng globulin người bình thường hoặc globulin kháng HAV cho trẻ em vùng có dịch (0,02–0,12 ml/kg cân nặng) để giúp cho cơ thể có ngay kháng thể thụ động chống lại virus. Nhưng globulin không có giá trị khi tiêm cho người đã mắc HAV sau 15 ngày.

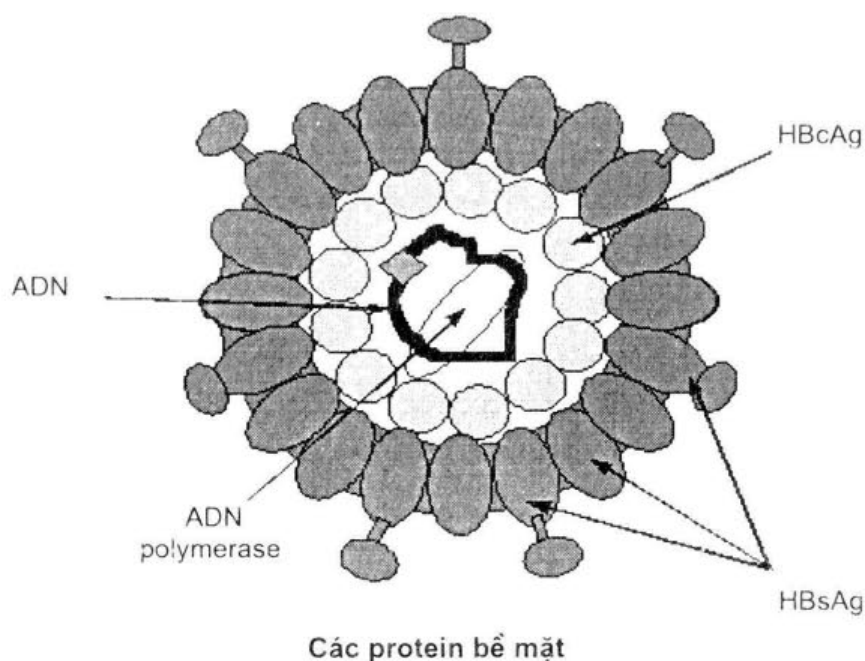
4.2. Điều trị

Chủ yếu là chăm sóc điều dưỡng và điều trị triệu chứng. Tuy nhiên trong 7–10 ngày đầu có thể dùng globulin kháng HAV để bất hoạt virus.

VIRUS GÂY VIÊM GAN B (HBV)

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc



HBV thuộc nhóm *Hepadnaviridae*. Năm 1970, Dane phát hiện thấy virus trong huyết thanh bệnh nhân bằng kính hiển vi điện tử dưới dạng hạt hình cầu

phức tạp, đường kính khoảng 42 nm và vùng lõi đậm kích thước khoảng 28 nm. Hạt này được gọi là hạt Dane.

Cấu trúc của hạt Dane gồm có ADN sợi đôi hình thành với khoảng 3.000 nucleotid và capsid đối xứng hình khối 20 mặt tạo thành lõi có kích thước khoảng 28 nm. Vỏ ngoài dày 7 nm cấu tạo bởi ba protein cấu trúc làm cho virus có hình cầu với đường kính khoảng 42 nm.

1.2. Sức đề kháng

Virus tương đối vững bền với nhiệt độ, 4°C tồn tại trong 18 giờ, ở 50°C trong 30 phút thì không bị bất hoạt, ở 60°C trong 1 giờ cũng không bị bất hoạt mà sau khoảng 10 giờ thì mới chỉ bất hoạt được một phần. Virus đề kháng với ether, xà phòng. Tuy nhiên virus dễ dàng bị bất hoạt dưới dạng của tia cực tím, nhiệt độ 100°C trong 5 phút và formalin 1/400.

1.3. Nuôi cấy và sự nhân lên

Hiện nay chưa tìm được hệ tế bào nuôi cấy thích hợp cho HBV.

Sự nhân lên của HBV diễn ra trong bào tương của tế bào chủ, duy nhất quá trình sao mã tạo ra các mARN xảy ra ở trong nhân.

1.4. Miễn dịch

1.4.1. Kháng nguyên

HBV có ba loại kháng nguyên chính:

- HBsAg là kháng nguyên bám lên bề mặt tế bào. Đây là kháng nguyên có sự thay đổi giữa các thứ typ, gồm có 4 typ phụ: adw, ayw, adr, ayr. Có mặt rất sớm và mất sau 4–8 tuần nhiễm HBV. Nếu HBsAg xuất hiện trên 6 tháng thì có thể gặp ở người mang virus hoặc bệnh nhân viêm gan kéo dài.

- HBcAg là kháng nguyên lõi nằm ở trung tâm của hạt virus. Muốn phát hiện được kháng nguyên này phải phá vỡ hạt virus.

- HBeAg là kháng nguyên có nguồn gốc từ nucleocapsid, thường thay đổi ở các thứ typ và gồm có 2 typ phụ: HBeAg/1, HBeAg/2. Kháng nguyên này có mặt trong máu khi mà HBV có sự nhân lên. Người có HBeAg (+), HBsAg (+) thì có khả năng lây nhiễm rất cao (nếu là nữ thì 100% lây từ mẹ sang con).

1.4.2. Kháng thể

Khi cơ thể nhiễm HBV thì sẽ sinh các kháng thể tương ứng:

- Kháng thể kháng HBsAg (HBsAb): xuất hiện rất muộn sau khi nhiễm HBV. Do HBsAb có tác dụng chống HBV nên khi xuất hiện HBsAb thì bệnh cảnh của bệnh nhân được cải thiện

- Kháng thể kháng HBcAg (HBcAb): không có tác dụng chống HBV. Có sớm ở giai đoạn ủ bệnh, nhưng nếu kéo dài thì bệnh nhân sẽ trở thành viêm gan mạn.

Trong đó: HBcAb– IgM chỉ có ở giai đoạn cấp, HBcAb– IgG có cả ở giai đoạn muộn và tồn tại lâu.

Kháng thể kháng HBeAg (HBeAb): xuất hiện rất muộn, thường ở thời kỳ lui bệnh và hồi phục. Trong đó: HBeAb – IgM xuất hiện sớm, HBeAb – IgG xuất hiện muộn hơn.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

HBV lây truyền chủ yếu qua 3 con đường chính, đó là: đường máu, đường tình dục và từ mẹ sang con. Hiện nay, có nhiều con đường có thể dẫn đến nhiễm virus này, Ví dụ: tiêm truyền (chủ yếu là tiêm chích ma túy), gái mại dâm và các con đường khác như cắt tóc, nhổ răng, châm cứu... Do vậy, viêm gan B có thể gặp ở mọi lứa tuổi và có tỷ lệ cao ở những đối tượng phơi nhiễm. Ngoài ra, viêm gan B còn được biết là căn nguyên chủ yếu dẫn tới suy gan và ung thư gan.

2.2. Khả năng gây bệnh

HBV chỉ gây bệnh cho người, thời gian ủ bệnh thường 40 – 90 ngày hoặc dài hơn. Thời kỳ khởi phát và toàn phát thường biểu hiện rầm rộ, cấp tính với các triệu chứng: sốt cao, vàng da vàng mắt, mệt mỏi, chán ăn và mất ngủ. Thường bệnh nhân bình phục sau 4 tuần với triệu chứng đi tiểu nhiều, nước tiểu trong dần và bệnh nhân trở lại ăn khỏe bình thường. Tuy nhiên có khoảng 5–10% viêm gan B có thể trở thành mạn tính và các biến chứng xơ gan hay ung thư gan.

3. Chẩn đoán vi sinh

Hiện nay, chẩn đoán viêm gan B thường dựa vào các phản ứng huyết thanh tìm các marker (dấu ấn) của HBV để xác định virus và các dạng nhiễm virus.

3.1. Viêm gan cấp

– Giai đoạn sớm:

HBsAg (+) + HBeAg (+) + HBcAb – IgM (+) + HBcAb – IgG (–)

– Giai đoạn muộn:

HBsAg (+) + HBeAg (–) + HBcAb – IgM (+) + HBcAb – IgG (–)

3.2. Viêm gan mạn

– Thể trung gian:

HBsAg (+) + HBeAg (–) + HBcAb – IgM (–) + HBcAb – IgG (+)

– Thể tấn công:

HBsAg (+) + HBeAg (–) + HBcAb – IgM (+) + HBcAb – IgG (+)

3.3. Giai đoạn bắt đầu hồi phục

HBsAg (+) + HBeAg (-) + HBcAb - IgM (+/-) + HBcAb - IgG (+)
HBeAb (+) + HBsAb (+)

3.4. Giai đoạn hồi phục hoàn toàn

HBsAg (-) + HBeAg (-) + HBcAb - IgM (+/-) + HBcAb - IgG (+)
+ HBeAb (+) + HBsAb (+)

3.5. Người mang virus

- Lây nhiễm cao:

HBsAg (+) + HBeAg (+) + HBcAb - IgM (-)

- Không lây:

HBsAg (+) + HBeAg (-) + HBcAb - IgM (-)

3.6. Người sau một thời gian tiêm vaccin

HBsAg (-) + HBeAg (-) + HBcAb (-) + HBeAb (-) + HBsAb (+)

Chú giải:

(+) nghĩa là dương tính, (-) là âm tính. Các tính chất này được xác định bằng phản ứng huyết thanh.

Ngoài việc chẩn đoán dựa vào các marker của HBV, trên thực tế người ta có thể dùng kỹ thuật PCR (polymerase chain reaction) để xác định sự có mặt của virus trong máu bệnh nhân.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Phòng bệnh không đặc hiệu: rất quan trọng. Đó là phòng tránh sự lây nhiễm HBV theo nhiều đường khác nhau. Ví dụ: phải có nếp sống lành mạnh (không mại dâm, ma túy), các dụng cụ y tế phải đảm bảo nguyên tắc vô trùng.

Phòng bệnh đặc hiệu: hiện nay, có vaccin HBsAg được sản xuất bằng huyết tương của người nhiễm HBV và vaccin sản xuất từ tái tổ hợp. Tuy nhiên, vaccin HBsAg chỉ là của một thứ typ, do vậy là không chắc chắn phòng được HBV của các thứ typ khác. Đã có vaccin tái tổ hợp, hiện được dùng ở Việt Nam và nhiều nước.

4.2. Điều trị

Không có thuốc điều trị đặc hiệu virus. Chủ yếu là điều trị triệu chứng, bệnh nhân nghỉ ngơi và có chế độ dinh dưỡng hợp lý. Hiện nay người ta thường sử dụng các thuốc chống virus như: Interferon, Acyclovir, Adenin - asabinosid... trong điều trị viêm gan virus.

VIRUS GÂY VIÊM GAN C (HCV)

Virus gây viêm gan C trước đây được xếp vào nhóm virus "non" A, "non" B ("không" A, "không" B). Đến năm 1988, Shikata xếp virus "không" A, "không" B thành một virus riêng biệt là virus gây viêm gan C (HCV). Virus này cùng nhóm với virus Dengue, virus viêm não Nhật Bản... thuộc nhóm Flaviviridae.

1. Đặc điểm sinh vật

– *Hình thể và cấu trúc*: HCV có hình cầu đường kính khoảng 40–60nm với phía ngoài được bao bọc bởi envelope có cấu trúc lipid kép. Vỏ capsid đối xứng 20 mặt cấu tạo bởi protein, và trong cùng là ARN sợi đơn bao gồm khoảng 9.033 nucleotid, có enzym sao chép ngược.

– *Sức đề kháng*: virus dễ bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipid (ether, chloroform...), tia cực tím và nhiệt độ cao.

– *Kháng nguyên*: HCV có ít nhất là 2 typ kháng nguyên khác nhau và không có phản ứng chéo giữa kháng nguyên của 2 typ.

2. Dịch tễ và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ

HCV có mặt ở hầu khắp thế giới và mọi lứa tuổi. Đối tượng và đường lây truyền chủ yếu là lây qua đường truyền máu, do đó thường gặp ở những người tiêm chích ma tuý hoặc mắc các bệnh về máu như hemophylie, leucemie, suy tuỷ xương ... Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm HCV ở từng khu vực có sự khác nhau. Ví dụ: ở Mỹ 1,4%, ở Nhật 1,5% và ở Ai Cập là 10,9%.

2.2. Khả năng gây bệnh

HCV chỉ gây bệnh cho người và có thể gây bệnh thực nghiệm cho tinh tinh.

Thời gian ủ bệnh sau khi HCV xâm nhập vào trong máu rất thay đổi, từ 2 tuần cho đến 3–4 tháng. Trong đó 95% số người có triệu chứng không rõ ràng và 5% bệnh nhân có rối loạn tiêu hoá, mệt mỏi do các tổn thương ở tế bào gan. Khoảng 50–70% bệnh nhân viêm gan C chuyển thành mạn tính, điều rất nguy hiểm là thể mạn tính rất dễ dẫn đến xơ gan và ung thư gan.

3. Chẩn đoán vi sinh

Chủ yếu là dựa vào tìm kháng thể kháng HCV bằng kỹ thuật ELISA hoặc RIBA (kỹ thuật thẩm miễn dịch) và có thể sinh thiết tế bào tìm tổn thương ở bào tương hoặc nhân tế bào kết hợp với dấu hiệu tăng transaminase.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Chủ yếu là phòng bệnh không đặc hiệu như kiểm soát máu và các chế phẩm máu, cũng như mỗi người phải có nếp sống lành mạnh (không tiêm chích ma túy, mai dâm...). Phòng bệnh đặc hiệu chưa thực hiện được do vaccin phòng HCV hiện nay chưa có và không sản xuất được IgG đặc hiệu với HCV.

4.2. Điều trị

Tương tự như đối với viêm gan B.

VIRUS GÂY VIÊM GAN D VÀ VIRUS GÂY VIÊM GAN E

1. Virus gây viêm gan D (HDV)

– *Cấu trúc*: là virus không hoàn chỉnh gồm một sợi ARN duy nhất ký sinh trong kháng nguyên bề mặt (HBsAg) của HBV. Do vậy, có hai lớp vỏ: vỏ ngoài là HBsAg của HBV và vỏ trong là của HDV được mã hoá bởi genome. ARN của HDV cũng mang tính kháng nguyên đặc hiệu của nó.

– *Dịch tễ và khả năng gây bệnh*: viêm gan D là bệnh thường lưu hành ở những vùng có tỷ lệ nhiễm HDV cao, hay gặp ở Nga, Châu Phi và Nam Mỹ. Không bao giờ nhiễm HDV đơn thuần mà kèm theo nhiễm HBV, do vậy bệnh cảnh lâm sàng thường nặng hoặc mạn tính hay xơ gan. Người ta thấy, có thể nhiễm HDV đồng thời với HBV hoặc bội nhiễm HDV ở người mang HBV mạn tính.

Chẩn đoán: tìm kháng thể bằng ELISA hoặc Western Blot.

2. Virus gây viêm gan E (HEV)

Được xác định vào năm 1985 và xếp trong họ Caliciviridae.

– *Cấu trúc*: gồm ARN một sợi dương xoắn, vỏ capsid đối xứng 20 mặt kích thước khoảng 27 nm và không có envelope.

– *Dịch tễ học và khả năng gây bệnh*: HEV lây truyền qua đường tiêu hoá, có thể gây ra thành dịch hoặc lưu hành ở những vùng vệ sinh kém và có liên quan đến nguồn nước. Các vụ dịch bùng nổ đã được xác định ở một số nước: Ấn Độ, Myanma, Iran, Banglades, Indonesia, Trung Quốc và Algerie. Việt Nam cũng xác định được dịch HEV ở đồng bằng sông Cửu Long. HEV gây bệnh thường nhẹ,

lành tính và không gây ra các biến chứng nặng, nhưng cũng có thể gây viêm gan nặng cho phụ nữ có thai.

Chẩn đoán: có thể xác định sự có mặt của virus bằng kính hiển vi điện tử hoặc tìm kháng thể kháng HEV.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	HAV thuộc nhóm Picornavirus, còn HBV thuộc nhóm Hepadnaviridae.		
2	HEV và HCV đều thuộc nhóm Flaviviridae.		
3	HDV là virus không hoàn chỉnh, chỉ chứa một sợi ADN duy nhất.		
4	Envelope của HCV bản chất là lớp lipid kép.		
5	Các virus viêm gan: HAV, HBV, HCV và HEV đều có vỏ capsid đối xứng hình khối 20 mặt.		
6	HAV nhạy cảm với các dung môi hoà tan lipid.		
7	HAV và HBV dễ bị bất hoạt bởi tia cực tím hoặc formalin 1/400 hay ở 100°C trong vòng 5 phút.		
8	HCV dễ bị bất hoạt bởi các dung môi hoà tan lipid.		
9	HAV chỉ có một kháng nguyên chung là HAAg.		
10	HBV có thể nuôi cấy trên các tế bào lưỡng thể phôi người, tế bào Vero... còn HAV hiện nay chưa tìm thấy tế bào nuôi cấy thích hợp.		

Chọn câu đúng nhất trong các câu sau:

11. Virus sau đây không có envelope:

- A. HAV B. HBV và HCV C. HEV D. A và C

12. Virus viêm gan không thể một mình gây bệnh, đó là:

- A. HAV B. HBV C. HEV D. HDV

13. Virus viêm gan lây truyền qua đường tiêu hoá

- A. HAV B. HBV C. HEV D. A và C

14. Virus viêm gan lây qua đường máu:

- A. HBV B. HCV C. HDV D. Cả A, B và C

15. Virus có envelope cấu trúc bởi 3 protein cấu trúc:

A. HBV

B. HAV

C. HCV

D. HEV

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau:

16. Nêu ba loại kháng nguyên chính của HBV:

A.....B.....C.....

17. HCV có ít nhất..... typ kháng nguyên khác nhau.

18. Nêu ba con đường lây truyền của HBV:

A.....B.....C.....

19. Vaccin HBsAg chỉ đặc hiệu cho một

20. HEV có thể lây viêm gan nặng cho

ADENOVIRUS

(1 tiết)

MỤC TIÊU

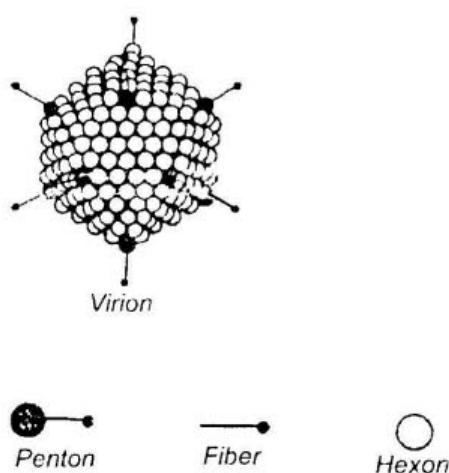
1. Trình bày đặc điểm dịch tễ và khả năng gây bệnh của Adenovirus.
2. Nêu các phương pháp chẩn đoán vi sinh của Adenovirus.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

Dưới kính hiển vi điện tử thì Adenovirus có hình khối 20 mặt và 12 đỉnh với kích thước 60–90 nm. Cấu trúc của hạt virus bao gồm vỏ capsid và lõi virus, không có envelope.

- Vỏ capsid chứa 252 capsomer. Trong số các capsomer thì 240 là hexon nằm ở các mặt, 12 là penton ở các đỉnh và gắn với các Fiber bởi một sợi nhỏ
- Lõi virus bao gồm ADN sợi thẳng kết hợp với các protein lập thành.



1.2. Sức đề kháng

Adenovirus có thể vẫn duy trì khả năng gây nhiễm trong vòng vài ngày ở nhiệt độ phòng, nhiều tuần ở -4°C và nhiều tháng ở -25°C . Tuy nhiên, khi cất giữ thì chúng thường không bền vì các penton dễ bị ly giải một cách ngẫu nhiên. Adenovirus dễ bị tiêu diệt ở nhiệt độ cao và tia cực tím, nhưng không bị tác dụng bởi các chất hoà tan lipid.

1.3. Nuôi cấy

Adenovirus chỉ nuôi cấy được trên các tế bào có nguồn gốc từ người như: tế bào thận phôi người, tế bào Hela hoặc KB... Trong đó thì tế bào Hela hay được dùng nhất và thích hợp nhất.

1.4. Sự nhân lên

Virus xâm nhập vào trong bào tương của tế bào chủ, tháo bỏ vỏ capsid và sau đó chỉ có lõi của virus xâm nhập vào trong nhân của tế bào. Tại nhân, ADN được nhân lên thành nhiều bản và sao mã tạo ra các ARN_m. Những ARN_m này giải mã tổng hợp các protein cấu trúc ở bào tương. Cuối cùng protein cấu trúc sẽ từ bào tương vào trong nhân tế bào để tham gia vào sự lắp ráp các hạt virion hoàn chỉnh.

1.5. Cấu trúc kháng nguyên

Ở Adenovirus thì có ít nhất ba kháng nguyên quan trọng của vỏ capsid:

- Kháng nguyên kết hợp bổ thể: là các Hexon, đặc hiệu chung cho tất cả các typ.
- Kháng nguyên trung hoà: đặc hiệu cho từng typ, nằm trên Penton và Fiber.
- Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu: đặc hiệu typ, nằm trên Penton và Fiber.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Nhiễm Adenovirus xuất hiện chủ yếu ở trẻ nhỏ và trẻ em. Các nhiễm trùng này thường xuất hiện quanh năm nhưng thường thấy nhất là từ mùa thu sang mùa xuân. Sự lan truyền của Adenovirus có thể bằng hít thở virus khí dung, bằng nhiễm truyền virus trong các túi của màng tiếp hợp và có thể xuất hiện tốt ở đường phân – miệng.

2.2. Khả năng gây bệnh

Adenovirus có thể gây nhiều bệnh khác nhau. Trong đó thì các khả năng gây bệnh sau đây là hay gặp nhất:

- Gây viêm đường hô hấp có thể thành dịch.
- Gây viêm màng tiếp hợp – cũng mạc thành dịch, thường gặp nhất là do các typ 8, 19 và 37.
- Gây tiêu chảy ở các trẻ nhỏ do các typ 40 và 41.
- Gây viêm bàng quang xuất huyết do typ 11 và 21.
- Một vài typ Adenovirus có thể gây ung thư ở động vật thí nghiệm nhưng ở người thì chưa rõ.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Phân lập và xác định virus

Tuỳ theo từng bệnh mà Adenovirus gây ra mà ta có thể lấy bệnh phẩm từ

họng hầu, màng tiếp hợp, nước tiểu hay phân... Cần phải lấy sớm ngay những ngày đầu của bệnh, riêng phân có thể lấy trong tuần đầu. Sau đó nuôi cấy virus và phát hiện virus bằng phản ứng kết hợp bổ thể, xác định typ bằng phản ứng trung hoà. Có thể phát hiện virus bằng phản ứng ELISA trực tiếp với phân.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Phản ứng huyết thanh thường được dùng nhất là phản ứng kết hợp bổ thể: bởi vì phản ứng này làm đơn giản và rẻ tiền.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Do Adenovirus có sức đề kháng tương đối cao và lây lan bằng nhiều con đường, cho nên việc phòng bệnh là rất khó khăn. Các vaccin sống giảm độc lực cũng được sản xuất để chống Adenovirus typ 4 và 7, nhưng chưa được dùng rộng rãi. Hiện nay, các vaccin sản xuất từ các dưới đơn vị tinh khiết của Adenovirus đang được nghiên cứu.

4.2. Điều trị

Đối với các bệnh nhiễm trùng do Adenovirus thì chủ yếu điều trị triệu chứng và chống bội nhiễm là chính. Riêng đối với viêm kết mạc thì nên dùng IUDR.

Thuốc 5-iodo-2-deoxyridin có tác dụng tốt ngăn cản sự tổng hợp ADN của Adeno virus.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	Adenovirus có hình khối 20 mặt, 12 đỉnh và 1 phân tử ADN.		
2	Adenovirus có thể duy trì khả năng gây bệnh trong vài ngày ở nhiệt độ phòng.		
3	Tế bào Hela thích hợp nhất là nuôi cấy Adenovirus		
4	Ở vỏ capsid của Adenovirus có 3 kháng nguyên quan trọng, đó là KN kết hợp bổ thể, KN trung hoà và KN ngưng kết hồng cầu		
5	Adenovirus gây bệnh chủ yếu ở người lớn.		
6	IUDR là thuốc ngăn cản tổng hợp ADN của Adenovirus.		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

7. Xác định Adenovirus sau khi nuôi cấy có thể bằng:

- A. Phản ứng kết hợp bổ thể
- B. Phản ứng trung hoà
- C. ELISA
- D. Tất cả A,B và C

8. Phản ứng huyết thanh hay dùng nhất để chuẩn đoán Adenovirus là:

- A. Phản ứng kết hợp bổ thể
- B. Phản ứng trung hoà
- C. E LISA
- D. Tất cả A,B và C

VIRUS THUỶ ĐẬU

(*Varicella zoster*)

(1 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày đặc điểm, dịch tễ học và khả năng gây bệnh của virus *varicella zoster*.
2. Nêu các phương pháp chẩn đoán và phòng bệnh do virus *varicella zoster*.

1. Đặc điểm sinh vật

1.1. Hình thể và cấu trúc

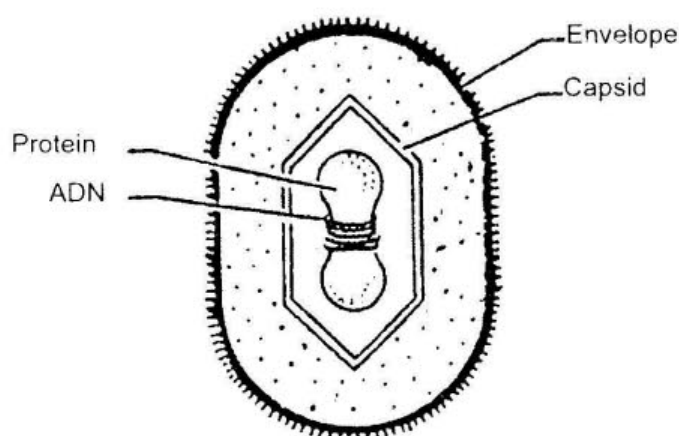
Varicella zoster thuộc họ Herpesviridae, nên nó có cấu trúc hình cầu với kích thước khoảng 180–200 nm và gồm các thành phần sau:

Chứa một phân tử ADN sợi kép quấn quanh một lõi protein có đường kính khoảng 75 nm.

Capsid đối xứng hình khối 20 mặt, đường kính 95–105 nm và gồm có 162 capsomer.

Xung quanh vỏ capsid gồm nhiều hạt protein có hình cầu bao quanh.

Bên ngoài cùng là lớp vỏ envelope lấy từ màng nhân tế bào chủ.



Virus *Varicella zoster*

1.2. Sức đề kháng

Virus *Varicella zoster* đề kháng rất yếu vì chúng tương đối không bền vững, thậm chí ở nhiệt độ -40°C tới -70°C . Nếu gây nhiễm vào mô nuôi cấy thì cũng không thể giữ gìn được lâu hơn 2 tháng.

1.3. Nuôi cấy

Khác với herpes simplex trong họ Herpesviridae, *Varicella zoster* không cấy truyền được vào bào thai gà hoặc gây bệnh cho những động vật thí nghiệm, nhưng nó có thể được nhân lên ở môi trường nuôi cấy là tế bào người hoặc khỉ. Thông thường ta có thể thấy được các hạt virus ở trong dịch nuôi cấy sau 24–36 giờ gây nhiễm, bởi vì lúc này chúng phá vỡ tế bào chủ và tung ra ngoài.

1.4. Đặc điểm nhân lên

Trước hết virus bám vào receptor của tế bào cảm thụ do sự hoà nhập vỏ envelope vào màng nguyên tương. Sau đó, vỏ capsid được cởi bỏ trong bào tương và phức hợp ADN–protein xâm nhập vào trong nhân tế bào. Tại nhân, ADN sao mã thành ARN_m và protein cấu trúc được tổng hợp 2–4 giờ sau đó nhưng là ở bào tương của tế bào chủ. Quá trình lắp ráp của các hạt virus được thực hiện trong nhân tế bào và vỏ envelope được hình thành từ màng nhân sau khi lắp ráp xong. Cuối cùng thì các hạt virus giải phóng khỏi tế bào.

2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

2.1. Dịch tễ học

Người là ổ bệnh duy nhất đã biết của virus *Varicella zoster*. Virus này lây truyền qua đường hô hấp và thường xảy ra với trẻ em hay người lớn bị suy giảm miễn dịch. Sự lây nhiễm virus ở cả hai giới và các cá thể của tất cả các chủng tộc đều dễ dàng như nhau. Virus *Varicella zoster* lưu hành địa phương trong quần thể lớn, song bệnh có thể trở thành dịch trong các cá thể nhạy cảm theo mùa: cuối đông, đầu xuân ở vùng có khí hậu ôn hoà.

2.2. Khả năng gây bệnh

Virus *Varicella zoster* gây ra hai thực thể lâm sàng khác nhau, đó là: thủy đậu (*Varicella*) và Zona (*Herpes zoster*).

Thủy đậu: do nhiễm virus qua đường hô hấp, virus được nhân lên và cuối cùng là nhiễm virus máu. Sự xuất hiện nhiễm virus máu này là nguyên nhân của các tổn thương lan toả ở bệnh thủy đậu.

Biểu hiện lâm sàng là sau khi ủ bệnh 10–21 ngày thì bệnh nhân xuất hiện sốt ($37,8-39,4^{\circ}\text{C}$) và các tổn thương từ dát sần đến các nang nước xuất hiện ở thân, mặt rồi lan nhanh chóng ra các vùng khác của cơ thể. Các nang nước này

có thể trở thành mụn mủ do bội nhiễm liên cầu (*Streptococcus pyogenes*) hay tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus*). Ngoài ra, thủy đậu còn gây viêm phổi mà tỷ lệ ở người lớn cao hơn trẻ em và các biến chứng nội tạng khác.

Zona: người ta cho rằng cơ chế gây bệnh Zona của virus *Varicella-zoster* là do sự tái hoạt hoá của virus sau khi mắc thủy đậu mà virus này đã gây nhiễm rễ hạch thần kinh lưng.

Biểu hiện lâm sàng cũng là những mụn nước, nhưng khác với thủy đậu là zona chỉ gặp ở người lớn và lác đác. Zona là viêm thần kinh, do đó các mụn nước mọc dọc theo dây thần kinh bị viêm và kết hợp với sự đau khủng khiếp của bệnh nhân. Các mụn nước này cũng có thể hoá mủ khi có bội nhiễm.

3. Chẩn đoán vi sinh

3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Làm tiêu bản Tzank: thực hiện bằng cách phết đáy tổn thương (mụn nước) lên lam kính rồi nhuộm bằng Giem sa để chứng minh là các tế bào khổng lồ nhiều nhân.

Nhuộm huỳnh quang trực tiếp các tế bào lấy từ đáy tổn thương ở da để phát hiện virus.

3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Miễn dịch huỳnh quang: đó là phương pháp phát hiện kháng thể chống kháng nguyên màng của virus *Varicella zoster* bằng miễn dịch huỳnh quang.

Miễn dịch ELISA: còn gọi là miễn dịch gắn mên và cũng dùng để phát hiện kháng thể kháng kháng nguyên màng.

4. Phòng bệnh và điều trị

4.1. Phòng bệnh

Các phương pháp phòng bệnh không đặc hiệu như cách ly bệnh nhân hoặc tránh tiếp xúc với họ thường ít có hiệu quả. Hiện nay người ta dùng vaccin *Varicella zoster* sống giảm độc lực để gây miễn dịch chủ động cho những đối tượng có nguy cơ đạt được kết quả rất tốt ở các nước Nhật Bản và Mỹ. Ngoài ra, có thể dùng globulin miễn dịch đặc hiệu với virus này được lấy từ huyết thanh của những bệnh nhân đã khỏi để phòng bệnh.

4.2. Điều trị

Ngoài công việc điều trị triệu chứng và chăm sóc điều dưỡng những chỗ tổn thương để tránh bội nhiễm, có thể dùng các loại thuốc để chống virus như acyclovir, vidarabin thì các tổn thương da sẽ mau lành hơn và biến chứng phụ tạng cũng giảm đi.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột D cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	D	S
1	Virus thủy đậu thuộc họ Herpes viridae, chứa một ARN sợi kép.		
2	Vỏ capsid của Varicella-- zoster có hình khối 20 mặt		
3	Envelope của virus thủy đậu lấy từ màng sinh chất tế bào chủ.		
4	Người và tinh tinh là ổ bệnh của virus varicella zoster.		
5	Visus thủy đậu có khả năng gây ra hai thể bệnh là thủy đậu và zona.		
6	Có thể nuôi cấy visus varicella zoster vào tế bào người hoặc khỉ.		
7	Quá trình nhân lên của virus thủy đậu xảy ra ở bào tương.		
8	Virus varicella zoster có sức đề kháng rất tốt ở trong môi trường.		

Điền từ hoặc cụm từ thích hợp vào các câu sau:

9. Nêu hai phương pháp chẩn đoán trực tiếp virus thủy đậu đã học:

A.....B.....

10. Nêu hai phương pháp chẩn đoán gián tiếp:

A.....B.....

VIRUS GÂY HỘI CHỨNG SUY GIẢM MIỄN DỊCH Ở NGƯỜI

(HIV: *Human Immuno deficiency virus*)

(2 tiết)

MỤC TIÊU

1. Trình bày đủ đặc điểm virus học của HIV
2. Giải thích được các đường xâm nhập của HIV vào cơ thể, sự xâm nhập của HIV vào tế bào và sự nhân lên của virus.
3. Nêu được các phương pháp chẩn đoán virus và các biện pháp phòng nhiễm HIV.

1. Đặc điểm virus học

1.1. Hình thể và cấu trúc

HIV thuộc họ retro viridae. Họ virus này có hình cầu, đường kính khoảng 100nm. Hạt virus hoàn chỉnh (virion) có cấu trúc gồm ba lớp:

1.1.1. Lớp vỏ ngoài (vỏ peplon)

Lớp vỏ này là một màng lipid kép, 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 gồm hai phần:

Glycoprotein màng ngoài có trọng lượng phân tử 120 kilodalton (gp 120), đây là một kháng nguyên dễ thay đổi làm cho kháng thể không có khả năng bảo vệ cơ thể và gây khó khăn cho việc điều chế vaccin.

Glycoprotein xuyên màng có trọng lượng phân tử 41 kilodalton (gp 41).

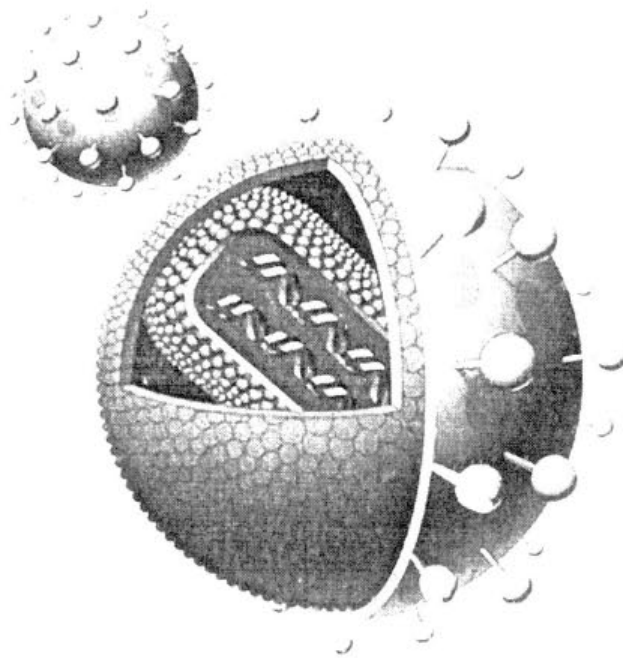
1.1.2. Lớp vỏ trong (vỏ capsid) gồm hai lớp

Lớp ngoài hình cầu, cấu tạo bởi protein có trọng lượng phân tử 18 kilodalton (p 18)

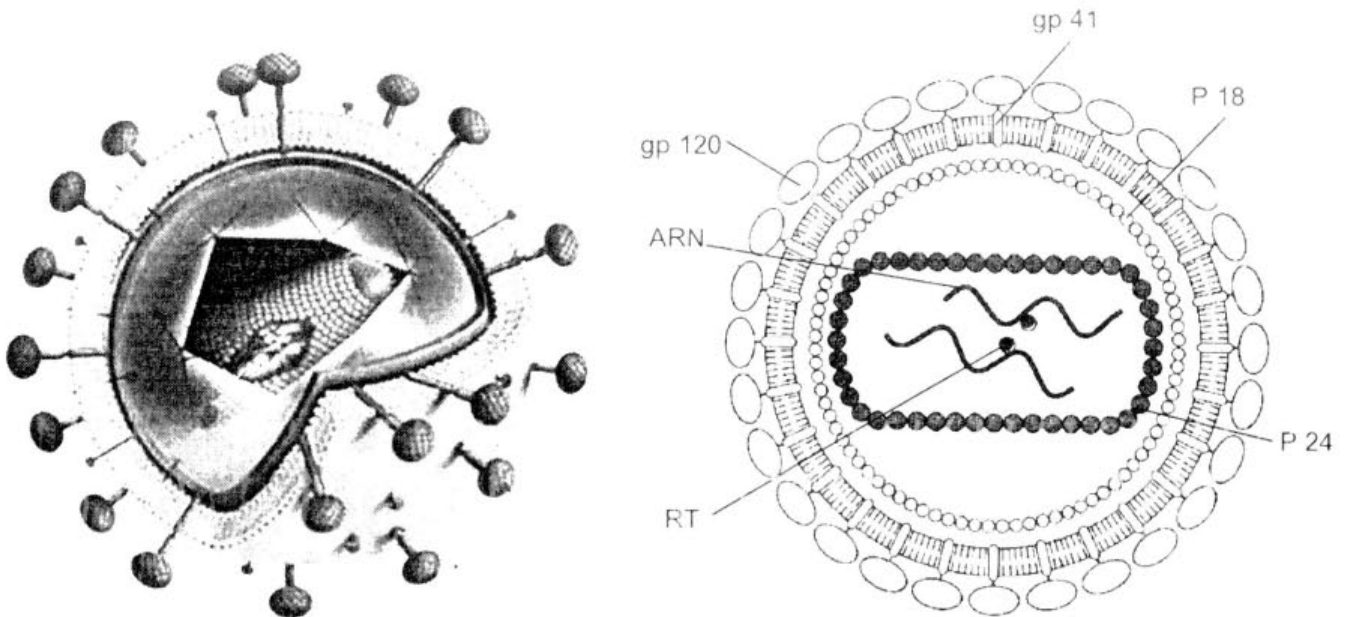
Lớp trong hình trụ, cấu tạo bởi các protein có trọng lượng phân tử là 24 kilodalton (p 24). Đây là kháng nguyên quan trọng để chẩn đoán nhiễm HIV.

1.1.3. Lõi

Gồm hai sợi ARN, đó là bộ gen di truyền của HIV, men sao mã ngược RT (Reverse Transcriptase) và một số men giúp cho quá trình tổng hợp những virus mới.



Virus HIV



Cấu trúc HIV

1.2. Tính chất nuôi cấy

HIV nuôi cấy tốt nhất trên tế bào lympho người và tế bào thường trực Hela có CD₄.

1.3. Sức đề kháng

HIV dễ bị bất hoạt bởi các yếu tố lý học, hoá học vì lớp vỏ là lipid. HIV bị tiêu diệt ở nhiệt độ 56°C/30 phút. Trong tế bào ngoài cơ thể, HIV có thể tồn tại được 13–14 ngày tùy theo nhiệt độ. HIV nhạy cảm với một số hoá chất như oxy già, Javen... nhưng không bị tiêu diệt bởi tia cực tím.

2. Khả năng gây bệnh

2.1. Đường lây truyền

Lây truyền qua đường tình dục: đây là đường lây truyền phổ biến, nguy cơ cao hơn ở những người đồng tính luyến ái nam. Nguy cơ lây nhiễm HIV qua một lần quan hệ với người nhiễm HIV là 1–10%. Khả năng lây nhiễm từ nam sang nữ nhiều gấp 2–4 lần nữ truyền cho nam.

Lây truyền theo đường máu: do truyền máu hoặc các sản phẩm của máu. Có thể lây truyền qua bơm kim tiêm, các dụng cụ phẫu thuật, châm chích, xăm, rạch... Đặc biệt tỷ lệ cao ở những người nghiện chích ma túy. Nguy cơ lây nhiễm qua đường máu rất cao, trên 90%.

Lây truyền từ mẹ sang con: sự lây truyền có thể xảy ra khi có thai, trước, trong và sau khi đẻ. Nguy cơ lây truyền qua đường này khoảng 30–40%.

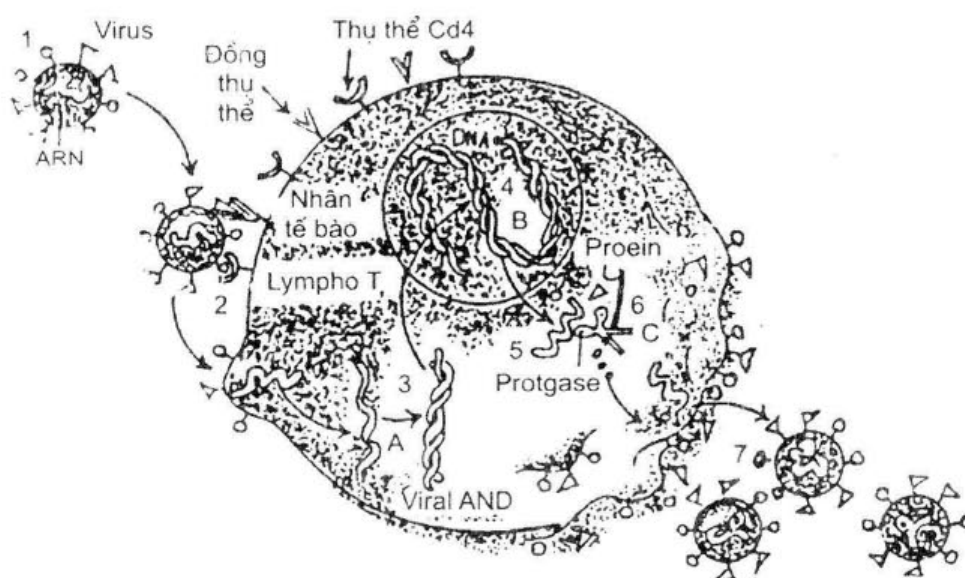
2.2. Sự xâm nhập vào tế bào và nhân lên của HIV

2.2.1. Sự hấp phụ lên bề mặt tế bào

HIV bám vào bề mặt tế bào cảm thụ nhờ sự phù hợp giữa các điểm tiếp nhận (receptor) của tế bào với gp 120 của virus. Trong đa số các trường hợp, các receptor này là các phân tử CD₄ của tế bào 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.

2.2.2. Sự xâm nhập vào tế bào

Sau khi đã bám được vào các điểm tiếp nhận của tế bào chủ, phân tử gp 41 của HIV cắm sâu vào màng tế bào tạo nên sự hoà nhập của vỏ HIV với màng tế bào. Nhờ đó mà genom (ARN) của virus chui vào bên trong tế bào. Vỏ của virus ở ngoài màng tế bào.



2.2.3 Sự nhân lên trong tế bào

Sau khi vào trong tế bào, nhờ enzyme sao mã ngược, ADN của virus được tạo thành từ ARN. Các thuốc ức chế RT như AZT có thể phá vỡ quá trình tạo ADN của virus.

Nhờ có men integrase, ADN của virus tích hợp với ADN của tế bào. Nhờ tích hợp, virus tránh được sự bảo vệ của cơ thể và tác dụng của thuốc. Sau khi tích hợp, ADN của virus có thể nằm im không hoạt động được gọi là tiền virus (provirus) hoặc ở trạng thái thứ 2 là ADN sử dụng bộ máy di truyền của tế bào tổng hợp các thành phần cho việc nhân lên của virus. Các enzyme protease cắt các protein của virus thành các mạch nhỏ để có thể tạo thành những hạt virus mới. Các chất ức chế protease có thể ức chế quá trình này.

Các virus gần màng tế bào đẩy màng này nảy chồi và các hạt virus được giải phóng và tiếp tục xâm nhập vào những tế bào khác, tế bào bị tiêu diệt.

2.2.4. Hậu quả của quá trình nhiễm HIV

HIV có thể xâm nhập và nhân lên ở nhiều loại tế bào như tế bào máu và bạch huyết, tế bào não, tế bào dạ dày, ruột, da... Đặc biệt HIV xâm nhập chủ yếu vào tế bào lympho T CD₄ (+) (tế bào hỗ trợ lympho B trong sản xuất kháng thể và lympho Tc trong miễn dịch tế bào). Tế bào lympho bị suy giảm kéo theo sự suy giảm của hệ thống miễn dịch làm cho những vi sinh vật trong cơ thể bình thường không gây bệnh nay trở thành gây bệnh. Bệnh nhân mắc các bệnh như viêm phổi, viêm da, viêm ruột, viêm họng... do vi khuẩn, nấm, virus. Tình trạng này gọi là bệnh AIDS: Acquired Immuno Deficiency Syndrome -- Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải ở người.

3. Miễn dịch

3.1. Sự tạo thành kháng thể

Khi HIV vào cơ thể, cơ thể có khả năng tạo ra các kháng thể sau.

- Kháng thể trung hòa: kháng thể này đặc hiệu typ chống lại các kháng nguyên vỏ (quan trọng nhất là kháng nguyên gp120). Kháng thể này có vai trò bảo vệ vì nó ngăn cản quá trình xâm nhập vào trong tế bào.

- Tạo kháng thể độc sát tế bào: các tế bào bị nhiễm HIV có thể xuất hiện các kháng nguyên đặc hiệu của virus trên bề mặt. Các kháng thể IgG kết hợp đặc hiệu với các kháng nguyên này dẫn tới làm tan tế bào bị nhiễm HIV và giải phóng các hạt virus.

3.2. Miễn dịch tế bào

Hình thành các tế bào lympho Tc. 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 cùng với các hạt virus trong tế bào.

3.3. Sự né tránh hệ thống miễn dịch của HIV

Khi cơ thể đã hình thành kháng thể chống HIV thì HIV né tránh hệ miễn dịch bằng hình thức chủ yếu là biến dị kháng nguyên. Điều này gây khó khăn cho việc sản xuất vaccin phòng bệnh AIDS. Hoặc một số các hình thức khác như các đại thực bào bị nhiễm HIV di chuyển tới vị trí ẩn đáp ứng miễn dịch như mào tinh hoàn, não hay HIV tồn tại ở dạng provirus.

4. Chẩn đoán xét nghiệm

4.1. Phát hiện kháng thể chống HIV

Thường được dùng nhiều nhất trong chẩn đoán nhiễm HIV vì những kỹ thuật phát hiện kháng thể phù hợp với việc xét nghiệm hàng loạt mẫu máu cho kết quả nhanh, độ nhạy cao nhưng không phát hiện được ở giai đoạn "cửa sổ". Hai kỹ thuật sau được áp dụng phổ biến:

4.1.1. Kỹ thuật ngưng kết Latex nhanh (SERODIA)

Là kỹ thuật ngưng kết hạt vi lượng dựa trên nguyên lý là các hạt bi Latex đã được gắn kháng nguyên HIV, nếu trong huyết thanh có kháng thể HIV thì các hạt sẽ bị ngưng kết. Các hạt ngưng kết thành mạng có thể nhìn thấy bằng mắt thường. Tuy nhiên nhược điểm của kỹ thuật này là do đánh giá bằng mắt thường nên ít nhiều mang tính chủ quan. Đây là kỹ thuật sàng lọc thích hợp cho các nước đang phát triển.

4.1.2. Kỹ thuật miễn dịch enzym pha rắn ELISA

Nguyên lý của phản ứng là kháng nguyên HIV được gắn lên đáy phiến dẻo tạo thành kháng nguyên pha rắn. Khi cho huyết thanh bệnh nhân tiếp xúc với kháng nguyên, nếu trong huyết thanh có kháng thể thì kháng thể sẽ kết hợp với kháng nguyên. Sau đó cho thêm kháng thể gắn enzym thì kháng thể này sẽ gắn tiếp vào phức hợp kháng nguyên – kháng thể nên khi cho thêm cơ chất, enzym sẽ phân huỷ cơ chất, đọc kết quả qua sự biến đổi màu.

4.2. Phát hiện HIV và kháng nguyên virus

4.2.1. Phân lập HIV

HIV có thể phân lập trên tế bào lympho hoặc tế bào Hela có CD₄⁺. Phương pháp này rất nhạy nhưng kết quả chậm và đắt tiền.

4.2.2. Phản ứng khuếch đại gen PCR

Nguyên lý của kỹ thuật là tổng hợp và nhân lên nhiều lần bản sao một đoạn

ADN đặc hiệu HIV từ một tế bào nhiễm giữa 100.000– 1000.000 tế bào bình thường. Kỹ thuật này có ưu điểm là rất nhạy và đặc hiệu. Có thể chẩn đoán sớm HIV ở giai đoạn "cửa sổ" hay trẻ sơ sinh nhưng rất đắt tiền, chỉ áp dụng ở các trung tâm chuyên sâu.

4.2.3. Phát hiện kháng nguyên P_{24}

Kháng nguyên P_{24} có trong huyết thanh, dịch não tủy và thường có rất sớm sau khi nhiễm HIV. Thường dùng kỹ thuật ELISA hay RIA để phát hiện kháng nguyên này. Tuy nhiên kỹ thuật này không dùng cho xét nghiệm sàng lọc vì độ nhạy và độ đặc hiệu thấp.

4.3. Các xét nghiệm huyết học và miễn dịch khác

- Hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu giảm.
- Tế bào lympho T CD_4 giảm dưới 400/mm³ (bình thường 800–1.200/mm³).
- Tỷ lệ lympho T CD_4 / lympho T CD_8 dưới 1 (bình thường = 2).
- γ globulin máu tăng.

5. Phòng bệnh và điều trị

5.1. Phòng bệnh

- Vaccin: hiện nay đã có nhiều loại vaccin đang ở giai đoạn thử nghiệm mà chưa có loại nào được sử dụng.
- Phòng bệnh lây nhiễm qua đường máu: đảm bảo tốt công tác an toàn trong truyền máu và các sản phẩm của máu. Không tiêm chích ma túy. An toàn trong tiêm chích và các can thiệp y tế...
- Phòng lây nhiễm HIV qua đường tình dục: xóa bỏ tệ nạn mại dâm, giáo dục tình dục lành mạnh, tình dục an toàn.
- Phòng lây nhiễm HIV từ mẹ sang con: khuyên những phụ nữ đã nhiễm HIV không nên có con, nếu có thai thì nên mổ đẻ và trong quá trình có thai nên dùng thuốc để ngăn cản sự nhân lên của virus.

5.2. Điều trị

- Dùng các thuốc ngăn cản sự nhân lên của HIV: Retrovir, AZT, suramin...
- Điều trị triệu chứng: chủ yếu dùng kháng sinh thích hợp với từng bệnh nhiễm khuẩn.
- Tăng cường miễn dịch bằng γ globulin miễn dịch và các thuốc miễn dịch.

TỰ LƯỢNG GIÁ

Trả lời đúng hoặc sai các câu sau bằng cách tích (✓) vào cột Đ cho câu đúng và cột S cho câu sai

TT	Nội dung	Đ	S
1	HIV có acid nucleic là ADN		
2	HIV dễ bị tiêu diệt bởi một số hoá chất sát khuẩn thông thường		
3	HIV xâm nhập và nhân lên ở tất cả tế bào máu		
4	Ở bệnh nhân AIDS, tế bào lympho giảm		
5	Kháng thể HIV có thể phát hiện được sau khi nhiễm virus 7–10 ngày		
6	HIV xâm nhập vào tế bào lympho T có CD ₄ vì tế bào đó có các receptor.		
7	Bệnh nhân AIDS thường bị các bệnh nhiễm khuẩn ở da và các cơ quan nội tạng		

Chọn câu trả lời đúng nhất trong các câu sau:

8. HIV là loại virus có đặc điểm:

- A. Giải phóng ra khỏi tế bào theo hình thức nảy chồi.
- B. Cấu trúc kháng nguyên ít thay đổi
- C. Bền vững với nhiệt độ khoảng 45 – 56°C
- D. Dễ bị tiêu diệt bởi tia cực tím

9. HIV có cấu trúc acid nucleic là:

- A. ARN
- B. ADN
- C. ADN và ARN
- D. ADN hoặc ARN

10. Sau giai đoạn hấp phụ của HIV vào tế bào cảm thụ là giai đoạn:

- A. Giai đoạn tổng hợp
- B. Giai đoạn lắp ráp
- C. Giai đoạn xâm nhập
- D. Giai đoạn giải phóng

11. Virus HIV xâm nhập được vào tế bào lympho T vì:

- A. Tế bào có ADN
- B. Tế bào không giết chết virus
- C. Tế bào có điểm tiếp nhận
- D. Tế bào có gai nhú

12. Loại virus sau có nhiều đường xâm nhập vào cơ thể để gây bệnh:

- A. Virus cúm
- B. Virus dại
- C. Virus viêm gan A
- D. Virus HIV

13. Đối tượng sau có thể nhiễm virus HIV:

- A. Người lớn
- B. Trẻ em
- C. Phụ nữ có thai
- D. Tất cả mọi người

14. Giai đoạn cửa sổ là:

- A. HIV bắt đầu xâm nhập vào tế bào
- B. Khi tìm thấy kháng nguyên P24
- C. HIV xâm nhập vào cơ thể mà chưa phát hiện được kháng thể
- D. Khi bắt đầu tìm thấy kháng thể

Giải thích sự xâm nhập và nhân lên của HIV trong tế bào

ĐÁP ÁN

PHẦN I. ĐẠI CƯƠNG VI SINH VẬT

Bài. Lịch sử phát triển, vai trò của vi sinh vật y học

1. S; 2. Đ; 3. S; 4. Đ; 5. Đ; 6. S; 7. Đ; 8. Đ; 9. Đ; 10. A; 11. B; 12. C; 13. E

Bài. Hình thái và cấu trúc của vi khuẩn

1. A; 2. D; 3. A; 4. B; 5. D; 6. A; 7. A

Bài. Sinh lý của vi khuẩn

1. B; 2. C; 3. A; 4. A; 5. C; 6. C; 7. A; 8. B; 9. D; 10. D

Bài. Di truyền vi khuẩn

1. A; 2. B; 3. B; 4. C; 5. B; 6. D; 7. C

Bài. Thuốc kháng sinh đối với vi khuẩn

1. Đ; 2. Đ; 3. S; 4. S; 5. Đ; 6. S; 7. S; 8. Đ; 9. Đ; 10. D; 11. A; 12. C; 13. D;
14. A; 15. A; 16. C

Bài. Đại cương Virus

1. B; 2. D; 3. D; 4. C; 5. B; 6. D; 7. C; 8. A; 9. D; 10. A

Bài. Bacteriophage

1. B; 2. C; 3. B; 4. B; 5. Đ; 6. S; 7. S; 8. Đ; 9. Đ; 10. Đ

Bài. Kháng nguyên kháng thể

1. Đ; 2. S; 3. S; 4. Đ; 5. Đ; 6. Đ; 7. S; 8. Đ; 9. Đ; 10. S; 11. B; 12. D; 13. B; 14. A;
15. C; 16. A; 17. D; 18. C

Bài. Các phản ứng miễn dịch dùng trong chẩn đoán vi sinh vật

1. C; 2. C; 3. D; 4. B; 5. C; 6. D; 7. B

Bài. Vacxin và huyết thanh miễn dịch

1. A; 2. C; 3. C; 4. D; 5. B; 6. B; 7. D; 8. B; 9. D

Bài. Vi sinh vật trong thiên nhiên và ảnh hưởng của các nhân tố ngoại cảnh đối với vi khuẩn

1. Đ; 2. S; 3. S; 4. S; 5. Đ; 6. Đ; 7. Đ; 8. Đ; 9. Đ; 10. S; 11. Đ; 12. S; 13. Đ; 14. Đ; 15. S; 16. S; 17. B; 18. B; 19. D; 20. D; 21. A; 22. D; 23. C; 24. D

Bài. Nhiễm trùng và truyền nhiễm

1. S; 2. S; 3. Đ; 4. Đ; 5. Đ; 6. S; 7. S; 8. Đ; 9. S; 10. Đ; 11. D; 12. B; 13. B; 14. C; 15. D

Bài. Nhiễm trùng bệnh viện

1. S; 2. Đ; 3. Đ; 4. Đ; 5. S; 6. Đ; 7. S; 8. Đ
9. Hai nguồn gây nhiễm trùng bệnh viện :
A. Chất bài tiết của bệnh nhân
B. Bệnh phẩm.
10. Ba nguyên tắc chính trong phòng ngừa nhiễm trùng bệnh viện :
A. Tiêu diệt các nguồn vi sinh vật có khả năng gây nhiễm trùng
B. Hạn chế sự lan truyền của vi sinh vật gây bệnh trong bệnh viện
C. Nâng cao sức đề kháng cho đối tượng cảm thụ

Bài. Các phương pháp chẩn đoán vi sinh vật bệnh nhiễm khuẩn

1. S; 2. S; 3. Đ; 4. Đ; 5. S; 6. S; 7. Đ; 8. S; 9. Đ; 10. Đ

Bài. Các phương pháp chẩn đoán virus

1. ELISA
2. Hai, bổ thể
3. Gây nhiễm
4. Bề mặt
5. Hai kỹ thuật ELISA thường dùng:
A. Kỹ thuật dùng kháng kháng thể IgM gắn enzym để phát hiện KT
B. Kỹ thuật "Sandwich" (Dùng KN gắn enzym để phát hiện KT)
6. Ba phương pháp phân lập virus thường dùng hiện nay:
A. Nuôi cấy phân lập trên tế bào cảm thụ
B. Nuôi cấy phân lập trên bào thai gà
C. Phân lập virus trên động vật thí nghiệm
7. Hai loại tế bào thường dùng để nuôi cấy virus :
A. Tế bào tiên phát
B. Tế bào thường trực
8. A; 9. A

Bài. Các tính chất sinh vật hóa học

1. Đ; 2. S; 3. Đ; 4. Đ; 5. Đ
6. A. KIA
B. Basiekow
7. Gelatinase
8. A. Natri citrate
B. $(\text{NH}_4) \text{H}_2\text{PO}_4$
9. A. Dẫn xuất S
B. Chất phát hiện H_2S
10. Thạch mềm
11. A. Ornithin
B. Arginin
C. Lysin
12. A; 13. C; 14. B; 15. D

PHẦN II. CÁC VI KHUẨN GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

Bài. Tự cầu khuẩn

1. D; 2. B; 3. C; 4. C; 5. A; 6. B; 7. A; 8. C; 9. B; 10. B; 11. D; 12. C; 13. D;
14. B; 15. B

Bài. Liên cầu khuẩn

1. B; 2. D; 3. C; 4. A; 5. C; 6. D; 7. B; 8. C; 9. B; 10. D; 11. C; 12. B; 13. A; 14. B

Bài. Phế cầu khuẩn

1. C; 2. A; 3. C; 4. E; 5. D; 6. C; 7. D; 8. D
9. Đ; 10. Đ; 11. S; 12. Đ; 13. S; 14. S; 15. S; 16. S; 17. Đ

Bài. Não mô cầu

1. S; 2. S; 3. Đ; 4. Đ; 5. S; 6. Đ; 7. S; 8. S; 9. S; 10. Đ; 11. Đ; 12. Đ
13. D; 14. D; 15. B; 16. C; 17. E

Bài. Cầu khuẩn lậu

1. D; 2. E; 3. C; 4. C; 5. B
6. Đ; 7. Đ; 8. Đ; 9. S; 10. S; 11. Đ; 12. S; 13. Đ; 14. S

Bài. Vi khuẩn *Haemophilus Influenzae*

1. D; 2. C; 3. B; 4. B; 5. B; 6. B; 7. A; 8. A; 9. A; 10. C; 11. B; 12. A; 13. D; 14. C; 15. A
16. S; 17. S; 18. Đ; 19. S; 20. Đ

Bài. Trắc khuẩn thương hàn

1. C; 2. B; 3. C; 4. D; 5. C; 6. C; 7. D; 8. C; 9. B; 10. C; 11. B; 12. C; 13. C; 14. B
15. Đ; 16. Đ; 17. S; 18. Đ; 19. Đ; 20. Đ; 21. S

Bài. Trắc khuẩn ly

1. S; 2. Đ; 3. S; 4. S; 5. Đ
6. B; 7. A; 8. D; 9. C; 10. B; 11. B; 12. B

Bài. Trắc khuẩn *Escherichia coli*

1. Đ; 2. Đ; 3. S; 4. S; 5. Đ
6. D; 7. D; 8. C; 9. D; 10. A

Bài. Trắc khuẩn *Proteus*

1. A; 2. D; 3. C; 4. D; 5. C; 6. D; 7. A; 8. B; 9. A; 10. D; 11. B; 12. D
13. S; 14. Đ; 15. Đ; 16. S; 17. S

Bài. Trắc khuẩn *Klebsiella*

1. Đ; 2. Đ; 3. S; 4. Đ; 5. S;
6. C; 7. B; 8. B; 9. B; 10. B; 11. E; 12. E

Bài. Vi khuẩn *Helicobacter pylori*

1. C; 2. D; 3. A; 4. C; 5. C; 6. B; 7. E; 8. A; 9. D; 10. C; 11. B; 12. C; 13. B

Bài. Vi khuẩn *Campylobacter*

1. C; 2. C; 3. D

Bài. Phẩy Khuẩn tả

1. D; 2. A; 3. D; 4. D; 5. B; 6. D; 7. C; 8. C; 9. C; 10. A
11. S; 12. Đ; 13. Đ; 14. S; 15. Đ; 16. S; 17. Đ; 18. S; 19. S; 20. Đ

Bài. Trắc khuẩn *Pseudomonas pseudomallei*

1. D; 2. D; 3. D; 4. B; 5. A; 6. D; 7. A; 8. D

Bài. Trắc khuẩn mũ xanh

1. B; 2. D; 3. E; 4. D; 5. E; 6. D; 7. B; 8. D; 9. C; 10. D; 11. D; 12. A; 13. B;
14. B; 15. A
16. Đ; 17. S; 18. Đ; 19. S; 20. S; 21. S

Bài. Trắc khuẩn dịch hạch

1. S; 2. Đ; 3. Đ; 4. Đ; 5. S; 6. S; 7. S; 8. Đ; 9. S; 10. Đ
11. A; 12. E; 13. B; 14. A; 15. C; 16. A; 17. A; 18. B; 19. B; 20. C; 21. D

Bài. Trùng khuẩn bạch hầu

1. S; 2. S; 3. Đ; 4. S; 5. S; 6. S; 7. S;
8. Đ; 9. A; 10. Đ; 11. B; 12. C; 13. C; 14. Đ; 15. C; 16. C; 17. A; 18. Đ; 19. A

Bài. Trùng khuẩn ho gà

1. B; 2. A; 3. C; 4. B

Bài. Trùng khuẩn than

1. S; 2. S; 3. Đ; 4. S; 5. Đ;
6. B; 7. B; 8. C; 9. D; 10. A; 11. D; 12. B

Bài. Trùng khuẩn lao

1. Đ; 2. Đ; 3. Đ; 4. S; 5. Đ; 6. S; 7. Đ;
8. C; 9. C; 10. B; 11. B; 12. C; 13. B; 14. D; 15. A; 16. B; 17. B; 18. D; 19. A; 20. B.

Bài. Trùng khuẩn phong

1. Đ; 2. Đ; 3. Đ; 4. S; 5. Đ;
6. D; 7. D; 8. B; 9. D; 10. A

Bài. Xoắn khuẩn giang mai

1. S; 2. Đ; 3. Đ; 4. S; 5. S;
6. C; 7. B; 8. D; 9. A; 10. D; 11. B; 12. D; 13. A

Bài. Xoắn khuẩn *Leptospira*

1. S; 2. Đ; 3. Đ; 4. Đ; 5. S; 6. S;
7. B; 8. C; 9. D; 10. C; 11. B

PHẦN III. CÁC VIRUS GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

Bài. Virus cúm, virus sởi và virus quai bị

1. Đ; 2. Đ; 3. Đ; 4. S; 5. S; 6. Đ; 7. S; 8. Đ; 9. Đ; 10. S; 11. S; 12. S; 13. Đ; 14. Đ; 15. Đ
16. Hô hấp; 17. Hô hấp; 18; Orthomyxovirus, Paramyxovirus; 19. Glycoprotein;
20. Nucleocapsid, kháng nguyên bề mặt; 21. Nucleocapsid glycoprotein;
22. D; 23. A

Bài. Virus viêm não Nhật Bản

1. S; 2. S; 3. Đ; 4. Đ; 5. Đ; 6. Đ; 7. S; 8. S; 9. Đ;
10. A. Thể nhẹ;
B. Thể nặng

11. A. Phân lập trên chuột nhắt trắng 1–3 ngày tuổi;
B. Phân lập trên tế bào muỗi C₆/36
12. A. Kỹ thuật ngăn ngưng kết hồng cầu,
B. Miễn dịch huỳnh quang; C. ELISA
13. 15 tuổi

Bài. Virus Dengue xuất huyết

1. Đ; 2. Đ; 3. Đ; 4. Đ; 5. S; 6. Đ; 7. Đ; 8. Đ
9. A. KN kết hợp bổ thể;
B. KN trung hòa;
C. KN ngăn ngưng kết hồng cầu
10. 4; 11. Người, khỉ
12. A. Aegypti;
13. A. Sốt xuất huyết không có sốt;
B. Sốt xuất huyết có sốt
14. A. Trên chuột bạch mới đẻ;
B. Trên muỗi sống; C. Trên tế bào nuôi
15. A. Phản ứng kết hợp bổ thể;
B. Phản ứng trung hòa;
C. Miễn dịch huỳnh quang trực tiếp;
D. PCR
16. A. Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu;
B. Phản ứng kết hợp bổ thể;
C. Phản ứng trung hòa;
D. ELISA, thường được dùng hiện nay;
E. Kỹ thuật huỳnh quang gián tiếp.
17. A. Hạn chế và tiêu diệt vectơ truyền bệnh;
B. Hạn chế và tránh muỗi đốt

Bài. Virus dại

1. Đ; 2. Đ; 3. S; 4. S; 5. S; 6. S; 7. S; 8. Đ; 9. Đ
10. A: Kháng nguyên V
B: Kháng nguyên S
C: Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu
11. A: Fuenzalida
B: Semple

12. A: Tìm tiểu thể Negri
B: Phân lập virus
C: Miễn dịch huỳnh quang trực tiếp

Bài. Virus bại liệt

1. Đ; 2. S; 3. S; 4. Đ; 5. S; 6. S; 7. Đ; 8. Đ
9. 3
10. A: Bại liệt không thành
B: Bại liệt có liệt chi
C: Viêm màng não vô khuẩn
11. Nuôi cấy tế bào;
12. Các đám hoại tử tế bào
13. Trung hòa trên nuôi cấy tế bào
14. A: Phản ứng trung hòa
B: ELISA
C: Phản ứng kết hợp bổ thể
15. Salk; Sabin

Bài. Rotavirus

1. S; 2. S; 3. Đ; 4. Đ; 5. Đ; 6. Đ; 7. Đ; 8. S
9. B; 10. D

Bài. Các virus gây viêm gan

1. Đ; 2. S; 3. S; 4. Đ; 5. Đ; 6. S; 7. Đ; 8. Đ; 9. Đ; 10. S
11. D; 12. D; 13. D; 14. D; 15. A
16. A: HBsAg
B: HBeAg
C: HBcAg
17. 2
18. A: Máu
B: Tinh dịch
C: Từ mẹ sang con
19. Thử typ
20. Phụ nữ có thai

Bài. Adenovirus

1. Đ; 2. Đ; 3. Đ; 4. Đ; 5. S; 6. S
7. D; 8. A

Bài. Virus thủy đậu

1. S; 2. Đ; 3. S; 4. S; 5. Đ; 6. Đ; 7. Đ; 8. S
9. A: Làm tiêu bản Tzank
B: Nhuộm huỳnh quang trực tiếp từ bệnh phẩm
10. A: Miễn dịch huỳnh quang
B. ELISA

Bài. Virus gây hội chứng suy giảm miễn dịch ở người

1. S; 2. Đ; 3. S; 4. Đ; 5. S; 6. Đ; 7. Đ;
8. A; 9. A; 10. C; 11. C; 12. Đ; 13. D; 14. C

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Vi sinh vật – trường Đại học Y Hà Nội. *Vi sinh y học*. Nhà xuất bản Y học, 2003.
2. Bộ môn Vi sinh vật – trường Đại học Y Hà nội. *Vi sinh vật y học*. Nhà xuất bản Y học, 2007.
3. Nhà xuất bản Y học. *Vi sinh học*, Bộ Y tế, 2006.
4. GS Hoàng Thuỷ Long. *Kỹ thuật xét nghiệm vi sinh vật y học*. Nhà xuất bản Văn hoá, 1991.
5. Khoa Y, Bộ môn Vi sinh – trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh. *Vi sinh học*, 2002.
6. Tiến sĩ Phạm Hùng Vân, *Kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng*, trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh, 2005.
7. Bộ môn Vi sinh vật – trường Đại học Y Hà Nội. *Giáo trình Kỹ thuật cơ bản và đảm bảo chất lượng trong xét nghiệm Vi sinh y học*, 2008.
8. Williams (Switzerland), *Medical Microbiology–Mims*, Playfair, Roitt Wakelin (London).
9. James G. Cappuccino Natalie Sherman, *Medical Microbiology a Laboratory manual*, (New York).