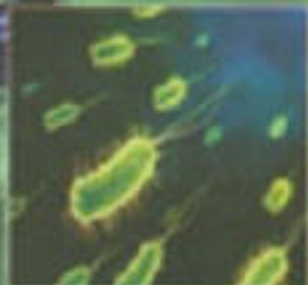


BỘ Y TẾ

VI SINH VẬT HỌC

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO ĐƯỢC SỸ ĐẠI HỌC)

Chủ biên: PGS. TS. CAO VĂN THU



NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

BỘ Y TẾ

VI SINH VẬT HỌC

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SỸ ĐẠI HỌC)
MÃ SỐ: Đ.20.Y.03

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC
HÀ NỘI – 2008

Chỉ đạo biên soạn:

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

Chủ biên:

PGS.TS. CAO VĂN THU

Những người biên soạn:

ThS. TRẦN TRỊNH CÔNG

TS. KIỀU KHẮC ĐÔN

ThS. NGUYỄN LIÊN HƯƠNG
CN. NGUYỄN LỆ PHI
PGS.TS. CAO VĂN THU

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)

922-2008/CXB/6-1873/GD

Mã số: 7K786Y8 – DAI

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 **Dược sỹ Đại học**. 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.

Sách **Vi sinh vật học** được biên soạn dựa vào chương trình giáo dục của Trường Đại học Dược Hà Nội trên cơ sở chương trình khung đã được phê duyệt. Sách được tập thể các nhà giáo giàu kinh nghiệm của Trường Đại học Dược Hà Nội biên soạn theo phương châm: Kiến thức cơ bản, hệ thống; nội dung chính xác, khoa học; cập nhật các tiến bộ khoa học, kỹ thuật hiện đại và thực tiễn Việt Nam.

Sách **Vi sinh vật học** đã được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy – học chuyên ngành Dược sỹ Đại học của Bộ Y tế thẩm định năm 2008. Bộ Y tế quyết định ban hành 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 đã bỏ nhiều công sức để hoàn thành cuốn sách; cảm ơn GS.TS. Nguyễn Văn Thanh, PGS.TS. Lê Hồng Hình 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

LỜI NÓI ĐẦU

Tập tài liệu Vi sinh vật học này về cơ bản bao gồm nội dung chính của những bài giảng cho các lớp sinh viên dược được tích lũy trong nhiều năm giảng dạy. Tuy nhiên Vi sinh vật học trong thời đại Công nghệ sinh học ngày nay (thời kỳ hậu giải mã genom người) thay đổi rất mạnh mẽ, nên bên cạnh những kiến thức cơ bản cần thiết cho sinh viên ngành khoa học Dược, các tác giả đã cố gắng cập nhật những kiến thức khoa học mới nhất liên quan về Sinh học, Vi sinh vật y học, Công nghệ sinh học và Vi sinh vật học Dược.

Tài liệu chia làm 4 phần chính (không kể phần Mở đầu giới thiệu tổng quát về Vi sinh vật học) bao gồm:

Phần thứ nhất: Vi sinh vật học đại cương trình bày những kiến thức chung về thế giới vi sinh vật, những mặt có lợi và hại đối với con người, hình thái, sinh lý, chuyển hoá, di truyền của vi sinh vật mà đại diện đặc trưng là vi khuẩn.

Phần thứ hai: Nhiễm trùng và miễn dịch trình bày những vấn đề về nhiễm trùng miễn dịch: kháng nguyên, miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào, huyết thanh, kiểm soát điều hoà miễn dịch.

Phần thứ ba: Vi sinh vật gây bệnh trình bày các vi khuẩn và vi nấm gây bệnh chính có tác hại đối với sức khoẻ con người: các đặc điểm vi sinh vật học, khả năng gây bệnh, các phương pháp phát hiện và trị liệu, phòng ngừa.

Phần thứ tư: Virus gây bệnh trình bày đại cương về virus và các loại virus gây bệnh chính (trong đó bao gồm cả các virus gây bệnh thời sự hiện nay như HIV, virus cúm): phân loại, đặc điểm sinh học, các phương pháp phát hiện và trị liệu, phòng ngừa.

Với tinh thần cầu thị, khoa học, khách quan, hy vọng rằng những kiến thức được trình bày trong tài

liệu Vi sinh vật học này sẽ góp phần tạo nên một phần nền tảng kiến thức cần thiết cho các dược sĩ tương lai. Dù đã rất cố gắng nhưng do thời gian có hạn nên sách có thể còn nhiều khiếm khuyết. Các tác giả rất mong nhận được những ý kiến đóng góp cho sách được hoàn thiện hơn trong những lần xuất bản sau.

Xin chân thành cảm ơn.

CÁC TÁC GIẢ

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

A	Adenin
ADCC	Gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể – Antibody dependent cellular cytotoxicity
ADN (DNA)	Acid 2' – deoxyribonucleic
AIDS	Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (Acquired Immunodeficiency Syndrome)
ARN (RNA)	Acid ribonucleic
ADP	Adenosin diphosphat
ASLO	Anti streptolysin O
AMP	Adenosin monophosphat
APC	Tế bào trình diện kháng nguyên – Antigen presenting cell
ATP	Adenosin triphosphat
BCAK	Bạch cầu ái kiềm
BCAT	Bạch cầu ái toan
BCG	Vaccin phòng lao
BCTT	Bạch cầu hạt trung tính
BHK	Tế bào thận chuột đất
BM	<i>Biovar mouse</i>
BT	<i>Biovar trachoma</i>
BW	Bodet – Wassemann
C	Cytosin
Ca-DPA	Calci dipicolinat
CD	Phân lớp – biệt hoá, Class – differentiation
CM	Cytoplasmic membrane – Màng tế bào chất
CMI	Cell mediated immun – Miễn dịch qua trung gian tế bào
CPD 50	Cytopathic Dose 50% – Liều huỷ hoại 50% số tế bào
CPE	Cytopathic effect – Tác dụng phá huỷ tế bào
CW	Cell wall – Thành tế bào
DAP	Acid diaminopimelic
DIP	Defective interfering particle – Tạo ra hạt virus không hoàn chỉnh
EAEC	Enteroadherent <i>E. coli</i> – <i>E. coli</i> bám dính đường ruột
ED	Entner – Doudoroff Pathway – Con đường Entner – Doudoroff
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EHEC	Entero haemorrhagic <i>E. coli</i> – Nhóm <i>E. coli</i> gây chảy máu đường ruột
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay – Thử nghiệm hấp phụ miễn dịch liên kết enzyme
EMP	Embden – Mayerhoff – Parnas Pathway – Con đường đường phân
EPEC	Entero pathogenic <i>E. coli</i> – <i>E. coli</i> gây bệnh đường ruột
ETEC	Entero toxigenic <i>E. coli</i> – <i>E. coli</i> sinh độc tố ruột
F	Fungus – Nấm
F ⁺	Plasmid giới tính

FAD	Flavin adenin dinucleotid dạng oxy hoá
FADH ₂	Flavin adenin dinucleotid dạng khử hoá
FHA	Filamentous hemagglutinin – sợi ngưng kết hồng cầu
FMN	Flavin mononucleotid
FTA	Fluorescence Treponema Antibody – phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp
G	Guanin
G ⁻ (hoặc Gram(-))	Gram(âm)
G ⁺ (hoặc Gram(+))	Gram dương
GDP	Guanosin dinucleotid
GTP	Guanosin trinucleotid
HAAg	Kháng nguyên của HAV
HAV	Hepatitis A Virus – Virus viêm gan A
HBV	Hepatitis B Virus – Virus viêm gan B
HCV	Hepatitis C Virus – Virus viêm gan C
HDV	Hepatitis D Virus – Virus viêm gan D
HEV	Hepatitis E Virus – Virus viêm gan E
hGH	Yếu tố sinh trưởng người
HIV	Human Immunodeficiency Virus – Virus suy giảm miễn dịch người
HLA	Human Leucocyte Antigen – Kháng nguyên bề mặt bạch cầu người
HMP	Hexozo – monophosphat pathway – Con đường hexozo – monophosphat
HSV	<i>Herpes simplex</i> virus
ICAM	Intercellular Adhere Molecule – Phân tử kết dính liên tế bào
IG	Immunoglobulin
IL	Interleukin
IS	Insertion sequence
KDPG	2–keto–3–deoxy–6–phosphat–gluconat pathway – Con đường 2–keto–3–deoxy–6–phosphat–gluconat
KKT	Kháng kháng thể
KN	Kháng nguyên
KN H	Kháng nguyên lỏng
KN K	Kháng nguyên vỏ
KN O	Kháng nguyên vách
KT	Kháng thể
LD ₅₀	Median lethal dose – Liều chết trung bình
LFA–1(Lympho	
Function Antigen):	Kháng nguyên chức năng của lympho bào
LGV	Biovar lymphogalunoma venerum
LPS	Lipopolysaccharid
LT	Thermolabile toxin – Độc tố ruột
LTA	Acid lipotechoic
MAC	Membrane attack complex – Phức hợp tấn công màng
MAF	Macrophage activating factor – Yếu tố hoạt hoá đại thực bào
MGG	Nhuộm màu May – Grunwald – Giemsa
MHC	Major Histocompatibility Complex – Phức hợp hoà hợp mô chủ yếu
MLD	Minimal Lethal Dose – Liều chết tối thiểu
MRSA	Methicillin resistant <i>S. aureus</i>
My	Mycobacterium – Tric khuẩn lao
NAD ⁺	Nicotin adenosin dinucleotid dạng oxy hoá
NADH ₂	Nicotin adenosin dinucleotid dạng khử hoá
NADP ⁺	Nicotin adenosin trinucleotid dạng oxy hoá

NADPH ₂	Nicotin adenosin trinucleotid dạng khử hoá
NK	Natural killer – Tế bào diệt tự nhiên
NST	Nhiễm sắc thể
OM	Outer membrane – Lớp màng ngoài
OMP	Outer membrane protein – Protein màng ngoài
PCR	Polymerase chain reaction – Phản ứng chuỗi trùng hợp
PEP	Phosphoenolpyruvat
PFU	Plaque forming unit – Đơn vị tạo vùng tan
PG	Peptidoglycan
PHMD	Phức hợp miễn dịch
PL	Phospholipid
PT	Pertussis toxin – Độc tố ho gà
RIA	Radioimmunoassay – Thử nghiệm miễn dịch phóng xạ
RLB	<i>Rickettsia</i> like Bacteria – Vi khuẩn loại <i>Rickettsia</i>
RLO	<i>Rickettsia</i> –like organism – Cơ thể loại <i>Rickettsia</i>
RSV	Respiratory Syncytial Virus – Virus hợp bào hô hấp
SAD	Huyết thanh chống bạch hầu
SAT	Serum antitetanic – Huyết thanh chống uốn ván
SDA	Môi trường Sabouraud
SERODIA	Kỹ thuật ngưng kết Latex nhanh
SIg	Surface Immunoglobulin
T	Thymin
TBC	Tế bào chất
TCA	Chu trình tricarboxylic acid
TCBS	Thiosulfat, Citrate Bile Salts, Saccarose
TCR	T cell receptor – Thụ thể tế bào T
TPHA	<i>Treponema pallidum</i> Haemagglutination – phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động
TPI	<i>Treponema pallidum</i> Immobilisation – Bất động <i>Treponema pallidum</i>
U	Uracil
VDRL	Veneral Disease Research Laboratories
VK	Vi khuẩn
VSV	Vi sinh vật
WHO	World Health Organisation – Tổ chức Y tế thế giới

MỞ ĐẦU

Vi sinh vật học (Microbiology) – bộ môn khoa học của khoa học sự sống nghiên cứu các VSV (microorganisms), những sinh vật vi kích thước không thể quan sát được bằng mắt thường. Hình thái đại thể của các VSV mà chúng ta nhìn thấy được là các tập đoàn đông đảo các VSV. Quan sát riêng

rẽ các cá thể VSV cần phải sử dụng các kính hiển vi để phóng đại các VSV lên. Các kính hiển vi quang học (kính hiển vi phản pha, kính hiển vi huỳnh quang,...) hỗ trợ nghiên cứu các vi khuẩn, vi nấm,... còn nếu muốn nghiên cứu sâu sắc hơn cần sử dụng kính hiển vi điện tử. Kính hiển vi điện tử là công cụ đắc lực giúp nghiên cứu được các virus, các “hạt sống” bé nhỏ nhất.

Vi sinh y học (medical microbiology) là ngành VSV học chuyên nghiên cứu các VSV trong mối quan hệ với sức khỏe của con người (gây bệnh, có hại và có lợi).

Vi sinh dược học (pharmaceutical microbiology) là ngành Vi sinh vật học chuyên nghiên cứu các VSV trong mối quan hệ với thuốc, dược chất liên quan đến lên men sản xuất, bảo quản và định lượng.

Trong chương trình đào tạo Dược sĩ tài liệu Vi sinh vật học này được biên soạn cho sinh viên Đại học Dược năm thứ 3. Sau khi học xong giáo trình này, sinh viên có thể:

1. Trình bày được cấu tạo, hình thái, chức năng của tế bào vi khuẩn, vi nấm, cũng như cấu tạo và chức năng của virus.
2. Trình bày được đặc điểm sinh lý, sinh hoá và di truyền của VSV.
3. Trình bày được đặc điểm, cơ chế, ứng dụng của miễn dịch trong chẩn đoán, điều trị và phòng ngừa bệnh nhiễm trùng.
4. Trình bày được đặc điểm sinh học, khả năng gây bệnh, phương pháp chẩn đoán, phòng và điều trị các bệnh nhiễm khuẩn, nhiễm nấm và virus thường gặp.

1. VÀI NÉT VỀ LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT HỌC

Vi sinh vật là những sinh vật xuất hiện trước tiên trên Trái Đất, và loài người từ xa xưa tuy chưa có bằng chứng cụ thể nhưng đã ý thức được sự tồn tại của các VSV và đã ứng dụng chúng trong đời sống như lên men rượu, bia, muối dưa, làm tương, làm dấm, làm sữa chua, làm phomat, thuốc da,... Trong Kim tự tháp cổ Ai Cập còn có cả các hình vẽ mô tả cách nấu bia cho các Pharaon.

Tuy nhiên trong thời kỳ cổ đại chưa thể đề cập đến học thuyết khoa học, mà những điều còn lại ngày nay chúng ta tiếp nhận được là các quan sát, ghi chép, điều chế thủ công. Đến tận thế kỷ XVII, nhà sáng chế Hà Lan Antonie van Levenhoek (1632 – 1723) với sáng chế ra kính hiển vi quang học (độ phóng đại khoảng 270 lần) đầu tiên trên thế giới đã cho phép ông quan sát được các vi khuẩn và các động vật nguyên sinh mà ông gọi là những “động vật vô cùng nhỏ bé”, với số lượng nhiều hơn dân số Hà Lan ở trong miệng.

Edward Jenner (1749 – 1823), bác sĩ người Anh là người đầu tiên sáng chế ra phương pháp chủng mù đậu bò cho người để phòng bệnh đậu mùa, một căn bệnh hết sức nguy hiểm. Và cũng chính bác sĩ Edward Jenner là người đầu tiên sử dụng thuật ngữ vaccin (vaccin, từ gốc Latin: Vaccinae có nghĩa là bệnh đậu mùa bò) trên thế giới.

Nhà bác học vĩ đại người Pháp Luis Pasteur (1822–1895) đã mở đầu kỷ nguyên mới nghiên cứu về sinh lý học VSV. Ông được coi là ông tổ của vi sinh vật học với hàng loạt phát kiến vĩ đại. Ông đã chứng minh bản chất của nhiều quá trình lên men (ancol ethylic, acid lactic, acid acetic,...), thực hiện thành công thí nghiệm phủ định thuyết tự sinh (spontaneous-generation hypothesis), phát hiện nhiều vi khuẩn gây bệnh cho người và động vật (vi khuẩn gây bệnh than, bào tử trùng, tụ cầu, liên cầu, mô não cầu (cùng với Chamberland, Roux và Thuillier), phát minh ra vaccin phòng chống nhiều căn bệnh nguy hiểm (vaccin phòng tả gà, vaccin phòng bệnh than), và xuất sắc nhất là vaccin phòng ngừa bệnh dại (ngày 6/7/1885 là ngày mà Pasteur đã dùng liều vaccin trừ dại đầu tiên trên thế giới để cứu mạng sống một bé gái người Pháp 9 tuổi là Joseph Meister bị chó dại cắn).

Nhà bác học Đức Robert Koch (1843 – 1910) đã cộng tác đắc lực với Pasteur. Ông đã phát hiện ra vi khuẩn lao, vi khuẩn tả và sáng tạo ra phương pháp phân lập thuần khiết VSV bằng cách nuôi cấy chúng trên các môi trường đặc (solid medium) và cách nhuộm màu chúng. Học trò J.R. Petri của Robert Koch là người đã sáng tạo ra những chiếc hộp lồng ngày nay mang tên ông.

Người đặt nền móng cho Miễn dịch học (Immunology) là nhà khoa học Nga Ilya Ilitch Metchnikov (1845 – 1916) với học thuyết “thực bào” nổi tiếng. Năm 1908 ông cùng với Erhlich

(người đề xuất học thuyết miễn dịch dịch thể) nhận chung giải thưởng Nobel.

Phát hiện sự tồn tại của những loài VSV còn nhỏ bé hơn vi khuẩn nhiều có công đầu thuộc về nhà sinh lý học thực vật người Nga D.I. Ivanovskii (1864 – 1920). Ông đã chứng minh được sự tồn tại của loài sinh vật siêu hiển vi gây bệnh khảm thuốc lá năm 1882. Đến năm 1897, nhà khoa học người Hà Lan M.W. Beijerinck (1851 – 1931) đặt tên cho chúng là **Virus** (tiếng Latin: Virus có nghĩa là chất độc). Năm 1917 F.H. d’Herelle (1873 – 1949) đã phát hiện ra các thể virus của vi khuẩn và đặt tên là thực khuẩn thể (bacteriophage).

Năm 1928, A. Flemming phát hiện tác dụng kháng sinh của *Penicillium notatum* đối với *Staphylococcus aureus* đã mở ra kỷ nguyên sản xuất kháng sinh điều trị bệnh nhiễm trùng nhờ lên men VSV (A. Flemming cùng với B.E. Chain và H.W. Florey giải thưởng Nobel, 1945), cũng như Waksman phát minh ra streptomycin (1944) chống lại các vi khuẩn G^- (giải thưởng Nobel, 1952). Các VSV biến đổi gen dung hợp được các thông tin mà khởi thủy là hoàn toàn xa lạ đối với VSV ấy là thành tựu của công nghệ sinh học VSV từ những năm 70 của thế kỷ XX, là đóng góp có tính bước ngoặt trong di truyền học VSV.

Vào những năm 1983 – 1984 của thế kỷ XX, nhà khoa học Pháp Luc Montagnie và bác sĩ người Mỹ Robert Roll, một cách độc lập, đã phát hiện ra virus HIV gây bệnh AIDS – hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải ở người – hết sức nguy hiểm cho sức khỏe con người. Đại dịch HIV/AIDS đang là hiểm họa to lớn đối với con người, nhất là người dân ở các nước đang phát triển với hệ thống chăm sóc y tế chưa hoàn chỉnh và đắt đỏ.

Bước sang thế kỷ XXI nhân loại lại phải đối mặt với những typ bệnh mới do virus và vi khuẩn gây ra: bệnh SARS – hội chứng viêm phổi cấp, bệnh cúm H_5N_1 liên quan đến gia cầm, bệnh liên cầu có nguồn gốc từ lợn,... cũng như bệnh lao đang quay trở lại cùng với HIV/AIDS. Hy vọng của nhân loại đang đặt vào các nhà nghiên cứu VSV học cũng như các nhà khoa học khác trong tương lai không xa sẽ tạo ra được vaccin phòng chống hay phép trị liệu hiệu quả nhất chống lại HIV/AIDS, cũng như các bệnh đã nêu, loại bỏ các hiểm họa này nâng cao chất lượng cuộc sống cho con người.

2. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA VI SINH VẬT

2.1. Kích thước của vi sinh vật rất nhỏ bé

Kích thước của các vi khuẩn, xạ khuẩn, vi nấm rất nhỏ bé, thường được đo bằng đơn vị micromet ($1\mu m = 10^{-3}mm$, hay $10^{-6}m$); kích thước của các virus còn nhỏ hơn nhiều nên được đo bằng nanomet ($1nm = 10^{-3}\mu m = 10^{-6}mm$; $1A^{\circ} = 10^{-7}mm = 10^{-1}nm$) – một vài đến vài trăm nanomet. Kích thước nhỏ bé nhưng diện tích bề mặt tiếp xúc của quần thể các tế bào VSV lại rất lớn. Ví dụ: một lượng tế bào cầu khuẩn với thể tích $1cm^3$ có diện tích bề mặt là $6m^2$ ($6m^2/1cm^3$). Đây là một trong những điều kiện tiên quyết rất thuận lợi để VSV có thể trao đổi chất mạnh mẽ với môi trường, thực hiện các chức năng sống sôi động.

2.2. Vi sinh vật hấp thụ nhiều, chuyển hoá nhanh, vòng đời ngắn

Tuy nhỏ bé (nếu không nói là nhỏ bé nhất) nhưng VSV lại là các sinh vật có khả năng hấp thụ và chuyển hoá chất dinh dưỡng mạnh hơn hẳn so với các sinh vật khác trong sinh giới như các sinh vật bậc cao: vi khuẩn lactic (*Lactobacillus*) trong một giờ có thể phân giải một lượng đường lactose nhiều gấp 1.000 – 10.000 lần khối lượng cơ thể của chúng. Nếu tính số μl O_2 mà một mg chất khô tế bào sinh vật tiêu thụ trong 1 giờ (tốc độ tiêu thụ thể tích oxy – Q_{O_2}) thì ở mô lá hoặc mô rễ thực vật là 0,5 – 4,0, ở tổ chức mô gan và thận động vật là 10 – 20, còn ở nấm men *S. cerevisiae* là 110, ở vi khuẩn chi *Pseudomonas* là 1.200, ở vi khuẩn chi *Azotobacter* là 2.000. Đặc điểm này cho phép VSV đóng vai trò to lớn trong các chu kỳ tuần hoàn vật chất trong tự nhiên, tái tạo môi trường sống cho sinh giới, cũng như khả năng sử dụng hữu ích các VSV thích hợp trong đời sống của con người. Với những khả năng đặc biệt nhưng chu kỳ vòng đời của VSV lại ngắn, đây cũng có thể là đặc tính riêng đối mới chất sống của thế giới vi mô.

2.3. Vi sinh vật sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh

Nhờ hấp thụ nhiều và chuyển hoá nhanh nên các VSV có tốc độ sinh trưởng và phát triển rất mạnh mẽ so với các sinh vật khác, các VSV có tốc độ sinh trưởng và sinh sôi nảy nở vượt trội hơn hẳn. Vi khuẩn *E. coli* sống cộng sinh trong ruột người, nếu được đưa vào trong điều kiện thích hợp và sau thời gian tiềm phát, trung bình cứ sau 12 – 20 phút lại sinh ra một thế hệ mới (số tế bào hoặc sinh khối khô tăng gấp đôi). Tính theo lý thuyết (với thời gian thế hệ 20 phút) thì sau 1 ngày đêm (phân chia 72 lần) từ một tế bào ban đầu có thể sản sinh ra lượng VSV có sinh khối (biomass) nặng tới 4722 tấn! Tuy nhiên trong thực tế, lượng vi khuẩn này chỉ đạt đến $10^{10} - 10^{12}$ tế bào trong 1ml dịch nuôi cấy mà thôi. Nấm men *S. cerevisiae*, với thời gian thế hệ 110 – 120 phút, khi lên men SCP (single cell protein) cho tốc độ tạo sinh khối cao hơn của bò gấp 100.000 lần. Thời gian thế hệ của tảo *Chlorella* là 7 giờ, của vi khuẩn lam *Nostoc* là 23 giờ.

2.4. Vi sinh vật thích ứng mạnh và dễ phát sinh biến dị

Năng lực thích nghi của VSV vượt xa của động vật và thực vật. Vì kích thước nhỏ buộc VSV phải uốn theo sự đồng đánh của môi trường để tồn tại và phát triển, nhưng cũng chính vì thế mà trải qua hàng trăm triệu năm tiến hoá, VSV đã tạo ra những cơ chế điều chỉnh chuyển hoá thích hợp để thích nghi với điều kiện sống bất lợi của môi trường. Lượng enzym thích ứng có trong các tế bào VSV chiếm tới khoảng 10% protein nói chung chứng tỏ khả năng biến đổi vật chất, cải tạo môi trường thích nghi cao của chúng. Do có nhiều khả năng biến đổi thích nghi, các VSV có thể sống, phát triển được ngay cả trong các điều kiện rất khắc nghiệt. Một số loài có thể sống được trong các điều kiện hoàn toàn không có oxy tự do (VSV kỵ khí), một số loài (nấm) có thể tồn tại và phát triển thành váng dày trong các bể ngâm xác có nồng độ phenol cao. Một số VSV có thể thích nghi với nhiệt độ trên 70°C, một số khác lại có thể tồn tại ở nồng độ muối ăn 32%. Vi khuẩn *Thiobacillus thiooxidans* có thể sinh trưởng ở pH 0,5, còn *Thiobacillus denitrificans* lại thích nghi với pH 10,7, *Micrococcus radiodurans* chịu được bức xạ cường độ cao. Ở nơi sâu nhất trong đại dương 11.034m (áp lực lớn hơn 1.104 atm) vẫn có VSV sinh sống, chủ yếu là các vi khuẩn lưu huỳnh.

Ở VSV cũng dễ phát sinh các biến dị, đây cũng là đặc tính tự nhiên của chất liệu di truyền trong sinh giới. Hình thức biến dị hay gặp nhất là đột biến gen (gene mutation). Những đột biến này thường xảy ra với tần suất $10^{-10} - 10^{-5}$ làm cho VSV có những thay đổi về hình thái, cấu tạo, kiểu chuyển hoá vật chất, cấu trúc kháng nguyên, khả năng kháng thuốc,... Bên cạnh những đột biến có lợi được sử dụng cũng có những đột biến có hại cần giảm thiểu hoặc chống lại.

2.5. Vi sinh vật phân bố rộng, chủng loại nhiều

VSV phân bố ở khắp mọi nơi trên Trái Đất. VSV có mặt ở trong đất; trong nước; trong không khí; trên và trong các đồ vật dụng; trên và trong cơ thể của nhiều loài sinh vật. Như vậy có thể tìm thấy các VSV ở mọi nơi. Về chủng loại, các VSV cũng hết sức phong phú: ngày nay con người đã biết đến trên trăm nghìn loài VSV. Tuy nhiên theo quan niệm của nhiều nhà khoa học, chúng ta mới chỉ biết được khoảng 1 – 2% số loài VSV có trong tự nhiên mà thôi và khả năng phân lập, phát hiện được các VSV mới trong tương lai với những tính trạng mới đến nay chưa biết vẫn có xác suất rất lớn.

3. VỊ TRÍ CỦA VI SINH VẬT TRONG SINH GIỚI

Nghiên cứu thế giới hữu sinh, các nhà khoa học đã có nhiều cố gắng phân chia sinh giới ra thành một số giới để dễ hệ thống hoá, trong đó hệ thống phân giới của Whittaker (1969) được chấp nhận rộng rãi bao gồm 5 giới: Monera, Protista, Plantae, Fungi và Animalia. Các VSV chiếm hoàn toàn giới Monera và một phần giới Fungi. Tuy nhiên trong hệ thống phân giới này cần phải bổ sung các virus vào thành một lớp của giới Monera. Có hệ thống phân giới chia thế giới hữu sinh thành 3

nhóm, 6 giới, cũng khá thông dụng.

Tên khoa học của VSV được gọi theo tiếng Latin bao gồm 2 từ: từ đầu chỉ tên chi (Genus) được viết hoa, từ sau chỉ tên loài. Mới gần đây, trong tài liệu chuyên ngành, tên khoa học của mỗi loài VSV được viết nghiêng. Ví dụ: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium acetobutylicum*, *Diplococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Micromonospora purpurea* var. *nigrecens*, *Nocardia mediterranei*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum*, *Penicillium maneffei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptomyces aureofaciens*, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces kanamyceticus*, *Streptomyces noursei*,... Viết tắt tên khoa học được viết từ đầu bằng chữ cái đầu viết hoa, từ thứ hai viết nguyên gốc. Ví dụ *Escherichia coli* viết tắt là *E. coli*.

4. PHÂN BỐ VI SINH VẬT TRONG TỰ NHIÊN

Như đã đề cập ở trên, VSV được phân bố hết sức rộng rãi trong tự nhiên. Mỗi quan hệ giữa các VSV với nhau và với các sinh vật khác tạo nên khu hệ sinh thái. VSV đóng vai trò hết sức quan trọng trong tuần hoàn vật chất của tự nhiên, nhiều chủng loại VSV rất có ích cho đời sống và kinh tế, tuy nhiên cũng có nhiều loài VSV có hại cho con người khi là nguyên nhân gây ra các bệnh truyền nhiễm nguy hiểm.

4.1. Vi sinh vật ở trong đất và trong nước

Nước có thể là nơi các VSV đầu tiên xuất hiện như là sinh vật sống nguyên thủy cổ đại đầu tiên. Ngày nay đất và nước là môi trường tự nhiên thích hợp cho các loài VSV, nên số lượng và chủng loại các VSV trong các môi trường này là hết sức phong phú, và trong đất là phong phú nhất. Trong 1 gam đất lấy ở tầng canh tác thường có 1 – 22 tỷ vi khuẩn, 0,5 – 14 triệu xạ khuẩn, 3 – 50 triệu vi nấm,... VSV trong nước có mối quan hệ mật thiết và là hàm số của VSV trong đất xung quanh. Số lượng và chủng loại VSV phụ thuộc vào chất lượng nguồn nước. Nước trong khe suối thiên nhiên nguyên sinh chứa ít VSV. Nước biển đại dương cũng có các loài VSV chịu được muối sinh sôi phát triển. Nguồn nước thải thành phố bị nhiễm bẩn có chứa nhiều VSV.

4.2. Vi sinh vật trong không khí

Không khí không phải là môi trường thuận lợi cho VSV, nhưng lại là đường truyền bệnh nguy hiểm gây ra các bệnh đường hô hấp. Trung bình có khoảng 10.000 hạt trong 1m³ không khí, trong đó khoảng 4.000 – 4.500 bào tử, tế bào vi khuẩn Gram(+) và Gram(-), đỉnh bào tử nấm. VSV trong không khí thường từ bụi, đất được gió cuốn vào hay phát tán từ các cơ quan sinh sản mang đỉnh bào tử. Ở độ cao khoảng 84km trong không khí người ta vẫn phát hiện thấy có VSV. Các vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp có thể từ các hạt nước bọt nhỏ của bệnh nhân khi giao tiếp mà truyền vào đường hô hấp của người lành để gây bệnh. Các chất thải của chim di cư mang mầm bệnh cũng có thể là nguồn lây các bệnh có quy mô khu vực và toàn cầu ngày nay, ví dụ, bệnh cúm gia cầm,... Các VSV thường gặp trong không khí là vi khuẩn lao, vi khuẩn bạch hầu, liên cầu, tụ cầu, phế cầu và các virus thuộc nhóm *Myxo*.

4.3. Vi sinh vật ở cơ thể người lành

Trên bề mặt da và trong các khoang của cơ thể có khá nhiều chủng loại VSV ký sinh. Phần lớn chúng là các VSV lành tính không gây bệnh, nhiều loại là hữu ích. Các VSV đường tiêu hoá tham gia vào các quá trình hấp thụ – chuyển hoá của cơ thể, còn các VSV khác cư trú trên da và trong các khoang cơ thể tạo nên một khu hệ sinh thái ổn định có vai trò bảo vệ cơ thể. Nếu như khu hệ sinh thái này bị rối loạn, chẳng hạn khi dùng kháng sinh đường ruột kéo dài sẽ gây ra chứng loạn khuẩn đường ruột. Khu hệ sinh thái các VSV ổn định còn có khả năng ngăn chặn các VSV gây bệnh thâm nhập và chiếm chỗ trong các bộ phận của cơ thể.

Ký sinh trên da chủ yếu là các vi khuẩn Gram(+) như các loại cầu khuẩn, các *Corynebacterium* (*C. pseudodiphtherium* và *C. xerosis*) không có độc lực.



VI SINH VẬT HỌC

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SỸ ĐẠI HỌC)
MÃ SỐ: Đ.20.Y.03

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC
HÀ NỘI – 2008

Chỉ đạo biên soạn:

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

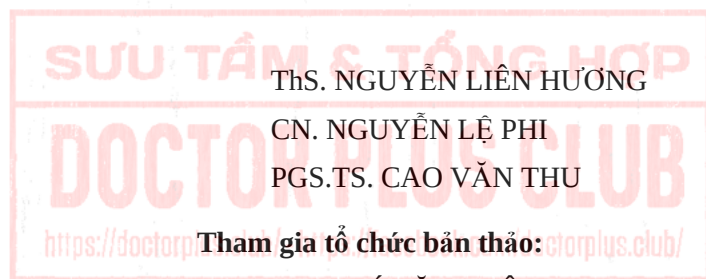
Chủ biên:

PGS.TS. CAO VĂN THU

Những người biên soạn:

ThS. TRẦN TRỊNH CÔNG

TS. KIỀU KHẮC ĐÔN



ThS. NGUYỄN LIÊN HƯƠNG

CN. NGUYỄN LÊ PHI

PGS.TS. CAO VĂN THU

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)

922-2008/CXB/6-1873/GD

Mã số: 7K786Y8 – DAI

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 **Dược sỹ Đại học**. 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.

Sách **Vi sinh vật học** được biên soạn dựa vào chương trình giáo dục của Trường Đại học Dược Hà Nội trên cơ sở chương trình khung đã được phê duyệt. Sách được tập thể các nhà giáo giàu kinh nghiệm của Trường Đại học Dược Hà Nội biên soạn theo phương châm: Kiến thức cơ bản, hệ thống; nội dung chính xác, khoa học; cập nhật các tiến bộ khoa học, kỹ thuật hiện đại và thực tiễn Việt Nam.

Sách **Vi sinh vật học** đã được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy – học chuyên ngành Dược sỹ Đại học của Bộ Y tế thẩm định năm 2008. Bộ Y tế quyết định ban hành 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 đã bỏ nhiều công sức để hoàn thành cuốn sách; cảm ơn GS.TS. Nguyễn Văn Thanh, PGS.TS. Lê Hồng Hình 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

LỜI NÓI ĐẦU

Tập tài liệu Vi sinh vật học này về cơ bản bao gồm nội dung chính của những bài giảng cho các lớp sinh viên dược được tích lũy trong nhiều năm giảng dạy. Tuy nhiên Vi sinh vật học trong thời đại Công nghệ sinh học ngày nay (thời kỳ hậu giải mã genom người) thay đổi rất mạnh mẽ, nên bên cạnh những kiến thức cơ bản cần thiết cho sinh viên ngành khoa học Dược, các tác giả đã cố gắng cập nhật những kiến thức khoa học mới nhất liên quan về Sinh học, Vi sinh vật y học, Công nghệ sinh học và Vi sinh vật học Dược.

Tài liệu chia làm 4 phần chính (không kể phần Mở đầu giới thiệu tổng quát về Vi sinh vật học) bao gồm:

Phần thứ nhất: Vi sinh vật học đại cương trình bày những kiến thức chung về thế giới vi sinh vật, những mặt có lợi và hại đối với con người, hình thái, sinh lý, chuyển hoá, di truyền của vi sinh vật mà đại diện đặc trưng là vi khuẩn.

Phần thứ hai: Nhiễm trùng và miễn dịch trình bày những vấn đề về nhiễm trùng miễn dịch: kháng nguyên, miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào, huyết thanh, kiểm soát điều hoà miễn dịch.

Phần thứ ba: Vi sinh vật gây bệnh trình bày các vi khuẩn và vi nấm gây bệnh chính có tác hại đối với sức khỏe con người: các đặc điểm vi sinh vật học, khả năng gây bệnh, các phương pháp phát hiện và trị liệu, phòng ngừa.

Phần thứ tư: Virus gây bệnh trình bày đại cương về virus và các loại virus gây bệnh chính (trong đó bao gồm cả các virus gây bệnh thời sự hiện nay như HIV, virus cúm): phân loại, đặc điểm sinh học, các phương pháp phát hiện và trị liệu, phòng ngừa.

Với tình thần cầu thị, khoa học, khách quan, hy vọng rằng những kiến thức được trình bày trong tài

liệu Vi sinh vật học này sẽ góp phần tạo nên một phần nền tảng kiến thức cần thiết cho các được sĩ tương lai. Dù đã rất cố gắng nhưng do thời gian có hạn nên sách có thể còn nhiều khiếm khuyết. Các tác giả rất mong nhận được những ý kiến đóng góp cho sách được hoàn thiện hơn trong những lần xuất bản sau.

Xin chân thành cảm ơn.

<https://doctorplus.club/> - <https://facebook.com/doctorplus.club/>

CÁC TÁC GIẢ

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

A	Adenin
ADCC	Gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể – Antibody dependent cellular cytotoxicity
ADN (DNA)	Acid 2' – deoxyribonucleic
AIDS	Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (Acquired Immunodeficiency Syndrome)
ARN (RNA)	Acid ribonucleic
ADP	Adenosin diphosphat
ASLO	Anti streptolysin O
AMP	Adenosin monophosphat
APC	Tế bào trình diện kháng nguyên – Antigen presenting cell
ATP	Adenosin triphosphat
BCAK	Bạch cầu ái kiềm
BCAT	Bạch cầu ái toan
BCG	Vaccin phòng lao
BCTT	Bạch cầu hạt trung tính
BHK	Tế bào thận chuột đất
BM	<i>Biovar mouse</i>
BT	<i>Biovar trachoma</i>
BW	Bodet – Wassemann
C	Cytosin
Ca-DPA	Calci dipicolinat
CD	Phân lớp – biệt hoá, Class – differentiation
CM	Cytoplasmic membrane – Màng tế bào chất
CMI	Cell mediated immun – Miễn dịch qua trung gian tế bào
CPD 50	Cytopathic Dose 50% – Liều huỷ hoại 50% số tế bào
CPE	Cytopathic effect – Tác dụng phá huỷ tế bào
CW	Cell wall – Thành tế bào
DAP	Acid diaminopimelic
DIP	Defective interfering particle – Tạo ra hạt virus không hoàn chỉnh
EAEC	Enteroadherent <i>E. coli</i> – <i>E. coli</i> bám dính đường ruột
ED	Entner – Doudoroff Pathway – Con đường Entner – Doudoroff
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EHEC	Enterohaemorrhagic <i>E. coli</i> – Nhóm <i>E. coli</i> gây chảy máu đường ruột
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay – Thử nghiệm hấp phụ miễn dịch liên kết enzyme
EMP	Embden – Mayerhoff – Parnas Pathway – Con đường đường phân
EPEC	Enteropathogenic <i>E. coli</i> – <i>E. coli</i> gây bệnh đường ruột
ETEC	Enterotoxigenic <i>E. coli</i> – <i>E. coli</i> sinh độc tố ruột
F	Fungus – Nấm
F ⁺	Plasmid giới tính

FAD	Flavin adenin dinucleotid dạng oxy hoá
FADH ₂	Flavin adenin dinucleotid dạng khử hoá
FHA	Filamentous hemagglutinin – sợi ngưng kết hồng cầu
FMN	Flavin mononucleotid
FTA	Fluorescence Treponema Antibody – phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp
G	Guanin
G ⁻ (hoặc Gram(-))	Gram(âm)
G ⁺ (hoặc Gram(+))	Gram dương
GDP	Guanosin dinucleotid
GTP	Guanosin trinucleotid
HAAg	Kháng nguyên của HAV
HAV	Hepatitis A Virus – Virus viêm gan A
HBV	Hepatitis B Virus – Virus viêm gan B
HCV	Hepatitis C Virus – Virus viêm gan C
HDV	Hepatitis D Virus – Virus viêm gan D
HEV	Hepatitis E Virus – Virus viêm gan E
hGH	Yếu tố sinh trưởng người
HIV	Human Immunodeficiency Virus – Virus suy giảm miễn dịch người
HLA	Human Leucocyte Antigen – Kháng nguyên bề mặt bạch cầu người
HMP	Hexozo – monophosphat pathway – Con đường hexozo – monophosphat
HSV	<i>Herpes simplex virus</i>
ICAM	Intercellular Adhere Molecule – Phân tử kết dính liên tế bào
IG	Immunoglobulin
IL	Interleukin
IS	Insertion sequence
KDPG	2-keto-3-deoxy-6-phosphat-gluconat pathway – Con đường 2-keto-3-deoxy-6-phosphat-gluconat
KKT	Kháng kháng thể
KN	Kháng nguyên
KN H	Kháng nguyên lông
KN K	Kháng nguyên vỏ
KN O	Kháng nguyên vách
KT	Kháng thể
LD ₅₀	Median lethal dose – Liều chết trung bình
LFA-1(Lympho Function Antigen):	Kháng nguyên chức năng của lympho bào
LGV	Biovar lymphogalunoma venerum
LPS	Lipopolysaccharid
LT	Thermolabile toxin – Độc tố ruột
LTA	Acid lipotechoic
MAC	Membrane attack complex – Phức hợp tấn công màng
MAF	Macrophage activating factor – Yếu tố hoạt hoá đại thực bào
MGG	Nhuộm màu May – Grunwald – Giemsa
MHC	Major Histocompatibility Complex – Phức hợp hoà hợp mô chủ yếu
MLD	Minimal Lethal Dose – Liều chết tối thiểu
MRSA	Methicillin resistant <i>S. aureus</i>
My	Mycobacterium – Tric khuẩn lao
NAD ⁺	Nicotin adenosin dinucleotid dạng oxy hoá
NADH ₂	Nicotin adenosin dinucleotid dạng khử hoá
NADP ⁺	Nicotin adenosin trinucleotid dạng oxy hoá

NADPH ₂	Nicotin adenosin trinucleotid dạng khử hoá
NK	Natural killer – Tế bào diệt tự nhiên
NST	Nhiễm sắc thể
OM	Outer membrane – Lớp màng ngoài
OMP	Outer membrane protein – Protein màng ngoài
PCR	Polymerase chain reaction – Phản ứng chuỗi trùng hợp
PEP	Phosphoenolpyruvat
PFU	Plaque forming unit – Đơn vị tạo vùng tan
PG	Peptidoglycan
PHMD	Phức hợp miễn dịch
PL	Phospholipid
PT	Pertussis toxin – Độc tố ho gà
RIA	Radioimmunoassay – Thử nghiệm miễn dịch phóng xạ
RLB	<i>Rickettsia</i> like Bacteria – Vi khuẩn loại <i>Rickettsia</i>
RLO	<i>Rickettsia</i> –like organism – Cơ thể loại <i>Rickettsia</i>
RSV	Respiratory Syncytial Virus – Virus hợp bào hô hấp
SAD	Huyết thanh chống bạch hầu
SAT	Serum antitetanic – Huyết thanh chống uốn ván
SDA	Môi trường Sabouraud
SERODIA	Kỹ thuật ngưng kết Latex nhanh
SIg	Surface Immunoglobulin
T	Thymin
TBC	Tế bào chất
TCA	Chu trình tricarboxylic acid
TCBS	Thiosulfat, Citrate Bile Salts, Saccarose
TCR	T cell receptor – Thụ thể tế bào T
TPHA	<i>Treponema pallidum</i> Haemagglutination – phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động
TPI	<i>Treponema pallidum</i> Immobilisation – Bất động <i>Treponema pallidum</i>
U	Uracil
VDRL	Veneral Disease Research Laboratories
VK	Vi khuẩn
VSV	Vi sinh vật
WHO	World Health Organisation – Tổ chức Y tế thế giới

MỞ ĐẦU

Vi sinh vật học (Microbiology) – bộ môn khoa học của khoa học sự sống nghiên cứu các VSV (microorganisms), những sinh vật vi kích thước không thể quan sát được bằng mắt thường. Hình thái đại thể của các VSV mà chúng ta nhìn thấy được là các tập đoàn đông đảo các VSV. Quan sát riêng

rẽ các cá thể VSV cần phải sử dụng các kính hiển vi để phóng đại các VSV lên. Các kính hiển vi quang học (kính hiển vi phản pha, kính hiển vi huỳnh quang,...) hỗ trợ nghiên cứu các vi khuẩn, vi nấm,... còn nếu muốn nghiên cứu sâu sắc hơn cần sử dụng kính hiển vi điện tử. Kính hiển vi điện tử là công cụ đặc lực giúp nghiên cứu được các virus, các “hạt sống” bé nhỏ nhất.

Vi sinh y học (medical microbiology) là ngành VSV học chuyên nghiên cứu các VSV trong mối quan hệ với sức khỏe của con người (gây bệnh, có hại và có lợi).

Vi sinh dược học (pharmaceutical microbiology) là ngành Vi sinh vật học chuyên nghiên cứu các VSV trong mối quan hệ với thuốc, dược chất liên quan đến lên men sản xuất, bảo quản và định lượng.

Trong chương trình đào tạo Dược sĩ tài liệu Vi sinh vật học này được biên soạn cho sinh viên Đại học Dược năm thứ 3. Sau khi học xong giáo trình này, sinh viên có thể:

1. Trình bày được cấu tạo, hình thái, chức năng của tế bào vi khuẩn, vi nấm, cũng như cấu tạo và chức năng của virus.
2. Trình bày được đặc điểm sinh lý, sinh hoá và di truyền của VSV.
3. Trình bày được đặc điểm, cơ chế, ứng dụng của miễn dịch trong chẩn đoán, điều trị và phòng ngừa bệnh nhiễm trùng.
4. Trình bày được đặc điểm sinh học, khả năng gây bệnh, phương pháp chẩn đoán, phòng và điều trị các bệnh nhiễm khuẩn, nhiễm nấm và virus thường gặp.

1. VÀI NÉT VỀ LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT HỌC

Vi sinh vật là những sinh vật xuất hiện trước tiên trên Trái Đất, và loài người từ xa xưa tuy chưa có bằng chứng cụ thể nhưng đã ý thức được sự tồn tại của các VSV và đã ứng dụng chúng trong đời sống như lên men rượu, bia, muối dưa, làm tương, làm dấm, làm sữa chua, làm phomat, thuốc da,... Trong Kim tự tháp cổ Ai Cập còn có cả các hình vẽ mô tả cách nấu bia cho các Pharaon.

Tuy nhiên trong thời kỳ cổ đại chưa thể đề cập đến học thuyết khoa học, mà những điều còn lại ngày nay chúng ta tiếp nhận được là các quan sát, ghi chép, điều chế thủ công. Đến tận thế kỷ XVII, nhà sáng chế Hà Lan Antonie van Levenhoek (1632 – 1723) với sáng chế ra kính hiển vi quang học (độ phóng đại khoảng 270 lần) đầu tiên trên thế giới đã cho phép ông quan sát được các vi khuẩn và các động vật nguyên sinh mà ông gọi là những “động vật vô cùng nhỏ bé”, với số lượng nhiều hơn dân số Hà Lan ở trong miệng.

Edward Jenner (1749 – 1823), bác sĩ người Anh là người đầu tiên sáng chế ra phương pháp chủng mủ đậu bò cho người để phòng bệnh đậu mùa, một căn bệnh hết sức nguy hiểm. Và cũng chính bác sĩ Edward Jenner là người đầu tiên sử dụng thuật ngữ vaccin (vaccin, từ gốc Latin: Vaccinae có nghĩa là bệnh đậu mùa bò) trên thế giới.

Nhà bác học vĩ đại người Pháp Luis Pasteur (1822–1895) đã mở đầu kỷ nguyên mới nghiên cứu về sinh lý học VSV. Ông được coi là ông tổ của vi sinh vật học với hàng loạt phát kiến vĩ đại. Ông đã chứng minh bản chất của nhiều quá trình lên men (ancol ethylic, acid lactic, acid acetic,...), thực hiện thành công thí nghiệm phủ định thuyết tự sinh (spontaneous-generation hypothesis), phát hiện nhiều vi khuẩn gây bệnh cho người và động vật (vi khuẩn gây bệnh than, bào tử trùng, tụ cầu, liên cầu, mô não cầu (cùng với Chamberland, Roux và Thuillier), phát minh ra vaccin phòng chống nhiều căn bệnh nguy hiểm (vaccin phòng tả gà, vaccin phòng bệnh than), và xuất sắc nhất là vaccin phòng ngừa bệnh dại (ngày 6/7/1885 là ngày mà Pasteur đã dùng liều vaccin trừ dại đầu tiên trên thế giới để cứu mạng sống một bé gái người Pháp 9 tuổi là Joseph Meister bị chó dại cắn).

Nhà bác học Đức Robert Koch (1843 – 1910) đã cộng tác đặc lực với Pasteur. Ông đã phát hiện ra vi khuẩn lao, vi khuẩn tả và sáng tạo ra phương pháp phân lập thuần khiết VSV bằng cách nuôi cấy chúng trên các môi trường đặc (solid medium) và cách nhuộm màu chúng. Học trò J.R. Petri của Robert Koch là người đã sáng tạo ra những chiếc hộp lồng ngày nay mang tên ông.

Người đặt nền móng cho Miễn dịch học (Immunology) là nhà khoa học Nga Ilya Ilitch Metchnikov (1845 – 1916) với học thuyết “thực bào” nổi tiếng. Năm 1908 ông cùng với Ehrlich

(người đề xuất học thuyết miễn dịch dịch thể) nhận chung giải thưởng Nobel.

Phát hiện sự tồn tại của những loài VSV còn nhỏ bé hơn vi khuẩn nhiều có công đầu thuộc về nhà sinh lý học thực vật người Nga D.I. Ivanovskii (1864 – 1920). Ông đã chứng minh được sự tồn tại của loài sinh vật siêu hiển vi gây bệnh khảm thuốc lá năm 1882. Đến năm 1897, nhà khoa học người Hà Lan M.W. Beijerinck (1851 – 1931) đặt tên cho chúng là **Virus** (tiếng Latin: Virus có nghĩa là chất độc). Năm 1917 F.H. d'Herelle (1873 – 1949) đã phát hiện ra các thể virus của vi khuẩn và đặt tên là thực khuẩn thể (bacteriophage).

Năm 1928, A. Flemming phát hiện tác dụng kháng sinh của *Penicillium notatum* đối với *Staphylococcus aureus* đã mở ra kỷ nguyên sản xuất kháng sinh điều trị bệnh nhiễm trùng nhờ lên men VSV (A. Flemming cùng với B.E. Chain và H.W. Florey giải thưởng Nobel, 1945), cũng như Waksman phát minh ra streptomycin (1944) chống lại các vi khuẩn G^- (giải thưởng Nobel, 1952). Các VSV biến đổi gen dung hợp được các thông tin mà khởi thủy là hoàn toàn xa lạ đối với VSV ấy là thành tựu của công nghệ sinh học VSV từ những năm 70 của thế kỷ XX, là đóng góp có tính bước ngoặt trong di truyền học VSV.

Vào những năm 1983 – 1984 của thế kỷ XX, nhà khoa học Pháp Luc Montagnie và bác sĩ người Mỹ Robert Roll, một cách độc lập, đã phát hiện ra virus HIV gây bệnh AIDS – hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải ở người – hết sức nguy hiểm cho sức khoẻ con người. Đại dịch HIV/AIDS đang là hiểm hoạ to lớn đối với con người, nhất là người dân ở các nước đang phát triển với hệ thống chăm sóc y tế chưa hoàn chỉnh và đắt đỏ.

Bước sang thế kỷ XXI nhân loại lại phải đối mặt với những typ bệnh mới do virus và vi khuẩn gây ra: bệnh SARS – hội chứng viêm phổi cấp, bệnh cúm H_5N_1 liên quan đến gia cầm, bệnh liên cầu có nguồn gốc từ lợn,... cũng như bệnh lao đang quay trở lại cùng với HIV/AIDS. Hy vọng của nhân loại đang đặt vào các nhà nghiên cứu VSV học cũng như các nhà khoa học khác trong tương lai không xa sẽ tạo ra được vaccin phòng chống hay phép trị liệu hiệu quả nhất chống lại HIV/AIDS, cũng như các bệnh đã nêu, loại bỏ các hiểm hoạ này nâng cao chất lượng cuộc sống cho con người.

2. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA VI SINH VẬT

2.1. Kích thước của vi sinh vật rất nhỏ bé

Kích thước của các vi khuẩn, xạ khuẩn, vi nấm rất nhỏ bé, thường được đo bằng đơn vị micromet ($1\mu m = 10^{-3}mm$, hay $10^{-6}m$); kích thước của các virus còn nhỏ hơn nhiều nên được đo bằng nanomet ($1nm = 10^{-3}\mu m = 10^{-6}mm$; $1A^{\circ} = 10^{-7}mm = 10^{-1}nm$) – một vài đến vài trăm nanomet. Kích thước nhỏ bé nhưng diện tích bề mặt tiếp xúc của quần thể các tế bào VSV rất lớn. Ví dụ: một lượng tế bào cầu khuẩn với thể tích $1cm^3$ có diện tích bề mặt là $6m^2$ ($6m^2/1cm^3$). Đây là một trong những điều kiện tiên quyết rất thuận lợi để VSV có thể trao đổi chất mạnh mẽ với môi trường, thực hiện các chức năng sống sôi động.

2.2. Vi sinh vật hấp thụ nhiều, chuyển hoá nhanh, vòng đời ngắn

Tuy nhỏ bé (nếu không nói là nhỏ bé nhất) nhưng VSV lại là các sinh vật có khả năng hấp thụ và chuyển hoá chất dinh dưỡng mạnh hơn hẳn so với các sinh vật khác trong sinh giới như các sinh vật bậc cao: vi khuẩn lactic (*Lactobacillus*) trong một giờ có thể phân giải một lượng đường lactose nhiều gấp 1.000 – 10.000 lần khối lượng cơ thể của chúng. Nếu tính số μl O_2 mà một mg chất khô tế bào sinh vật tiêu thụ trong 1 giờ (tốc độ tiêu thụ thể tích oxy – Q_{O_2}) thì ở mô lá hoặc mô rễ thực vật là 0,5 – 4,0, ở tổ chức mô gan và thận động vật là 10 – 20, còn ở nấm men *S. cerevisiae* là 110, ở vi khuẩn chi *Pseudomonas* là 1.200, ở vi khuẩn chi *Azotobacter* là 2.000. Đặc điểm này cho phép VSV đóng vai trò to lớn trong các chu kỳ tuần hoàn vật chất trong tự nhiên, tái tạo môi trường sống cho sinh giới, cũng như khả năng sử dụng hữu ích các VSV thích hợp trong đời sống của con người. Với những khả năng đặc biệt nhưng chu kỳ vòng đời của VSV lại ngắn, đây cũng có thể là đặc tính riêng đổi mới chất sống của thế giới vi mô.

2.3. Vi sinh vật sinh trưởng nhanh, phát triển mạnh

Nhờ hấp thụ nhiều và chuyển hoá nhanh nên các VSV có tốc độ sinh trưởng và phát triển rất mạnh mẽ so với các sinh vật khác, các VSV có tốc độ sinh trưởng và sinh sôi nảy nở vượt trội hơn hẳn. Vi khuẩn *E. coli* sống cộng sinh trong ruột người, nếu được đưa vào trong điều kiện thích hợp và sau thời gian tiềm phát, trung bình cứ sau 12 – 20 phút lại sinh ra một thế hệ mới (số tế bào hoặc sinh khối khô tăng gấp đôi). Tính theo lý thuyết (với thời gian thế hệ 20 phút) thì sau 1 ngày đêm (phân chia 72 lần) từ một tế bào ban đầu có thể sản sinh ra lượng VSV có sinh khối (biomass) nặng tới 4722 tấn! Tuy nhiên trong thực tế, lượng vi khuẩn này chỉ đạt đến $10^{10} - 10^{12}$ tế bào trong 1ml dịch nuôi cấy mà thôi. Nấm men *S. cerevisiae*, với thời gian thế hệ 110 – 120 phút, khi lên men SCP (single cell protein) cho tốc độ tạo sinh khối cao hơn của bò gấp 100.000 lần. Thời gian thế hệ của tảo *Chlorella* là 7 giờ, của vi khuẩn lam *Nostoc* là 23 giờ.

2.4. Vi sinh vật thích ứng mạnh và dễ phát sinh biến dị

Năng lực thích nghi của VSV vượt xa của động vật và thực vật. Vì kích thước nhỏ buộc VSV phải uốn theo sự đồng đánh của môi trường để tồn tại và phát triển, nhưng cũng chính vì thế mà trải qua hàng trăm triệu năm tiến hoá, VSV đã tạo ra những cơ chế điều chỉnh chuyển hoá thích hợp để thích nghi với điều kiện sống bất lợi của môi trường. Lượng enzym thích ứng có trong các tế bào VSV chiếm tới khoảng 10% protein nói chung chứng tỏ khả năng biến đổi vật chất, cải tạo môi trường thích nghi cao của chúng. Do có nhiều khả năng biến đổi thích nghi, các VSV có thể sống, phát triển được ngay cả trong các điều kiện rất khắc nghiệt. Một số loài có thể sống được trong các điều kiện hoàn toàn không có oxy tự do (VSV kỵ khí), một số loài (nấm) có thể tồn tại và phát triển thành váng dày trong các bể ngâm xác có nồng độ phenol cao. Một số VSV có thể thích nghi với nhiệt độ trên 70°C , một số khác lại có thể tồn tại ở nồng độ muối ăn 32%. Vi khuẩn *Thiobacillus thiooxidans* có thể sinh trưởng ở pH 0,5, còn *Thiobacillus denitrificans* lại thích nghi với pH 10,7, *Micrococcus radiodurans* chịu được bức xạ cường độ cao. Ở nơi sâu nhất trong đại dương 11.034m (áp lực lớn hơn 1.104 atm) vẫn có VSV sinh sống, chủ yếu là các vi khuẩn lưu huỳnh.

Ở VSV cũng dễ phát sinh các biến dị, đây cũng là đặc tính tự nhiên của chất liệu di truyền trong sinh giới. Hình thức biến dị hay gặp nhất là đột biến gen (gene mutation). Những đột biến này thường xảy ra với tần suất $10^{-10} - 10^{-5}$ làm cho VSV có những thay đổi về hình thái, cấu tạo, kiểu chuyển hoá vật chất, cấu trúc kháng nguyên, khả năng kháng thuốc,... Bên cạnh những đột biến có lợi được sử dụng cũng có những đột biến có hại cần giảm thiểu hoặc chống lại.

2.5. Vi sinh vật phân bố rộng, chủng loại nhiều

VSV phân bố ở khắp mọi nơi trên Trái Đất. VSV có mặt ở trong đất; trong nước; trong không khí; trên và trong các đồ vật dụng; trên và trong cơ thể của nhiều loài sinh vật. Như vậy có thể tìm thấy các VSV ở mọi nơi. Về chủng loại, các VSV cũng hết sức phong phú: ngày nay con người đã biết đến trên trăm nghìn loài VSV. Tuy nhiên theo quan niệm của nhiều nhà khoa học, chúng ta mới chỉ biết được khoảng 1 – 2% số loài VSV có trong tự nhiên mà thôi và khả năng phân lập, phát hiện được các VSV mới trong tương lai với những tính trạng mới đến nay chưa biết vẫn có xác suất rất lớn.

3. VỊ TRÍ CỦA VI SINH VẬT TRONG SINH GIỚI

Nghiên cứu thế giới hữu sinh, các nhà khoa học đã có nhiều cố gắng phân chia sinh giới ra thành một số giới để dễ hệ thống hoá, trong đó hệ thống phân giới của Whittaker (1969) được chấp nhận rộng rãi bao gồm 5 giới: Monera, Protista, Plantae, Fungi và Animalia. Các VSV chiếm hoàn toàn giới Monera và một phần giới Fungi. Tuy nhiên trong hệ thống phân giới này cần phải bổ sung các virus vào thành một lớp của giới Monera. Có hệ thống phân giới chia thế giới hữu sinh thành 3

nhóm, 6 giới, cũng khá thông dụng.

Tên khoa học của VSV được gọi theo tiếng Latin bao gồm 2 từ: từ đầu chỉ tên chi (Genus) được viết hoa, từ sau chỉ tên loài. Mới gần đây, trong tài liệu chuyên ngành, tên khoa học của mỗi loài VSV được viết nghiêng. Ví dụ: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium acetobutylicum*, *Diplococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Micromonospora purpurea* var. *nigrecens*, *Nocardia mediterranei*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum*, *Penicillium maneffei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptomyces aureofaciens*, *Streptomyces fradiae*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces kanamyceticus*, *Streptomyces noursei*,... Viết tắt tên khoa học được viết từ đầu bằng chữ cái đầu viết hoa, từ thứ hai viết nguyên gốc. Ví dụ *Escherichia coli* viết tắt là *E. coli*.

4. PHÂN BỐ VI SINH VẬT TRONG TỰ NHIÊN

Như đã đề cập ở trên, VSV được phân bố hết sức rộng rãi trong tự nhiên. Mối quan hệ giữa các VSV với nhau và với các sinh vật khác tạo nên khu hệ sinh thái. VSV đóng vai trò hết sức quan trọng trong tuần hoàn vật chất của tự nhiên, nhiều chủng loại VSV rất có ích cho đời sống và kinh tế, tuy nhiên cũng có nhiều loài VSV có hại cho con người khi là nguyên nhân gây ra các bệnh truyền nhiễm nguy hiểm.

4.1. Vi sinh vật ở trong đất và trong nước

Nước có thể là nơi các VSV đầu tiên xuất hiện như là sinh vật sống nguyên thủy cổ đại đầu tiên. Ngày nay đất và nước là môi trường tự nhiên thích hợp cho các loài VSV, nên số lượng và chủng loại các VSV trong các môi trường này là hết sức phong phú, và trong đất là phong phú nhất. Trong 1 gam đất lấy ở tầng canh tác thường có 1 – 22 tỷ vi khuẩn, 0,5 – 14 triệu xạ khuẩn, 3 – 50 triệu vi nấm,... VSV trong nước có mối quan hệ mật thiết và là hàm số của VSV trong đất xung quanh. Số lượng và chủng loại VSV phụ thuộc vào chất lượng nguồn nước. Nước trong khe suối thiên nhiên nguyên sinh chứa ít VSV. Nước biển đại dương cũng có các loài VSV chịu được muối sinh sôi phát triển. Nguồn nước thải thành phố bị nhiễm bẩn có chứa nhiều VSV.

4.2. Vi sinh vật trong không khí

Không khí không phải là môi trường thuận lợi cho VSV, nhưng lại là đường truyền bệnh nguy hiểm gây ra các bệnh đường hô hấp. Trung bình có khoảng 10.000 hạt trong 1m³ không khí, trong đó khoảng 4.000 – 4.500 bào tử, tế bào vi khuẩn Gram(+) và Gram(-), dính bào tử nấm. VSV trong không khí thường từ bụi, đất được gió cuốn vào hay phát tán từ các cơ quan sinh sản mang dính bào tử. Ở độ cao khoảng 84km trong không khí người ta vẫn phát hiện thấy có VSV. Các vi khuẩn gây bệnh đường hô hấp có thể từ các hạt nước bọt nhỏ của bệnh nhân khi giao tiếp mà truyền vào đường hô hấp của người lành để gây bệnh. Các chất thải của chim di cư mang mầm bệnh cũng có thể là nguồn lây các bệnh có quy mô khu vực và toàn cầu ngày nay, ví dụ, bệnh cúm gia cầm,... Các VSV thường gặp trong không khí là vi khuẩn lao, vi khuẩn bạch hầu, liên cầu, tụ cầu, phế cầu và các virus thuộc nhóm Myxo.

4.3. Vi sinh vật ở cơ thể người lành

Trên bề mặt da và trong các khoang của cơ thể có khá nhiều chủng loại VSV ký sinh. Phần lớn chúng là các VSV lành tính không gây bệnh, nhiều loại là hữu ích. Các VSV đường tiêu hoá tham gia vào các quá trình hấp thụ – chuyển hoá của cơ thể, còn các VSV khác cư trú trên da và trong các khoang cơ thể tạo nên một khu hệ sinh thái ổn định có vai trò bảo vệ cơ thể. Nếu như khu hệ sinh thái này bị rối loạn, chẳng hạn khi dùng kháng sinh đường ruột kéo dài sẽ gây ra chứng loạn khuẩn đường ruột. Khu hệ sinh thái các VSV ổn định còn có khả năng ngăn chặn các VSV gây bệnh thâm nhập và chiếm chỗ trong các bộ phận của cơ thể.

Ký sinh trên da chủ yếu là các vi khuẩn Gram(+) như các loại cầu khuẩn, các *Corynebacterium* (*C. pseudodiphtherium* và *C. xerosis*) không có độc lực.

Trong đường tiêu hoá ở miệng có nhiều VSV phát triển. Đó là các loại cầu khuẩn, trực khuẩn G⁻, vi khuẩn kỵ khí và một số xoắn khuẩn. **Trong hệ thống dạ dày – ruột** có nhiều loài VSV cư trú. Do pH acid trong dạ dày, và pH kiềm cũng như nhiều loại enzym trong ruột non mà ở những nơi này có ít VSV. Ngược lại, ở ruột già có số lượng VSV rất lớn, chiếm tới 1/3 khối lượng phân khô và chủ yếu là các VSV kỵ khí, nhiều nhất là vi khuẩn *Bacteriodes fragilis* với số lượng lên đến $10^{10} - 10^{11}$ tế bào/g phân, gấp 100 – 1.000 lần số lượng vi khuẩn *E. coli*. *E. coli* chiếm đa số trong các VSV hiếu khí, với tỷ lệ chiếm khoảng 1%. Các VSV trong đường tiêu hoá đóng vai trò quan trọng trong tiêu hoá triệt để các chất cặn bã thức ăn cũng như cung cấp cho cơ thể một số nhóm B, vitamin K, ngoài ra còn bảo vệ cơ thể theo cơ chế chiếm chỗ trước.

Trong đường hô hấp, hốc mũi thường có các loại vi khuẩn ký sinh như tụ cầu vàng, vi khuẩn giả bạch hầu, ở phần sâu hơn có thể có các loại liên cầu, phế cầu, *Neisseria*, *Haemophilus influenzae*. Trong khí quản và phế quản hầu như không có VSV ký sinh.

5. CÁC SẢN PHẨM DƯỢC DỤNG CÓ NGUỒN GỐC TỪ VI SINH VẬT

Trong tự nhiên có rất nhiều chủng loại VSV có ích có khả năng sinh tổng hợp ra các sinh dược chất, đã và đang được con người khai thác, ứng dụng trong sản xuất dược phẩm bảo vệ sức khoẻ con người và trong nhiều ngành kinh tế khác như thú y, chăn nuôi, trồng trọt, bảo quản thực phẩm,... Ở đây chỉ xin sơ bộ liệt kê một số lớp sản phẩm quan trọng được ứng dụng trong Y Dược học, có nguồn gốc là sản phẩm trao đổi chất của VSV.

- Các chất kháng sinh.
- Chất thay thế huyết tương.
- Các acid hữu cơ, các acid amin, các 5'–nucleotid, các vitamin và các enzym.
- Các sản phẩm biến đổi sinh học (bioconversion products).
- Các sản phẩm miễn dịch.
- Các sản phẩm công nghệ tái tổ hợp ADN.

Với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học và kỹ thuật hy vọng rằng trong tương lai VSV học với tiềm năng vô tận sẽ có những thành tựu to lớn cùng đóng góp vào sự phát triển chung của nhân loại.

PHẦN MỘT

ĐẠI CƯƠNG VỀ VI SINH VẬT HỌC

Chương 1

HÌNH THÁI VÀ CẤU TẠO TẾ BÀO CÁC VI SINH VẬT PROCARYOTA

MỤC TIÊU

- Trình bày được các đặc điểm hình thái, vẽ và giải thích được sơ đồ cấu tạo tế bào vi khuẩn.
- Trình bày được cấu trúc thành tế bào của vi khuẩn Gram(+) và vi khuẩn Gram(-), phân biệt được sự khác biệt của hai loại thành tế bào này.
- Trình bày được cấu tạo và chức năng của một số cơ quan quan trọng khác của vi khuẩn.
- Trình bày những đặc điểm chính của xạ khuẩn, các vi khuẩn nguyên thủy và vi khuẩn lam.

Như đã nêu trên, VSV là những sinh vật kích thước rất nhỏ bé, bao gồm VSV nhân nguyên thủy (procaryota), VSV nhân thật (eucaryota) và các virus. Trong chương này chúng ta chỉ đề cập đến các VSV procaryota.

VSV tiến nhân bao gồm vi khuẩn thật (Eubacteria) và vi khuẩn lam (Cyanobacteria). Vi khuẩn thật bao gồm vi khuẩn (Bacteria), xạ khuẩn (Actinomycetes), và vi khuẩn nguyên thủy (Chlamidia, Mycoplasma, Rickettsia).

1. VI KHUẨN (BACTERIA)

1.1. Hình thái và kích thước vi khuẩn

Vi khuẩn có hình thái, kích thước đa dạng, khác nhau và được sắp xếp theo cách thức khác nhau. Những dạng hình thái chủ yếu của vi khuẩn là dạng hình cầu, dạng hình que và dạng xoắn, ngoài ra có dạng có cuống và dạng sợi. Đường kính của đa số vi khuẩn thay đổi trong khoảng từ 0,2 – 2,0µm, chiều dài nhìn chung từ khoảng 1,5 – 8,0µm.

1.1.1. Các cầu khuẩn (Cocci)

Các vi khuẩn dạng hình cầu rất đa dạng, tùy theo cách thức liên kết các tế bào, mặt giao tiếp mà phân ra thành các chi sau:

- Đơn cầu khuẩn: Đây là các cầu khuẩn phát triển riêng rẽ, không có sự gắn kết tế bào: *Monococcus* – *Micrococcus*, ví dụ: *Micrococcus pyogenes*.

- Tụ cầu khuẩn (*Staphylococcus*): Các cầu khuẩn liên kết với nhau thành tập đoàn như chùm nho. Đặc trưng có các loài *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* và *Staphylococcus saprophyticus*,...

- Song cầu khuẩn: Các cầu khuẩn liên kết với nhau tạo thành cặp sống đôi. Tùy thuộc vào liên kết theo trục tế bào tạo thành các *Diplococcus* Gram(+), ví dụ: *D. pneumoniae*; hay liên kết mặt bên mà tạo thành chi *Neisseria* Gram(–), ví dụ: *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*,... Trong số các song cầu khuẩn (như các ví dụ nêu trên) một số gây bệnh nguy hiểm cho người.

- Tứ cầu khuẩn (*Tetracoccus*): Các cầu khuẩn liên kết với nhau tạo thành tập hợp 4 cầu khuẩn.

- Liên cầu khuẩn (*Streptococcus*): Các cầu khuẩn liên kết với nhau tạo thành chuỗi: *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*,...

1.1.2. Vi khuẩn hình que (Bacterium – số nhiều Bacteria)

Trực khuẩn là nhóm các vi khuẩn hết sức đa dạng, chia làm nhiều bộ với số lượng lớn các chi, loài bao gồm các trực khuẩn ái khí không sinh bào tử hoặc sinh bào tử, trực khuẩn hiếu kỵ khí tùy tiện, trực khuẩn kỵ khí bắt buộc, sinh bào tử hoặc không sinh bào tử, bao gồm các loài sau:

- Trực khuẩn Gram(–) không sinh bào tử: *Escherichia coli* (*E. coli*), *E. vulneris*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas mallai*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*,...

- Trực khuẩn hiếu khí sinh bào tử (nha bào): Các *Bacillus*, ví dụ: *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuriensis*,... Cả chi *Bacillus* này có *B. anthracis* gây bệnh cho người và động vật.

- Trực khuẩn kỵ khí không sinh bào tử: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*. Các *Lactobacillus* là các vi khuẩn có ích, cũng như *Propionibacterium shermani*.

- Trực khuẩn kỵ khí tùy tiện: *Klebsiella pneumoniae*.

- Trực khuẩn kỵ khí sinh bào tử (nha bào): Các *Clostridium*, ví dụ: *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium tetani*,... Trong số này có *Clostridium tetani*, gây bệnh uốn ván, *Clostridium botulinum* gây ngộ độc thức ăn,...

1.1.3. Xoắn khuẩn

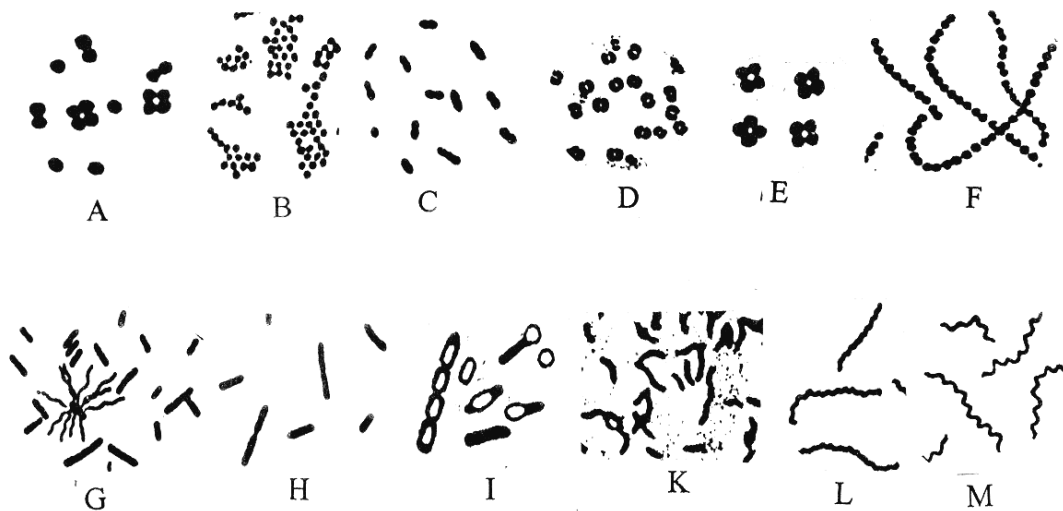
Trong số các xoắn khuẩn thì phẩy khuẩn có thể coi là dạng trung gian giữa trực khuẩn và xoắn khuẩn thực thụ.

- Phẩy khuẩn (*Vibrio*): Vi khuẩn dạng đầu phẩy, loài gây bệnh là *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio minicus*, *Vibrio vulnificus*,...

- Dạng xoắn thưa (*Spirillum*): Tế bào dạng hình sin giãn, ví dụ: *Spirillum rubrum*, *Spirillum serpens*.

- Dạng xoắn khít (*Spirochetales*): Tế bào có dạng xoắn lò xo, điển hình là các *Borrelia recurrentis*, *Leptospira australis*, *Leptospira ictero – haemorrhagiae*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira sejroe*, *Treponema pallidum*,...

Tế bào vi khuẩn có kích thước rất nhỏ bé. Đường kính của phần lớn vi khuẩn nằm trong khoảng 0,2 – 2,0μm, chiều dài tế bào vào khoảng 1,5 – 8,0μm, và khối lượng rất nhẹ: 1 tỷ tế bào *E. coli* chỉ nặng 1mg (hình 1.1).

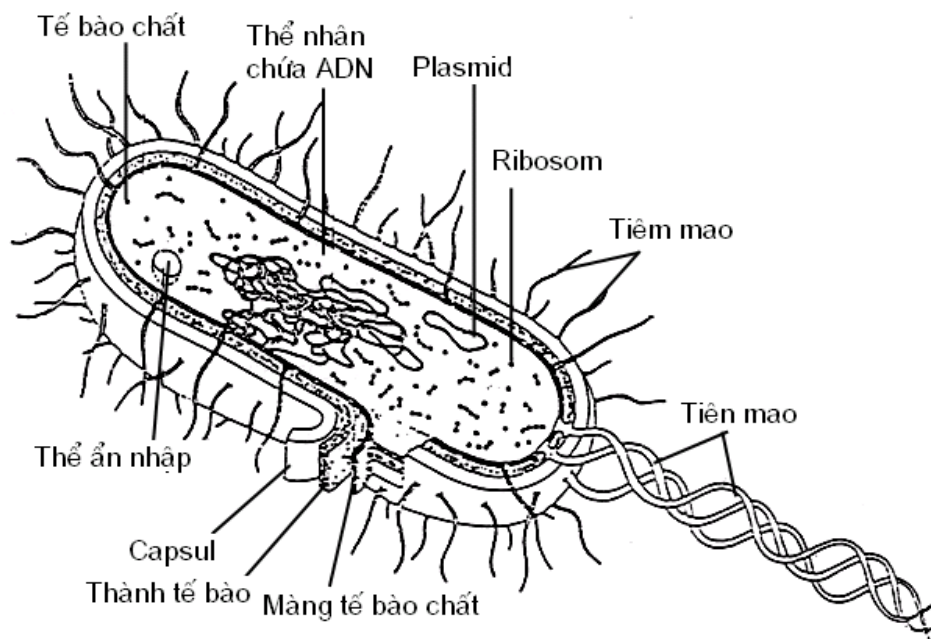


Hình 1.1. Hình thái các dạng tế bào vi khuẩn

A. Đơn cầu; B. Tụ cầu; C, D. Song cầu; E. Tứ cầu; F. Liên cầu; G, H, I. Trục khuẩn; K. Phẩy khuẩn; L, M. Xoắn khuẩn.

1.2. Cấu tạo

Vi khuẩn thuộc nhóm VSV procaryota nên cấu tạo tế bào có đặc thù riêng gồm một số bộ phận chính như sau: thành tế bào, màng tế bào chất, vùng nhân (thể nhân), tế bào chất, vỏ nhày, lông, pili, bào tử (nha bào),... (hình 1.2).



Hình 1.2. Sơ đồ cấu tạo tế bào vi khuẩn

Theo tính chất bắt màu khi nhuộm màu Gram, người ta chia các vi khuẩn thành hai nhóm: vi khuẩn Gram dương (Gram(+)) và vi khuẩn Gram(âm) (Gram(-)). Sự khác biệt ở hai nhóm vi khuẩn này có nguồn gốc từ những khác biệt cơ bản trong thành phần hoá học và cấu tạo thành tế bào của chúng.

1.2.1. Thành tế bào (vách tế bào—cell wall)

Dù rất bé nhỏ, nhưng mỗi tế bào vi khuẩn là một cơ thể sống độc lập, tính độc lập này quy định cấu tạo của lớp ngoài cùng – thành tế bào vi khuẩn. Thành tế bào là lớp cấu trúc liên thông khép kín ngoài cùng của vi khuẩn, có độ bền chắc với chức năng duy trì ngoại hình tế bào, bảo vệ tế bào chống lại những điều kiện ngoại cảnh bất lợi. Nồng độ các chất tan của tế bào chất bên trong tế bào thường cao hơn bên ngoài, nếu không có thành tế bào vững chắc, tế bào sẽ bị nổ bởi áp suất thẩm thấu. Sau khi làm co nguyên sinh chất rồi quan sát dưới kính hiển vi điện tử, có thể nghiên cứu được thành tế bào. Có một số dạng vi khuẩn không có vách tế bào, chẳng hạn như sau: thể nguyên sinh (protoplast – G⁺), thể cầu (tế bào trần – sphaeroplast – G⁻), vi khuẩn dạng L (L – formes hay L-phase variants – *Streptobacillus moniliformis*) và *Mycoplasma*.

Các chức năng chủ yếu của thành tế bào vi khuẩn:

Duy trì ngoại hình tế bào và giúp đề kháng với tác động từ bên ngoài (ví dụ vi khuẩn Gram(+)) chịu được áp suất thẩm thấu tới 10 – 15atm, vi khuẩn Gram(-) chịu được áp suất thẩm thấu tới 5 – 10 atm).

Ngăn trở sự xâm nhập của một số chất có hại (ví dụ thành tế bào vi khuẩn Gram(-) có thể cản trở sự xâm nhập của một số kháng sinh).

Hỗ trợ chuyển động của lông.

- Tham gia và kết thúc quá trình phân bào.
- Chứa các đặc trưng KN của vi khuẩn.

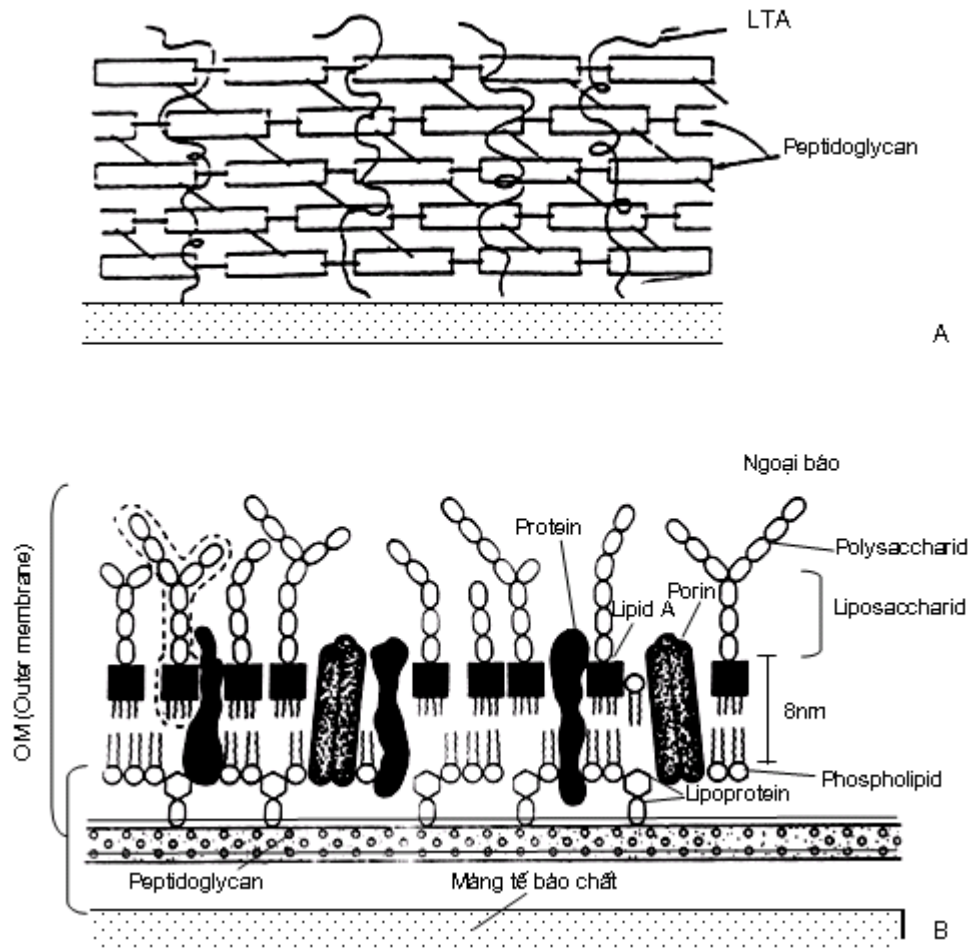
Thành tế bào vi khuẩn là hệ thống sống có cấu trúc phức tạp. Thành tế bào vi khuẩn Gram(+)) khác xa so với thành tế bào vi khuẩn Gram(-). Các thành phần cấu tạo của thành tế bào vi khuẩn Gram(+)) và Gram(-) cũng rất khác nhau (bảng 1.1).

Bảng 1.1. Tỷ lệ các thành phần chủ yếu thành của tế bào

Thành phần	Tỷ lệ (%)	
	Gram(+)	Gram(-)
Peptidoglycan	30 – 95	5 – 20
Acid teichoic	Cao	0
Lipoid	Hầu như 0	20
Protein	0 hoặc ít	Cao
Lipopolysacarid	0	Cao

Thành tế bào là polyme glycopeptid bao gồm peptidoglycan và mucopeptid, hay còn gọi murein tạo thành polyme xếp không tan trong các dung môi thường, khá chắc và bền vững, bao quanh tế bào như một mạng lưới. Thành phần cơ bản của peptidoglycan bao gồm 3 cấu tử: N-acetylglucosamin, acid N-acetylmuramic và tetrapeptid chứa cả L và D acid amin. Hai monome N-acetylglucosamin và acid N-acetylmuramic trùng hợp xen kẽ với nhau tạo thành chuỗi polyme. Tetrapeptid trên mỗi chuỗi peptidoglycan liên kết với tetrapeptid trên các chuỗi khác tạo thành lớp, và tetrapeptid trên các lớp khác nhau liên kết chéo với nhau tạo thành mạng lưới không gian đa lớp vững chắc bao quanh ngoài màng nguyên sinh chất. Đồng thời các thành phần của lưới không gian liên tục được mở ra để monome mới có thể gắn thêm vào, nhờ đó mà tế bào có thể sinh trưởng, phân chia được.

Thành tế bào của vi khuẩn Gram(+)) là hệ thống mạng lưới peptidoglycan lập thể ba chiều, là polyme gắn kết đa chiều vững chắc (hình 1.3). Thêm vào với lớp peptidoglycan ở các vi khuẩn Gram (+) còn có acid teichoic. Acid teichoic là polyme của D-alanin và glycerol phosphat liên kết với peptidoglycan hoặc màng tế bào chất. Loại acid teichoic liên kết với màng tế bào chất được gọi là acid lipoteichoic (hình1.5). Do tích điện âm, acid teichoic giúp vận chuyển các ion dương vào, ra tế bào và cũng là dự trữ phosphat. Ngoài ra, acid teichoic còn được coi là thụ thể hấp thụ đặc biệt đối với một số thực khuẩn thể (*Bacteriophage*). Bao bên ngoài peptidoglycan có thể là polysaccharid hoặc polypeptid, thường đóng vai trò là kháng nguyên thân đặc hiệu.

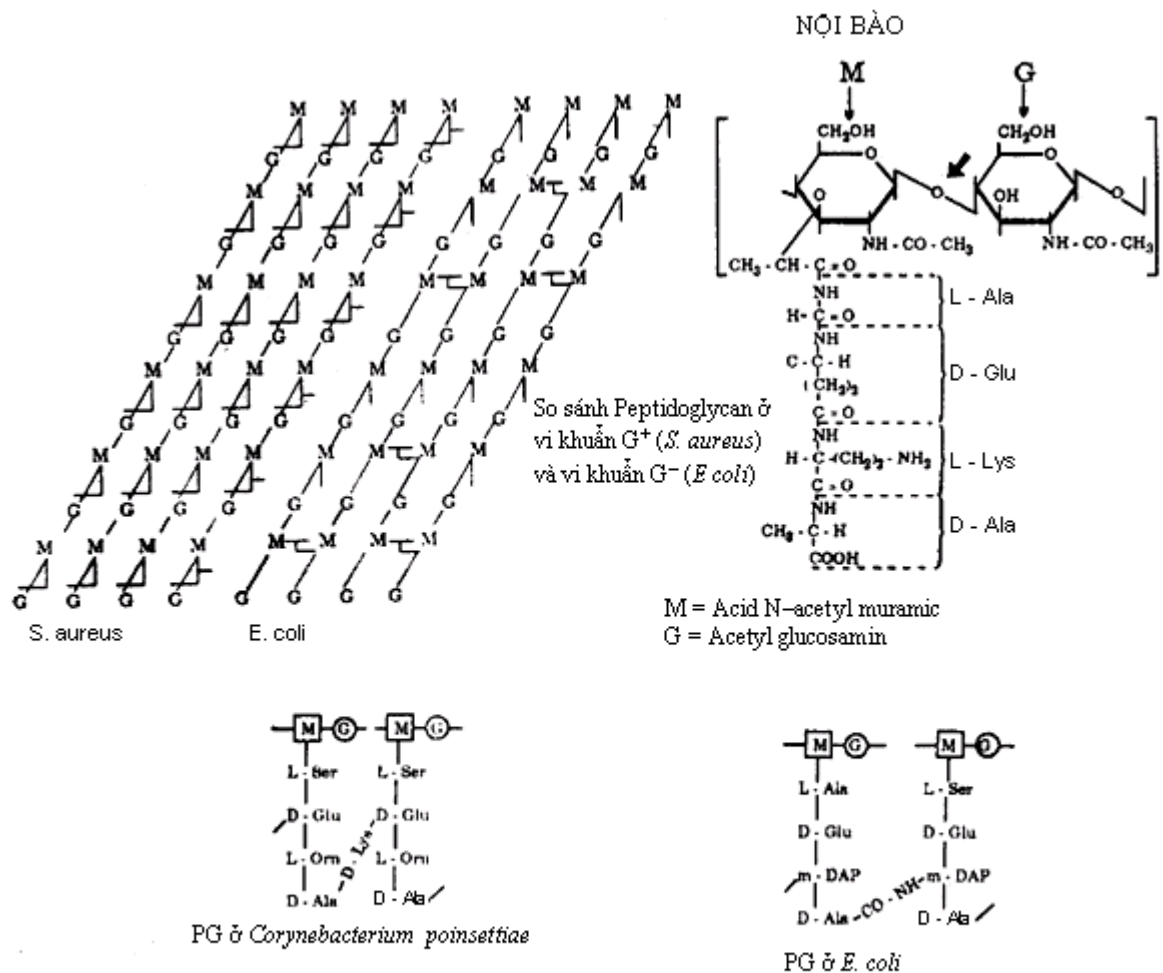


Hình 1.3. Sơ đồ cấu trúc các lớp bên ngoài tế bào vi khuẩn

A. Thành tế bào Gram(+); LTA: acid lipoteichoic; B. Thành tế bào Gram(-).

Khác với cấu trúc peptidoglycan liên thông lập thể đa chiều của thành tế bào của vi khuẩn Gram (+), thành tế bào vi khuẩn Gram(-) có cấu trúc hai lớp rõ rệt (hình 1.3): lớp peptidoglycan mỏng bên trong và cách một lớp không gian chu chất là lớp màng ngoài (outer membrane – OM) (hình 1.3, 1.4). Lớp màng ngoài có cấu tạo 2 lớp gồm một lớp phospholipid bên trong kết hợp với một lớp lipopolysaccharid (LPS) bên ngoài đan xen với các phân tử protein và lipoprotein. Lớp lipopolysaccharid được cấu tạo bởi 3 thành phần chính (hình 1.6) bao gồm:

- Lipid A được cấu thành bởi 5 chuỗi dài acid béo và 2 phân tử N-acetylglucosamin.
- Polysaccharid lõi chứa:
 - + Lõi trong gồm:
 - + 3 phân tử KDO (acid ketodeoxyoctulosonic).
 - + 2 phân tử Hep (L-glycerin-D-heptose).



Hình 1.4. Peptidoglycan của một số vi khuẩn: *S. aureus*, *E. coli*, *C. poinsettiae*

G. N-Acetylglucosamin; M. Acid N-acetylmuramic; PG. peptidoglycan; L - Ala. L - alanin; D - Glu; D - Glutamin; DAP. acid diaminopimelic; D - Ala. D - Alanin; L - Ser, L - serin; L - orn; L - ornitin

+ Lõi ngoài gồm:

+ Các phân tử hexose (bao gồm glucosamin, galactose và glucose).

– Kháng nguyên O (KNO) là phần polysaccharid vưon ra ngoài màng vào môi trường, gồm các phân tử hexose (bao gồm galactose, rhamnose, mannose và abequose).

Lipid A là nội độc tố của vi khuẩn, có thể gây sốt, tiêu chảy, phá huỷ hồng cầu và dẫn đến sock nguy hiểm.

KNO quyết định một số đặc tính kháng nguyên của vi khuẩn có chứa LPS và là thụ thể của bacteriophage.

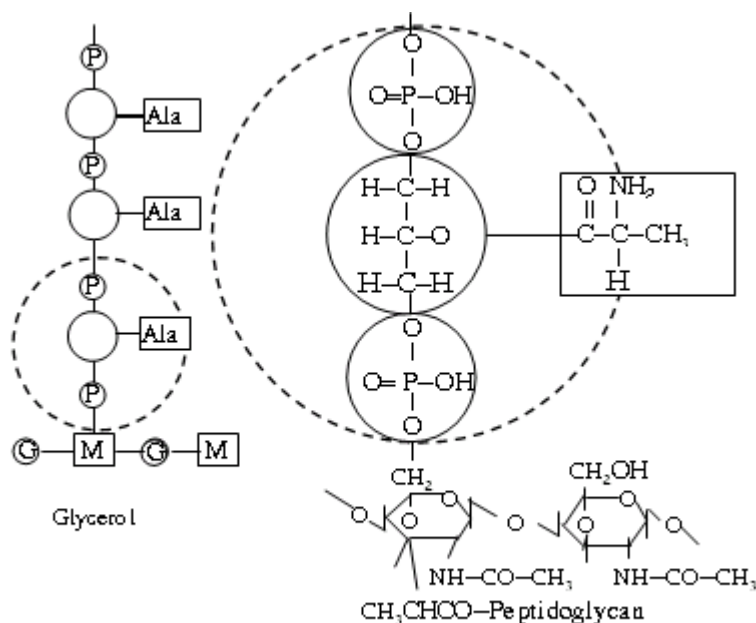
Màng ngoài (OM) của thành tế bào vi khuẩn Gram(–) còn chứa một số loại protein, như protein nền, protein màng ngoài, lipoprotein.

Protein nền (matrix protein) – như porin ở vi khuẩn *E. coli* – là loại protein lỗ, nằm xuyên suốt qua màng ngoài và cho phép một số loại phân tử đi qua như đường, acid amin, dipeptid, tripeptid và các ion.

Protein màng ngoài (Outer Membrane Protein, OMP) là protein vận chuyển có khả năng vận chuyển một số phân tử khá lớn ra ngoài, như vitamin B12, nucleotid, fericrom, enterokelin.

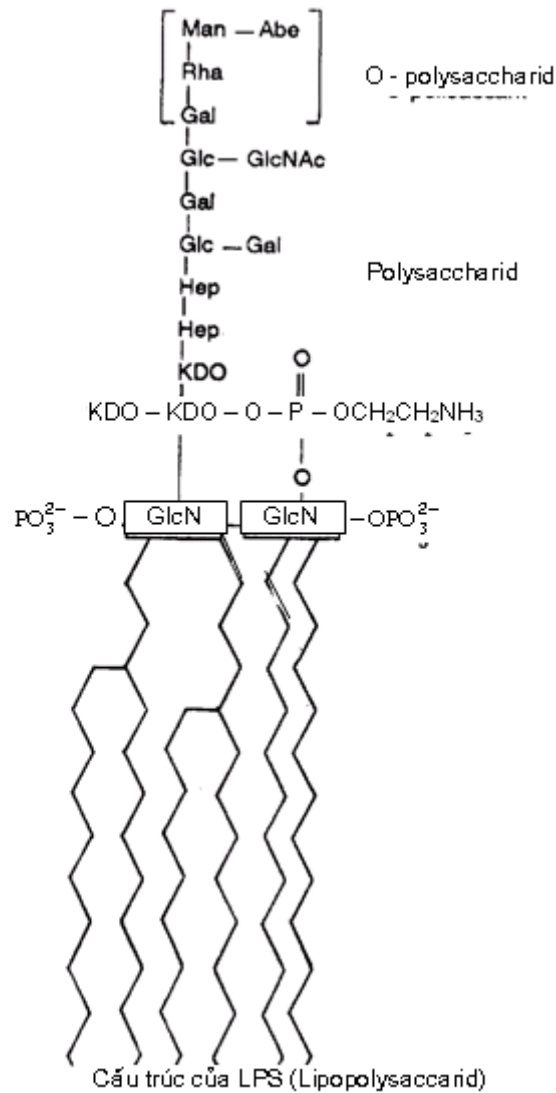
Lipoprotein: Có nhiều chủng loại lipoprotein với phân tử lượng 7.200Da, có chức năng liên kết lớp peptidoglycan bên trong với lớp màng ngoài.

Lớp không gian chu chất là lớp lưu không nằm giữa lớp peptidoglycan mỏng và lớp màng ngoài ở thành tế bào vi khuẩn G^- và cũng có ở phần tiếp giáp giữa màng tế bào chất và thành tế bào của cả vi khuẩn G^+ và G^- . Trong lớp lưu không này có nhiều loại enzym, chẳng hạn protease, nuclease, protein vận chuyển qua màng, protein thụ thể bacteriophage.



Hình 1.5. Sơ đồ cấu trúc chi tiết của acid telcholic và cách liên kết với PG

Nhuộm Gram: Nhuộm Gram là phương pháp nhuộm màu thích hợp để quan sát các tế bào vi khuẩn. Trong phương pháp Gram, tế bào vi khuẩn trước hết được xử lý với thuốc nhuộm tím Gentian carboxylic rồi với dung dịch lugol, dẫn đến việc tạo thành phức chất tím Gentian-iod bên trong thành tế bào. Khi vi khuẩn Gram (-) bị tẩy cặn, lipoid của lớp màng ngoài bị hoà tan làm tăng tính thấm của màng và làm rửa trôi mất phức chất tím Gentian-iod, làm cho vi khuẩn trở lại không màu. Khi nhuộm bổ sung đỏ fuchsin, tế bào sẽ bắt màu với thuốc nhuộm này (màu đỏ vàng hay đỏ tía). Ở vi khuẩn Gram(+), còn làm cho các mao quản trong peptidoglycan co lại, do đó phức chất tím Gentian-iod bị giữ lại trong thành tế bào và vi khuẩn chỉ bắt màu tím Gentian.

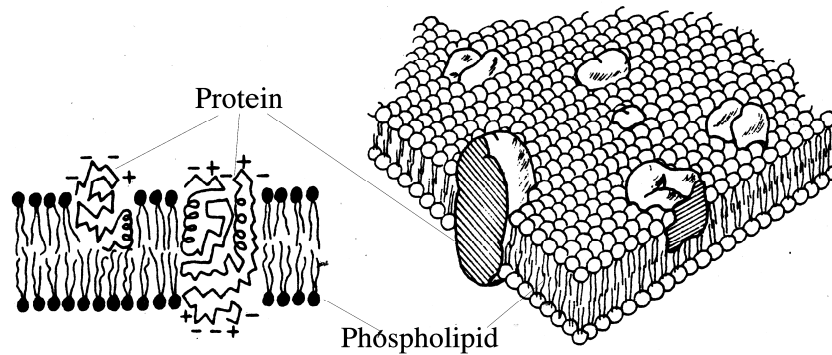


Hình 1.6. Cấu trúc lipopolysaccharid ở vi khuẩn G⁻

Thành của tế bào vi khuẩn là nơi tác dụng của nhóm kháng sinh quan trọng (β -lactam), đồng thời cũng là nơi tác dụng của lysozym, mà đích đều có liên quan đến peptidoglycan (đích tác dụng của kháng sinh là peptidoglycan-transpeptidase và D-alanincarboxy-peptidase). Chính vì thế kháng sinh penicilin và lysozym tác dụng mạnh chủ yếu lên vi khuẩn Gram(+) và tác dụng yếu lên vi khuẩn Gram(-).

1.2.2. Màng tế bào chất (cytoplasmic membrane-CM)

Màng tế bào chất là lớp màng nằm sát phía trong thành tế bào, dày khoảng 4 – 5nm, chứa khoảng 60% protein và 40% phospholipid. Phospholipid (PL) tạo thành màng 2 lớp liên thông, còn các protein có thể nằm phía trong, phía ngoài hay xuyên qua màng. Các phân tử PL chứa đầu tích điện phân cực (đầu phosphat) và đuôi không phân cực (hydrocarbon). Đầu phân cực (háo nước) tan trong nước quay ra phía ngoài màng, hoặc hướng vào tế bào chất bên trong, hoặc hướng ra phía thành tế bào. Các PL có trong màng làm màng “chảy lỏng” và nhờ vậy các protein có vận động tính tĩnh trong màng cao. Đây là thể giả lỏng động học cần thiết cho việc đảm bảo chức năng của màng – còn gọi là mô hình khảm lỏng (hình 1.7).



Hình 1.7. Cấu trúc của màng tế bào chất

Hầu hết màng tế bào chất của vi khuẩn không chứa sterol, như cholesterol, do đó không vững chắc như CM của các tế bào nhân thật. Mycoplasma là họ vi khuẩn nguyên thủy không có thành tế bào, nhưng CM của chúng có chứa sterol, do đó khá vững chắc. Các chức năng cơ bản của CM gồm:

CM là hàng rào đối với đa số các phân tử tan trong nước và có tính chọn lọc cao hơn so với thành tế bào. Tuy vậy CM có chứa các protein vận chuyển đặc biệt còn được gọi là permease, có thể vận chuyển được các chất phân tử nhỏ vào tế bào theo cơ chế thụ động hay chủ động. Các permease đặc hiệu với từng chất hoặc nhóm chất và ATP.

CM ở vi khuẩn là nơi mà tế bào thực hiện các chức năng hô hấp (tương tự như màng trong có dạng gấp khúc ở ty, lập thể tế bào nhân thật). CM có chứa các enzym của chuỗi hô hấp và các enzym tổng hợp ATP (ATPsynthetase). Ở các vi khuẩn lưu huỳnh màu tía, CM còn chứa bộ máy quang hợp.

Ở CM có mặt các enzym tham gia vào quá trình tổng hợp lipid màng, peptidoglycan, acid teichoic, LPS, và các polysaccharid đơn giản. Mặt khác màng sinh chất còn là nơi tổng hợp các enzym ngoại bào, nằm giữa màng sinh chất và thành tế bào giúp thủy phân được các chất dinh dưỡng dưới dạng polyme.

Màng sinh chất tham gia vào quá trình phân bào nhờ các Mesosom. Mesosom là phần CM cuộn nhúng vào trong tế bào chất. Mesosom có loại nằm gần màng sinh chất và loại nhúng sâu vào tế bào chất. Loại nằm gần màng sinh chất có vai trò nhất định trong việc sinh tổng hợp ra penicilinase và một số enzym khác. Còn loại Mesosom nhúng sâu vào tế bào chất được gắn với nhiễm sắc thể (NST) hỗ trợ quá trình sao chép ADN và quá trình phân bào.

Ngoài ra màng sinh chất còn cung cấp năng lượng cho vận động của tiên mao (lông roi, flagella).

1.2.3. Tế bào chất (cytoplasm)

Tế bào chất (TBC) của vi khuẩn chứa tới 80% nước dưới dạng gel, còn lại là các chất hoà tan như protein, peptid, acid amin, hydratcarbon, lipid, các nucleotid, ARN, vitamin, các ion vô cơ và nhiều chất có phân tử lượng thấp khác. Tế bào chất của vi khuẩn không di động do có hệ thống các mạng lưới giúp duy trì hình dạng của tế bào. Đặc điểm này khác hẳn với TBC của các tế bào nhân thật.

Protein và polypeptid chiếm tới 50% khối lượng khô của vi khuẩn và một phần rất lớn năng lượng của vi khuẩn được sử dụng để tổng hợp protein, trong đó các protein cấu trúc và enzym nội bào được tổng hợp đặc hiệu.

Ribosom nằm tự do trong tế bào chất, chiếm tới 70% khối lượng khô của chất nguyên sinh tế bào vi khuẩn. Có tới 15.000 – 20.000 ribosom trong một tế bào *E. coli*. Ribosom bao gồm 2 tiểu phần 50S và 30S kết hợp với nhau tạo thành monosom 70S (S là đơn vị Svedberg, đại lượng đo tốc độ lắng đọng của hạt trong một huyền dịch khi ly tâm siêu tốc). Mỗi tiểu phần lại bao gồm 2 thành phần polyme: protein và ARN – là protein và ARN ribosom. Tiểu phần ribosom 30S bao gồm một phân tử ARN 16S và 21 phân tử protein. Còn tiểu phần 50S có chứa 2 phân tử ARN 16S như ở tiểu phần 30S và 34 phân tử protein. Ngoài ra một phân tử ARN 5S cũng được xác định trong ribosom. Khi tổng hợp protein, các ribosom gắn với mRNA và được gọi là polyribosom. Hình 1.8 giới thiệu sơ đồ cấu tạo

của ribosom.

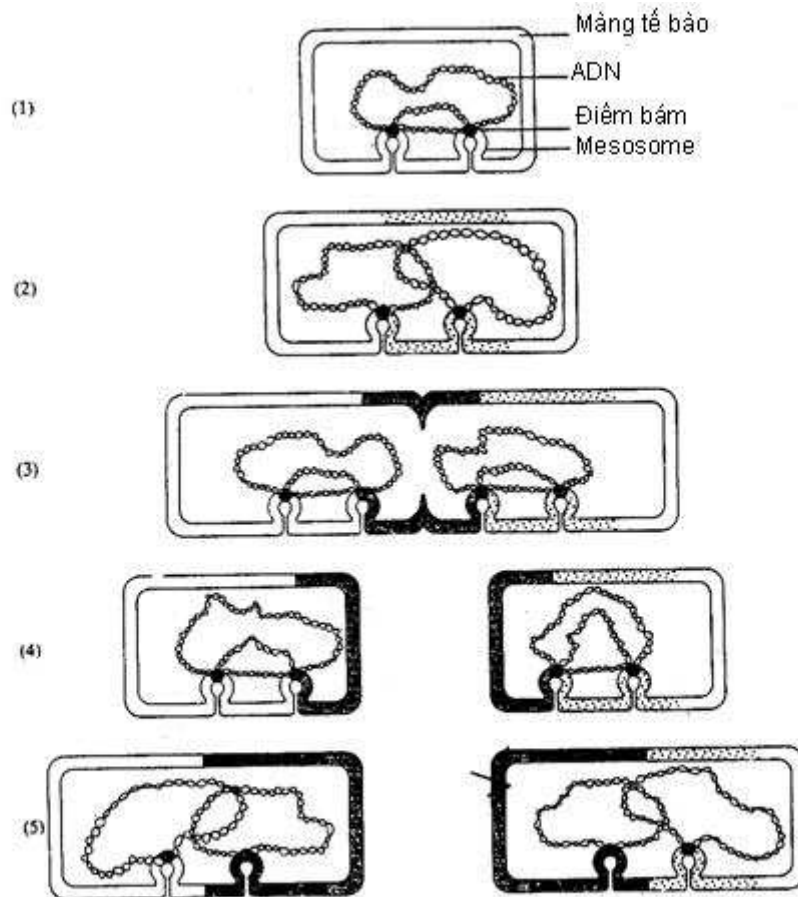
Ribosom của vi khuẩn chịu tác dụng của nhiều loại kháng sinh như aminosid, tetracyclin, chloramphenicol,...

Ngoài các thành phần nêu trên, tế bào chất còn chứa các thể ẩn nhập (còn gọi là các hạt vùi). Đây là các không bào chứa lipid, glucogen và một số không bào chứa các chất đặc trưng đối với từng loại vi khuẩn. Chẳng hạn vi khuẩn bạch hầu có hạt vùi chứa polymetaphosphat.

So sánh với tế bào chất của sinh vật nhân thật, tế bào chất của vi khuẩn không có ty thể, lục thể, lưới nội bào và cơ quan phân bào.

1.2.4. Thể nhân (Nuclear body)

Vi khuẩn là sinh vật procaryota, với cấu tạo nhân đơn giản, chưa có màng nhân. Thể nhân của vi khuẩn là một nhiễm sắc thể (NST) độc nhất được cấu tạo bởi một phân tử ADN xoắn kép gắn với Mesosome. Phần lớn các VSV tiền nhân là các tế bào đơn bội. Chiều dài NST vi khuẩn thay đổi trong khoảng $0,25 - 3,0\mu\text{m}$ và nếu duỗi ra thường dài gấp hàng nghìn lần chiều dài tế bào vi khuẩn (chiều dài ADN của *E. coli* khoảng 15m). NST của vi khuẩn chứa khoảng $6,6 - 13,0 \times 10^6$ cặp base nitơ. NST của vi khuẩn *E. coli* có $4,6 \times 10^6$ cặp base nitơ, khép kín, với PTL là 3×10^9 Da, chứa khoảng 3.000 gen.



Hình 1.9. Sơ đồ sao chép ADN ở vi khuẩn

(1). Tế bào có ADN sao chép một phần; (2). Sao chép vừa xong 2 điểm gắn ADN vào màng được tách đôi; (3). Giai đoạn cuối của nguyên phân; (4) Hai tế bào con sau nguyên phân; (5). Lặp lại chu trình mới ở 2 tế bào con.

Nhiễm sắc thể tế bào tiền nhân có hình cầu, hình siêu xoắn hay hình que, sao chép theo mô hình bán bảo tồn (hình 1.9). Tuy nhiên sự nhân lên của vi khuẩn còn phụ thuộc vào sự phân chia của

màng tế bào chất và thành tế bào, nhưng NST bao giờ cũng được nhân lên trước. Số lượng hệ gen hay genom trong tế bào vi khuẩn thay đổi tùy thuộc vào loài và điều kiện nuôi cấy. Khi nuôi cấy tĩnh tế bào *E. coli* chứa khoảng 1 – 4 genom, tế bào *Desulfovibrio gigas* chứa khoảng 10 – 15 genom.

Ngoài nhiễm sắc thể một số vi khuẩn còn chứa ADN ngoài nhiễm sắc thể. Đó có thể là các loại plasmid và transposon.

1.2.5. Vỏ nhày (capsul)

Ở một số loại vi khuẩn bên ngoài thành tế bào còn có một lớp nhày lỏng, sền sệt, không rõ rệt bao quanh hay còn gọi là capsul. Khi quan sát dưới kính hiển vi có thể sử dụng phương pháp nhuộm mực tàu sẽ thấy rõ vỏ nhày màu trắng nổi lên trên nền sẫm. Khuẩn lạc của những vi khuẩn có vỏ thường nhày, ướt và sáng.

Thành phần chủ yếu của vỏ nhày là polysaccharid, ngoài ra còn có polypeptid và protein. Vỏ nhày polysaccharid chiếm tỷ lệ lớn (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*. Vỏ nhày của *Leuconostoc mesenteroides* được cấu tạo bởi polysaccharid là dextran, polyme được sản xuất để tạm thay thế huyết tương cho người mổ mắt nhiều máu. Sản phẩm dextran – Fe được dùng làm thuốc bổ máu trong chăn nuôi. Vỏ nhày của một số loài *Bacillus* (như *B. anthracis*, *B. subtilis*,...) được cấu tạo bởi polypeptid, chủ yếu là acid polyglutamic.

Các chức năng chủ yếu của vỏ nhày là bảo vệ, dự trữ – tích lũy và tăng cường khả năng bám.

- Bảo vệ vi khuẩn tránh bị thương tổn khi khô hanh, tránh được hiện tượng thực bào (phagolysis) của bạch cầu. Ví dụ, các phẩy cầu dạng R (không vỏ) không gây bệnh vì bị thực bào, ngược lại phẩy cầu dạng S nhờ có vỏ bảo vệ, làm bão hoà opsonin hoá, nên ngăn cản thực bào mà gây bệnh.

- Vỏ nhày như là kho dự trữ ngoại bào, khi thiếu chất dinh dưỡng, vi khuẩn sử dụng vỏ nhày như nguồn chất dinh dưỡng. Mặt khác vỏ nhày còn là nơi tích lũy một số sản phẩm trao đổi chất xung quanh tế bào.

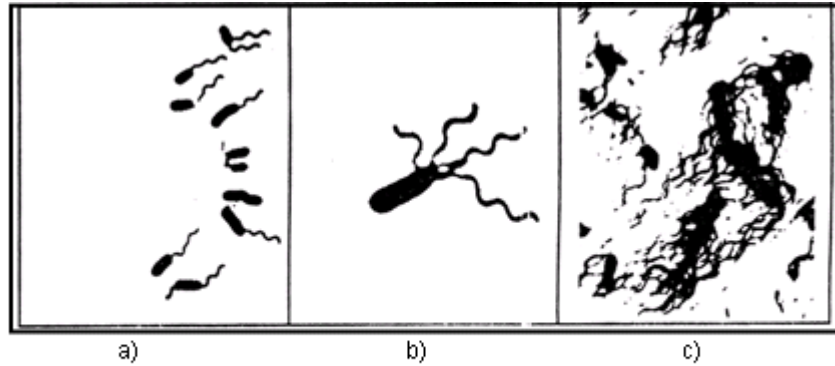
- Tăng cường khả năng bám: Nhờ vỏ nhày và một số cấu tạo hỗ trợ vi khuẩn bám vào được bề mặt của một số giá thể. Ví dụ, các trường hợp vi khuẩn gây sâu răng *Streptococcus salivarius* và *Streptococcus mutans* sinh tổng hợp enzym hexoz – transferase tạo ra polyme fructan từ saccarose, giúp vi khuẩn bám được lên bề mặt của răng, lên men đường sinh acid lactic và dần dần làm hỏng men răng, gây sâu răng.

1.2.6. Các bộ phận phụ khác

- Lông (roi, tiên mao – flagella):

Lông là những sợi protein dài uốn cong hoặc xoắn được tạo thành từ các acid amin dạng D, có thể quan sát được dưới kính hiển vi điện tử. Tiên mao giúp tế bào chuyển động chủ động được. Lông có đường kính khoảng 13,5 – 17,0nm và chiều dài khoảng 10 – 20µm. Lông thường gặp ở trực khuẩn và xoắn khuẩn (*Vibrio*, *Spirillum*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Sigella*, *Salmonella*, *Proteus*,... còn ở *Clostridium*, *Bacillus*, *Bacterium*,... ít gặp hơn), ít khi gặp ở cầu khuẩn (chỉ có ở chi *Planococcus*). Cấu tạo của lông có 3 phần: sợi, móc và gốc. Sợi được cấu thành từ một số chuỗi protein xoắn với nhau tạo thành vỏ rỗng. Móc giữ gắn vào đầu cuối của sợi. Gốc gắn vào móc để giữ lông vào vách và màng tế bào chất của tế bào. Tiên mao tạo cho vi khuẩn khả năng chuyển động với vận tốc khá cao đến khoảng 20µm/s trong dung dịch nước. Các chuyển động đó có thể là dẫn dụ, xua đuổi, nhào lộn, tiến,...

Những vi khuẩn có lông thì có kháng nguyên H (hình 1.10)



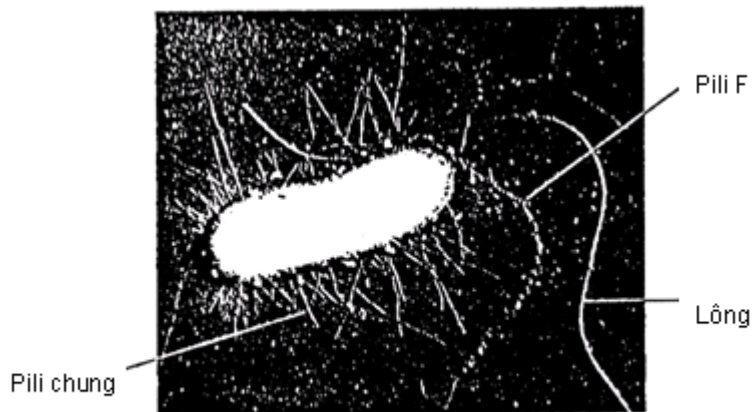
Hình 1.10. Vị trí lông ở tế bào vi khuẩn

a) Một lông ở đầu; b) Chùm lông ở một đầu; c) Lông quanh thân.

– Khuẩn mao (pilus, fimbria), còn được gọi là nhung mao, là những sợi bản chất protein, rỗng, rất nhỏ (đường kính trong 2,0 – 2,5nm, đường kính ngoài 7 – 9nm) và rất ngắn, số lượng có thể rất nhiều (250 – 300 sợi/tế bào), hay gặp ở vi khuẩn G^- . Cấu tạo của pili đơn giản hơn của lông.

Dựa vào chức năng có thể chia khuẩn mao làm hai loại: pili chung và pili giới tính F. Pili (khuẩn mao) chung là cơ quan bám, giúp vi khuẩn bám vào giá thể của các tế bào nhân thật (màng nhày của đường hô hấp, đường tiêu hoá, đường tiết niệu, đường sinh dục của người và động vật,...) tăng cường khả năng gây bệnh của VSV. Chẳng hạn mất pili, lậu cầu không còn khả năng gây bệnh.

Pili (khuẩn mao) giới tính (pili F – fertility): Pili giới tính giống như pili thường nhưng dài hơn nhiều. Chỉ có vi khuẩn đực có pili giới tính và mỗi tế bào có thể có 1 – 4 pili giới tính với chức năng làm cầu nối giữa hai tế bào chuyển ADN từ tế bào này sang tế bào khác khi tiếp hợp. Ngoài ra pili giới tính còn là thụ thể cho các Bacteriophage hấp thụ (hình 1.11).



Hình 1.11. Lông và khuẩn mao (pili) ở vi khuẩn

– Bào tử (nha bào – spore – endospore): Một số vi khuẩn vào cuối thời kỳ sinh trưởng khi điều kiện phát triển không thuận lợi sẽ sinh ra bên trong tế bào một thể nghỉ có dạng hình cầu hay hình elipsoic, được gọi là bào tử (nha bào). Khi điều kiện thuận lợi, bào tử lại nảy mầm phát triển thành tế bào sinh dưỡng.

Bào tử được hình thành trong các bước sau:

+ Trong tế bào sinh dưỡng, ADN được phân chia thành chromosom riêng biệt và màng tế bào chất lún sâu vào phân chia tế bào.

+ ADN được bao bọc hoàn toàn bằng màng tế bào chất, thành nha bào được hình thành và một phần vỏ cũng được hoàn thành.

+ Vỏ bào tử được hình thành đầy đủ bao quanh ADN.

+ Bào tử chín và giải phóng ra ngoài tế bào.

Quá trình hình thành bào tử đã nêu mất khoảng 6 – 8 tiếng, là quá trình tương đối phức tạp

(sporogenesis) để tạo ra được cấu trúc vững bền, chịu được các điều kiện khắc nghiệt. Cấu trúc của bào tử là hệ thống nhiều lớp vỏ bền vững bao quanh vùng lõi chứa ADN. ADN nằm trong thể bào tử chất trong cùng, màng bào tử bao ngoài bào tử chất, tiếp đến là thành bào tử, tiếp theo là vỏ bào tử, rồi đến áo bào tử hai lớp và áo ngoài. Các lớp bao bọc chiếm 50% thể tích của nha bào và bao bọc bào tử chất và nhân.

Thành phần hoá học của các lớp vỏ bao là protein, hydratcarbon, lipid, peptidoglycan và calci dipicolinat (Ca-DPA), không chứa acid teichoic.

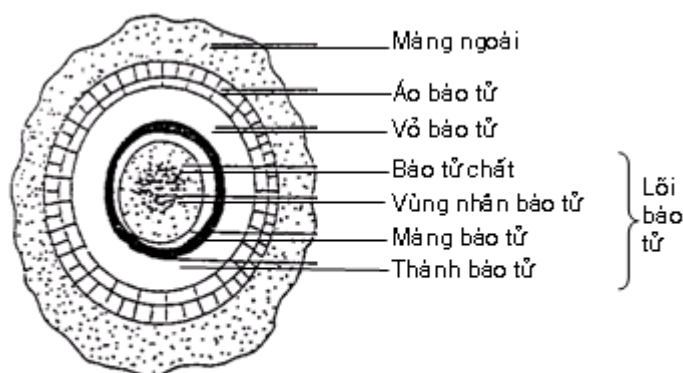
Lõi của bào tử chứa một lượng nước rất thấp cùng với Ca-DPA. Ca-DPA được hình thành trong quá trình nha bào hoá và mất đi khi bào tử nảy mầm. Trong bào tử còn chứa nhiều enzym chuyển hoá nhưng ở dạng không hoạt động và chúng chỉ bắt đầu hoạt động khi bào tử nảy mầm.

Bào tử có tính kháng nhiệt, kháng bức xạ, kháng hoá chất, kháng áp suất thẩm thấu. Chẳng hạn, bào tử của vi khuẩn gây ngộ độc thịt *Clostridium botulinum* bị đem đun sôi ở 100°C trong 5,0 – 9,5 giờ mới chết, hấp ở 121°C sau 10 phút mới bị chết.

Bào tử có thể giữ sức sống từ vài năm đến vài chục năm. Đã có những thông báo tìm thấy được những bào tử trong các tiêu bản khảo cổ cách đây 3.000 năm mà vẫn duy trì được sức sống.

Chỉ một số chi vi khuẩn có khả năng sinh nha bào: *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina* (G^+) và *Desulfotomaculum* (G^-). *Bacillus* và *Clostridium* là trực khuẩn, *Sporosarcina* là hình khối 8 cầu khuẩn, và *Desulfotomaculum* (G^-) là vi khuẩn khử lưu huỳnh, tế bào hình que cong, riêng rẽ hay liên kết thành chuỗi.

Hình 1.12 giới thiệu bào tử vi khuẩn.



Hình 1.12. Cấu tạo của bào tử vi khuẩn

Khi gặp điều kiện thuận lợi và được hoạt hoá bởi một số yếu tố làm tổn thương các lớp bao như nhiệt độ, hoá chất (acid, các chất chứa nhóm -SH tự do) thì vỏ của bào tử bị (tự) phân huỷ (autolysis), bào tử hấp thụ nước phồng lên, giải phóng Ca-DPA, các enzym phục hồi hoạt động, hô hấp và sinh tổng hợp các chất tăng nhanh, sau khoảng 4 – 5 giờ, bào tử trở thành tế bào sinh dưỡng.

1.2.7. Phân loại vi khuẩn

Phân loại VSV giúp hệ thống hoá được các VSV ngày càng phân lập được nhiều hơn, đa dạng hơn. Tuy nhiên, phân loại các VSV đáng tin cậy, chính xác, đòi hỏi nhiều công sức.

1.2.7.1. Các phân nhóm phân loại

Các phân nhóm phân loại của VSV nằm trong hệ thống phân loại của thế giới sinh vật nói chung, bao gồm:

1. Giới (kingdom): Ví dụ: *Protista*.
2. Ngành (division hoặc phylum), dưới ngành (subdivision).
3. Lớp (class): Ví dụ: *Actinomycetes*, dưới lớp (subclass).
4. Bộ (order): Gọi tên khoa học lấy tên họ chính thêm vĩ tố -ales. Ví dụ: *Pseudomonadales*.

Bộ phụ (suborder) hay dưới bộ, tận cùng bằng –ineae.

5. Họ (family): Gọi tên khoa học với vĩ tố –aceae, ví dụ: *Enterobacteriaceae*.

Dưới họ: gọi tên khoa học tận cùng bằng –oideae.

6. Tộc (tribe): gọi tên khoa học thêm vĩ tố –eae, ví dụ: *Escherichieae*.

Dưới tộc (subtribe), gọi tên khoa học thêm vĩ tố –inea.

7. Chi (Genus): Ví dụ: *Proteus*, *Staphylococcus*,...

8. Loài (species): Đây là đơn vị phân loại cơ bản nhất. Tên khoa học của các loài VSV thường gọi kép, tên chi trước và tên loài sau: ví dụ: *Staphylococcus aureus*.

9. Thứ (variety): Chỉ một nhóm nhất định trong loài, ví dụ *Mycobacterium tuberculosis var. hominis* – trực khuẩn lao người.

10. Dạng (typ hoặc forma): Chỉ nhóm nhỏ dưới thứ, ví dụ: *Streptococcus pneumoniae* typ 14.

11. Chủng (strain): Chỉ một tập đoàn VSV đồng nhất về hình thái và sinh lý,... của một loài mới được phân lập, mang theo ký hiệu của chi, loài và chủng. Ví dụ: *Staphylococcus aureus* ATTC 1529. Trong VSV học chủ yếu sử dụng các phân nhóm phân loại lớp, bộ, họ, chi, loài, thứ, typ và chủng.

1.2.7.2. Các phương pháp phân loại

Phân loại vi khuẩn có thể tiến hành theo một số phương pháp sau:

1. Phân loại theo số lượng các tính chất sinh học (phương pháp kinh điển): Xác định các đặc trưng phân loại, nếu giống nhau lớn hơn 90% thì cùng nằm trong một loài.

2. Phân loại theo phương pháp phân tử: So sánh thông tin di truyền trong ADN của các VSV khác nhau, bao gồm:

+ Theo tỷ lệ các base của ADN. Ví dụ: $(G + C)/(G + C + A + T)$.

+ Lai ADN (hoặc lai cADN từ mARN).

+ Xác định trình tự ADN.

+ Lai sinh học.

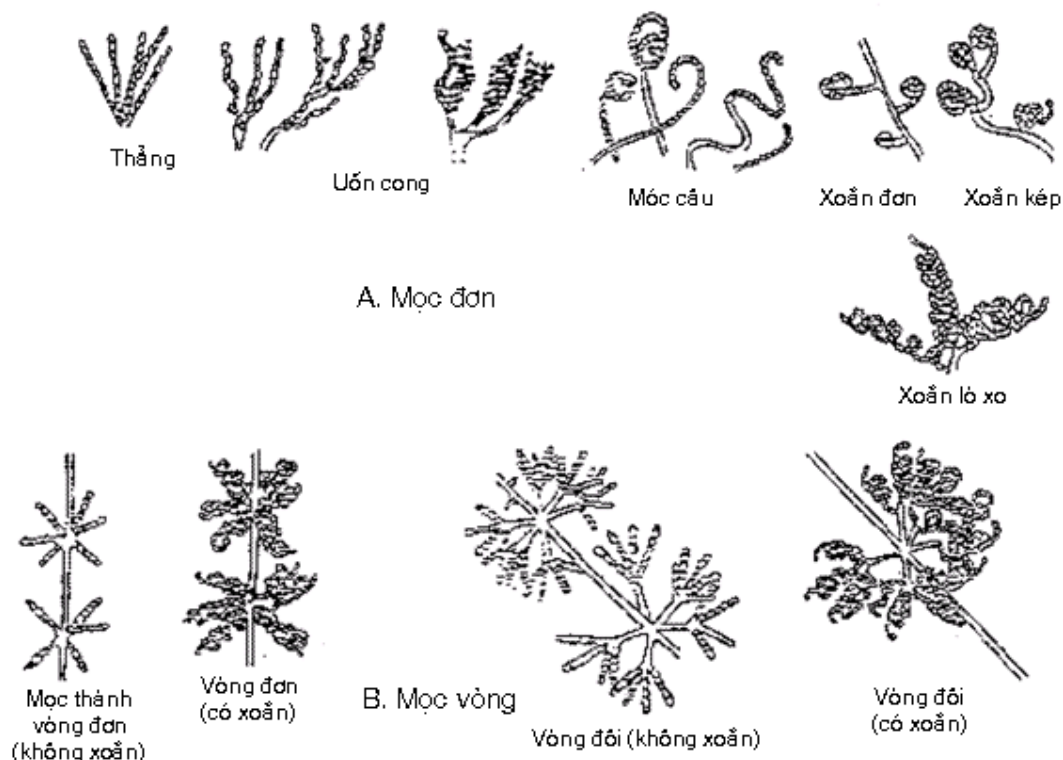
+ Phân loại dựa trên cấu trúc protein.

2. XẠ KHUẨN (ACTINOMYCETES)

Trước thế kỷ XIX, xạ khuẩn được xếp vào nhóm nấm, tuy nhiên, khi nghiên cứu sâu hơn đã xác định được các xạ khuẩn có nhân nguyên thủy và kích thước nhỏ, do đó chúng được xếp vào nhóm vi khuẩn thật.

Xạ khuẩn thuộc nhóm vi khuẩn thật phân bố rộng rãi trong tự nhiên, là các vi khuẩn G^+ , có tỷ lệ $G + C > 55\%$. Trong mỗi gam đất nói chung thường có chứa hàng triệu xạ khuẩn. Đa số xạ khuẩn là các VSV hiếu khí, hoại sinh, có cấu tạo dạng sợi phân nhánh. Do có thể sinh tổng hợp được nhiều sản phẩm trao đổi chất quan trọng, nên các xạ khuẩn được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu rất nhiều.

Trong số hơn 10.000 kháng sinh hiện đã được biết trên thế giới thì khoảng 66% là do xạ khuẩn tạo ra. Xạ khuẩn còn được sử dụng để điều chế nhiều loại enzyme (amylase, cellulase, glucoizomerase, protease,...), cũng như các hợp chất khác. Xạ khuẩn gây bệnh cho người hoặc động vật là trường hợp rất hạn hữu. Hình 1.13 giới thiệu hình dạng các chuỗi bào tử của xạ khuẩn.



Hình 1.13. Hình dạng các chuỗi bào tử của xạ khuẩn

2.1. Các đặc điểm hình thái của xạ khuẩn

Như đã nêu ở trên, xạ khuẩn thuộc nhóm các vi khuẩn thật, nhưng phát triển thành dạng sợi. Hệ sợi của xạ khuẩn chia ra thành khuẩn ty cơ chất và khuẩn ty khí sinh. Khuẩn ty cơ chất là khuẩn ty cơ bản, còn khuẩn ty khí sinh phát triển mạnh hay yếu, thậm chí hầu như không phát triển tùy từng chi, từng loài. Tập hợp một khóm xạ khuẩn phát triển riêng rẽ tạo thành khuẩn lạc xạ khuẩn. Khuẩn lạc xạ khuẩn khá đặc biệt, không trơn ướt như ở vi khuẩn, nấm men mà thường có dạng thô ráp, dạng phấn, không trong suốt, có các nếp gấp toả ra theo hình phóng xạ (Actinomycetes – tiếng Hy Lạp: Aktis, aktinos là “tia”, mykes là “nấm”), dùng que cấy không di chuyển được khuẩn lạc xạ khuẩn vì khuẩn ty cơ chất bám sâu vào trong thạch. Đôi với những nhà thông thạo trong chuyên ngành khuẩn lạc của xạ khuẩn không thể lầm lẫn được với các nấm lạc của vi nấm vì sợi khí sinh của nấm thường có đường kính lớn hơn khuẩn ty khí sinh của xạ khuẩn 5 ÷ 10 lần.

Đường kính khuẩn ty xạ khuẩn thay đổi trong khoảng từ 0,3 – 1,0μm đến 2 – 3μm. Đa số khuẩn ty xạ khuẩn không có vách ngăn. Màu sắc khuẩn ty xạ khuẩn hết sức phong phú. Có thể gặp các màu da cam, đen, đỏ, lục lam, nâu, trắng, vàng, xám,... Khuẩn ty cơ chất có thể tiết vào môi trường một số loại sắc tố, có sắc tố tan trong nước, có loại phụ thuộc pH, có loại chỉ tan trong dung môi hữu cơ. Trong môi trường đặc hiệu, có loài xạ khuẩn có thể tạo ra sắc tố melanoid sẫm đen.

Khuẩn ty cơ chất của xạ khuẩn phát triển một thời gian thì dài ra trong không khí thành những khuẩn ty khí sinh. Người ta còn gọi khuẩn ty khí sinh là khuẩn ty thứ cấp để phân biệt với khuẩn ty sơ cấp là loại khuẩn ty bắt đầu phát triển từ các bào tử nảy mầm.

Đối với các xạ khuẩn thuộc họ *Streptomycetaceae*, sau một thời gian phát triển, trên đỉnh khuẩn ty khí sinh sẽ xuất hiện các chuỗi bào tử. Chuỗi bào tử có thể mọc đơn hay mọc vòng gồm các hình thái cơ bản như: thẳng, uốn cong, móc câu – đơn hoặc kép, và xoắn lò xo. Bào tử trần (conidiospore) của họ xạ khuẩn này có các hình dạng: hình cầu, hình elipsoid – bầu dục, hình trụ,... Bề mặt bào tử có thể là nhẵn, sần sùi da cóc, có gai hoặc có tóc. Bào tử trần là cơ quan sinh sản chủ yếu của họ xạ khuẩn này. Bào tử trần được hình thành theo hai phương thức khác nhau:

- Vách ngăn hình thành từ bên trong của CM và tiến dần vào trong tạo ra những vết ngăn không hoàn chỉnh sau đó chuỗi bào tử mới được phân cắt thành các bào tử trần.

- Thành tế bào và CM đồng thời xuất hiện vách ngăn tiến dần vào phía trong và làm cho sợi tiền chuỗi bào tử phân cắt tạo thành chuỗi bào tử trần.

Họ *Actinoplanaceae* tạo ra các bào tử trần, có khả năng di động, còn họ *Actinomycetaceae* tạo ra các bào tử hình cầu bằng cách phân cắt hệ sợi trưởng thành đã già. Một số xạ khuẩn có sinh nang bào tử bên trong có chứa các bào tử nang.

2.2. Đặc điểm cấu tạo của tế bào

Tế bào xạ khuẩn có một số đặc điểm khác tế bào vi khuẩn:

– Thành tế bào xạ khuẩn có dạng kết cấu lưới, dày khoảng 10 – 20nm, có chức năng duy trì hình dáng của khuẩn ty và bảo vệ tế bào. Căn cứ vào thành phần hoá học, thành tế bào xạ khuẩn được chia ra làm 4 nhóm:

+ Nhóm CW I: Có chứa L–DAP (L–diaminopimelic acid) và glycine, bao gồm *Nocardioidea*, *Sporichthya*, *Streptomyces* và *Streptovercillum*.

+ Nhóm CW II: Có chứa meso–DAP (meso–diaminopimelic acid) và glycine, bao gồm *Actinoplanes*, *Ampullariella*, và *Micromonospora*.

+ Nhóm CW III: Chỉ chứa meso–DAP, bao gồm *Actinomandura*, *Actinosynnema*, *Dermatophyllum*, *Frankia*, *Geodermatophyllum*, *Microbispora*, *Nocardiosis*, *Streptosporangium*, *Planobispora*, *Planomonospora*, *Thermoactinomyces*, *Thermomonospora*.

+ Nhóm CW IV: Chứa meso–DAP, arabinose và galactose, bao gồm *Actinopolyspora*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Oerskovia*, *Promicromonospora*, *Pseudonocardia*, *Rhodococcus*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*.

– Màng tế bào chất của xạ khuẩn dày khoảng 7,5 – 10nm. Chúng có cấu trúc và chức năng giống như của vi khuẩn nói chung.

– Mesosome nằm ở phía trong của tế bào chất, có hình phiến, hình bong hay hình ống. Mesosome làm tăng diện tiếp xúc của CM và qua đó làm tăng cường hoạt tính enzym, tăng vận chuyển điện tử,...

– Các vật thể ẩn nhập trong tế bào chất của xạ khuẩn gồm có các hạt phosphat (dạng hình cầu, bắt màu với thuốc nhuộm Sudan III), các hạt polysaccharid (bắt màu với dung dịch Lugol).

2.3. Một số khoá phân loại và các đặc điểm phân loại của xạ khuẩn

Có khá nhiều khoá phân loại xạ khuẩn đã được các nhà khoa học nghiên cứu phát triển để phân loại các xạ khuẩn ngày càng nhiều thêm, trong đó phải kể đến khoá phân loại của Waksman, khoá phân loại của Krassilnikov (Nga), khoá phân loại của Gauze,... Các khoá phân loại chia lớp xạ khuẩn (*Actinomycetes*) thành lớp phụ (hoặc bộ) *Actinomycetales* và các VSV giống xạ khuẩn (like Organisms). Lớp phụ *Actinomycetales* được chia thành các họ: *Actinoplanaceae*, *Actinomycetaceae*, *Streptomycetaceae*, *Micromonosporaceae*, *Nocardiaceae*,... Khoá phân loại *Streptomyces* thuộc Chương trình *Streptomyces* quốc tế (International *Streptomyces* Project) do Shirling và Gottlieb đề xuất (1970) đã được sử dụng rộng rãi để phân loại các xạ khuẩn thuộc chi *Streptomyces* trong họ *Streptomycetaceae*. Trong khoá phân loại này, các đặc trưng phân loại được sử dụng bao gồm: màu sắc khuẩn lạc, màu khuẩn ty cơ chất, sắc tố melanoid, sắc tố hoà tan, hình dạng chuỗi bào tử, bề mặt bào tử (chụp ảnh kính hiển vi điện tử), tiêu thụ đường arabinose, tiêu thụ đường xylose, tiêu thụ đường inositol, tiêu thụ đường manitol, tiêu thụ đường fructose, tiêu thụ đường rhamnose, tiêu thụ đường saccarose, tiêu thụ đường raffinose. Chẳng hạn, các đặc trưng phân loại của *Streptomyces rimosus* sinh tổng hợp oxytetracyclin được đặc trưng lần lượt (theo thứ tự được nêu trên) như sau:

W Y(R) 0 1 0 S sm + ± + + + – – +.

Hàng năm, sổ tay của Bergey về Vi khuẩn học (Bergey's Manuals of Bacteriology) vẫn công bố phân loại các xạ khuẩn theo các đặc trưng phân loại chủ yếu gần giống như đã nêu trên, là chỉ dẫn quan trọng mà các nhà phân loại xạ khuẩn quốc tế có thể tham khảo.

Tuy nhiên ngày nay, việc áp dụng kỹ thuật xác định trình tự gen để phân loại xạ khuẩn cũng đã và đang được áp dụng, nhất là ở các phòng thí nghiệm tiên tiến. Ưu điểm là cho kết quả khá chính xác, đáng tin cậy. Yếu điểm là làm cho các nhà nghiên cứu trở nên giấy tờ, xa lạ hay hờ hững với các đặc trưng sống (mà đây cũng chính là biểu hiện của các sản phẩm gen) của VSV.

3. NHÓM CÁC VI KHUẨN NGUYÊN THỦY

Nhóm vi khuẩn này là nhóm vi khuẩn có kích thước nhỏ gồm 3 loại gồm Chlamydia, Mycoplasma và Rickettsia. Các vi khuẩn này có thể chiếm vị trí trung gian giữa virus và vi khuẩn. Bảng 1.2 giới thiệu một số đặc điểm của Chlamydia, Mycoplasma và Rickettsia, so sánh với virus và vi khuẩn.

Bảng 1.2. Đặc điểm của một số VSV

Đặc điểm VSV	Kích thước (µm)	Phát triển trên môi trường nhân tạo	Enzym chuyển hoá	Qua lọc vi khuẩn	Phát triển trên nuôi cấy tế bào	Hình thức sinh sản	Nhạy cảm với kháng sinh
Chlamydia	Rất bé	(-)	(+)*	(-)	(+)	Phân đôi	(+)
Mycoplasma	Rất bé 0,5 – 0,8	(+)	(+)**	(+)	(+)	Phân đôi	(+)
Rickettsia	Rất bé	(-)	(+)*	(-)	(+)	Phân đôi	(+)
Virus	Vô cùng bé	(-)	(-)	(+)	(+)	Nhân lên	(-)
Vi khuẩn	Nhỏ bé	(+)	(+)	(-)	(-)	Phân đôi	(+)

* Có enzym sinh tổng hợp protein, không có enzym tạo năng lượng.

** Có enzym sinh tổng hợp protein và tạo năng lượng.

3.1. Các Chlamydia

Năm 1907, các nhà khoa học lần đầu tiên phát hiện ra thể bao hàm trong tế bào kết mạc của bệnh nhân đau mắt hột (trachoma). Thuật ngữ *Chlamydia* (từ gốc Hy Lạp Chlamys là áo choàng) được Jones, Rake và Steans đề xuất năm 1945. Sau nhiều lần đổi tên, đến năm 1970, tại Hội nghị quốc tế về mắt hột tại Mỹ, nhóm VSV này chính thức được gọi tên là *Chlamydia*. Hội chứng Chlamidiosis gồm 3 bệnh: sốt vẹt-sốt chim (ornithose-psittacose), bệnh Nicolas-Faviruse và bệnh mắt hột. Ngày nay, Chlamydia các còn gây ra một số bệnh đường sinh dục tiết niệu đang được quan tâm.

Các *Chlamydia* là loại vi khuẩn rất bé nhỏ, qua lọc, Gram(+), có chu kỳ phát triển đặc biệt, ký sinh bắt buộc trong tế bào động vật nhân thực: chuột trắng, bào thai gà, phát triển trên tế bào được nuôi cấy (tế bào thận khỉ), trong trứng gà ấp, nhất là ở màng niệu đệm, túi noãn hoàng. Chlamydia khác virus ở các điểm sau đây:

- Có cấu tạo tế bào, có thành tế bào chứa peptidoglycan đặc trưng cho vi khuẩn G+. Có ribosom trong tế bào chất. Sinh sản bằng phân đôi đơn giản.

Có chứa đồng thời hai loại acid nucleic ADN và ARN.

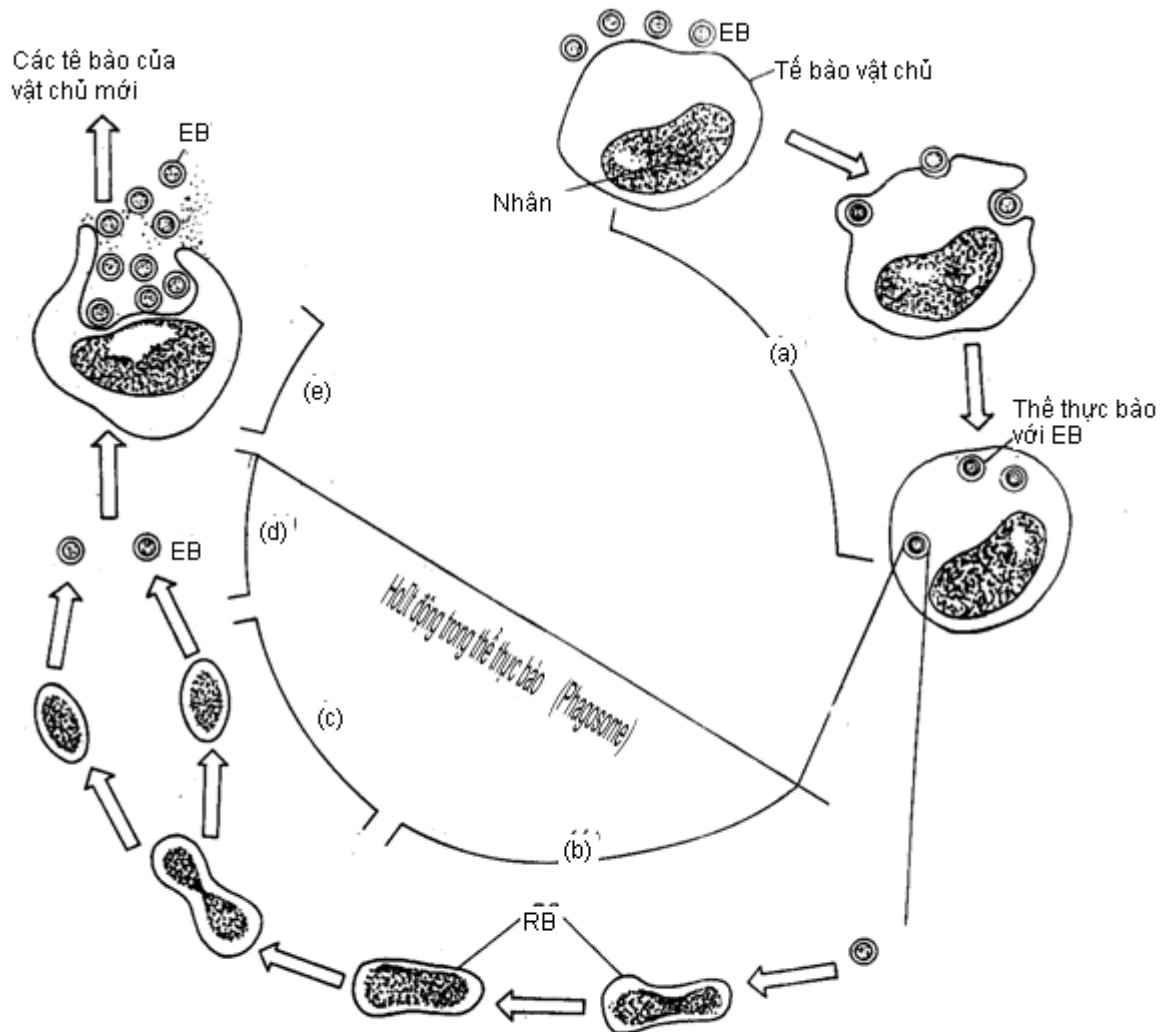
- Hệ thống enzym trao đổi chất không hoàn chỉnh, thiếu các enzym tham gia trao đổi năng lượng, do đó bắt buộc phải ký sinh trong các tế bào nhân thực.

- Rất mẫn cảm với các chất kháng sinh và các sulfamid (riêng Chlamydia psittaci có tính đề kháng cao đối với sulfamid).

Trong phòng thí nghiệm có thể nuôi *Chlamydia* trong màng bao lòng đỏ trứng gà, trong khoang bụng chuột bạch, trên tế bào Hela,...

Chlamydia có chu kỳ sống đặc biệt: Dạng cá thể có khả năng xâm nhiễm gọi là *nguyên thể* – *nguyên bào*. Đó là dạng tế bào hình cầu có thể chuyển động, đường kính rất nhỏ (0,2–0,5µm), nhuộm

Giemsa bắt màu tím, nhuộm Machiavello bắt màu đỏ. Nguyên thể xâm nhập vào trong tế bào, phần màng bao quanh nguyên thể biến thành *không bào*. Nguyên thể lớn dần lên trong không bào và biến thành *thủy thể*. Thủy thể (thủy = nguyên thủy) còn gọi là *thể dạng lưới*, là loại tế bào hình cầu, màng mỏng, khá lớn, đường kính (0,8 – 1,5μm). Thủy thể liên tiếp phân chia thành hai phần đều nhau và tạo thành vi khuẩn lạc trong tế bào chất của vật chủ. Các tế bào con này lại phân hoá thành các nguyên thể nhỏ hơn nữa, màng dày và có tính cảm nhiễm. Khi tế bào vật chủ bị phá vỡ, các nguyên thể được giải phóng ra sẽ xâm nhiễm vào các tế bào khác (hình 1.14).



Hình 1.14. Chu kỳ sống của *Chlamydia*

EB = nguyên thể (elementary body), RB = IB = thể dạng lưới (reticulate body) hay thủy thể (initial body)

- (a). Nguyên thể (EB) xâm nhập vào tế bào; (b). Nguyên thể phát triển thành thể dạng lưới;
(c). Thể dạng lưới phân chia; (d). Thể dạng lưới tiếp tục phân chia thành các nguyên thể con;
(e). Các nguyên thể con giải phóng khỏi tế bào chủ.

Theo Bergey, họ *Chlamydiaceae* có hai chi: *Miyagawanella* và *Chlamydia*. Nhiều loài *Chlamydia* gây bệnh nguy hiểm cho người và động vật:

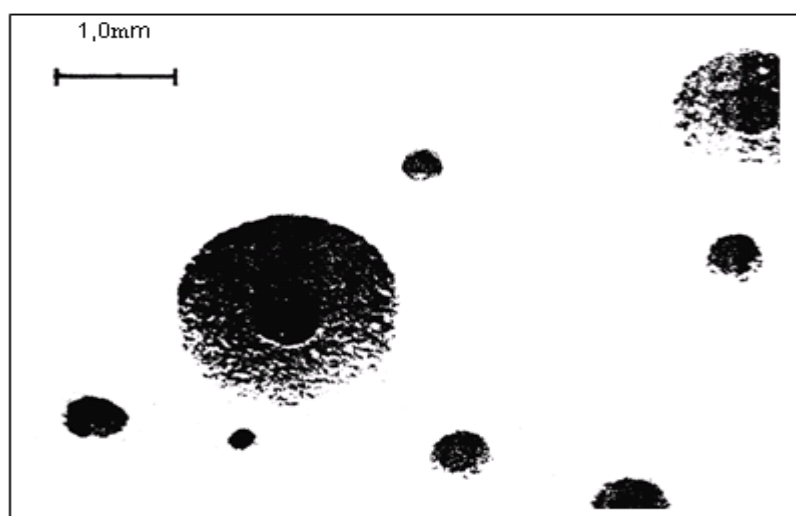
- *Miyagawanella psittaci* (*Chlamydia psittaci*) gây bệnh sốt vẹt.
- *Miyagawanella lymphogranulomatosis* gây bệnh viêm hạch bạch huyết hoa liễu ở bẹn.
- *Chlamydia* hoặc *Chlamydozoon oculogenitalis* gây viêm niệu đạo, cổ tử cung và kết mạc thể vùi.
- *Chlamydia trachomatis* gây bệnh mắt hột ở người và chuột nhắt. Loài này có ba biến chủng:

BT (*Biovar trachoma*), LGV (*Biovar lymphogalunoma venerum*) và BM (*Biovar mouse*). Biến chủng *Chlamydia trachomatis* BT gây bệnh đau mắt hột cho người từ cách đây ít ra là 3.000 năm. Ngày nay trên thế giới có khoảng 400 triệu người đau mắt hột, và có khoảng 6 – 10 triệu người bị mù vì bệnh mắt hột này. Biến chủng *Chlamydia trachomatis* LGV gây ung thư hạt ở đường sinh dục (lây truyền qua đường tình dục).

3.2. Các *Mycoplasma*

Mycoplasma đầu tiên được phát hiện ở bò bị viêm phổi – màng phổi vào năm 1898 nhờ Nocard và Roux, được đặt tên là *Mycoplasma mycoides*. Sau đó nhiều *Mycoplasma* gây bệnh cho động vật đã được phân lập.

Năm 1937, Edsarr và Dienes đã phân lập được *Mycoplasma hominis* ở tuyến Bartholin ở người. Năm 1961, Marmior và Goodburd Chanock và Hayflick, 1962 đã chứng minh được tác nhân gây bệnh viêm phổi không điển hình ở người là *Mycoplasma* chứ không phải là virus, và được đặt tên là *Mycoplasma pneumoniae*. Ngày nay nhiều *Mycoplasma* gây bệnh sinh dục tiết niệu đã được phân lập (hình 1.15).



Hình 1.15. *Mycoplasma hominis* (lớn, nhạt, dạng trứng ốp lếp) và *Ureaplasma urealyticum* (nhỏ màu đậm)

Đặc điểm sinh học

Mycoplasma là những vi khuẩn rất nhỏ, nhỏ nhất trong các VSV sống độc lập, không di động, không sinh bào tử, hình thái rất đa dạng (hình thoi, hình que ngắn hoặc hình cầu). Hình thể của *Mycoplasma* thay đổi phụ thuộc vào tuổi của quần thể VSV và yếu tố môi trường. *Mycoplasma* không bắt màu Gram, rất khó nhuộm, quan sát dưới kính hiển vi cho kết quả không chắc chắn. *Mycoplasma* có thể phát triển trên các môi trường có hay không có tế bào sống. Trong môi trường không có tế bào sống, cần bổ sung những chất dinh dưỡng đặc biệt như huyết thanh ngựa, cao nấm men. *Mycoplasma* có nhiều loài kỵ khí hay hiếu khí bắt buộc nhưng cũng có loài kỵ khí tùy tiện. Nhiệt độ tối ưu là 35 – 37°C, pH là 7,0 – 7,8. Trong môi trường lỏng, không làm đục môi trường nên khó nhận biết. Trên môi trường đặc, tạo khuẩn lạc bé, phải sử dụng kính lúp hay kính hiển vi để quan sát: mỏng và dẹt như trứng ốp lếp, hình dạng điển hình khi ít thạch.

Vỏ ngoài của *Mycoplasma* yếu, chỉ như màng tế bào chất của các VSV khác, tuy nhiên rất dẻo, vì thế nên hình dạng tế bào hay thay đổi. Dưới kính hiển vi điện tử, màng tế bào có cấu tạo dạng hạt hoặc dạng lưới với các ribosom. Quá trình nhân lên của *Mycoplasma* rất phức tạp: phân đôi kết hợp với nảy chồi, nếu trong tế bào nuôi thì phát triển trên bề mặt tế bào. *Mycoplasma* dễ bị tiêu diệt bởi nhiệt, hoá chất, siêu âm, tuy nhiên kháng được penicilin. *Mycoplasma* có các yếu tố kháng nguyên là lipid hay polysaccharid.

Theo hệ thống phân loại Bergey, bộ *Mycoplasmatales* có 3 họ. Họ *Mycoplasmataceae* bao gồm chi

Mycoplasma và chi *Ureaplasma*. Các *Mycoplasma* gây bệnh cho người bao gồm: *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. pneumoniae*, *M. orale* hoặc *M. pharyngis*, *M. salivarium*, *M. urealyticum*.

Mycoplasma pneumoniae gây viêm phổi điển hình, *Mycoplasma orale* gây viêm đường sinh dục tiết niệu đàn ông, *Mycoplasma urealyticum* gây viêm niệu đạo không do lậu và *Mycoplasma hominis* gây nhiễm trùng phụ khoa.

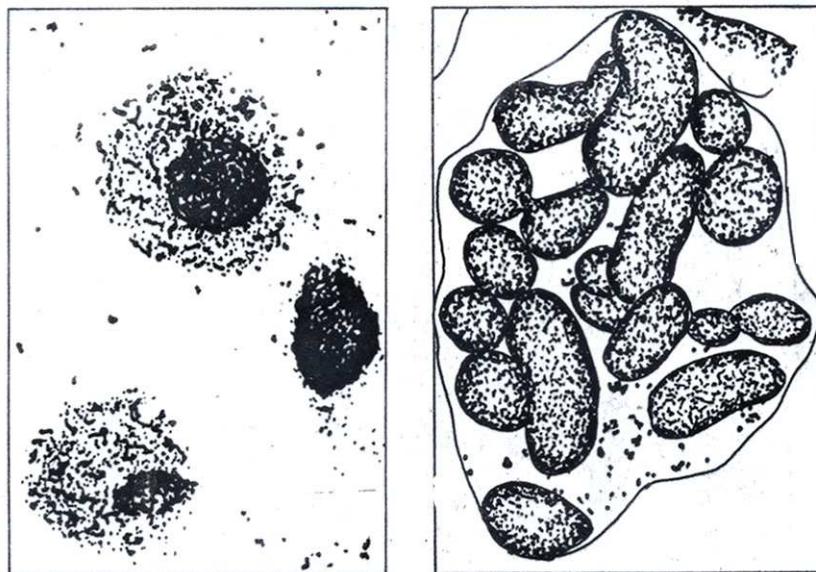
Có thể sử dụng các kháng sinh tetracyclin, chloramphenicol, spiramycin, cũng như doxycyclin, cefalexin, cefotaxim để điều trị bệnh do *Mycoplasma* có hiệu quả tốt.

3.3. Các *Rickettsia*

Năm 1909, H.T. Ricketts (1871 – 1910) lần đầu tiên phát hiện ra mầm bệnh của bệnh sốt thương hàn phát ban (sau này gọi là bệnh sốt Rickettsi phát ban). Năm 1910, ông đã hy sinh trong khi nghiên cứu bệnh này. Tên *Rickettsia* được đặt cho nhóm VSV này là để ghi nhớ công lao của ông.

Rickettsia là VSV nhân nguyên thủy, Gram(–), chỉ có thể tồn tại trong tế bào các VSV nhân thật. *Rickettsia* không thể sống độc lập trong các môi trường nhân tạo, không có dạng qua lọc, năng lực sinh tổng hợp khá mạnh và không tạo thành các thể bao hàm.

Đến nay đã có vài chục loài *Rickettsia* được phát hiện. *Rickettsia* có các đặc điểm chung sau đây (hình 1.16):



Hình 1.16. *Rickettsia rickettsii* trong tế bào vật chủ

– *Rickettsia* là vi khuẩn không di động, tế bào có kích thước khoảng $0,5 \times 1,0\mu\text{m}$. Hình thái tế bào *Rickettsia* luôn biến đổi, nhưng hay gặp nhất là dạng trực khuẩn, nhưng cũng có thể là hình cầu, hoặc que ngắn,... Trong tế bào bị xâm nhiễm, *Rickettsia* sắp xếp vô quy tắc nhưng thường tụ tập thành từng khối dày đặc.

– *Rickettsia* là vi khuẩn Gram(–), khó nhuộm, khi nhuộm Giemsa bắt màu hồng, nhuộm Macchiavello bắt màu đỏ fuchsin trên nền xanh (trừ *R. tsutsugamushi* bắt màu xanh).

– *Rickettsia* ký sinh cả ở động vật và thực vật. *Rickettsia* ký sinh bắt buộc trong tế bào các sinh vật nhân thật. Vật chủ thường là các động vật có chân đốt như ve, bét, bọ, rận,... *Rickettsia* sinh sản bằng phương thức phân đôi đơn giản. *Rickettsia* nói chung mẫn cảm với nhiệt độ, ở 56°C sau 30 phút thường bị chết. Chu trình trao đổi năng lượng của *Rickettsia* không hoàn chỉnh, phần lớn chỉ có thể sử dụng acid glutamic để sinh năng lượng chứ không thể sử dụng được đường glucose. Vì mục đích nghiên cứu, các *Rickettsia* thường được nuôi cấy trong phôi gà, trong các động vật mẫn cảm, trong các tổ chức nuôi cấy (như dòng tế bào Hela).

Theo hệ thống phân loại Bergey, tất cả *Rickettsia* được phân vào bộ *Rickettsiales*. Trong bộ này

có tất cả 3 họ và 14 chi, đáng chú ý hơn cả là họ *Rickettsiaceae*, trong đó có các loài *Rickettsia* gây bệnh chủ yếu ở người gồm: Sốt phát ban dịch tễ: *Rickettsia prowaseki* gây bệnh sốt Rickettsi phát ban; *R. mooseri* (hay còn gọi là *R. typhi*) gây bệnh Rickettsi sốt phát ban chuột, hay sốt phát ban địa phương. Sốt do ve truyền: *Dermacentrocenus rickettsia* gây sốt phát ban và sốt ác tính ở Braxin và Nam Phi; *D. conori*, *D. rickettsia* gây sốt Địa Trung Hải; *D. rickettsia* gây sốt Đông Phi và Nam Phi; *D. rickettsia* gây sốt ve truyền ở Bắc Á; biến chủng *D. rickettsia* gây sốt ve truyền ở Bắc Úc. Sốt mò đỏ truyền: *R. tsutsugamushi* (hay còn gọi là *Rickettsia orientalis*) gây bệnh tsutsugamushi. Gây bệnh sốt hầm hào (trench fever): *Rochalimaea quyntana* gây bệnh sốt chiến hào, hay còn gọi là sốt năm ngày. Gây bệnh sốt “Q”: *Coxiella burnetii* gây bệnh sốt Q, hay còn gọi là sốt Query; *Rickettsia* hay *Dermacentrocenus* gây bệnh sốt cực độ do ve truyền. *Rickettsia rickettsii* gây bệnh sốt phát ban núi đá – Rocky Mountain spotted fever. Gây bệnh cho động vật có *R. ruminantium* gây tràn dịch màng tim của các động vật có sừng.

Nhiễm khuẩn *Rickettsia* có khả năng miễn dịch mạnh mẽ và lâu dài, nếu đã một lần mắc bệnh, lần tiếp xúc sau không bị mắc lại bệnh.

Mắc bệnh do *Rickettsia* gây ra thường có biểu hiện sốt, kèm theo phát ban điển hình ở da, đặc biệt trong nhiều trường hợp đều có tổn thương ở mạch máu nhỏ kiểu viêm hoặc viêm tắc mao mạch.

Các *Rickettsia* mẫn cảm với các kháng sinh như lincomycin, fluoroquynolon nên được dùng để điều trị bên cạnh tetracyclin, cloramphenicol. Đối với trẻ em và phụ nữ mang thai sử dụng rovamycin.

4. VI KHUẨN LAM

Vi khuẩn lam (Cyanobacteria) trước đây thường được gọi là tảo lam (*Cyanophyta* hay *blue algae*) hay tảo lam lục (*blue green algae*), nhưng thực tế đây là nhóm vi khuẩn có khả năng tự dưỡng quang năng, nhờ chứa diệp lục a. Quá trình quang hợp của vi khuẩn lam là quá trình phosphoryl hoá quang hợp phi tuần hoàn, có giải phóng oxy như ở cây xanh, khác với quá trình phosphoryl hoá quang hợp tuần hoàn không giải phóng oxy như ở vi khuẩn kỵ khí màu tía không chứa lưu huỳnh thuộc bộ Rhodospirillales.

Vi khuẩn lam phân bố rộng rãi trong tự nhiên, chủ yếu sống trong nước ngọt và tạo thành thực vật phù du của các thủy vực. Một số phân bố trong nước mặn và nước lợ giàu chất hữu cơ, một số sống cộng sinh, ví dụ *Anabaena azollae* cộng sinh trong bèo hoa dâu,... Nhiều vi khuẩn lam có khả năng cố định nitơ (*Nostoc*, *Anabaena*, *Gloeotrichina*, *Tolypothrix*, *Scytonema*,...) có thể cấy nhiễm vào các ruộng lúa cho chất lượng tốt. Sinh khối một số vi khuẩn lam có giá trị dinh dưỡng cao (*Spirulina* – còn gọi là tảo *Spirulina*) nên được sản xuất với quy mô công nghiệp, góp phần cải tạo môi trường và nguồn thức ăn chăn nuôi.

Theo hệ thống phân loại của Bergey, vi khuẩn lam được chia làm 5 bộ: bộ *Chroococcales* có các chi *Chamaesiphon*, *Gloeobacter*, *Gloeotheca*, đơn bào hay kết thành tập đoàn, sinh sản bằng phân đôi. Bộ *Pleurocapsales* có các chi *Dermocarpa*, *Xenococcus*, *Dermocarpella*, *Myxosarcina*, *Chroococcidiopsi*: đơn bào phân chia nhiều lần, có thể tạo sợi hay tản (thallus). Bộ *Oscillatoriales* gồm các chi *Spirulina*, *Arthrospira*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Pseudanabaena*, *Starria*, *Crinalium*, *Microcoleus*: đa bào dạng sợi, không có tế bào dị hình. Bộ *Nostocales* gồm các chi *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nodularia*, *Cylindrospermum*, *Nostoc*, *Scytonema*, *Calothrix*: đa bào dạng sợi, có các tế bào dị hình tham gia cố định nitơ. Bộ *Stigonematales* có các chi *Chlorogloeopsis*, *Fischerella*, *Stigonema*, *Geitleria*: đa bào dạng sợi, thường có dạng tản (heterotrichous), có sự phân chia ngang và thẳng.

Vi khuẩn lam khác biệt rất lớn với tảo: không có lục lạp, không chứa nhân thực, có ribosom 70S, thành tế bào có chứa peptidoglycan, nên mẫn cảm với penicilin và lysozym. Tế bào sinh dưỡng có hình cầu, hình elipsoid,... đường kính có khi chỉ 1µm (*Synechococcus*), nhưng có khi đến 30µm (*Oscillatoria*). Cấu tạo tế bào vi khuẩn lam gần với vi khuẩn Gram (-). Cơ quan thực hiện quá trình quang hợp là tilacoit (thylacoids), dạng bản xếp song song hay uốn cong, có chứa chlorophyll a, β-caroten,... Hình thái của vi khuẩn lam có những dạng khá đặc biệt như tế bào dị hình (heterocyst), bào tử nghỉ (akinetete), tảo đoạn (hormogonia), vi tiểu bào nang (mannocyst), hạt sinh sản (gonidium),...

Ở các vi khuẩn lam chưa phát hiện thấy hình thức sinh sản hữu tính.

CÁC CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các đặc điểm hình thái của các loài vi khuẩn chính.
2. Vẽ và giải thích sơ đồ cấu tạo của tế bào vi khuẩn Procaryota.
3. Trình bày các thành phần, cấu tạo và chức năng thành tế bào các vi khuẩn G^+ và G^- .
4. Trình bày chức năng, thành phần và cấu tạo của màng tế bào chất, thể nhân và bào tử của VSV Procaryota.
5. Trình bày các đặc điểm chính của các xạ khuẩn, các vi khuẩn nguyên thủy, vi khuẩn lam.

Chương 2

DINH DƯỠNG VI SINH VẬT

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các thành phần hoá học chủ yếu của tế bào VSV, 4 nguồn chất dinh dưỡng chính của VSV,
2. Trình bày được các nhóm dinh dưỡng ở VSV,
3. Trình bày được các kiểu vận chuyển chất dinh dưỡng ở tế bào VSV.

1. CÁC CHẤT DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT

Dù nhỏ bé nhưng các VSV là những cơ thể sống độc lập đòi hỏi đa dạng các chất dinh dưỡng cho hoạt động sống của mình.

Chất dinh dưỡng là những chất được VSV hấp thụ, có tham gia vào các quá trình trao đổi chất nội bào của VSV.

Nhu cầu dinh dưỡng của VSV là rất lớn. Nếu như con người cần lượng thức ăn khoảng 1/10 so với khối lượng cơ thể, thì VSV cần lượng chất dinh dưỡng bằng chính khối lượng của chúng. Những nhóm chất dinh dưỡng mà VSV cần thiết bao gồm nguồn carbon, nguồn nitơ, chất khoáng và các chất sinh trưởng.

1.1. Nguồn dinh dưỡng carbon của vi sinh vật

Căn cứ vào nguồn dinh dưỡng carbon, người ta chia VSV vào các nhóm sinh lý gồm các VSV tự dưỡng carbon và các VSV dị dưỡng carbon.

1.1.1. Các VSV tự dưỡng carbon

Các VSV tự dưỡng carbon sử dụng được nguồn carbon vô cơ, cụ thể là CO_2 .

Tự dưỡng quang năng: Nguồn carbon là CO_2 , nguồn năng lượng là ánh sáng; sinh oxy là nhóm vi khuẩn lam, không sinh oxy là các vi khuẩn thuộc chi *Chromatium*, *Rhodospseudomonas*, *Chlorobium*, hay *Chloroflexus*,....

Tự dưỡng hoá năng: Nguồn carbon là CO_2 , nguồn năng lượng là một số hợp chất vô cơ đơn giản. Đa số là các vi khuẩn hiếu khí, tuy nhiên, một số vi khuẩn kỵ khí sử dụng nitrat hoặc carbonat. Một số vi khuẩn lưu huỳnh như *Thiobacillus thioparus*, *T. denitrificans*, *T. ferrooxidans* còn có thể phosphoryl hoá cơ chất để sinh năng lượng.

1.1.2. Các VSV dị dưỡng carbon

Các VSV dị dưỡng carbon không sử dụng được nguồn carbon vô cơ, mà phải sử dụng nguồn carbon hữu cơ.

- Dị dưỡng quang năng: Nguồn carbon là chất hữu cơ,... nguồn năng lượng là ánh sáng, ví dụ như vi khuẩn không lưu huỳnh màu tía.

- Dị dưỡng hoá năng: Nguồn carbon là chất hữu cơ, nguồn năng lượng thu được từ chuyển hoá trao đổi chất nguyên sinh của một số cơ thể khác. Ví dụ: nấm và một số vi khuẩn.

- Hoại sinh: Nguồn carbon là chất hữu cơ, nguồn năng lượng thu được từ sự trao đổi chất nguyên sinh của các xác hữu cơ, ví dụ nhiều nấm và vi khuẩn.

- Ký sinh: Nguồn carbon là chất hữu cơ, nguồn năng lượng lấy từ các tổ chức hoặc dịch thể của một cơ thể sống. Các VSV gây bệnh cho người, động vật, thực vật.

Như vậy, tùy nhóm VSV mà nguồn carbon cần được cung cấp có thể là chất vô cơ (CO_2 , NaHCO_3 , CaCO_3 ,...) hoặc chất hữu cơ. Giá trị dinh dưỡng của chất dinh dưỡng chỉ có ý nghĩa khi phù hợp với khả năng hấp thụ các nguồn dinh dưỡng carbon khác nhau của nhóm đối tượng VSV được cung cấp. Điều này phụ thuộc vào thành phần hoá học và tính chất sinh lý của chất dinh dưỡng, cũng như đặc điểm sinh lý của loài VSV quan tâm. Theo thời gian, trên thế giới, tất cả các hợp chất carbon hữu cơ đều sẽ bị hoặc nhóm VSV này hoặc nhóm VSV khác phân giải. Nhiều VSV có thể đồng hoá được cả các hợp chất carbon rất bền vững như cao su, chất dẻo, dầu mỡ, parafin, khí thiên nhiên. Ngay formaldehyd là hoá chất diệt khuẩn, nhưng cũng có nhóm nấm sợi sử dụng làm nguồn dinh dưỡng được.

Nhiều chất polyme hữu cơ có phân tử lượng quá lớn VSV không hấp thụ được, nên VSV phải tiết ra các enzym (amylase, cellulase, pectinase, lipase,...) thủy phân ngoại bào để phân giải chúng thành các hợp chất phân tử lượng nhỏ để hấp thụ (đường đơn, đường đôi, acid béo,...). Các loại sản phẩm có hàm lượng tinh bột cao như bột ngô, bột gạo, tinh bột các loại có thể sử dụng làm nguồn carbon cho VSV. Tuy nhiên, khi sử dụng các loại bột chưa tinh chế hàm lượng chính xác của môi trường không xác định được.

Các loại đường (đường đơn, đường đôi) thường được các VSV sử dụng làm nguồn dinh dưỡng carbon sau khi đã được giải phóng từ thủy phân các polysaccharid. Trong phòng thí nghiệm, việc sử dụng các đường tinh khiết làm nguồn carbon cho các VSV là rất thông dụng, vì cho biết rõ được hàm lượng của thành phần môi trường, tuy nhiên, đôi khi giá các loại đường đó không phải là rẻ. Nguồn hydratcarbon được khá nhiều nấm men, nấm mốc và xạ khuẩn ưa sử dụng là dịch chiết malt có chứa chủ yếu là maltose và glucose và một số protein, peptid và acid amin, trong đó prolin chiếm khoảng 50%.

Trong công nghiệp, rỉ đường (dư phẩm không kết tinh được của các nhà máy đường) là nguồn nguyên liệu carbon rẻ tiền và rất thích hợp với nhiều loài VSV. Tuy nhiên, rỉ đường là nguồn nguyên liệu không chuẩn của công nghiệp kháng sinh.

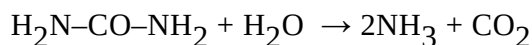
Phạm vi đồng hoá các chất dinh dưỡng carbon của từng loài VSV rất khác nhau. Có loài VSV đồng hoá được rất nhiều loại chất dinh dưỡng như *Pseudomonas cepacia* có thể đồng hoá được 90 loại chất dinh dưỡng carbon, trong khi đó có loài VSV sinh methan chỉ đồng hoá được CO_2 , hoặc các chất có chứa 1 carbon hoặc 2 carbon mà thôi.

Với VSV dị dưỡng, nguồn dinh dưỡng carbon được sử dụng vào cả hai mục đích: nguồn dinh dưỡng và nguồn năng lượng.

Một số VSV ký sinh, nhất là các vi khuẩn gây bệnh trong máu, trong các tổ chức hoặc trong ruột của người và động vật, muốn sinh trưởng được, ngoài nguồn carbon hữu cơ còn cần phải được cung cấp một lượng nhỏ CO_2 .

1.2. Nguồn dinh dưỡng nitơ của VSV

Nguồn nitơ dễ hấp thụ nhất đối với VSV là NH_3 và NH_4^+ . Muối amoni của các acid hữu cơ cũng thường được sử dụng. Tuy nhiên, trong công nghiệp sản xuất các sản phẩm thứ cấp, khi sử dụng các muối amoni hấp thụ nhanh phải chú ý ức chế trao đổi chất làm giảm thiểu, thậm chí đình chỉ sản xuất hoạt chất mục tiêu. Ure là nguồn dinh dưỡng nitơ trung tính về mặt sinh lý, khi bị phân giải bởi enzym urease sẽ giải phóng nhanh NH_3 và CO_2 . Phần NH_3 sẽ được VSV sử dụng tiếp.



Muối nitrat là nguồn dinh dưỡng nitơ thích hợp cho nhiều loại nấm sợi, xạ khuẩn và tảo, tuy nhiên, không thích hợp lắm cho nấm men và vi khuẩn. Sau khi VSV sử dụng hết gốc NO_3^- , các ion kim loại còn lại sẽ làm môi trường bị kiềm lên. Để tránh hiện tượng này, người ta sử dụng NH_4NO_3 để làm nguồn nitơ cho nhiều loại VSV. Tuy nhiên, NH_4^+ thường được hấp thụ trước rồi mới đến NO_3^- .

Nguồn nitơ dự trữ to lớn trong tự nhiên là khí nitơ tự do trong khí quyển, nhưng có liên kết ba ($\text{N} \equiv \text{N}$) rất bền vững nên đa số VSV không có khả năng đồng hoá nitơ trong không khí. Tuy nhiên, có những VSV có thể có khả năng chuyển hoá N_2 thành NH_3 nhờ hoạt động xúc tác của hệ thống enzym nitrogenase. Các VSV có khả năng này gọi là các VSV cố định nitơ (nitrogen fixing microorganisms). Các VSV thuộc chi *Rhizobium*, chi *Bradyrhizobium* có khả năng tạo nốt sần trên các cây họ Đậu như *R. leguminosarum* (ở đậu Hà Lan), *R. phaseoli* (ở đậu xanh, đậu tây), *B. japonicum* (ở đậu tương). Một số xạ khuẩn thuộc chi *Frankia* có khả năng cố định nitơ trong các cây không phải họ Đậu. Xoắn khuẩn *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense*,... sống trong rễ một số cỏ nhiệt đới cũng có khả năng cố định nitơ tốt. Các *Azotobacter* như *Azotobacter chroococcum*, *A. vinelandii* có khả năng phát triển và cố định nitơ tốt khi pH, hàm lượng calci và phospho thích hợp. Giống với các *Azotobacter* là các *Beijerinckia* như *Beijerinckia indica*, *Beijerinckia fluminensis* có thể phát triển cố định nitơ ở pH môi trường khá thấp, thậm chí đến 3,0. Vi khuẩn kỵ khí tự do *Clostridium pasteurianum*, *C. acetobutylicum*, *C. multifementans*,... cũng có khả năng cố định nitơ phân tử. Một số vi khuẩn lam như *Anabaena azollae* cộng sinh trong bèo hoa dâu cũng có khả năng cố định nitơ. Lợi dụng khả năng cố định nitơ của các VSV trên nhằm tăng cường sản lượng cây trồng là nỗ lực hữu ích trong nông nghiệp.

Nhiều VSV có khả năng đồng hoá tốt nitơ chứa trong các hợp chất hữu cơ. Các chất này vừa là nguồn nitơ, vừa là nguồn carbon cho VSV. Nhưng VSV không có khả năng hấp thụ trực tiếp các protein cao phân tử, mà chỉ có các oligopeptid chứa không quá 5 gốc acid amin mới có thể được hấp thụ trực tiếp qua màng tế bào chất của VSV. Bù lại, rất nhiều VSV có khả năng tạo ra protease cũng như peptidase ngoại bào, xúc tác thủy phân protein thành các hợp chất peptid phân tử nhỏ và acid amin, có khả năng hấp thụ được vào tế bào VSV.

Nguồn nitơ hữu cơ thường được sử dụng để nuôi cấy VSV là bột đậu tương, cao ngô, cao nấm men, cao thịt, caseinhydrolysat và pepton,.... Các nguồn dinh dưỡng hữu cơ có chứa cả carbon và nitơ (pepton, nước thịt,...) có thể sử dụng vừa làm nguồn carbon vừa làm nguồn nitơ đối với VSV. Pepton là chế phẩm thủy phân chưa triệt để của nguồn protein nào đó. Tuy nhiên, trong công nghiệp vì lý do kinh tế – kỹ thuật mà trong số các nguồn nitơ hữu cơ rất tốt đã nêu thường chỉ bột đậu tương và cao ngô là được ứng dụng; cũng như thay cho cao nấm men rất đắt nấm men tươi lại được ưa dùng.

Xét về nhu cầu acid amin có VSV tự dưỡng acid amin, VSV dị dưỡng acid amin, và các VSV được kích thích phát triển bởi các acid amin.

Nhìn chung các vi khuẩn gây bệnh, các vi khuẩn gây thối, và các vi khuẩn lactic (sống trong sữa),... thường đòi hỏi phải được cung cấp các acid amin có sẵn. Còn các loài vi khuẩn sống trong

đất (*Azotobacter*, *Clostridium pasterianum*,...), các vi khuẩn tự dưỡng hoá năng có khả năng tự tổng hợp được tất cả các acid amin cần thiết. Nấm mốc, nấm men và xạ khuẩn thường không đòi hỏi các acid amin có sẵn, nhưng sự có mặt các acid amin trong môi trường dinh dưỡng sẽ tăng cường tốc độ phát triển của chúng lên rất mạnh mẽ. Tuy nhiên, nếu mục đích nuôi cấy là sản phẩm thứ cấp, thì hàm lượng các chất dinh dưỡng nitơ hữu cơ phải được tối ưu hoá đối với mục tiêu sinh tổng hợp hoạt chất; vì tối ưu hàm lượng sinh khối VSV trong nhiều trường hợp không song trùng cùng với tối ưu hàm lượng hoạt chất.

1.3. Nguồn dinh dưỡng khoáng của VSV

Trong các môi trường có nguồn gốc tự nhiên (khoai tây, nước thịt, sữa, huyết thanh, pepton, dịch chiết malt,...), kể cả trong công nghiệp, để nuôi cấy VSV, thường có đủ với tỷ lệ thích hợp các nguyên tố khoáng cần thiết cho VSV, do vậy không cần thiết phải bổ sung các nguyên tố khoáng. Nhưng khi sử dụng các hoá chất tinh khiết để chế tạo môi trường tổng hợp, cần thiết, phải bổ sung các nguyên liệu khoáng cần thiết. Những nguyên tố khoáng thiết yếu mà VSV đòi hỏi phải được cung cấp với khối lượng lớn, được gọi là các nguyên tố đại lượng. Còn những nguyên tố khoáng mà VSV chỉ đòi hỏi với khối lượng nhỏ, được gọi là các nguyên tố vi lượng.

Thành phần môi trường có thể tính toán sao cho nồng độ các cation và các anion là hợp lý cho phát triển của VSV.

– **P** là nguyên tố quan trọng nhất trong số các nguyên tố khoáng cần thiết cho tế bào VSV (nhiều khi P chiếm đến 50% so với tổng số chất khoáng). P có mặt trong cấu tạo của nhiều thành phần quan trọng của tế bào (acid nucleic, phosphoprotein, phospholipid, nhiều coenzym quan trọng như AMP, ADP, ATP, UDP, UTP, XTP, NAD, NADP, FAD,...; trong một số vitamin như vitamin B₁₂, vitamin B₆, v.v,...). Để đảm bảo nguồn dinh dưỡng phospho, người ta sử dụng các loại phosphat vô cơ như K₂HPO₄, KH₂PO₄.... Tuy nhiên, hàm lượng P quá cao sẽ làm giảm sút nghiêm trọng, thậm chí đình chỉ sinh tổng hợp hoạt chất mục tiêu, mặc dù VSV phát triển rất mạnh. Ví dụ, đối với các VSV có khả năng sinh tổng hợp kháng sinh, các khoảng nồng độ phosphat dưới đây cho số liệu đáng tham khảo:

+ 1mmol Pi/dm³ cho phép sinh tổng hợp tối đa sản phẩm thứ cấp.

+ 10mmol Pi/dm³ ức chế tối đa sinh tổng hợp sản phẩm thứ cấp.

+ Còn với nồng độ phosphat vô cơ là 2,5mmol/dm³ thường cho ít sản phẩm.

– **S** là nguyên tố khoáng quan trọng trong tế bào VSV. S có mặt trong một số acid amin (cystein, cystin, methionin,...), một số vitamin (biotin, thiamin,...). Tripeptid glutation có vai trò quan trọng trong các quá trình oxy hoá khử. Phản ứng chuyển sulfidrin thành disulfid trong quá trình chuyển điện tử từ nguyên liệu hô hấp đến oxy phân tử. Đa số VSV sử dụng S dưới dạng muối sulfat, một số ít sử dụng dưới dạng thiosulfat (S₂O₃²⁻,...) hoặc dạng khử (H₂S,...).

– **Mg** là nguyên tố được VSV đòi hỏi với lượng không cao (10⁻⁴ – 10⁻³M), nhưng vai trò của magie lại không nhỏ. Magie đóng vai trò một đồng tác nhân tham gia vào nhiều phản ứng enzym có liên quan đến các quá trình phosphoryl hoá. Mg²⁺ có thể làm hoạt hoá các enzym hexokinase, ATP-ase, pyrophosphatase, phosphoglucomutase, carboxylase,..., các enzym trao đổi protein, các enzym oxy hoá khử của chu trình Krebs (khoảng hơn 80 enzym khác nhau). Mặt khác magie cũng đóng vai trò quan trọng trong liên kết các tiểu phần ribosom với nhau.

– **Ca** là nguyên tố ít tham gia vào việc xây dựng nên các hợp chất hữu cơ mà đóng vai trò cầu nối trung gian giữa các thành phần quan trọng của tế bào (giữa ADN và protein trong nhân, giữa các nucleotid, giữa ARN và protein trong ribosom,...). Calci cần thiết cho việc hình thành cấu trúc không gian tế bào.

– **Zn** cũng là đồng tác nhân trong các phản ứng enzym xúc tác, có tác dụng đáng kể trong hoạt hoá một số enzym như carboanhydrase, phosphatase kiềm, pyrophosphatase, leucitinase,...

– **Mn** có chứa trong một số enzym hô hấp. Mn đóng vai trò quan trọng trong hoạt hoá một số enzym như phosphomonoesterase, carboxylase, ATP-ase, hydroxylamin reductase, arginase, aminopeptidase, enolase, phosphoglucomutase,...

Việc hoạt hoá enzym đôi khi không mang tính đặc hiệu, ví dụ, isocitratase từ *P. aeruginosa* có thể

được hoạt hoá từ các ion khác nhau (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} hoặc Co^{2+}). Có khi ion này tác dụng ngược với ion kia: Na^+ ức chế phát triển của *Lactobacillus casei*, nhưng nếu bổ sung thêm K^+ thì tác dụng ức chế ấy sẽ mất.

Có một số nguyên tố cho đến nay vai trò sinh lý của chúng vẫn chưa được hiểu rõ lắm, trong đó có kali, natri, clo.

– **K** chiếm tỷ lệ khá cao trong thành phần của tế bào VSV nhưng cho đến nay vẫn chưa thấy kali tham gia vào bất kỳ thành phần nào của nguyên sinh chất, cũng như chưa tìm thấy bất kỳ enzym nào có chứa kali, mà thấy kali thường tồn tại trong dạng ion K^+ ở mặt ngoài của cấu trúc của tế bào. Nhiều nghiên cứu sử dụng K40 cho biết, một phần đáng kể kali tồn tại ở trạng thái liên kết hoá lý không bền vững với protein và các thành phần khác của nguyên sinh chất. Kali có thể tác dụng như các ion kim loại khác thông qua việc ảnh hưởng đến tính chất hoá keo và hoạt động xúc tác của enzym. Nhiều thí nghiệm tiến hành thay thế kali trong các môi trường dinh dưỡng bằng các ion kim loại kiềm hoá trị một khác như Na, Li, Rb, Cs,... đều không có kết quả. Tuy nhiên kali cũng tham gia vào việc hoạt hoá một số enzym (amylase, acetyl CoA-synthetase, ATP-ase,...). Kali làm tăng độ ngậm nước của các hệ thống keo do đó ảnh hưởng đến các quá trình trao đổi chất, nhất là các quá trình tổng hợp – như tổng hợp thiamin,... và có ảnh hưởng nhất định đến hô hấp của tế bào VSV.

– **Na** và **Cl** cũng là các nguyên tố mà nhiều VSV cũng cần với số lượng không nhỏ, nhưng cho đến nay người ta cũng còn biết ít về vai trò sinh lý của chúng. Hàm lượng hai nguyên tố trên đặc biệt cao ở các VSV ưa mặn (Halophyl) sống trong nước biển, đất vùng ven biển, hoặc phát triển được trên các loại thực phẩm ướp mặn.

Bình thường khi nuôi cấy VSV, người ta không cần bổ sung các nguyên tố vi lượng vì những nguyên tố ấy thường có sẵn trong nước máy. Tuy nhiên, trong một số trường hợp riêng, người ta vẫn phải bổ sung một số nguyên tố vi lượng nhất định vào môi trường: Ví dụ: Bổ sung Co vào môi trường nuôi cấy VSV sinh tổng hợp vitamin B_{12} ; bổ sung Mo vào môi trường nuôi cấy VSV cố định nitơ,...

1.4. Các chất sinh trưởng

Các chất sinh trưởng là những chất hữu cơ cần thiết cho hoạt động sống, sinh trưởng – phát triển đối với một số loài VSV mà không tự tổng hợp được chúng từ các chất khác. Những chất được coi là chất sinh trưởng của loài này hoàn toàn không phải là chất sinh trưởng đối với loài khác, và hầu như không có chất nào là chất sinh trưởng chung cho tất cả các loài VSV. Ngay cùng một loài VSV, nếu nuôi cấy trong các điều kiện khác nhau cũng có thể có các nhu cầu khác nhau về các chất sinh trưởng. Ví dụ, nấm mốc *Mucor rouxii* cần biotin và thiamin cho phát triển kỵ khí, nhưng nếu nuôi cấy trong điều kiện hiếu khí thì lại không cần hai chất đó. Điều kiện pH, nhiệt độ của môi trường, sự có mặt của một số chất dinh dưỡng cũng có ảnh hưởng rõ rệt đến nhu cầu chất sinh trưởng của VSV. Chẳng hạn, nhu cầu acid pantotenic của một số VSV (vi khuẩn bạch hầu *C. diphtheriae*) có thể thỏa mãn được khi chỉ cần cung cấp α -alanin cho chúng. Các chất sinh trưởng cho các VSV có thể là các nhóm hợp chất dưới đây:

– Các acid béo mạch carbon dài bão hoà hay chưa bão hoà, chẳng hạn C14 hoặc C16,...

– Các base purin và pyrimidin cũng như các dẫn chất của chúng, ví dụ các nucleozid hay các nucleotid,...

– Các vitamin, và một số acid amin: vitamin B_{12} , β -alanin,....

Đây là các hợp chất mà với một lượng tuy nhỏ nhưng có tác dụng quyết định lên phát triển của loài VSV nào đó.

2. THÀNH PHẦN TẾ BÀO VÀ DINH DƯỠNG CỦA VI SINH VẬT

Nhu cầu dinh dưỡng của VSV nhằm đáp ứng các đòi hỏi của tế bào do đó phụ thuộc vào thành phần hoá học các tế bào của chúng. Trong tế bào VSV vật chất được phân thành 2 nhóm lớn: Nhóm thứ nhất là nước và các muối khoáng, và nhóm thứ hai là nhóm các chất hữu cơ (bảng 2.1) bao gồm acid nucleic, protein, hydratcarbon, lipid và các chất hữu cơ phân tử nhỏ.

Bảng 2.1. Hàm lượng các nhóm vật chất chủ yếu của tế bào *E. coli*.

Loại hợp chất	Nước	Các chất vô cơ	ADN	ARN	Protein	Hydrat carbon	Lipid	Chất hữu cơ phân tử nhỏ
Hàm lượng [%]	70	1	1	6	15	3	2	2

Về tổng thể, nước chiếm tỷ lệ cao nhất trong số tất cả các thành phần, còn trong số các chất hữu cơ thì protein chiếm tỷ lệ cao nhất.

Xét chi tiết về các nguyên tố, tế bào VSV bao gồm các “nguyên tố sinh học” C, O, N, H và các nguyên tố khoáng đa lượng và vi lượng. Chỉ riêng các nguyên tố C, O, N, H, P, S, K và Na đã chiếm đến 98% khối lượng sinh khối khô của tế bào *E. coli* (bảng 2.2).

Bảng 2.2. Thành phần các nguyên tố chủ yếu cấu thành tế bào *E. coli* (S.E. Luria)

Nguyên tố	% chất khô	Nguyên tố	% chất khô
C	50,0	Na	1,0
O	20,0	Ca	0,5
N	14,0	Mg	0,5
H	8,0	Cl	0,2
P	3,0	Fe	0,2
S	1,0	Các nguyên tố khác	0,6
K	1,0		

Các số liệu trên là những giá trị trung bình, vì trong các điều kiện sinh trưởng khác nhau, cũng như trong các giai đoạn sinh trưởng, phát triển khác nhau thành phần các tế bào VSV không giống nhau.

2.1. Thành phần nước và muối khoáng

Nước chiếm đến 70 – 90% khối lượng tế bào VSV. Các phản ứng sinh hoá xảy ra trong tế bào VSV đều diễn ra trong dung dịch nước. Ở vi khuẩn, hàm lượng nước thường là 70 – 80%, còn ở nấm sợi thường là 85 – 90%.

Phần nước có thể tham gia trong các quá trình trao đổi chất của VSV được gọi là nước tự do. Đa phần nước trong tế bào VSV tồn tại dưới dạng nước tự do. Nước kết hợp là nước liên kết với các hợp chất hữu cơ cao phân tử trong tế bào (protein, lipid, hydratcarbon). Nước liên kết mất khả năng hoà tan và lưu động.

Lấy mất nước hay sấy khô thực phẩm là phương pháp ngăn cản sự phát triển của VSV, bảo quản thực phẩm, thuốc nam,... được lâu hơn. Mặt khác ướp muối hoặc tẩm đường nhằm tạo ra sự khô cạn sinh lý không thích hợp cho sự phát triển của VSV để bảo quản thực phẩm hay được áp dụng.

Muối khoáng chiếm khoảng 2 – 5% khối lượng khô của tế bào. Trong tế bào chúng thường ở dạng ion: dạng cation như Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Na^+ ,... hay dạng anion như HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , HCO_3^- , Cl^- ,... Các ion trong tế bào VSV luôn tồn tại ở những tỷ lệ nhất định nhằm duy trì độ pH thích hợp cho từng loại VSV.

2.2. Các chất hữu cơ

Trong tế bào vi khuẩn, các polyme – các chất đại phân tử – chiếm tới 95,5 – 96% chất khô, 3,5% là các chất đơn phân tử và chỉ còn 0,5 – 1,0% là các ion vô cơ. Các polyme chủ yếu trong tế bào là các protein, acid nucleic, lipid, hydratcarbon. Các chất hữu cơ trong tế bào VSV được tạo nên chủ yếu

bởi các nguyên tố C, H, O, N, P, S,...

Riêng 4 nguyên tố C, H, O, N đã chiếm tới 92–93% chất khô của tế bào. Protein – sinh chất có hàm lượng cao nhất trong tế bào– được tạo thành chủ yếu bởi các nguyên tố: C (50 – 55%), O (21 – 24%), N (15 – 18%), H (6,5 – 7,3%), S (0 – 0,24%), và lượng nhỏ một số nguyên tố khác như P, Fe, Mg, Ca, Cu, Mn,... Các acid amin kết hợp với nhau trong liên kết peptid để tạo thành các protein,... Bảng 2.3 giới thiệu thành phần hoá học của tế bào vi khuẩn.

Bảng 2.3. Thành phần hoá học của một tế bào vi khuẩn (F.C. Neidhardt, 1987)

Hợp chất	% khối lượng khô (1)	Số phân tử/tế bào	Số loại phân tử
Nước	–		1
Tổng số các đại phân tử	96	24.609.802	Khoảng 2500
Protein	55	2.350.000	Khoảng 1850
Polysaccharid	5	4.300	2(2)
Lipid	9,1	22.000.000	4(3)
ADN	3,1	2,1	1
ARN	20,5	255.500	Khoảng 660
Tổng số các đơn phân tử	3,5		Khoảng 350
Acid amin và tiền chất	0,5		Khoảng 100
Đường và tiền chất	2		Khoảng 50
Nucleotid và tiền chất	0,5		Khoảng 200
Nucleotid và tiền chất	1,5 – 1,0		18
Các ion vô cơ	100		
Tổng:			

- Với:
- (1). Khối lượng khô của 1 tế bào *E. coli* sinh dưỡng là $2,8 \times 10^{-13}$ g,
 - (2). Peptidoglycan và protein,
 - (3). Đó là 4 loại phospholipid, mỗi loại có nhiều nhóm phụ khác nhau.

3. CƠ CHẾ VẬN CHUYỂN CÁC CHẤT DINH DƯỠNG VÀO TẾ BÀO VI SINH VẬT

Để tồn tại, sinh trưởng và phát triển, tế bào VSV phải thường xuyên trao đổi chất và năng lượng với môi trường xung quanh. Một mặt chúng nhận các chất dinh dưỡng cần thiết từ môi trường, mặt khác thì thải ra môi trường bên ngoài các sản phẩm trao đổi chất. Giữa môi trường xung quanh và tế bào chất trong tế bào tồn tại hàng rào thẩm thấu, hàng rào này chính là màng tế bào chất lipoprotein: các hợp chất ưa lipid (lipofil) xâm nhập tế bào nhanh hơn các hợp chất kỵ lipid (lipofob). Chứng minh kết luận trên, các nhà nghiên cứu đã xử lý VSV với các dung môi lipid như n-butanol làm hàng rào thẩm thấu của VSV bị huỷ hoại gây ra việc tách thoát các chất phân tử thấp ra khỏi tế bào. Như vậy màng tế bào chất là cơ quan đảm bảo không gian và điều chỉnh có chọn lọc sự chuyển vận vào, ra của các chất khác nhau. Sự xâm nhập của nước và các chất hoà tan qua màng tế bào chất là một quá trình động học theo một trong hai cơ chế: khuếch tán đơn giản hay khuếch tán thụ động và vận chuyển hoá lập thể đặc hiệu.

– Trong khuếch tán thụ động, các phân tử “đi” qua màng tế bào chất một cách đơn giản nhờ vào mức chênh lệch nồng độ (trong trường hợp các chất không phân ly), hay chênh lệch điện thế (trong trường hợp các ion). Các nghiên cứu cho thấy, ngoài nước, chỉ một số ít hợp chất được chuyển vận theo cơ chế này.

– Trong vận chuyển đặc hiệu nhờ protein thấm (đa số các chất được vận chuyển qua màng tế bào theo cơ chế này), các phân tử vận chuyển (các protein vận chuyển hay các protein thấm – các permease) sắp xếp trên màng liên kết với các chất dinh dưỡng rồi chuyển chúng vào bề mặt bên trong của màng, mà từ đây chúng được chuyển vào tế bào chất. Kiểu vận chuyển các chất dinh dưỡng như vậy có thể là thụ động (không cần năng lượng của tế bào – vận chuyển xuôi dòng). Phức chất “chất hoà tan – permease” được vận chuyển theo cả hai phía nhờ chênh lệch nồng độ của chất nào đó. Cơ chế cơ bản ở đây có thể liên quan đến ái lực gắn kết của protein vận chuyển với chất tan cần vận chuyển ở hai phía trong và ngoài màng tế bào chất là khác nhau: nếu ái lực của chất mang với chất tan bên ngoài màng cao hơn bên trong,

chất dinh dưỡng đó được vận chuyển từ môi trường ngoài vào trong tế bào, còn đối với chất thải thì ngược lại.

Nhưng để vận chuyển các chất mà nồng độ trong tế bào cao hơn ngoài môi trường, tức vận chuyển chất đó phải thực hiện ngược với gradient nồng độ, theo kiểu “ngược dòng”, cần đòi hỏi tiêu thụ năng lượng, và năng lượng tiêu hao được cung cấp từ ATP (được hình thành trong mesosom hoặc màng tế bào chất). Các nghiên cứu cho thấy có ATP-ase (adenosin triphosphatase) trong màng tế bào chất của các vi khuẩn, là enzym có liên quan đến vận chuyển các chất. Trong vận chuyển chủ động, enzym vận chuyển (Pa) dạng hoạt động gắn với chất tan (S) cần vận chuyển ở phía ngoài màng tạo thành phức hợp chất tan – permease (S – P). Phức hợp này được di chuyển vào phía trong màng và được ATP cung cấp năng lượng, biến thành dạng permease (Pi) tự do bất hoạt ở phía trong màng tế bào chất, cải biến cấu trúc, giải phóng chất tan vào tế bào chất. Lập tức Pi di chuyển ngược chiều ra phía ngoài màng và lại được biến dạng thành Pa hoạt động, chu kỳ vận chuyển được lặp lại. Chẳng hạn K^+ có thể được vận chuyển theo cơ chế này. Việc thay đổi cấu trúc $P_i \leftrightarrow P_a$ có liên quan đến sự thay đổi cấu trúc bậc ba của protein vận chuyển (hình 2.1).

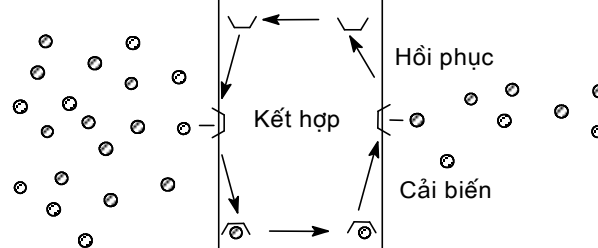
1) Khuếch tán đơn giản

Ngoài màng

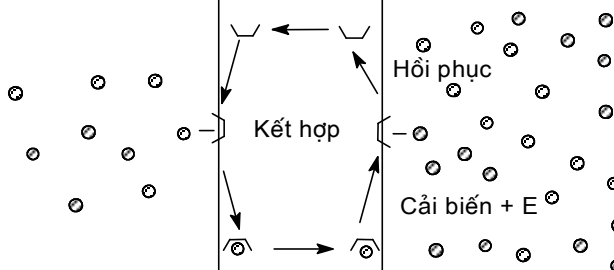
Trên màng

Trong màng

2) Chuyển vận thụ động

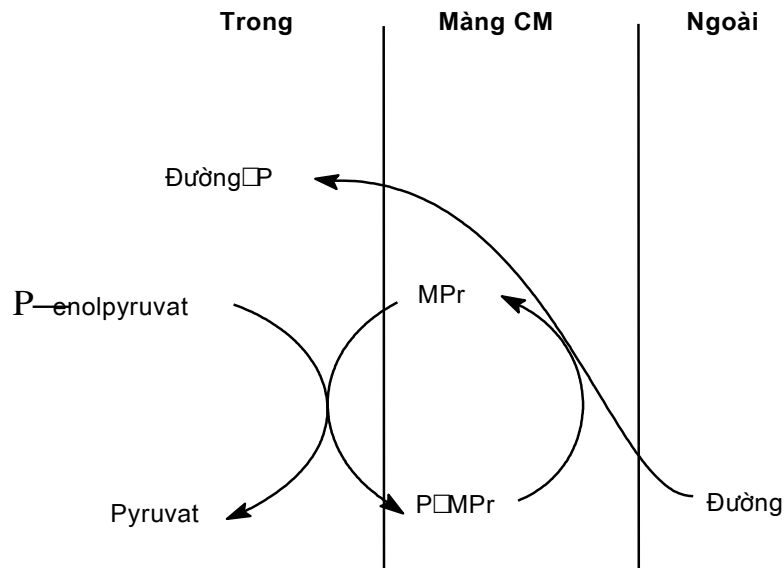


3) Chuyển vận chủ động



Hình 2.1. Vận chuyển chủ động chất dinh dưỡng vào tế bào

Kiểu vận chuyển chủ động khác là kiểu vận chuyển kết hợp phosphoryl hoá, có liên quan đến vận chuyển các đường (ví dụ: glucose, mannose,...): bước thứ nhất xảy ra trong phía tế bào chất, protein vận chuyển được phosphoryl hoá kết hợp với biến đổi phosphoenolpyruvat. Phức hợp chất mang-phosphat (P-MPr) di chuyển ra phía ngoài màng, và ở đó liên kết với glucose cần vận chuyển thành phức hợp Glu-MPr, vận chuyển đường vào tế bào chất và giải phóng đường đã phosphoryl hoá vào tế bào chất (hình 2.2). Ở đây phản ứng phosphoryl hoá được thực hiện nhờ enzym phosphattransferase EI và EII. EI hoạt động phía bên trong và EII hoạt động phía bên ngoài màng.



Hình 2.2. Vận chuyển kết hợp phosphoryl hoá

Tính đặc hiệu cơ chất của các protein (enzym) vận chuyển rất khác nhau: một số có tính đặc hiệu cao, ví dụ: permease của galactose của *E. coli* chỉ cho phép vận chuyển galactose. Tính đặc hiệu của các permease của các đường khác và các acid amin có tính đặc hiệu thấp hơn.

Cần nhấn mạnh rằng, theo mô hình ở hình 2.1 thì cùng một permease có thể đảm nhận cả chức năng vận chuyển thụ động lẫn chủ động (tùy theo sự vắng mặt hay có mặt của ATP) và phản ứng hoạt hoá được cung cấp năng lượng nhờ ATP diễn ra ở phía trong của màng, tuy nhiên đây cũng chỉ là giả thiết.

CÁC CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các nhóm dinh dưỡng carbon ở VSV.
2. Trình bày các chất dinh dưỡng chính của VSV.
3. Trình bày các kiểu vận chuyển chất dinh dưỡng ở tế bào VSV.

Chương 3

TRAO ĐỔI CHẤT VÀ TRAΟ ĐΟΙ NĂNG LƯỢNG

MỤC TIÊU

1. Trình bày được 3 con đường phân giải glucose ở VSV.
2. Trình bày được đặc điểm quá trình oxy hoá pyruvat, chu trình Krebs, chu trình glyoxylat và chuỗi hô hấp, hô hấp kỵ khí.
3. Trình bày được quá trình phân giải protein và lipid.
4. Nêu được một số sản phẩm hay gặp của quá trình lên men.

1. CÁC KHÁI NIỆM CHUNG

Trao đổi chất là quá trình hấp thụ chất dinh dưỡng từ môi trường qua quá trình dị hoá phân giải chúng, giải phóng và tích lũy năng lượng và tạo ra các chất trung gian quan trọng, và từ đây qua đồng hoá tổng hợp ra các chất cần thiết cho sinh trưởng, phát triển của tế bào. Như vậy, trao đổi chất bao gồm hai mặt dị hoá và đồng hoá bổ sung cho nhau.

VSV hấp thụ chất dinh dưỡng và qua quá trình chuyển hoá phân giải các chất dinh dưỡng đó thành các chất trung gian, đồng thời tích lũy năng lượng được giải phóng trong các phân tử chứa năng lượng cao – đây là quá trình dị hoá. Mặt khác, quá trình đồng hoá là quá trình tổng hợp các thành phần cơ thể và giải phóng các sản phẩm trao đổi chất (các chất chuyển hoá). Dị hoá và đồng hoá là hai mặt bổ sung cho nhau giúp cho VSV thực hiện được chức năng sống của mình trong quan hệ trao đổi chất và năng lượng với môi trường xung quanh.

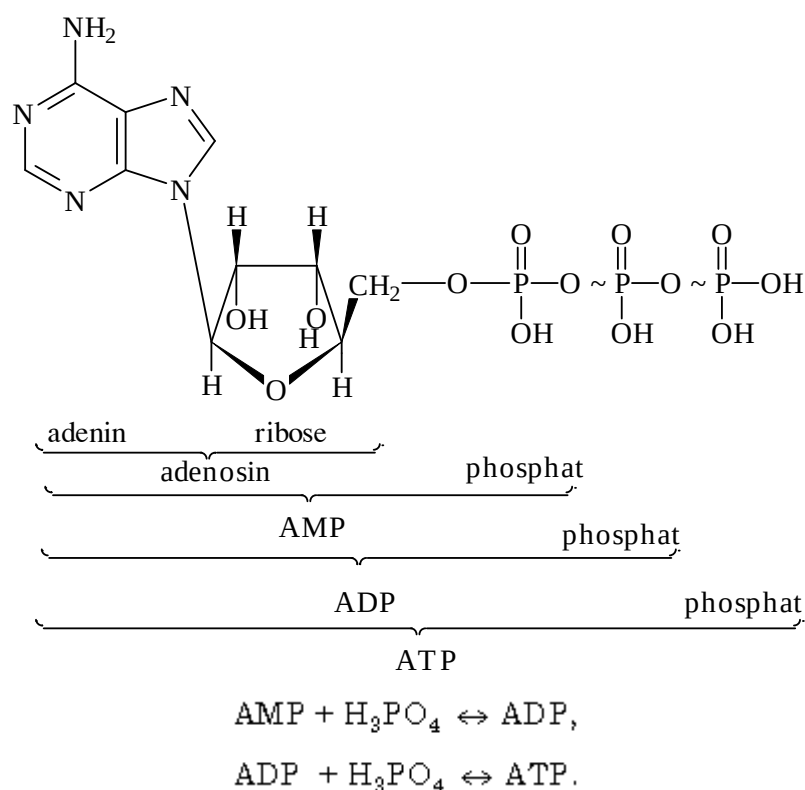
Xét từ góc độ năng lượng, các quá trình oxy hoá – phân giải cơ chất kèm theo giải phóng năng lượng được gọi là quá trình trao đổi năng lượng. Ở động vật và thực vật bậc cao các quá trình này có thể xảy ra với các cơ chất dinh dưỡng thường nhật (các chất hấp thụ từ môi trường) và các chất dự trữ của cơ thể (protein, polysaccharid, lipid). Nhưng ở tế bào VSV, số lượng các chất dự trữ thường rất nhỏ vì thế chúng phải sử dụng chủ yếu là các chất hấp thụ được từ môi trường xung quanh là chính.

Phần lớn các loài VSV thuộc loại dinh dưỡng hoá năng, chúng chuyển hoá các hợp chất hoá học làm nguồn tạo ra năng lượng. Năng lượng mới giải phóng được này chỉ một phần nhỏ biến thành nhiệt năng, còn phần lớn truyền từ hợp chất này sang hợp chất khác cùng với các điện tử hoặc các nguyên tử. Các VSV dị dưỡng hoá năng hay dinh dưỡng hoá năng hữu cơ sử dụng các hợp chất dinh dưỡng hữu cơ, còn các VSV tự dưỡng hoá năng hay dinh dưỡng hoá năng vô cơ thì lại sử dụng các hợp chất dinh dưỡng vô cơ. Các VSV dị dưỡng quang năng bao gồm nhóm dinh dưỡng quang năng vô cơ và nhóm dinh dưỡng quang năng hữu cơ sử dụng trực tiếp năng lượng của ánh sáng với các hệ thống biến đổi năng lượng thích hợp.

Các VSV ái khí sử dụng trực tiếp oxy không khí để kết thúc quá trình oxy hoá đã nêu. Còn với các VSV kỵ khí, quá trình oxy hoá sinh năng lượng không kết thúc bằng việc kết hợp với oxy không khí mà với các dạng oxy hợp chất theo các hình thái oxy hoá khác: bên cạnh việc liên kết với oxy quá trình oxy hoá còn là sự mất bớt hydro ($RH_2 + A \rightarrow R + AH_2$), quá trình tách hydro sau khi đã kết hợp với nước ($A + H_2O \rightarrow B + C$), và quá trình mất bớt điện tử (e^-) làm gia tăng số hoá trị dương ($Cu^+ \rightarrow Cu^{2+} + e^-$, $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + e^-$). Năng lượng giải phóng ra từ các phản ứng oxy hoá được tích lũy trong các chất giàu năng lượng, các nucleozid triphosphat: GTP, ATP, UTP; các acyl

phosphat; các dẫn xuất acid carbonic (Acetyl-CoA,...).

Hợp chất giàu năng lượng bền vững nhất, quan trọng nhất là ATP (adenosin triphosphat – xem công thức dưới). ATP chứa 2 liên kết năng lượng cao (~). Trong 1 mol ATP, mỗi liên kết cao năng chứa khoảng 11.500cal, trong khi liên kết thường chỉ chứa 300cal. ATP được coi là “kho chứa” của năng lượng trong tế bào, được sử dụng trong tất cả các phản ứng cần năng lượng. Các phân tử ATP giàu năng lượng này được tạo ra trong tế bào VSV cũng như trong tế bào của mọi sinh vật khác. Quá trình tạo ra ATP trong các cơ thể Procaryota không quang hợp được thực hiện theo hai cơ chế chung bao gồm: quá trình phosphoryl hoá cơ chất và quá trình phosphoryl oxy hoá, là phương thức chủ yếu tích lũy năng lượng cho tế bào. Trong cả hai trường hợp, từ ADP và phosphat vô cơ sử dụng năng lượng liên kết hoá học của các sản phẩm trao đổi chất trung gian mà sản xuất ATP. Trong quá trình thứ nhất, năng lượng từ liên kết cao năng của cơ chất, ví dụ: 1,3–diphosphoglycerat hay phosphoenolpyruvat chuyển sang cho ATP. Quá trình thứ hai xảy ra khi oxy hoá NADH₂ hay NADPH₂,...



2. CÁC CON ĐƯỜNG OXY HOÁ SINH HỌC PHÂN GIẢI HYDRAT-CARBON Ở CÁC VI SINH VẬT DỊ DƯỠNG

Oxy hoá sinh học là khái niệm chung đề cập đến hàng loạt các phản ứng oxy hoá hydratcarbon sinh năng lượng xảy ra trong các tế bào sống. Oxy hoá sinh học khác với sự cháy ở chỗ: phản ứng xảy ra nhiều bước, trong điều kiện ôn hòa, có xúc tác là các loại enzym, năng lượng phần lớn được tích lũy trong ATP và hiệu suất sử dụng năng lượng cao.

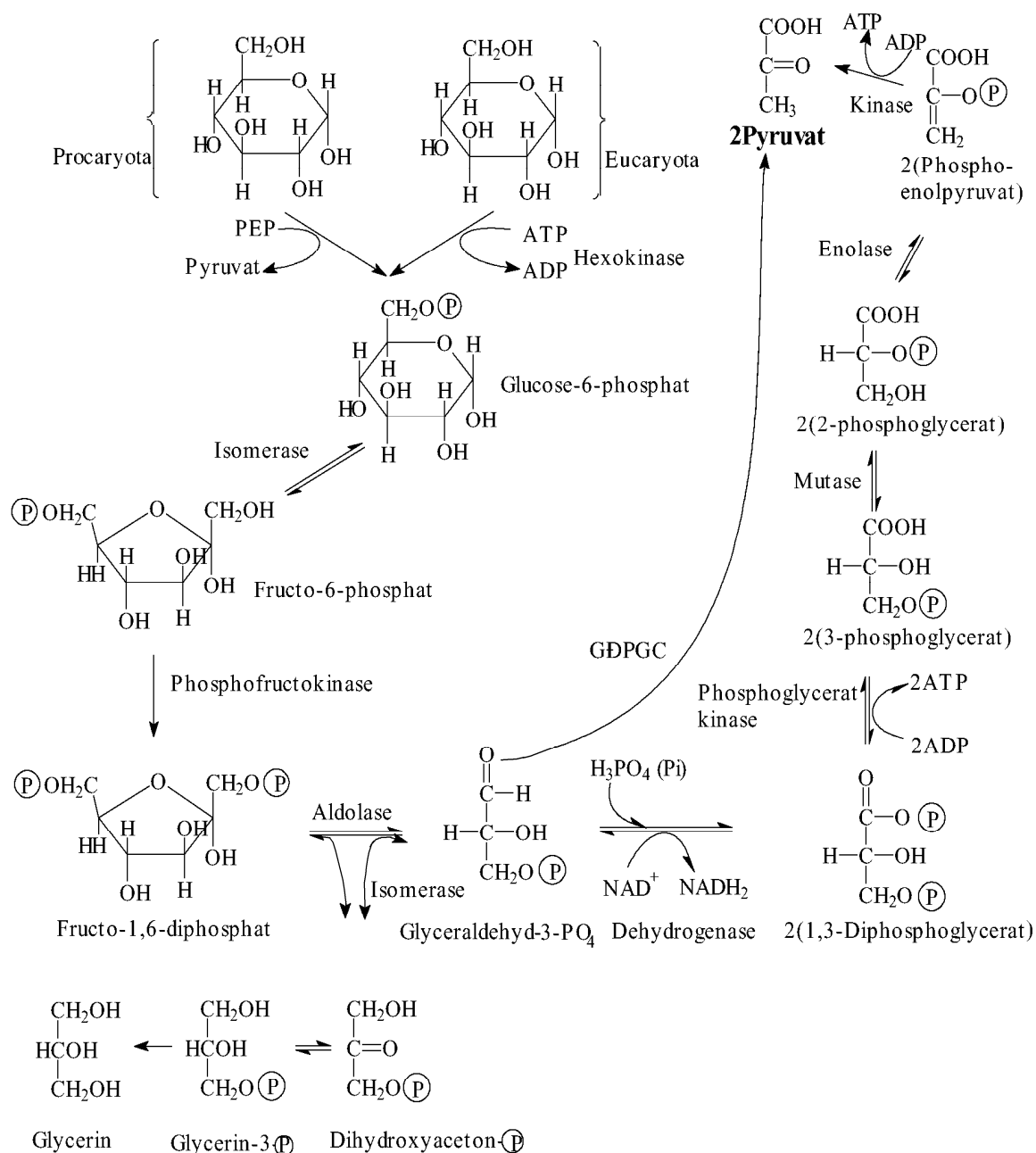
2.1. Phân giải glucose

Glucose là nguồn vật chất và năng lượng cho các tế bào VSV. Sau khi được hấp thụ vào trong tế bào, glucose được chuyển hoá qua các hợp chất trung gian chứa mạch carbon khác nhau theo 3 con đường riêng biệt đến acid pyruvic (pyruvat) – sản phẩm cuối cùng của các con đường đường phân. Phân tử glucose khá trơ về mặt hoá sinh, do đó trước tiên glucose được hoạt hoá nhờ phosphoryl hoá ở vị trí C6 chuyển thành glucose-6-phosphat – là dạng hoạt động chuyển hoá

trong tế bào và là điểm chung của cả 3 con đường đường phân.

2.1.1. Con đường đường phân (glycolysis)

Con đường phân giải đường này còn được gọi là con đường EMP (Embden–Mayerhof–Parnas pathway) (hình 3.1).



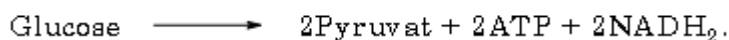
Hình 3.1. Con đường đường phân Embden-Mayerhof-Parnas

Trong điều kiện có hay thiếu vắng oxy, glucose đều được chuyển hoá thành pyruvat qua 10 phản ứng, trong đó chỉ có 3 phản ứng (1, 3 và 10) là một chiều, còn lại là các phản ứng thuận nghịch. Trừ nguyên liệu xuất phát (glucose) và hợp chất cuối (pyruvat), các hợp chất trung gian đều ở dạng phosphoryl hoá. Gốc phosphoryl ở đây có 3 chức năng:

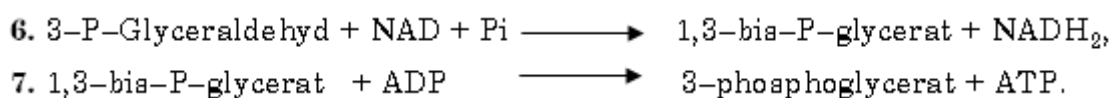
- Giúp cho hợp chất trung gian mang điện tích âm cao không thể thoát ra ngoài.
- Là vị trí gần enzym.

– Là vị trí cung cấp liên kết phosphat cao năng ($\sim P$).

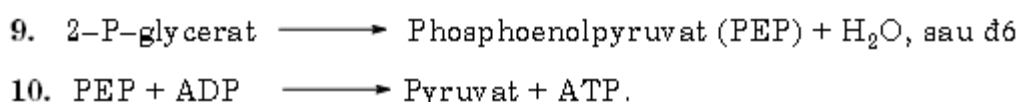
Phản ứng tổng quát:



Ở đây, ATP được tạo thành trong 2 bước (trong tổng số 3 bước tạo năng lượng) phản ứng: thứ 7 và thứ 10. Được chuẩn bị từ bước thứ 6 với việc tạo thành phân tử cao năng NADH_2 , bước phản ứng thứ 7 là bước kết thúc của phản ứng oxy hoá:



Enzym xúc tác phản ứng 6 (3-P-glyceraldehyd dehydrogenase) chứa nhóm SH, do đó bị kìm hãm bởi các kim loại nặng. Mặt khác 1,3-bis-P-glycerat có chứa một $\sim P$ ở C1. Với sự hiện diện của gốc arsenat – AsO_4^{3-} do cấu trúc tương tự với gốc PO_4^{3-} , xảy ra sự cạnh tranh tạo thành liên kết $\sim P$ ở C1, dẫn đến việc kìm hãm sự tạo thành ATP. Còn bước phản ứng 10 là bước kết thúc của bước phản ứng loại nước thứ 9:



Sự tạo thành ATP ở hai phản ứng trên là phosphoryl hoá cơ chất vì phosphat cao năng ($\sim P$) trước đó là một phần của hợp chất trung gian (1,3-bis-P-glycerat và PEP). Khi có mặt ADP, chất chuyển hoá sẽ chuyển $\sim P$ cho ADP:



Con đường phân giải EMP cung cấp cho tế bào 6 trong số 12 tiền chất để tổng hợp các đơn vị kiến trúc: Glucose-6-P, Fructose-6-P, 3-P-glyceraldehyd, 3-P-glycerat, PEP, và pyruvat. Về năng lượng, con đường EMP sinh lợi 2 ATP và 2NADH_2 . NADH_2 là phân tử cao năng, chứa 52.000cal/mol. Tuy nhiên vì không bền vững bằng ATP, nên NADH_2 sẽ truyền năng lượng cho ATP trong chuỗi hô hấp sau này. Từ phản ứng số 6 đến phản ứng số 10 của con đường phân giải này được gọi là giai đoạn phân giải cuối (GĐPGC-terminal glycolytic pathway-TGP).

2.1.2. Con đường pentose-phosphat (PP- hay con đường hexose-mono-phosphat – HMP)

Cũng như EMP, trước tiên glucose được phosphoryl hoá thành glucose-6-P và qua hai phản ứng được xúc tác bởi glucose-6-P dehydrogenase và 6-P-gluconat-dehydrogenase, glucose-6-P được biến đổi thành ribulose-5-P và giải phóng CO_2 . Quá trình oxy hoá được tiếp tục thông qua các phản ứng tiếp theo: một mặt là các phản ứng chuyển hoá qua lại giữa pentose-P và hexose-P, từ đó con đường đóng kín thành chu trình – sau mỗi một chu trình thì một CO_2 được cắt ra kết hợp với giải phóng tích lũy năng lượng, mặt khác là glyceraldehyd-3-P đi vào giai đoạn phân giải cuối – GĐPGC – của con đường phân giải và được biến đổi thành pyruvat.

Con đường phân giải này giúp cho vi khuẩn chuyển hoá glucose thành pyruvat không qua EMP, đồng thời cung cấp cho tế bào các hợp chất trung gian khác C3 và C6 như là ribose-5-P (để tổng hợp acid nucleic) và erythrose-4-P (cùng với PEP), cũng như sedoheptulose-7-phosphat để tổng hợp các acid amin thơm, các nhân tố cấu trúc cũng như chức năng khác của tế bào,...

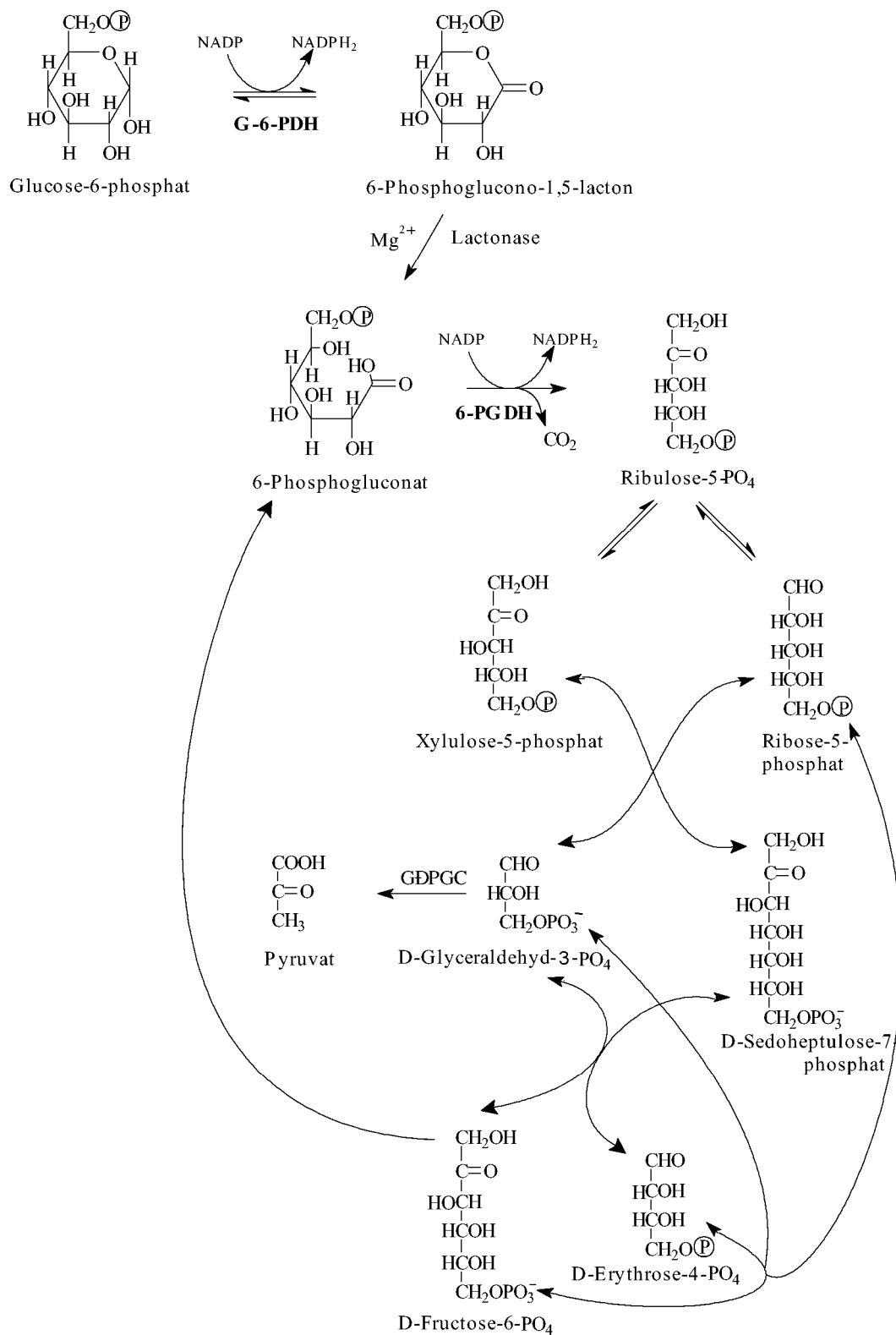
Đồng thời HMP còn cung cấp NADPH_2 và NADH_2 cần cho các phản ứng tổng hợp khử hoá (hình 3.2). Phản ứng tổng quát của con đường HMP này là:



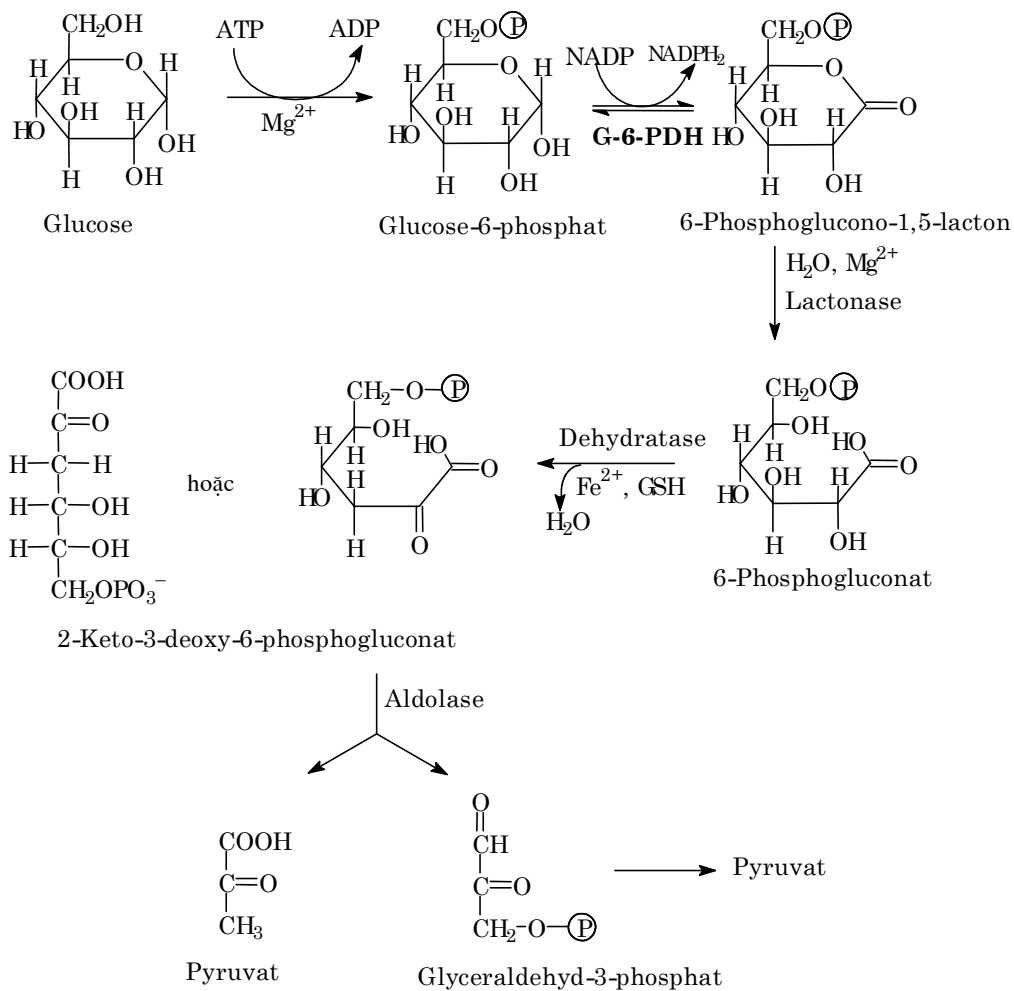
Qua con đường trao đổi chất này, phân tử glucose có mức độ oxy hoá cao nhất: 1/2 phân tử đã bị “đốt cháy” thành CO_2 , kết hợp giải phóng năng lượng tích lũy trong các phân tử cao năng NADPH_2 và NADH_2 không bền vững (chỉ 1ATP được trực tiếp tạo ra) và sẽ được biến đổi thành ATP trong giai đoạn chuyển hoá tiếp theo. (Chú ý rằng NADPH_2 hoặc NADH_2 chứa 55kcalo/mol trong khi đó 1mol ATP chứa 22kcalo).

2.1.3. Con đường 2-keto-3-deoxy-6-P-gluconat

(KDPG, 2-keto-3-deoxy-6-phosphat-gluconat pathway) con đường này còn được gọi là con đường Entner-Doudoroff (ED-Entner-Doudoroff pathway) (hình 3.3).

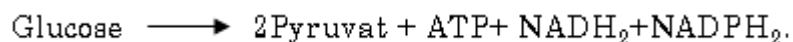


Hình 3.2. Con đường hexose-monophosphat (HMP), với: G-6-PDH – Glucose-6-phosphatdehydrogenase và 6-PGDH – 6-phospho-gluconatdehydrogenase.



Hình 3.3. Con đường Entner–Doudoroff (ED)

Trước tiên glucose được phosphoryl hoá thành glucose-6-phosphat, và glu-6-P được chuyển thành 6-P-gluconat như trong con đường PP. Nhờ tác dụng của phosphogluconat-dehydratase, 6-P-gluconat bị mất nước tạo thành 2-keto-3-deoxy-6-phosphat-gluconat (KDPG). KDPG này bị phân giải thành pyruvat và 3-P-glyceraldehyd nhờ aldolase đặc hiệu. Cuối cùng 3-P-glyceraldehyd lại đi vào giai đoạn phân giải cuối của glucose-GDPGC- và được biến đổi thành pyruvat. Phản ứng tổng quát của con đường chuyển hoá này là:



Con đường phân giải glucose này cũng được phát hiện trong một số vi khuẩn như là con đường chuyển hoá chính.

Các VSV khác nhau sử dụng 3 con đường phân giải glucose với mức độ khác nhau (bảng 3.1). Con đường EMP và PP phổ biến ở nhiều VSV, còn con đường KDPG giúp cho nhiều vi khuẩn sử dụng được gluconat.

Bảng 3.1. Phân giải glucose bằng 3 con đường đường phân trong một số VSV

Vi sinh vật	EMP (%)	HMP (%)	ED (%)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	88	12	–
<i>Candida utilis</i>	66 – 81	19 – 34	–
<i>Streptomyces griseus</i>	97	3	–
<i>Penicillium chrysogenum</i>	77	23	–
<i>Escherichia coli</i>	72	28	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	29	71
<i>Pseudomonas saccharophyla</i>	–	–	100
<i>Bacillus subtilis</i>	74	26	–
<i>Gluconobacter oxydans</i>	–	100	–
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	–	–	100
<i>Zymomonas mobilis</i>	–	–	100
<i>Sarcina lutea</i>	70	30	–

E. coli, *S. cerevisiae*, *P. chrysogenum*,... và nhiều loài *Clostridium* đường phân glucose qua EMP, nhưng phân giải gluconat qua con đường KDPG. *Pseudomonas aeruginosa* phân giải glucose qua HMP và trao đổi gluconat qua KDPG. Một số *Clostridium* và vi khuẩn hiếu khí chuyển hoá gluconat qua con đường KDPG cải biến: gluconat được chuyển thành 2-keto-3-deoxygluconat nhờ gluconat-dehydratase và chỉ ở bước này mới được phosphoryl hoá sử dụng ATP nhờ ketodeoxygluconokinase; KDPG bị phân giải nhờ 2-keto-3-deoxy-P-gluconat aldolase,....

Tổng quát lại sản phẩm cuối cùng của các con đường đường phân là:

EMP: Glucose → 2 pyruvat.

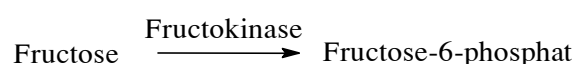
HMP: Glucose → 1 pyruvat + 3CO₂.

ED: Glucose → 2 pyruvat.

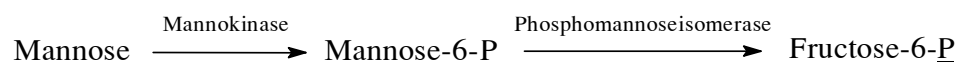
2.2. Phân giải các loại đường khác

Ngoài glucose, VSV còn có thể sử dụng được các loại đường khác nhau. Các loại đường đơn trước tiên đều phải được phosphoryl hoá, rồi biến đổi thành các dẫn chất tương ứng mà đi vào con đường đường phân thích hợp.

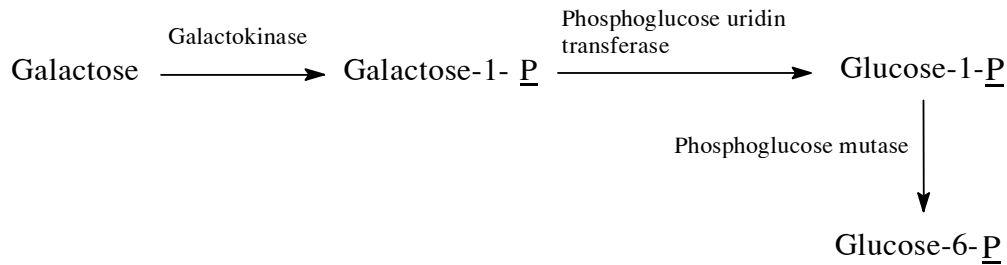
- Fructose sau khi được phosphoryl hoá sẽ đi vào EMP:



- Mannose sau khi được phosphoryl hoá nhờ mannokinase thành mannose-6-P, sau đó được phosphomannoseisomerase biến đổi thành fructose-6-P và đi vào EMP:



- Galactose sau khi biến thành Glucose-6-P cũng đi vào EMP:



- Pentose sau khi được phosphoryl hoá sẽ đi vào HMP.
- Các trisaccharid và oligosaccharid sẽ được VSV thủy phân thành các monosaccharid trước khi sử dụng. Một số VSV có khả năng phosphoryl hoá trực tiếp disaccharid. Ví dụ *Lactobacillus* và *Neisseria meningitidis* có enzym maltophosphorylase có thể xúc tác phản ứng:



Như vậy, trong trường hợp này không cần sử dụng năng lượng từ ATP mà vẫn có thể tạo ra được glucose-1-phosphat.

3. QUÁ TRÌNH OXY HOÁ PYRUVAT VÀ CHU TRÌNH KREBS (CHU TRÌNH TRICARBOXYLIC ACID-TCA)

3.1. Quá trình oxy hoá pyruvat

Pyruvat đóng vai trò trung tâm trong trao đổi chất trung gian, là tiền chất của nhiều sản phẩm chuyển hoá. Nhiều VSV oxy hoá pyruvat thành acetyl-CoA. Có 3 phản ứng quan trọng đối với các VSV:

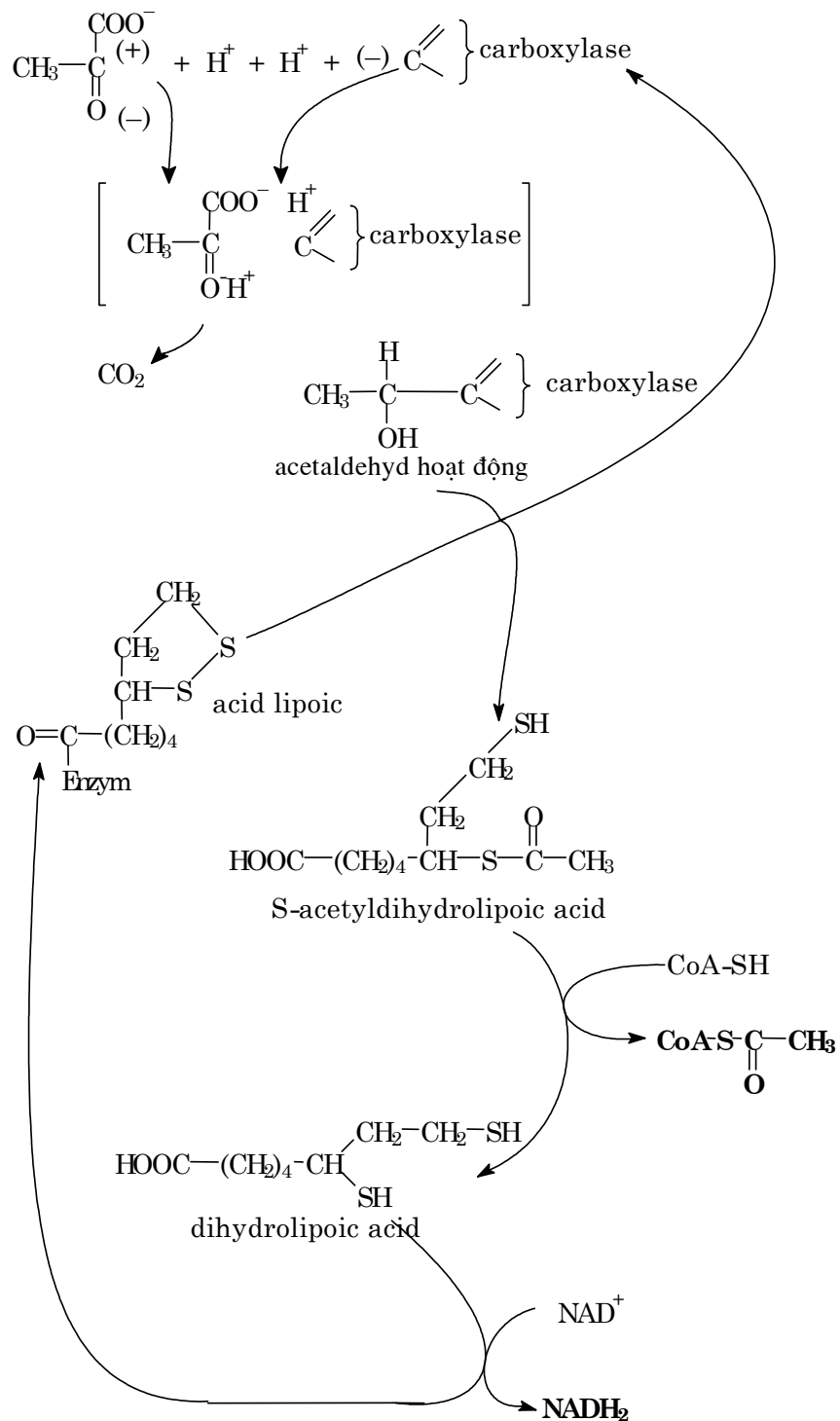


Với: Fd = ferredoxin.

Phản ứng 1 do phức hệ pyruvat-dehydrogenase (PDH) xúc tác. PDH có ở VSV hiếu khí (không có ở VSV kỵ khí). Acetyl-CoA mới tạo ra đi vào chu kỳ TCA. PDH gồm có 3 phức hệ enzym. Điều kiện cho phản ứng ngoài CoA và NAD^+ còn cần TPP (thiamin-piro-phosphat) và acid lipoic (hình 3.4).

Phản ứng 2 được xúc tác bởi pyruvat-ferredoxin-oxydoreductase (PFdOxr), gặp ở nhiều vi khuẩn kỵ khí như *Clostridium*.

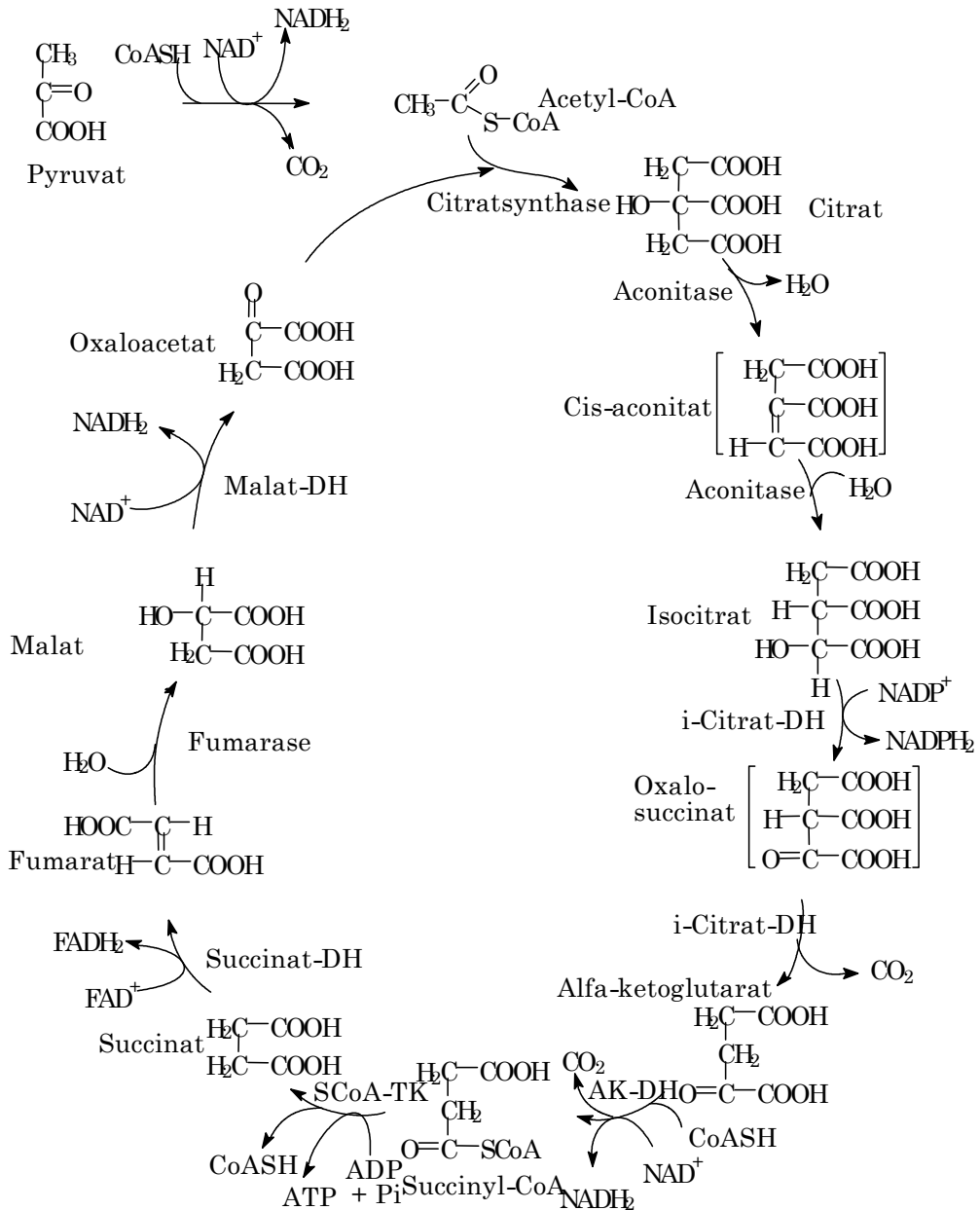
Phản ứng 3 do pyruvat-format-liase (PFL) xúc tác, enzym này có trong các vi khuẩn kỵ khí sinh acid formic (họ *Enterobacteriaceae*) cũng như vi khuẩn quang dưỡng.



Hình 3.4. Oxy hoá pyruvat nhờ pyruvat dehydrogenase

3.2. Chu trình Krebs

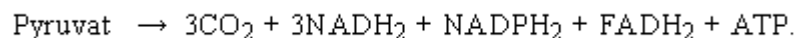
Acetyl-CoA tạo ra như trên được oxy hoá triệt để qua chu trình Krebs giải phóng CO_2 , nước và tích lũy năng lượng (hình 3.5).



Hình 3.5. Chu trình Krebs

Chu trình Krebs oxy hoá acetat giải phóng CO_2 và tách chuyển H_2 . CO_2 được tách ra trong 2 bước nhờ isocitratdehydrogenase và α -ketoglutarat-dehydrogenase. Trong số 8[H] được tách khỏi acetat thì 6[H] được chuyển đến cho NAD^+ và NADP^+ nhờ 3 dehydrogenase (DH) là i-citrat-DH, α -ketoglutarat-DH và malat-DH, còn 2[H] được chuyển đến cho FAD^+ nhờ succinat-DH. Chu trình TCA cung cấp cho tế bào như oxaloacetat, α -ketoglutarat để tổng hợp acid amin (aspartat và glutamat) và succinyl-CoA sử dụng trong tổng hợp Hem.

Năng lượng sinh ra chủ yếu được giữ trong các phân tử cao năng là các chất khử 3NADH_2 , 1NADPH_2 , 1FADH_2 , cũng như 1ATP . Khả năng giữ năng lượng trong các hợp chất này không bền như trong ATP và nếu không được sử dụng giữa chừng thì đến giai đoạn cuối cùng của chuỗi hô hấp sẽ chuyển sang cho ATP. Phương trình tổng quát của chu trình Krebs từ pyruvat là:



Năng lượng tích lũy trong các sản phẩm phản ứng là:

$$4 \times 52 + 26 + 11 = 245 \text{ kcal}.$$

Phản ứng $2 \text{ pyruvat} + 2\text{H}^+ + 5\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$ có biến đổi entalpi tự do là 273 kcal/mol. Như vậy 90% năng lượng giải phóng trong “đốt cháy” acid pyruvic có mặt trong các sản phẩm phản ứng, và 75% năng lượng của glucose được chuyển sang cho các sản phẩm hữu ích.

4. CHU TRÌNH GLYOXYLAT

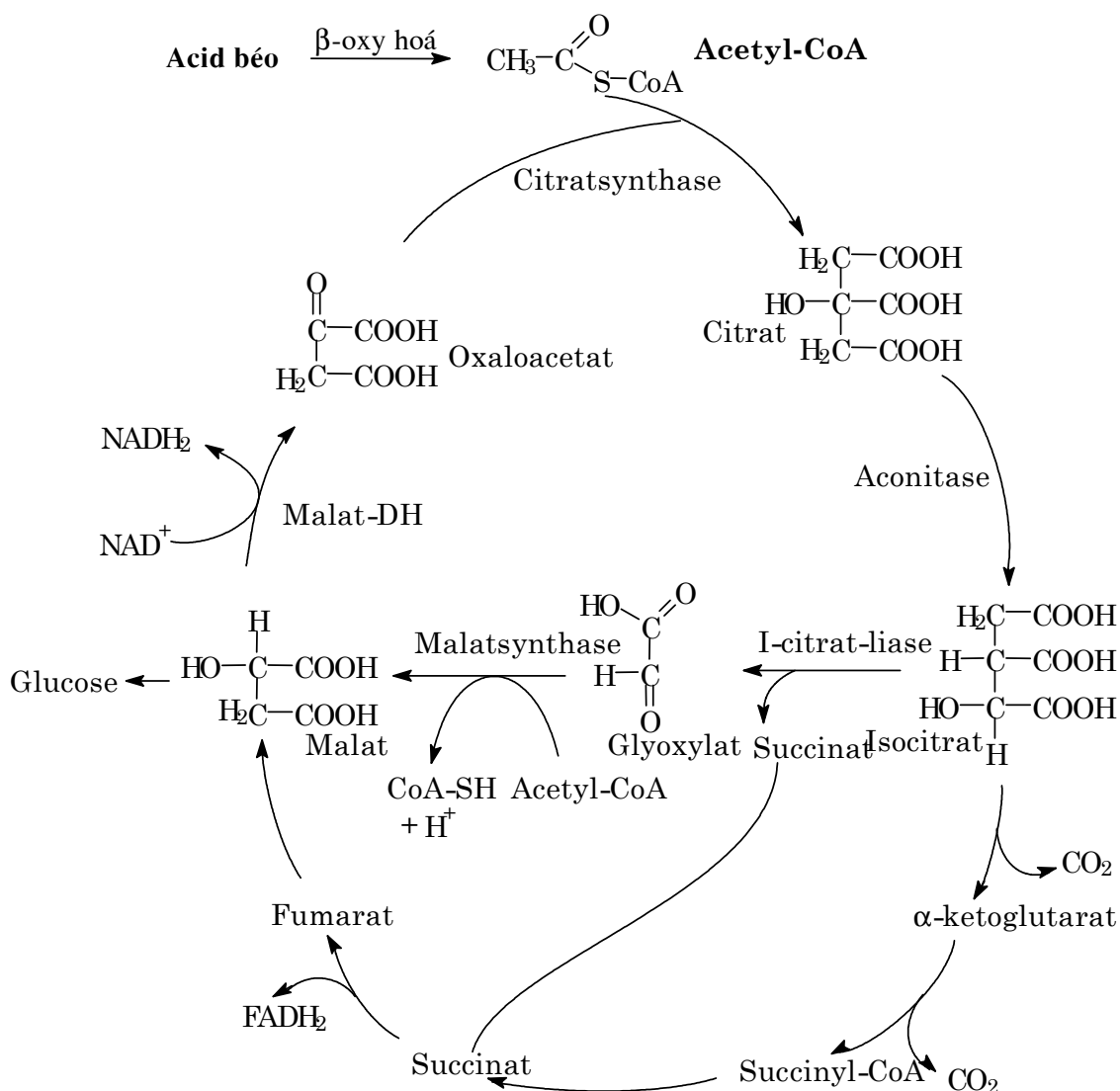
Khi VSV sinh trưởng trên acetat hoặc các hợp chất mà phân giải dẫn đến acetat (chất béo, hydrocarbon,...) diễn ra chu trình glyoxylat (chu trình Krebs–Kornberg). Chu trình này xảy ra tương tự như chu trình Krebs, nhưng do không có enzym α -keto-glutarat dehydrogenase mà thiếu mất một số bước phản ứng từ chu trình Krebs và đi qua hai phản ứng chính:

– Isocitrat $\rightarrow$ Succinat + Glyoxylat (CHO–COOH).

– Glyoxylat + Acetyl~CoA + H₂O $\rightarrow$ Malat + CoA

lần lượt do isocitrat-liase và malat-synthase xúc tác. Năng lượng đạt được trong chu kỳ này không cao: 1NADH₂, nếu tính cả chu kỳ bổ trợ mới thêm 1NADH₂ nữa (hình 3.6).

Chu trình glyoxylat cũng biến đổi oxaloacetat thành pyruvat và CO₂ nhờ xúc tác của enzym pyruvat carboxylase hoặc thành phosphoenol pyruvat và CO₂ (enzym ITP: Inosintriphosphatase). Cả hai hợp chất triose này, sau đó, đều có thể được biến đổi thành glucose nhờ quá trình EMP đảo ngược. Chu trình glyoxylat được tìm thấy ở nhiều vi khuẩn, ví dụ như *Avinelanohi*,...



Hình 3.6. Chu trình Glyoxylat

5. CHUỖI HÔ HẤP VÀ PHOSPHORYL HOÁ OXY HOÁ KHỬ' (respiratory chain and oxidative phosphorylation)

Vi khuẩn hiếu khí tổng hợp ATP rất mạnh mẽ – hơn hẳn vi khuẩn kỵ khí – nhờ có chuỗi hô hấp và enzyme ATP-synthase (yếu tố $F_0 - F_1$). Chuỗi hô hấp là hệ thống phức hợp enzyme nhiều bước có nhiệm vụ giúp các VSV hiếu khí oxy hoá hydro và xử lý các e^- tích lũy lại sau các chuyển hoá oxy hoá và chu trình Krebs, còn ATP-synthase hợp tác với chuỗi hô hấp. Hai hệ thống này nằm ở màng: màng tế bào chất hoặc màng trong ty thể. Ion H^+ và điện tử e^- (electron) tách ra từ cơ chất đi vào chuỗi hô hấp; các e^- được chuyển đến O_2 . Năng lượng tích lũy được chuyển thành ATP là chính, phần nhỏ được giải phóng dưới dạng nhiệt. Các thành phần của chuỗi nằm trong lớp phospholipid kép gồm nhiều enzyme vận chuyển e^- và H^+ , các coenzyme và các dehydrogenase và hệ thống vận chuyển. Các thành phần quan trọng nhất tham gia vào oxy hoá hydro là:

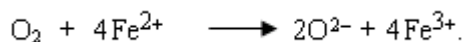
- Flavoprotein là các enzyme chứa các coenzyme FMN hoặc FAD vận chuyển hydro.

- Phức protein Fe – S vận chuyển e^- chứa Fe: Phức protein Fe – S vừa liên kết với S của cystein, vừa liên kết với S của H_2S . Cystein là một phần của chuỗi polypeptid, và trung tâm Fe – S có thể được coi là nhóm bổ sung của chuỗi polypeptid. Trung tâm Fe – S thuộc typ $[2\text{Fe} - 2\text{S}]$, chỉ vận chuyển $1e^-$, có chứa 2Fe và S. Trong lượng Fe bắt gặp ở màng tế bào thì đến 80% nằm trong

phức protein Fe – S, còn 20% nằm trong cytocrom. Các protein Fe – S cũng tham gia vào cố định nitơ, khử sulfite, khử nitrit, quang hợp và giải phóng, hoạt hoá H_2 . Phân tử lượng M của protein Fe rất thấp và thế oxy hoá khử rất âm. EO nằm trong khoảng $-0,2$ á $-0,6$ V. Ngoài protein $[2Fe - 2S]$, lục lạp vi khuẩn hiếu khí còn có trung tâm $[4Fe - 4S]$ (*Chromatium*, *Azotobacter*,...). Một số protein $[2Fe - 2S]$ quen thuộc: Ferredoxin, putidaredoxin, rubredoxin hoặc adrenodoxin.

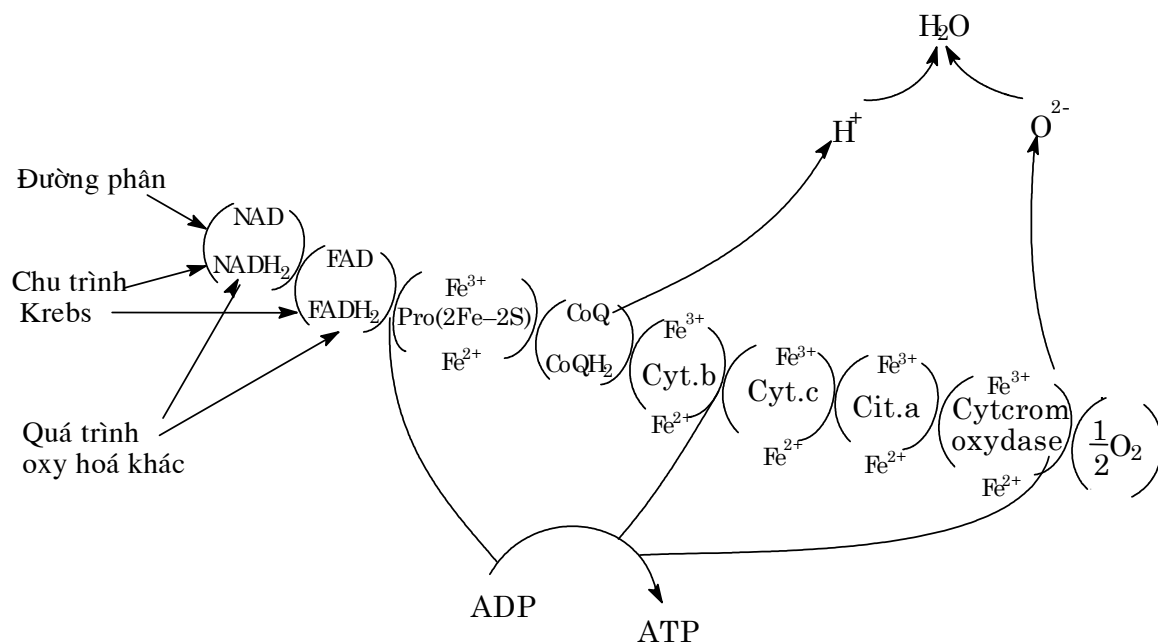
– Quinon: Ở màng trong ty thể và ở vi khuẩn G^- là *ubiquinon* (CoQ), ở vi khuẩn G^+ là *naphthoquinon*, và ở lục lạp là *plastoquinon*. Quinon và đặc biệt ubiquinon có đặc tính ưa lipid do đó gắn vào lớp phospholipid kép của màng, vận chuyển hydro hoặc e^- . So với các thành phần khác của chuỗi thì quinon có dư 10 – 14 lần, và là kho dự trữ hydro chuyển vào chuỗi hô hấp qua các coenzym và nhóm bổ sung khác nhau, rồi chuyển tiếp hydro đến các cytocrom.

- Cytocrom: Hệ thống cytocrom vận chuyển e^- , không vận chuyển hydro. Cytocrom nhận e^- từ quinon: trong quá trình vận chuyển, một lượng H^+ tương đương e^- bị tách vào môi trường. Cytocrom chứa nhóm bổ sung là Hem. Có một số loại cytocrom: b, c1, c, a, a3, O. Cytocrom gặp ở hầu hết các VSV có chuỗi hô hấp. Cytocrom-oxydase (cyt. O) chuyển $4e^-$ trực tiếp lên oxy (hình 3.7):



Các thành phần của chuỗi hô hấp được sắp xếp trên cơ sở thế oxy hoá khử, bắt đầu từ thế âm nhất NAD^+ cho đến Cyt.O. Một số chất độc tác dụng lên chuỗi hô hấp như amital, rotenon,... kìm hãm NAD dehydrogenase; antimixin A kìm hãm giữa cyt.b và c; cyanid (CN^-) kìm hãm Cyt.O.

Khi chuyển $2[H]$ qua NAD^+ cho hệ số tạo ATP $P/O = 3$ (ATP mol/ nguyên tử oxy), còn khi chuyển $2[H]$ qua FAD^+ cho hệ số tạo ATP $P/O = 2$. Tuy nhiên ở vi khuẩn (ví dụ: *E. coli*) do hạn chế vị trí chuyển $2[H]$ có hệ số $P/O = 3$, nên hô hấp glucose hiếu khí chỉ cho 26 ATP thay vì 38 ATP.



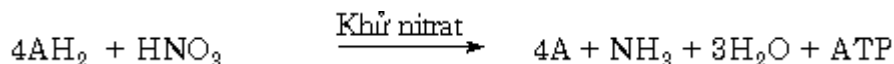
Hình 3.7. Chuỗi hô hấp trong quá trình oxy hoá sinh học

6. HÔ HẤP KỶ KHÍ VÀ CÁC QUÁ TRÌNH LÊN MEN KỶ KHÍ

6.1. Hô hấp kỵ khí

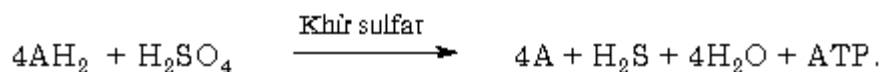
Trong điều kiện thiếu oxy, nhiều vi khuẩn có thể tiến hành hô hấp kỵ khí, sử dụng oxy dạng hợp chất làm chất nhận hydro cuối cùng. Có 4 kiểu hô hấp kỵ khí sau:

- Hô hấp nitrat (kỵ khí không bắt buộc):

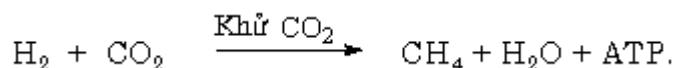


(AH_2 là cơ chất, là chất cho điện tử).

- Hô hấp sulfat (kỵ khí bắt buộc):



- Hô hấp kỵ khí đặc biệt là khử CO_2 với cơ chất là H_2 :



- Lên men kỵ khí.

6.2. Lên men kỵ khí

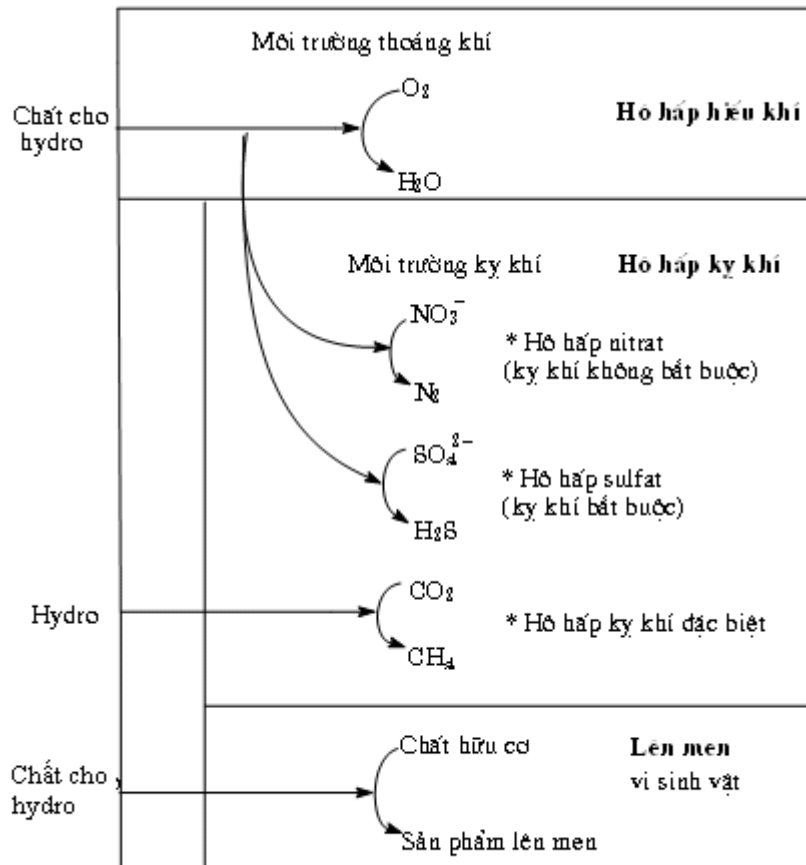
Ta gọi quá trình phân giải hydratcarbon trong điều kiện kỵ khí là quá trình lên men kỵ khí. Đây là quá trình oxy hoá khử cơ chất mà kết quả là một phần cơ chất bị khử và phần khác bị oxy hoá. Oxy phân tử không tham gia vào quá trình oxy hoá này, nên về thực chất đây là quá trình tách hydro ra khỏi cơ chất. Hydro mới tách ra có thể được thải ra dưới dạng khí, hoặc lại có thể được liên kết ngay với các sản phẩm phân giải của chính các cơ chất hữu cơ đó. Năng lượng sinh ra trong quá trình lên men một phần được sử dụng vào các phản ứng khử, một phần tích lũy trong các liên kết cao năng. Có thể thấy rõ rằng, năng lượng được tạo ra trong quá trình lên men kỵ khí không thể được dồi dào như trong hô hấp hiếu khí.

Trong quá trình lên men này, sản phẩm cao năng NADH_2 được tạo ra khi đường phân (chu trình EMP) sẽ không được chuyển đến chuỗi hô hấp đã nêu mà sẽ tác dụng với acid pyruvic hoặc các hợp chất mới được tạo ra từ acid pyruvic để thực hiện việc tái tạo NAD^+ .

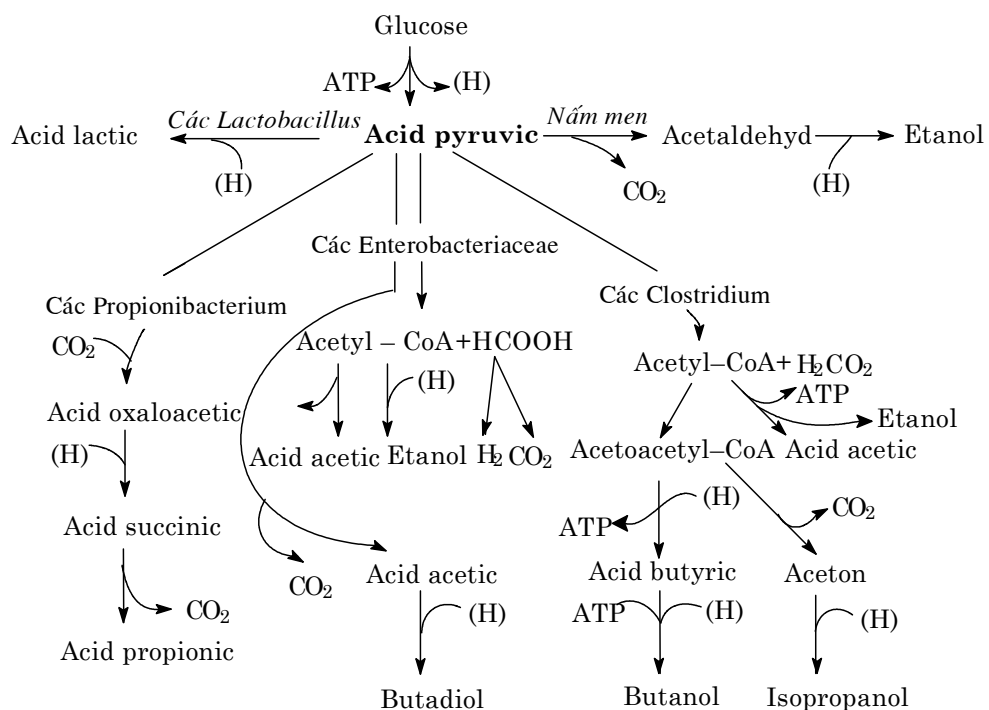
Trong các VSV kỵ khí bắt buộc không có nhiều loại enzym hô hấp như: cytochrom a, b, c, cytochromoxydase, peroxydase, catalase,...

Khác với hô hấp hiếu khí, sản phẩm cuối cùng của các quá trình lên men kỵ khí ngoài CO_2 còn có các sản phẩm có mạch carbon còn chưa bị oxy hoá hoàn toàn (như rượu, một số acid hữu cơ, xeton, aldehyd). Từ acid pyruvic trở đi, quá trình chuyển hoá trong các VSV khác nhau là không giống nhau, và tùy thuộc vào từng loại VSV và điều kiện lên men mà ta có các quá trình lên men đặc thù: lên men acid lactic, lên men rượu,...

Bên cạnh việc làm đứt các mạch carbon, trong một số quá trình lên men còn có sự tổng hợp, tức là quá trình gắn-kéo dài thêm mạch carbon, ví dụ: *C. butiricum* có thể tạo ra acid butyric (4C) từ các sản phẩm trung gian 2C, 3C – acid acetic, glycerin. Hình 3.8 tóm tắt các kiểu hô hấp ở VSV, và hình 3.9 – Các quá trình lên men kỵ khí chính.



Hình 3.8. Các kiểu hô hấp ở VSV



Hình 3.9. Các quá trình lên men kỵ khí chính

7. LÊN MEN ÁI KHÍ

Ta gọi các quá trình phân giải, chuyển hoá hydratcarbon trong điều kiện ái khí là quá trình lên men ái khí. Nếu quan niệm chặt chẽ thì chỉ những quá trình lên men sản xuất các sản phẩm sơ cấp được đề cập như lên men sản xuất acid acetic, acid citric, acid glutamic,... Tuy nhiên, nếu hiểu theo nghĩa rộng, lên men ái khí bao gồm tất cả những quá trình lên men chuyển hoá các nguồn carbon sinh tổng hợp các sản phẩm sơ cấp và thứ cấp, trong đó có lên men sản xuất các kháng sinh, kể cả lên men sản xuất một số vitamin,... là những quá trình lên men mà sản phẩm có những ứng dụng hết sức quan trọng trong Y Dược học.

Tất cả các quá trình lên men sinh tổng hợp kháng sinh là các quá trình lên men ái khí. Tuy nhiên, so với từ khi mới đưa vào sản xuất kháng sinh (những năm 40 của thế kỷ XX) thì công nghệ kháng sinh và vitamin đã có những thay đổi rất to lớn và có một số đặc điểm sau:

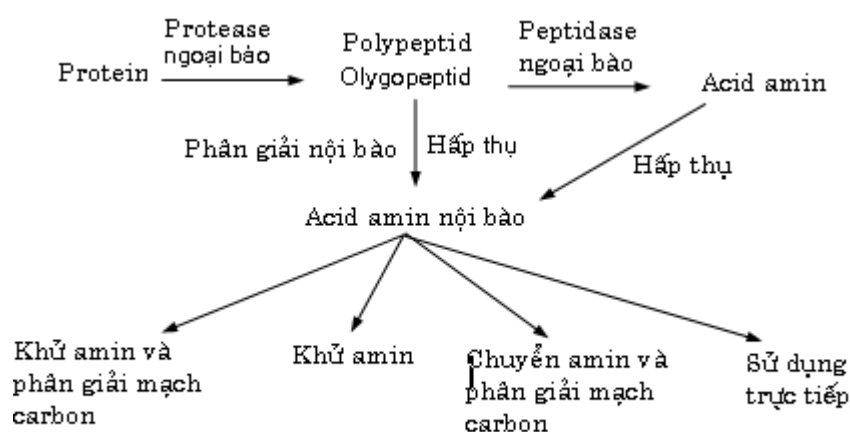
- Công nghệ kháng sinh sử dụng các chủng vi nấm, xạ khuẩn, vi khuẩn đã trải qua cải tạo giống nhiều bước có khả năng sinh tổng hợp hoạt chất rất cao so với chủng mới phân lập được ban đầu.

- Các quá trình lên men sản xuất là các quá trình lên men vô trùng tuyệt đối, có thể được điều khiển hoàn toàn bằng máy tính điện tử online (computer online control hay digital control–DC).

8. SỰ PHÂN GIẢI PROTEIN (QUÁ TRÌNH THỐI RỬA)

Quá trình thối rửa là quá trình phân giải chuyển hoá sử dụng cơ chất là protein (khác với lên men sử dụng cơ chất là hydratcarbon). Protein là thành phần quan trọng của xác động vật, thực vật và VSV. Protein chứa khoảng 15,0 – 17,6% nitơ tính theo chất khô. Tổng lượng nitơ của các cơ thể sống trên Trái Đất là khoảng 10 – 25 tỷ tấn, so với tổng lượng carbon là khoảng 700 tỷ tấn. Trong lớp đất sâu 30cm bao quanh phần lục địa của Trái Đất có thường xuyên khoảng 3,0 – 7,5 tỷ tấn nitơ tồn tại chủ yếu trong các hợp chất hữu cơ chứa nitơ. Phân giải các hợp chất hữu cơ chứa nitơ là một khâu quan trọng của vòng tuần hoàn vật chất trong tự nhiên, và có ý nghĩa rất lớn đối với nông nghiệp. Quá trình phân giải này còn được gọi là quá trình amoni hoá.

Protein cũng như các polyme sinh học khác là dạng không sử dụng trực tiếp được đối với các VSV. Do đó, muốn phân giải protein, trước tiên VSV phải tiết enzyme protease ngoại bào để thủy phân protein thành polypeptid và oligopeptid. Các polypeptid và oligopeptid này; hoặc tiếp tục được thủy phân thành các acid amin nhờ các peptidase ngoại bào rồi các acid amin ấy được hấp thụ vào trong tế bào; hoặc các polypeptid và oligopeptid được hấp thụ vào trong tế bào và tại đây được thủy phân thành các acid amin. Một phần các acid amin này được VSV sử dụng luôn trong quá trình sinh tổng hợp các protein riêng của chúng, phần khác được phân giải theo các con đường đặc thù để giải phóng NH_3 , CO_2 và cũng như để sinh ra các sản phẩm trung gian khác (hình 3.10).



Hình 3.10. Các khả năng phân giải protein

Rất nhiều loài VSV tham gia vào quá trình amoni hoá trong tự nhiên, trong số đó đáng chú ý nhất là các loài sau:

- Vi khuẩn: Các loài *Bacillus* như *B. cereus*, *B. histoliticus*, *B. megaterium*, *B. mesentericus*, *B. mycoides*, *B. subtilis*; *Clostridium sporogenes*, *C. welchii*; *E. coli*; *Proteus vulgaris*; *Pseudomonas*

aeruginosa, *P. fluorescens*, *P. putreficans*,...

– Xạ khuẩn và nấm: *Streptomyces fradiae*, *S. griseus*; *S. rimosus*; *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. oryzae*; *Mucor ssp*; *Picillium camemberti*, *Rhizopus ssp*,...

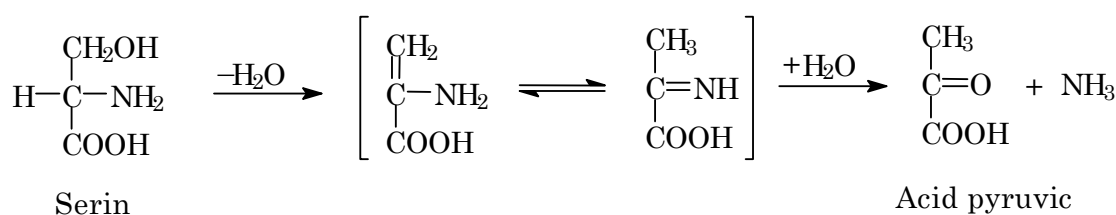
Trong tế bào VSV, các acid amin được chuyển hoá nhờ loại nhóm amin hoặc loại nhóm carboxylic, hoặc cả hai. Bảng 3.2 giới thiệu các phản ứng này.

Bảng 3.2. Các kiểu phân giải acid amin

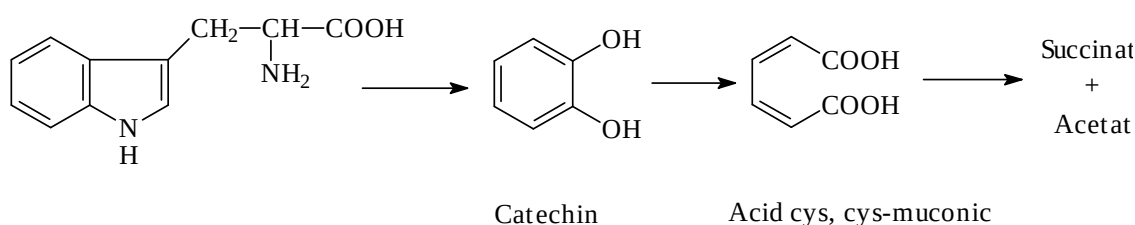
Đặc tính của phản ứng	Sản phẩm phân giải acid amin	
	Không loại carboxylic	Có loại carboxylic
– Không loại amin	$R-CH(NH_2)-COOH$	$R-CH_2-NH_2 + CO_2$
– Có loại amin:		
+ Trực tiếp	$R = CH-COOH + NH_3$	
+ Thủy phân	$+ H_2O \rightleftharpoons R-CHOH-COOH + NH_3$	$+ H_2O \rightleftharpoons R-CH_2OH + CO_2 + NH_3$
– Oxy hoá hiệu khí	$+ 1/2 O_2 \rightleftharpoons R-CO-COOH + NH_3$	$+ O_2 \rightleftharpoons R-COOH + CO_2 + NH_3$
– Oxy hoá kỵ khí	$+ H_2O \rightleftharpoons R-CO-COOH + NH_3 + 2H$	$+ 2H_2O \rightleftharpoons R-COOH + CO_2 + NH_3 + 4H$
– Khử hoá	$+ 2H \rightleftharpoons R-CH_2-COOH + NH_3$	$+ 2H \rightleftharpoons R-CH_3 + CO_2 + NH_3$

Các enzym xúc tác quá trình loại amin oxy hoá là các enzym đặc hiệu đối với các đồng phân L- hoặc D- của các acid amin. Các enzym có thể là các oxydase hiệu khí (flavoprotein) hoặc các oxydase kỵ khí, hoặc các dehydrogenase.

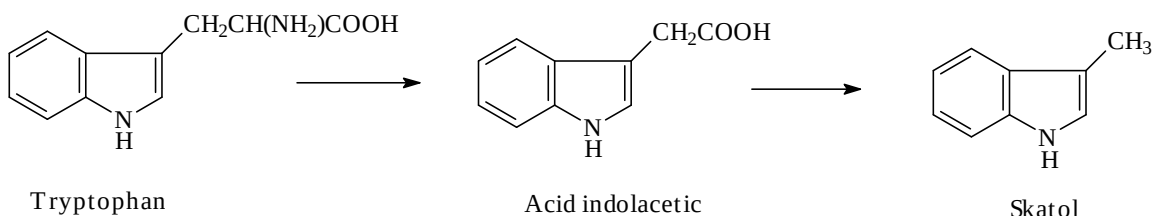
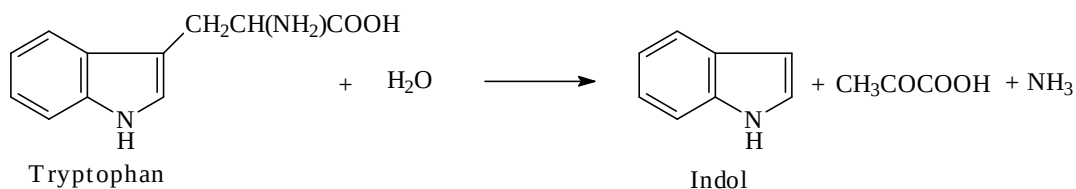
Có trường hợp, trước hết nước được loại đi (chuyển hoá serin):



Khi phân giải các acid amin thơm, việc cắt mở vòng thơm xảy ra nhờ phản ứng oxy hoá trực tiếp sử dụng oxy, ví dụ: phân giải tryptophan:

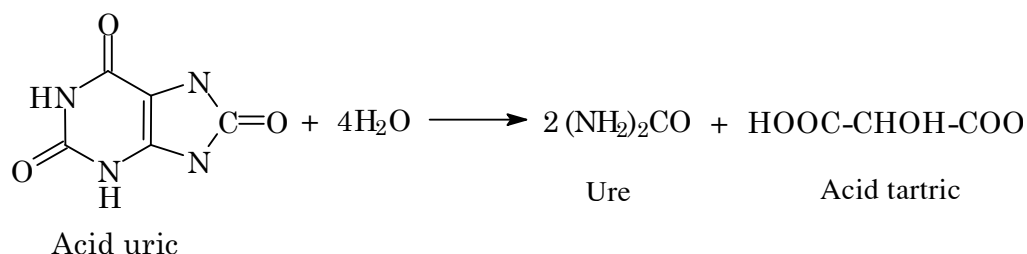


Một số vi khuẩn (như *E. coli*) có khả năng chuyển hoá tryptophan thành 2 chất có mùi hôi là indol và skatol. Skatol là chất tạo ra mùi thối của phân. Sơ đồ phản ứng của quá trình này như sau:

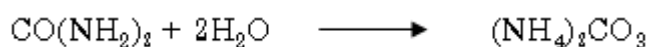


Bản thân indol có mùi hôi, nhưng nếu cho một chút indol vào este của một số hoa thì lại tạo nên mùi thơm đặc biệt (được sử dụng trong công nghiệp sản xuất mỹ phẩm, sản xuất nước hoa), còn skatol là thành phần chính mùi thối ở phân.

Ngoài protein, VSV còn có khả năng phân giải các hợp chất hữu cơ chứa nitơ khác (như các base nitơ, ure, acid uric, kitin,...). Các base purin, pyrimidin tạo ra trong quá trình thủy phân acid nucleic. Nhiều VSV có khả năng sinh tổng hợp ra các enzym xúc tác phân giải các base nitơ này tạo ra CO_2 , NH_3 và một số acid hữu cơ: acid formic, acid lactic, acid acetic,... Các acid này lại được phân giải tiếp.



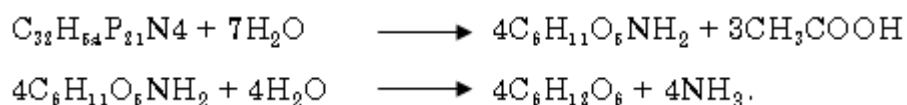
Ure cũng được một số VSV phân huỷ (năm 1862, lần đầu tiên Pasteur phát hiện ra vi khuẩn phân giải ure) trong đó có cả vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm (*Micrococcus ureae*, *Proteus vulgaris*,...) do chúng tạo ra được urease, enzym xúc tác phản ứng sau:



$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ít bền vững nên bị phân giải tiếp:

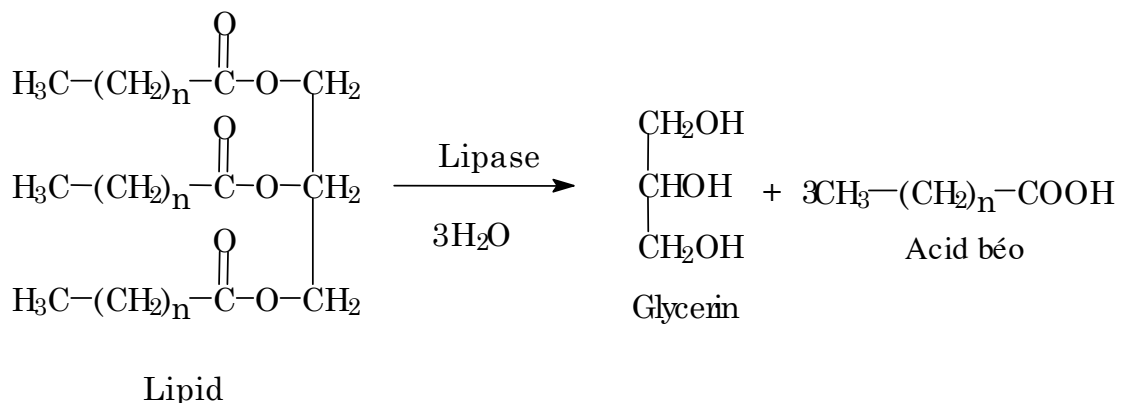


Kitin cũng được một số loài VSV phân giải mạnh (*Bacterium chitinovorum*):



9. SỰ PHÂN GIẢI LIPID VÀ CÁC ACID BÉO

Lipid (este của glycerin và acid béo) và các chất sáp (este của rượu cao phân tử và acid béo) là nguồn dinh dưỡng carbon và năng lượng cho nhiều loài VSV. So với các cơ chất khác thì các chất này được đồng hoá với tốc độ chậm. Lipid, sáp và các acid béo chứa trong xác động vật, thực vật bị vùi lấp vào trong đất sau một thời gian sẽ bị phân giải và đồng hoá hết nhờ hoạt động của nhiều nhóm VSV khác nhau (vi khuẩn, xạ khuẩn và nấm mốc). Các chất phá bọt (bản chất là các lipid) được sử dụng trong công nghiệp, nên ngoài tác dụng phá bọt cũng có thể được các VSV đồng hoá. Bước đầu tiên của quá trình đồng hoá lipid và sáp là việc thủy phân các chất này được phân giải thành acid béo và glycerin (hoặc rượu) nhờ lipase ngoại bào hoặc nội bào. Cũng có những nhóm vi khuẩn có khả năng tạo ra phospholipase xúc tác thủy phân các phospholipid.



Glycerin sau khi được phosphoryl hoá sẽ được chuyển hoá tiếp trong EMP để tạo ra ATP và pyruvat. Acid béo được thủy phân qua con đường ã-oxy hoá tạo ra acetyl-CoA (chuyển hoá 2 carbon từ mạch), và được chuyển hoá tiếp trong chu trình Krebs và Glyoxylat.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày con đường đường phân EMP và HMP, ý nghĩa của các con đường phân giải đường này đối với VSV.
2. Trình bày sự khác biệt giữa các con đường đường phân EMP, HMP và ED, sự phân giải các loại đường không phải là glucose.
3. Trình bày chu trình Krebs (chu trình tricarboxylic acid) và chuỗi hô hấp.
4. Trình bày các kiểu hô hấp kỵ khí, các quá trình lên men kỵ khí, và trình bày sự phân giải protein, lipid và các acid béo.

Chương 4

SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các điều kiện cần thiết đối với sinh trưởng của VSV.
2. Trình bày được đặc trưng sinh trưởng phát triển 4 pha của VSV.
3. Trình bày được các sản phẩm chính của VSV.
4. Trình bày được cơ chế tác dụng của các kháng sinh, và tính kháng kháng sinh của VSV.
5. Trình bày được các tác nhân sát khuẩn hoá học và vật lý.

Sinh trưởng và phát triển là thuộc tính cơ bản của thế giới hữu sinh bao gồm cả các VSV. Sinh trưởng là sự gia tăng kích thước và khối lượng tế bào, còn phát triển (hoặc sinh sản) là sự tăng trưởng số lượng tế bào. Tuy nhiên, để phân biệt rõ hai quá trình đã nêu một cách rạch ròi trong đa số trường hợp là rất khó khăn, do đó trong giáo trình này nếu không xác định rõ ràng thì khi đề cập đến sinh trưởng là bao gồm cả phát triển và ngược lại. Ngoài các chất dinh dưỡng còn cần có các điều kiện thích hợp VSV mới phát triển được, tuy nhiên, nhiều khi chúng ta lại cần phải sử dụng các phương pháp để tiêu diệt hết VSV hiện có.

1. ĐIỀU KIỆN CHO SINH TRƯỞNG VI SINH VẬT

Ngoài các chất dinh dưỡng còn có các điều kiện ngoại cảnh lý – hoá chủ yếu cần thiết cho sinh trưởng của VSV.

1.1. Độ ẩm

Đa số VSV ưa nước, cần nước ở dạng tự do, dễ hấp thụ. Chỉ có một số xạ khuẩn thuộc nhóm ưa khô – xerophylic – sử dụng được nước gắn trên hạt đất. Thiếu nước xảy ra hiện tượng loại nước khỏi tế bào và có thể dẫn đến VSV bị chết. Chịu được điều kiện khô là các VSV chi *Mycobacterium*, ví dụ: *M. tuberculosis*.

1.2. Nhiệt độ môi trường

VSV có thể tồn tại trong dải nhiệt độ rộng 2 – 100°C, tuy nhiên, có 3 mức nhiệt độ để VSV sinh trưởng được: nhiệt độ tối thiểu sinh trưởng được (minimum), nhiệt độ sinh trưởng tối thích (optimum) và nhiệt độ cực đại có thể sinh trưởng được (maximum). Nhiệt độ không những ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng mà còn ảnh hưởng đến kiểu sinh sản, hình thái, trao đổi chất và nhu cầu dinh dưỡng của VSV. Phụ thuộc vào nhiệt độ sinh trưởng VSV được chia thành 3 nhóm (bảng 4.1).

Bảng 4.1. Phân nhóm VSV theo nhiệt độ sinh trưởng

Nhóm vi sinh vật	Nhiệt độ sinh trưởng (°C)			Nơi sống
	Cực tiểu	Tối thích	Cực đại	
Ưa lạnh (psychrophilic)	0 – 5	5 – 15	15 – 20	Nước, vùng lạnh
Ưa ấm (mesophylic)	10 – 20	20 – 40	40 – 45	Đất, ký sinh gây bệnh
Ưa nóng (thermophylic)	25 – 45	45 – 60	60 – 80	Suối nước nóng, phân ủ

Các loài *Bacillus* trong đất có nhiệt độ sinh trưởng rộng: 15 – 40°C. *E. coli* sinh trưởng được trong khoảng nhiệt độ 10 – 47°C. *N. gonorrhoeae* phát triển được ở nhiệt độ 36 – 40°C. Đặc biệt dưới đáy Thái Bình Dương có loài vi khuẩn ưa nhiệt phát triển thích hợp ở nhiệt độ có thể lên đến hàng trăm độ bách phân (250 – 300°C).

Ngoài các nhóm trên còn có nhóm VSV chịu nhiệt (thermotolerant), sinh trưởng ở nhiệt độ trung bình, nhưng có thể chịu được nhiệt độ cao hơn: ví dụ: *Methylococcus capsulatus* sinh trưởng tốt ở 37°C, nhưng còn kéo dài sinh trưởng được ở 55°C.

Ở nhiệt độ thấp VSV không phát triển được do thay đổi cấu hình lập thể của các permease, làm bất hoạt các vận chuyển xuyên màng.

Ở nhiệt độ cao VSV bị chết do biến tính protein, các enzym, protein màng, kể cả ARN cũng bị biến tính.

1.3. Áp suất, thẩm áp, áp suất thủy tĩnh

Màng tế bào chất của VSV là màng bán thấm, do đó áp suất thẩm thấu và áp suất thủy tĩnh cũng ảnh hưởng đến sinh trưởng của VSV. Trong môi trường ưu trương, tế bào mất khả năng rút nước và các chất dinh dưỡng hoà tan xung quanh, tế bào bị khô sinh lý, co nguyên sinh chất và có thể bị chết nếu kéo dài. Nhưng khi trong dung dịch nhược trương, tế bào VSV bị nước xâm nhập, nếu thành không chắc sẽ bị vỡ. Dung dịch muối 10 – 15%, đường 50 – 80% làm co sinh chất của VSV. Đa số VSV phát triển tốt trong môi trường có nồng độ muối ít hơn 2%, nồng độ muối cao thường có hại. Có VSV ưa muối (halophylic) phát triển được với nồng độ muối đến 30%, VSV ưa đường (saccharophylic) phát triển được với nồng độ đường cao, hoặc ưa thẩm áp (osmophylic).

Ở nhiệt độ thường, áp suất cao có thể làm giảm động lực của VSV, nhưng không làm VSV chết. Nhiều vi khuẩn dưới đáy biển chịu được áp suất 200 – 300atm, được gọi là các vi khuẩn ưa áp (barophylic).

1.4. Khí quyển

Trong điều kiện tự nhiên, VSV cần một số chất khí như O₂, CO₂, N₂ và CH₄. Khi nuôi cấy, có chất khí được sử dụng trong trao đổi chất của tế bào, nhưng cổ khí lại phải loại bỏ khỏi môi trường do độc tính. CO₂ được các VSV sử dụng trong một số phản ứng. Oxy cần thiết cho các VSV hiếu khí, nhưng lại là độc đối với các VSV kỵ khí. Phụ thuộc vào nhu cầu oxy người ta chia VSV ra thành các nhóm sau:

– Hiếu khí bắt buộc: Sự hiện diện của oxy phân tử (O₂) là tối cần thiết cho sinh trưởng của VSV có chứa enzym SOD (superoxid dismutase) và peroxydase. Đa số vi nấm và số đông vi khuẩn thuộc nhóm này.

– Hiếu khí không bắt buộc: Sinh trưởng được cả trong điều kiện có oxy, cũng như không có oxy, có chứa SOD và peroxydase. Đa số nấm men và nhiều vi khuẩn thuộc nhóm này: *S. cerevisiae*, *E. coli*, *P. vulgaris*,...

– Vi hiếu khí: Các VSV thuộc nhóm này chỉ có thể phát triển được trong điều kiện áp suất oxy rất thấp (0,01 – 0,03ba). VSV có chuỗi hô hấp oxy phân tử, tiếp nhận hydro, bao gồm *Vibrio cholera*, *Bacterioides spp*,...

– Kỵ khí chịu đựng: Kỵ khí, nhưng tồn tại được khi có oxy, không có chuỗi hô hấp, có SOD, peroxydase, nhưng thiếu enzym hydrogenperoxydase, bao gồm *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*,...

– Kỵ khí: Sự có mặt của oxy phân tử là có hại. Trong tế bào không có SOD, cytochromoxydase, phần lớn không có hydrogenperoxydase. Đó là nhiều loài trong các chi *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Butyrivibrio*, *Desulfovibrio*, *Veillonella*,...

1.5. pH môi trường

Mỗi loài VSV có một độ pH tối thích cho sinh trưởng. Để sinh trưởng được trong môi trường acid hoặc kiềm, VSV phải duy trì được pH nội bào là 7,5, bất kể pH môi trường ngoại bào là bao nhiêu. Tế bào sống có khả năng duy trì pH nội bào ổn định bằng cách đẩy ra khỏi hoặc hấp thụ ion H^+ vào tế bào. Đa số vi khuẩn sinh trưởng tốt nhất ở pH 6 – 8. Một số loài sinh trưởng ở pH 9 – 11 (*Vibrio cholerae*, *Bacillus sp.*), vi khuẩn lactic trong dưa muối chịu được pH 3 – 4. Nấm mốc, nấm men có khoảng pH sinh trưởng rộng hơn vi khuẩn, nhưng pH tối thích là 5 – 6.

Khi VSV sinh trưởng mạnh, pH môi trường sẽ bị thay đổi. Sự thay đổi pH quá lớn có thể sẽ có tác động kìm hãm sinh trưởng của VSV, vì vậy cần bổ sung chất có tính đệm vào môi trường để ngăn cản sự biến đổi của pH.

Ngoài các nhân tố đã nêu vẫn còn nhiều tác nhân ngoại cảnh ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển của VSV, nhưng do vượt quá khuôn khổ của giáo trình nên không thể đề cập được, đó là: sức căng bề mặt, âm thanh, ánh sáng, thế oxy hoá khử,... cũng đáng để tham khảo thêm.

2. SINH SẢN CỦA VI KHUẨN

Đa số vi khuẩn sinh sản bằng con đường vô tính, phổ biến là phân đôi theo chiều ngang – mỗi tế bào phân thành 2 tế bào con có kích thước tương đương nhau. Trước khi phân chia, nội chất tế bào được tăng lên gấp đôi và thể nhân được sao chép. Khi tế bào mẹ tăng trưởng, màng tế bào cũng tăng theo và thể nhân tách biệt ra thành hai. Phân bào diễn ra ở vùng giữa hai thể nhân khi màng tế bào chất gần phần giữa của tế bào tăng trưởng thắt vào bên trong, cùng lúc thành tế bào mới sinh cũng phát triển thắt vào bên trong tạo thành vách ngang giữa hai tế bào con. Tế bào con có thể tách riêng hoàn toàn hay vẫn gắn với tế bào mẹ tạo thành đôi, nhóm hay thành chuỗi.

Một số vi khuẩn, ví dụ như *Rhodopseudomonas acidiphia*, *Mycobacterium tuberculosis* sinh sản bằng nảy chồi giống như nấm men.

3. SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA QUẦN THỂ VI KHUẨN

Sinh trưởng và phát triển của quần thể vi khuẩn đã được các nhà khoa học nghiên cứu sâu sắc, và một số mô hình toán học cũng đã được thiết lập. Những mô hình ấy cũng có thể áp dụng được cho các VSV đơn bào khác. Nghiên cứu sinh trưởng ở một tế bào vi khuẩn nhỏ bé là rất khó khăn, nên cần chú ý là khi nói về sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn là đề cập đến sinh trưởng và phát triển của lượng lớn tế bào của cùng một loài.

3.1. Thế hệ sinh trưởng của vi sinh vật

Khi cấy vi khuẩn vào môi trường dinh dưỡng mới, các chất dinh dưỡng đều dư thừa thì sau thời gian thích nghi, VSV chuyển sang thời kỳ phát triển rất mạnh mẽ, tốc độ sinh trưởng riêng của VSV không đổi, không phụ thuộc vào nồng độ các chất dinh dưỡng. Lúc này ta quan tâm đến khoảng thời gian VSV tăng sinh khối (số tế bào) lên gấp đôi. Đây chính là thời gian thế hệ (t_g), hay thời gian bội đôi (t_d), đặc trưng cho VSV trong điều kiện nhất định. Thời gian thế hệ được xác định bằng cách sau:

Tại thời điểm $t_0 = 0$, sinh khối VSV là x_0 ,

Sau 1 thế hệ, t_1 , sinh khối sẽ là $x_1 = 2x_0$. (3.1)

Sau 2 thế hệ, t_2 , ta có $x_2 = 2x_1 = 2^2x_0$. (3.2)

...

$$\text{Và sau } n \text{ thế hệ, } t_n, \text{ ta có } x^n = 2^n x_0. \quad (3.3)$$

(Với x là sinh khối khô hay số tế bào VSV).

Lấy logarit 2 về đối với (3.3):

$$\lg x_n = n \lg 2 + \lg x_0 \quad (3.4)$$

Mà $n = t_n/t_g$, với $t = t_n$ là thời gian nuôi cấy. Thay n vào (3.4) ta có:

$$t_g = tx \lg 2 / (\lg x_n - \lg x_0) \quad (3.5)$$

Và thời gian thế hệ (t_g) thu được ở đây là giá trị trung bình.

Mỗi loài VSV có thời gian thế hệ riêng, ngay ở mỗi loài thời gian thế hệ này cũng khác nhau, nếu điều kiện nuôi cấy khác nhau. Ví dụ, thời gian thế hệ của *E. coli* trong môi trường giàu dinh dưỡng là 12,5 phút, của *Mycobacterium tuberculosis* là 13 – 15 giờ.

Ví dụ: Nếu cấy 10^3 tế bào *E. coli* vào môi trường dinh dưỡng, sau thời gian nuôi cấy 5 giờ đạt được 10^8 tế bào. Tính thời gian thế hệ trung bình của quần thể vi khuẩn đang khảo sát ? Thay số liệu vào (3.5) ta có:

$$t_g = 5 \times 0,301 / (8 - 3) = 0,301 \text{ giờ.}$$

Như vậy trung bình cứ sau 18,06 phút, số lượng tế bào (hay sinh khối khô) của quần thể *E. coli* đang khảo sát lại được nhân lên gấp đôi.

3.2. Các pha sinh trưởng, phát triển của vi khuẩn

Nuôi cấy vi khuẩn để tĩnh, hay được lắc trên máy lắc sinh học hay trong các bình lên men (hay bình phản ứng sinh học) trong môi trường dịch thể hay còn được gọi là lên men chìm là các hệ thống đảm bảo sinh trưởng, phát triển của VSV được nghiên cứu sâu sắc nhất và có những đặc trưng đặc thù riêng. Thông thường các VSV phát triển theo 4 pha đặc thù, tuy nhiên, có nghiên cứu công bố mô hình sinh trưởng, phát triển của VSV với 5 pha đặc thù, cũng như có quan niệm cho rằng VSV sinh trưởng và phát triển với 2 pha đặc trưng. Tuy nhiên ở đây chúng ta chỉ đề cập sinh trưởng, phát triển phổ biến nhất của VSV với 4 pha đặc thù mà thôi.

Tại thời điểm $t = 0$ giờ, cấy giống VSV vào môi trường dinh dưỡng rồi tiến hành nuôi cấy trong điều kiện sinh lý tối ưu. Trong quá trình nuôi cấy thành phần của hệ – sinh khối VSV, nồng độ các sản phẩm trao đổi chất – biến đổi không ngừng. Về sinh trưởng, phát triển VSV, phân biệt 4 pha đặc thù: pha lag (pha tiềm tàng), pha log (còn gọi là pha lũy thừa), pha dừng và pha suy tàn.

3.2.1. Pha lag (pha thích ứng)

Khi cấy các tế bào VSV từ môi trường này sang môi trường khác trong khoảng thời gian đầu, số tế bào không thay đổi (không tăng), nhưng thành phần tế bào thay đổi mạnh mẽ. Đây là pha phát triển tiềm tàng để VSV thích nghi với môi trường mới. Các hệ thống chuyển hoá của tế bào cảm ứng với các chất dinh dưỡng mới, thải và nhận các chất bổ trợ (Co-factor) thiết yếu qua khuếch tán và các enzym trao đổi chất dần thích nghi với các điều kiện mới của môi trường.

Trong việc hình thành pha lag này, trạng thái sinh lý của giống có ý nghĩa quyết định. Nếu giống là các VSV thể sinh dưỡng (vegetative) thì VSV hầu như phát triển luôn, thời gian pha lag ngắn. Nếu giống là các tế bào dạng không phát triển (bào tử, đỉnh bào tử, VSV từ môi trường nghèo,...) thì thời gian pha lag cần dài để thích nghi.

3.2.2. Pha log (pha lũy thừa)

Cuối pha lag, các tế bào đã thích nghi với điều kiện sống mới và bắt đầu phát triển mạnh mẽ – quần thể VSV chuyển dần sang pha phát triển mới là pha log, pha phát triển năng động nhất.

Nếu ta gọi x là nồng độ sinh khối khô của VSV trong dịch lên men thì dx/dt là tốc độ tăng trưởng sinh khối trong 1 đơn vị thời gian. Gọi μ là tốc độ tăng trưởng sinh khối riêng của VSV, ta có:

$$\mu = \frac{1}{x} x \frac{dx}{dt} \quad (3.6)$$

Giả sử μ = không đổi (const), lại có:

$$\frac{dx}{x} = \mu dt \rightarrow \int_{x_0}^x \frac{dx}{x} = \int_0^t \mu dt \quad (3.7)$$

$$\Leftrightarrow \ln \frac{x}{x_0} = \mu t \Leftrightarrow \ln x = \mu t + \ln x_0 \quad (3.8)$$

$$\Leftrightarrow x = x_0 \times e^{\mu t} \quad (3.9)$$

Vậy dưới dạng hàm logarit, sinh trưởng, phát triển của VSV có dạng hàm tuyến tính, do đó, pha này có tên gọi là pha log. Tuy nhiên, hàm lũy thừa cũng được sử dụng để biểu diễn quá trình này, vì vậy cũng còn gọi là pha lũy thừa.

Khi dinh dưỡng cạn dần, nghiên cứu về sinh trưởng, phát triển của VSV, Monod thấy rằng, tốc độ sinh trưởng riêng μ phụ thuộc vào nồng độ chất ức chế – chất bắt đầu thiếu hụt (S), tốc độ sinh trưởng riêng cực đại (μ_m) và hệ số đặc hiệu cơ chất K_S :

$$\mu = \mu_m \times S / (K_S + S) \quad (3.10)$$

Giá trị K_S chính là nồng độ cơ chất mà tại đó tốc độ sinh trưởng riêng chính bằng 1/2 tốc độ sinh trưởng riêng cực đại ($\mu = 0,5 \times \mu_m$).

Tuy nhiên, nếu cùng một lúc có nhiều chất dinh dưỡng đang cùng ức chế thì phải mở rộng công thức trên:

$$\mu = \mu_m \times [(k_1 S_1 / (K_{S1} + S_1)) + k_2 S_2 / (K_{S2} + S_2) + \dots + k_j S_j / (K_{Sj} + S_j)] / \sum k_j \quad (3.11)$$

Nếu tất cả các chất dinh dưỡng đều dư thừa, tức là $\mu = \mu_m$, VSV phát triển trong pha log. Nếu 1 chất dinh dưỡng bị cạn kiệt, do còn các chất khác mà xuất hiện 1 pha log khác với tốc độ sinh trưởng riêng khác (μ_2). Trong thực tế các giá trị của K_S rất bé. Ví dụ: *E. coli* có $K_{S, glu} = 1,0\text{mg/l}$, $K_{S, trypt} = 1,1\text{mg/l}$. Các giá trị K_S rất bé này chính là lời giải thích cho quá trình lên men gián đoạn mà tại thời điểm pha log hệ thống không đạt đến các giá trị K_S rất bé này. Tuy nhiên, vì lượng sinh khối lớn và ngày càng tăng lên mà trong thời gian tương đối ngắn – do cạn kiệt các chất dinh dưỡng – bắt đầu giai đoạn khởi điểm của pha dừng.

Tuy nhiên, mô hình Monod không ứng dụng được trong những trường hợp mà VSV phát triển rất nhanh: mặc dù có đủ chất dinh dưỡng trong môi trường, nhưng nồng độ của chúng trong miền lân cận tế bào trở thành ức chế.

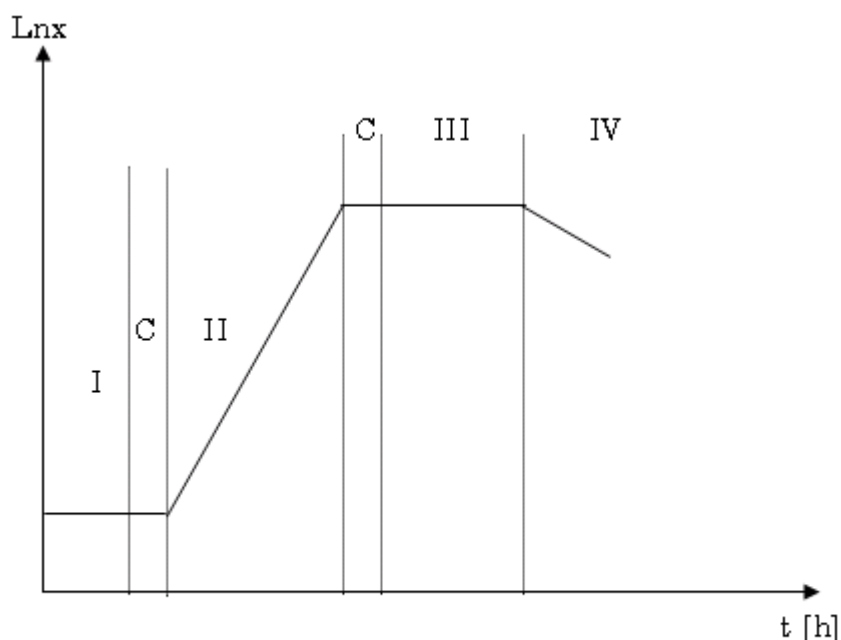
* Hiện tượng sinh trưởng kép: Trường hợp môi trường dinh dưỡng phức hợp thường nhận thấy 2 pha log, giữa chúng có 1 pha lag phân cách. Hiện tượng này gọi là hiện tượng sinh trưởng kép, do trong môi trường có 2 loại hydratcarbon: trước tiên VSV phân giải 1 chất (thường là glucose). Sự có mặt glucose ngăn trở sự phân giải các chất khác. Chỉ sau khi đồng hoá hết chất dinh dưỡng đầu, trong pha lag thứ hai, các enzym cảm ứng mới được tạo ra sẽ tiếp tục đồng hoá chất còn lại.

3.2.3. Pha dừng hay pha ổn định

Sau khi đồng hoá các chất dinh dưỡng hay sau khi tích lũy các sản phẩm trao đổi chất, sinh trưởng của VSV giảm xuống hay hoàn toàn ngừng lại. Trong pha ổn định này, sinh khối có thể còn tăng chậm hoặc không đổi. Do sự tự phân của một số tế bào, một số chất dinh dưỡng mới (hydratcarbon, protein) được giải phóng, điều này đưa lại sự phát triển chậm của một số tế bào sống sót. Trong pha dừng này, rất nhiều sản phẩm trao đổi chất có giá trị (kháng sinh, vitamin,...) được tạo thành.

3.2.4. Pha suy tàn

Đặc trưng của pha này là các chất dinh dưỡng bị cạn kiệt, năng lượng của tế bào giảm đến tối thiểu. Tế bào chết đi theo quy luật giống như khi tăng trưởng trong chu kỳ sinh trưởng (tuy nhiên với khuynh hướng ngược lại) (hình 4.1).



Hình 4.1. Đường cong sinh trưởng, phát triển của vi khuẩn

Với: C – Các pha chuyển tiếp,
I – pha lag, II – pha log, III – pha dừng, IV – pha suy tàn.

Đặc trưng của pha dừng hay pha suy tàn phụ thuộc vào từng loài VSV và vào phương pháp nuôi cấy được ứng dụng. Từ quan điểm công nghệ, người ta kết thúc quá trình nuôi cấy vào cuối pha log, trong pha dừng hay pha suy tàn phụ thuộc vào việc sinh tổng hợp hoạt chất bị đình chỉ – hay trở nên không còn kinh tế nữa – ở pha nào trong chu kỳ sinh trưởng của VSV.

4. CÁC SẢN PHẨM TRAO ĐỔI CHẤT CỦA VI SINH VẬT

Ngoài các sản phẩm chuyển hoá đã nêu trên cũng như các chất là thành tố tạo thành cấu trúc tế bào, VSV còn tạo ra hàng loạt các sản phẩm trao đổi chất khác. Các chất do vi khuẩn nói riêng và các VSV nói chung tạo ra có thể là có hại đối với con người, nhưng cũng có thể là các sản phẩm hữu ích được sử dụng trong y dược học cũng như trong các ngành kinh tế kỹ thuật khác.

4.1. Độc tố

Độc tố là sản phẩm được tạo ra trong quá trình sinh trưởng, phát triển của nhiều vi khuẩn gây bệnh. Có hai loại độc tố:

- Ngoại độc tố là chất độc được vi khuẩn, vi nấm tiết ra ngoài cơ thể, thường là độc tố của trực khuẩn G^+ hay của nấm gây bệnh. Ngoại độc tố có độc tính rất mạnh, ví dụ: chỉ cần 0,02mg ngoại độc tố bạch hầu, hoặc 0,0006mg ngoại độc tố uốn ván là có thể gây chết người. Độc tố này là protein tan được trong nước.

– Nội độc tố là độc chất của trực khuẩn G^- , của các vi khuẩn đường ruột. Độc tính không mạnh bằng ngoại độc tố, ví dụ: nội độc tố thương hàn phải cần tới 400mg mới gây chết người. Bản chất nội độc tố là phức hợp glucid–lipid–protein. Nội độc tố nằm bên trong tế bào và chỉ được giải phóng ra ngoài khi các tế bào bị phá vỡ.

4.2. Chất gây sốt

Một số vi khuẩn có khả năng tạo ra hợp chất gây sốt (pyrogen), khi tiêm cho người hay súc vật gây nên phản ứng sốt. Chất gây sốt không bị nhiệt độ phá huỷ nên sấy, hấp không phá huỷ được chất gây sốt. Muốn loại bỏ được chất gây sốt phải lọc qua phễu lọc thuỷ tinh G5 hay màng lọc amiăng. Nước dùng để pha thuốc tiêm nhất thiết không được phép chứa chất gây sốt.

4.3. Các vitamin

Nhiều loài VSV có khả năng sinh tổng hợp được vitamin (nhóm B, C, D,...).

– Ergocalciferol (Vitamin D) có nhiều trong nấm men (*Sac. carlsbergensis*), nấm mốc *Asp. niger*, *Penicillium*,..., tuy nhiên ở vi khuẩn ít hơn.

– Thiamin (Vitamin B_1) có trong *Pseudomonas fluorescens*, *Torulopsis utilis*,...

– Pyridoxin (Vitamin B_6) có trong *Aerobacter aerogenes*, *C. butyricum*,...

Tuy nhiên, chỉ có hai vitamin được sản xuất trên quy mô công nghiệp bằng lên men VSV, đó là vitamin B_2 (riboflavin) nhờ nấm *Eremothecium ashbyii* và *Ashbya gossypii*, trong đó hiệu suất của *Ashbya gossypii* là cao hơn. Vitamin B_{12} được sản xuất nhờ lên men *Pseudomonas denitrificans*, *Propionibacterium shermanii*,...

4.4. Các kháng sinh

4.4.1. Định nghĩa kháng sinh

Kháng sinh là lớp hoạt chất hữu ích có tác dụng sinh học rất mạnh (nếu không nói là mạnh nhất) mà VSV tạo ra được, do đó được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Có nhiều cách định nghĩa về kháng sinh: định nghĩa hẹp, định nghĩa rộng,... song định nghĩa chặt chẽ theo Waksman (1942) có ý nghĩa kinh điển:

Kháng sinh là những sản phẩm trao đổi chất tự nhiên được các VSV tạo ra, có tác dụng ức chế phát triển hoặc tiêu diệt chọn lọc đối với các VSV khác.

Tuy nhiên định nghĩa này khá hạn chế, vì như vậy, nhóm các kháng sinh thực vật, cũng như các kháng sinh bán tổng hợp, các kháng sinh được tổng hợp toàn phần và các hợp chất hoá học có tác dụng tiêu diệt chọn lọc các VSV nhiễm sinh khác đều không được đề cập đến. Ngày nay, một cách cấp thiết, thuật ngữ kháng sinh – theo nghĩa rộng – có thể sử dụng (tuy nhiên các nhà khoa học vẫn chưa hết tranh luận) đại diện cho lớp tất cả các hợp chất nguồn gốc tự nhiên hoặc tổng hợp có tác dụng ức chế hoặc tiêu diệt chọn lọc đối với các VSV nhiễm sinh (cũng như cả với tế bào ung thư) ở nồng độ thấp, mà không có tác dụng hoặc tác dụng yếu lên người, động vật, hoặc thực vật bằng con đường cung cấp chung.

Kháng sinh là sản phẩm trao đổi chất thứ cấp chỉ được sinh tổng hợp mạnh mẽ ở giai đoạn phát triển sau (pha logarit muộn, pha dừng, thậm chí pha suy tàn) của sinh trưởng VSV.

4.4.2. Một số kháng sinh được quan tâm

Vi khuẩn, nấm, thực vật, v.v.,... có thể sinh tổng hợp được kháng sinh, tuy nhiên ở đây chúng ta chỉ đề cập đến các kháng sinh được sản xuất nhờ vi sinh tổng hợp mà thôi (bảng 4.2).

Bảng 4.2. Một số kháng sinh đại diện, chủng sản xuất và tác dụng

Kháng sinh	Chủng sinh tổng hợp	Phổ tác dụng
Actinomycin	<i>Streptomyces antibioticus</i>	Ung thư
Acid clavulanic	<i>Streptomyces clavuligerus</i>	Vi khuẩn G ⁺
Adriamycin	<i>Streptomyces peucetius</i>	Ung thư
Amphotericin B	<i>Streptomyces nodosus</i>	F
Bacitracin	<i>Bacillus licheniformis</i>	Vi khuẩn G ⁺ và G ⁻
Bleomycin	<i>Streptomyces verticillius</i>	Ung thư
Candididin	<i>Streptomyces griseus</i>	F
Cephalosporin C	<i>Cephalosporium acremonium</i>	Vi khuẩn G ⁻ và G ⁺
Cloramphenicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>	Vi khuẩn G ⁺ và G ⁻
Daunomycin	<i>Streptomyces peucetius</i>	Ung thư (leuchochimie)
Erythromycin	<i>Streptomyces erythreus</i>	Vi khuẩn G ⁺
Fortimicin	<i>M. olivoasterospora</i>	Vi khuẩn G ⁻ và G ⁺
Gentamicin	<i>Micromonospora purpurea</i>	Vi khuẩn G ⁻ và G ⁺
Fumagillin	<i>Asp. fumigatus</i>	Kỹ sinh trùng

Gramicidin	<i>Bacillus brevis</i>	Vi khuẩn G ⁺
Griseofulvin	<i>Penicillium griseofulvum</i>	F
Kanamycin	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	Vi khuẩn G ⁻ , G ⁺ và Myco
Kasugamycin	<i>Streptomyces kasugaensis</i>	Vi khuẩn G ⁺ và G ⁻ và F
Lincomycin	<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Vi khuẩn G ⁺
Monensin	<i>Streptomyces cinnamonensis</i>	Vi khuẩn G ⁺ , F và Myco
Neomycin	<i>Streptomyces fradiae</i>	Vi khuẩn G ⁺ và G ⁻
Novobiocin	<i>Streptomyces spheroides</i>	Vi khuẩn G ⁺
Nystatin	<i>Streptomyces noursei</i>	F
Oleandomycin	<i>Streptomyces antibioticus</i>	Vi khuẩn G ⁺
Oxytetracyclin	<i>Streptomyces rimosus</i>	Vi khuẩn G ⁺ và G ⁻
Paramomycin	<i>Streptomyces rimosus</i>	Đơn bào
Penicillin	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Vi khuẩn G ⁺
Polymyxin	<i>Bacillus polymyxa</i>	Vi khuẩn G ⁻
Pymaricin	<i>Streptomyces natalensis</i>	F
Rifamicin	<i>Nocardia mediterranei</i>	Vi khuẩn G ⁺ và Myco.
Spiramycin	<i>Streptomyces ambofaciens</i>	Vi khuẩn G ⁺
Streptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>	Vi khuẩn G ⁺ , G ⁻ và Myco.
Tetracyclin	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Vi khuẩn G ⁺ và G ⁻
Tienamycin	<i>Streptomyces cattleya</i>	Vi khuẩn G ⁺ và G ⁻
Trichomycin	<i>Streptomyces hachijoensis</i>	F và đơn bào
Tylosin	<i>S. fradiae</i> , <i>S. hygroscopicus</i>	Vi khuẩn G ⁺
Validamycin	<i>S. hygroscopicus</i> var. <i>limonensis</i>	Vi khuẩn G ⁺ , G ⁻ và F
Vancomycin	<i>Streptomyces orientalis</i>	Vi khuẩn G ⁺

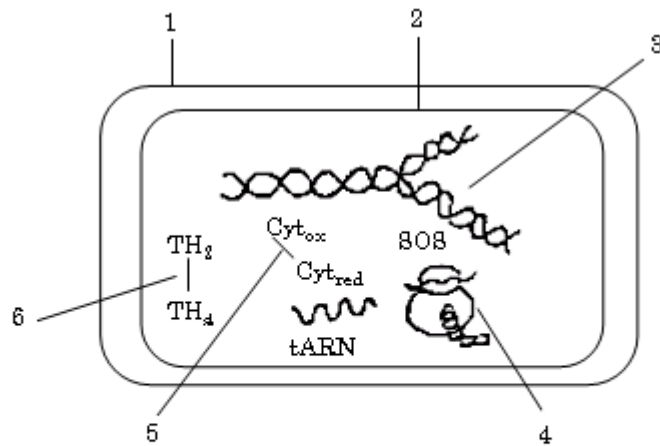
Với: F – nấm; Myco. – *Mycobacterium*.

4.4.3. Cơ chế tác dụng của kháng sinh

Mỗi kháng sinh đều có đích tác dụng nhất định trong các tế bào VSV mẫn cảm, tuy nhiên có thể khái quát thành 6 nhóm đích tác dụng chính (hình 4.2):

1. **Tổng hợp thành tế bào:** β -lactam (penicilin), vancomycin, bacitracin.
2. **Màng tế bào chất:** amphotericin, poly-en, valinomycin.
3. **ADN:** actinomycin, antracyclin, anзамycin (rifamicin).
4. **Tổng hợp protein:** ribosome (aminoglycosid), Liên kết t-ARN (macrolid), chlorocid, kéo dài mạch polypeptid (tetracyclin, acid fuzidic).
5. **Trao đổi chất hô hấp:** antimycin, oligomycin.

6. Trao đổi chất folat: sulfamid,...



Hình 4.2. Các đích tác dụng chính của kháng sinh

1. Thành tế bào; 2. Màng tế bào chất; 3. Tổng hợp ADN; 4. Tổng hợp protein;
5. Trao đổi chất hô hấp; 6. Trao đổi chất folat.

4.4.4. Cơ chế kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn

4.4.4.1. Tính kháng thuốc

Khi xử lý VSV với các kháng sinh khác nhau, nhận thấy rằng:

- Một số vi khuẩn như *Pneumococcus*, *Gonococcus*, *Meningococcus*, *Haemophilus influenzae* có độ nhạy cảm kháng sinh khá đồng nhất.
- Các vi khuẩn khác: *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas pyocianae*,... lại có độ mẫn cảm rất thay đổi, do đó khảo sát độ nhạy kháng sinh rất khó khăn.

Tuy nhiên việc sử dụng kháng sinh chưa hợp lý, hay nói đúng là sử dụng sai, tràn lan kháng sinh trong điều trị cũng như trong chăn nuôi đã xuất hiện ngày càng nhiều các VSV kháng kháng sinh (nhờn thuốc) làm cho kháng sinh không còn hiệu nghiệm nữa. Sự xuất hiện của VSV kháng kháng sinh và các chất hoá trị liệu khác là vấn đề thời sự của Y sinh – Dược học hiện đại.

Định nghĩa: Kháng thuốc là hiện tượng VSV mất đi tính nhạy cảm ban đầu của nó trong một thời gian hay vĩnh viễn với tác dụng của kháng sinh hay hoá trị liệu.

Có 2 kiểu kháng thuốc: Kháng thuốc tự nhiên và kháng thuốc mới nhận (Acquired Resistance).

a) Kháng thuốc tự nhiên

Kháng thuốc tự nhiên là đặc trưng của từng nòi VSV nhất định đối với một số kháng sinh nhất định nào đó. Tính chất này đã có sẵn trước khi sử dụng các kháng sinh đó. Điều này liên quan đến phổ tác dụng của kháng sinh, có thể đặc trưng cho từng loài (*Proteus* kháng các tetracyclin), cho từng nhóm (trực khuẩn G⁻ kháng penicillin G), từng sản phẩm (*Streptococcus* nhóm D kháng lincomycin). Về mặt sinh hoá, có 2 cơ chế quan trọng: tính thấm của tế bào và sự thiếu vắng phân tử đích.

b) Kháng thuốc mới nhận

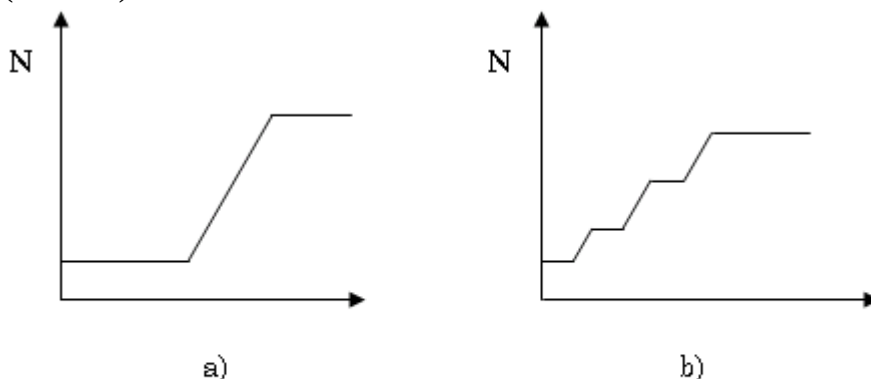
Xuất hiện trong chọn lọc tự nhiên các chủng đề kháng của quần thể VSV nhạy cảm khi sử dụng kháng sinh. Một VSV trở thành kháng thuốc khi có thể phát triển được với hàm lượng cao đáng kể của kháng sinh ấy so với quần thể VSV mà nó có nguồn gốc. Đề kháng sinh học (biological resistance) là hiện tượng có những cá thể của một loài do thu được những đặc tính di truyền mà giảm thiểu hoặc mất hẳn tính nhạy cảm thuốc so với những cá thể cùng loài. Khi mức độ đề kháng tăng lên, chủng thoát khỏi sự điều trị – không thể kiểm soát bệnh bằng kháng sinh đó được hay bệnh không chữa được – ta nói đến đề kháng điều trị (therapeutical resistance) hay kháng thuốc lâm sàng. Những cá thể đề kháng sinh học không nhất thiết phải là đề kháng điều trị.

4.4.4.2. Cơ chế di truyền học tính kháng thuốc

Trên phương diện di truyền học, kháng thuốc mới nhận có thể là do sự thay đổi gen nhiễm sắc thể (đột biến nhiễm sắc thể), có thể do tiếp nhận gen plasmid (đề kháng plasmid hay ngoài nhiễm sắc thể).

a) Kháng thuốc do đột biến nhiễm sắc thể

Dưới tác dụng của kháng sinh việc tiêu diệt các vi khuẩn mẫn cảm tạo ra sự tuyển chọn ngẫu nhiên các đột biến mới xuất hiện và chúng được phát triển nhân lên. Đột biến kiểu này ít ổn định và ít di truyền. Kiểu đột biến này chịu ảnh hưởng của từng nhóm kháng sinh: có dạng xuất hiện rất mạnh mẽ (một bước – kiểu streptomycin), hoặc từ từ (nhiều bước – kiểu penicillin). Kiểu kháng thuốc này chiếm khoảng 10% tổng số VSV kháng thuốc, xuất hiện chủ yếu đối với các kháng sinh như: β -lactam, aminosid, cloramphenicol, erythromycin, rifamicin,... và các kháng sinh tác dụng với các *Mycobacteria* (hình 4.3).



Hình 4.3. Các kiểu kháng thuốc nhiễm sắc thể

a) Kiểu streptomycin; b) Kiểu penicilin.

b) Kháng thuốc plasmid

Kiểu kháng thuốc này rất phổ biến, chiếm 90% số VSV kháng thuốc. Kháng thuốc ngoài nhiễm sắc thể là hiện tượng đa kháng thuốc do nhân tố R (Resistance factor – plasmid). Nhân tố R chính là các plasmid chứa các gen điều khiển tính kháng thuốc. Các gen này thông qua các cơ chế di truyền – tải nạp (transduction), biến nạp (transformation), tiếp hợp (conjunction) – chuyển tải thông tin di truyền kháng thuốc từ tế bào này sang tế bào khác, loài này sang loài khác. Các nhân tố R – plasmid – là những đơn vị di truyền ngoài nhiễm sắc thể, bao gồm những phân tử ADN dạng vòng khép kín có độ lớn khác nhau với phân tử lượng từ 1 – 260 MDa, tương ứng khoảng 3 – 500 gen và có khả năng tự sao chép, tồn tại trong các tế bào VSV.

Hiện tượng kháng chéo là hiện tượng vi khuẩn khi kháng một kháng sinh thì đồng thời kháng luôn một số kháng sinh khác có cấu trúc tương tự. Ví dụ: các chủng *Staphylococcus* kháng penicilin G và các β -lactam khác như ampicilin, cephalosporin.

4.4.4.3. Cơ chế sinh hoá kháng thuốc mới nhận

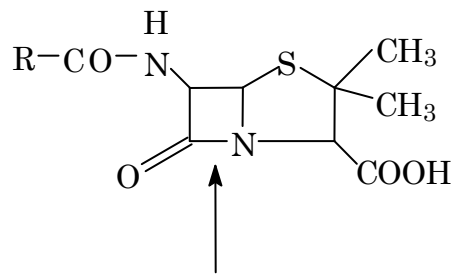
Có 4 kiểu chính:

a) Thay đổi tính thấm thành tế bào

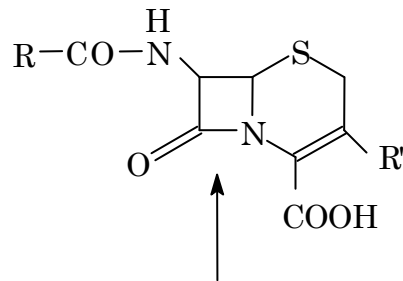
Để đạt được điều này có thể thay đổi enzyme chịu trách nhiệm tính thấm, vì vậy kháng sinh không thấm qua được thành tế bào (kháng β -lactam, hay tetracyclin) không phát huy tác dụng được, hay có thể thay đổi kháng sinh bằng enzyme (aminosid).

b) Vô hiệu hoá các kháng sinh bằng enzyme

– β -lactam: Các β -lactamase phá vỡ vòng β -lactam mà vô hiệu hoá kháng sinh.



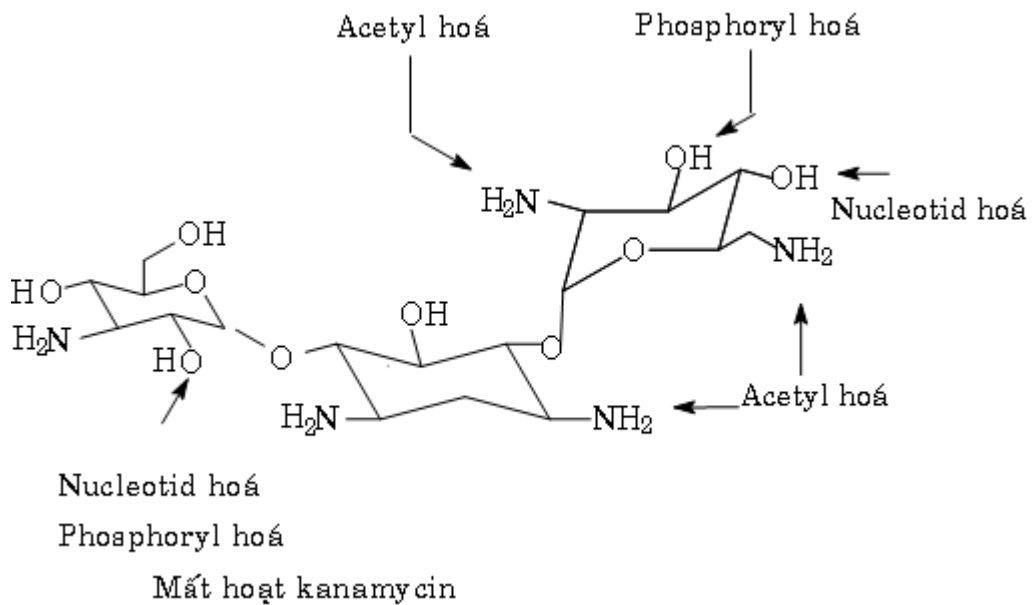
Vị trí tác dụng của β -lactamase



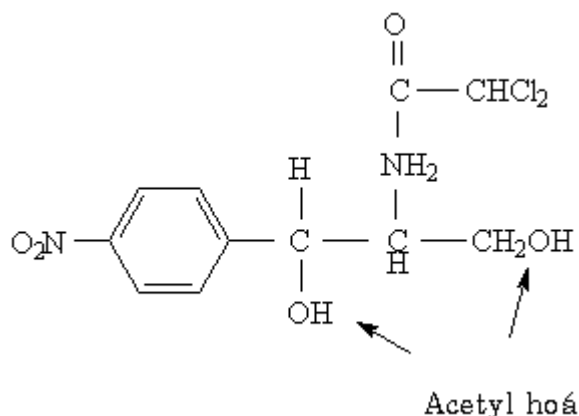
Vị trí tác dụng của β -lactamase

Các β -lactamase khác nhau về hệ số enzyme và tính đặc hiệu cơ chất và điểm đẳng điện. Có thể chia các β -lactamase thành: penicillinase, cephalosporinase và penicillinase phổ rộng.

- Các *aminosid* bị thay đổi không qua được thành tế bào, cũng như bị mất tác dụng do các enzyme là adenylase và phosphorylase tác dụng lên các vị trí nhóm $-OH$ và acetylase acetyl hoá các nhóm $R-NH_2$ (chúng có tính đặc hiệu cơ chất, vị trí,...).



- *Cloramphenicol* bị mất hoạt tính do enzyme acetyltransferase plasmid



Mất hoạt cloramphenicol.

c) Thay đổi phân tử đích

Phân tử đích, nơi tác dụng của kháng sinh bị thay đổi, kháng sinh không còn nơi liên kết, ví dụ: thay đổi protein ribosom liên kết với streptomycin hay thay đổi ARN-polymerase liên kết với rifamicin.

d) Hoạt hoá con đường trao đổi chất thay thế khác mà hoạt chất không tác dụng.

4.4.4.4. Nguyên tắc sử dụng kháng sinh

Như vậy việc sử dụng kháng sinh chưa hợp lý trong điều trị đã làm xuất hiện ngày càng nhiều VSV kháng thuốc. Để khắc phục hiện tượng đó, cần thực hiện một số nguyên tắc sau:

- Phân lập chủng VSV gây bệnh và thử độ nhạy của chủng với các kháng sinh (lập kháng sinh đồ) bằng phương pháp khoanh giấy lọc,...
- Chọn kháng sinh có hoạt tính mạnh nhất.
- Quyết định liều dùng, cách đưa kháng sinh vào cơ thể, và điều trị.
- Phối hợp kháng sinh với chế phẩm khác (corticoid, enzym) làm tăng tác dụng, giảm phản ứng phụ.

5. CÁC TÁC NHÂN SÁT KHUẨN

Các tác nhân sát trùng được hiểu như là các tác nhân tiêu diệt các tế bào, bào tử, đánh bào tử VSV,... mà không có tính chọn lọc. Hàng loạt các nhân tố vật lý và hoá học được xếp vào nhóm tác nhân này.

5.1. Các tác nhân vật lý

Các tác nhân vật lý bao gồm nhiệt độ cao: nhiệt ẩm hay nhiệt khô. Nhiệt ẩm tiêu diệt VSV hiệu quả hơn nhiệt khô vì nhiệt ẩm gây đông vón và biến tính enzym, còn nhiệt khô làm oxy hoá các thành phần hữu cơ của tế bào. Bên cạnh nhiệt độ các bức xạ cũng là các tác nhân vật lý diệt khuẩn hiệu quả. Tia ion hoá bao gồm tia gama và tia X. Còn ánh sáng UV tuy không có khả năng ion hoá, nhưng do có khả năng đâm xuyên đến 30m, và được ADN hấp thụ ở bước sóng 260nm (thường sử dụng 254nm) nên có tác dụng diệt khuẩn mạnh, được sử dụng để khử trùng bề mặt, hay khử trùng các dung dịch trong suốt với các thiết bị đặc dụng.

5.2. Các tác nhân hoá học

Nhiều hoá chất là tác nhân sát trùng tốt, trong số đó có thể liệt kê dưới đây:

- Phenol và các chất cùng họ,
- Ethanol: Ethanol 70% có tác dụng sát trùng mạnh nhất, được dùng để sát trùng bên ngoài.
- Halogen và các chất chứa clo hoạt động bao gồm: Iod và các hợp chất chứa iod; clo và các hợp chất chứa clo hoạt động; ví dụ: cloramin B, T.
- Các chất chứa oxy hoạt động như: H_2O_2 , $KMnO_4$.

– Các kim loại nặng: thủy ngân clorid (HgCl_2), các hợp chất hữu cơ chứa thủy ngân có hoạt tính kháng khuẩn cao và độc tính thấp như: mercurocrom, timerosel, nitromersol (metaphel) được dùng để xử lý vết thương ở da; các phức chất hữu cơ chứa bạc, hay AgNO_3 1%; các hợp chất kẽm như kẽm sulfat.

– Các chất tẩy rửa (detergent), xà phòng.

– Formaldehyd: formaldehyd là chất khí khá bền vững ở nhiệt độ cao, rất độc, kích thích mạnh các màng nhầy. Dung dịch nước 37 – 40% formaldehyd còn được gọi là formalin được dùng để khử trùng dụng cụ. Dạng khí dùng tẩy trùng không khí. Dung dịch 10% trong cồn được dùng để vô trùng phòng thí nghiệm rất có hiệu quả.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các điều kiện cần thiết cho sinh trưởng của VSV, trình bày các giai đoạn phát triển của VSV trong môi trường lỏng.
2. Trình bày tổng quát các sản phẩm của VSV, cơ chế tác dụng của kháng sinh đối với vi khuẩn.
3. Trình bày tính kháng thuốc của VSV.
4. Trình bày các tác nhân sát khuẩn và ứng dụng.

Chương 5

DI TRUYỀN VI SINH VẬT

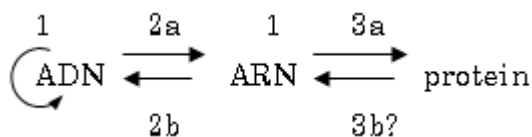
MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm các loại đột biến ở tế bào vi khuẩn.
2. Phân biệt được hai loại tổ hợp di truyền và 3 loại nhân tố di truyền IS, Tn và Bacteriophage Mũ ở vi khuẩn.
3. Trình bày được phương pháp vận chuyển vật liệu di truyền ở vi khuẩn.
4. Trình bày được những bước cơ bản và lợi ích của kỹ thuật di truyền trong công nghiệp được.

1. ĐẠI CƯƠNG

Các VSV cũng đều giống tổ tiên mình ở hầu hết các đặc điểm. Di truyền là việc duy trì các đặc điểm của tổ tiên cho đời sau của thế giới hữu sinh. Đơn vị của di truyền là gen. Gen là một đoạn ADN đảm nhiệm việc mã hoá một tính trạng di truyền, các đặc điểm của gen được di truyền lại cho đời sau qua sao chép. Mặt khác gen đảm nhận chức năng nhất định trong quá trình truyền thông tin di truyền, mã hoá cho một chuỗi polypeptid mà được đọc mã qua ARN (m-ARN, t-ARN, và các loại ARN khác), có chức năng điều chỉnh hoặc đóng vai trò điều khiển sự biểu hiện hoạt động của tổng gen (genom). Một số virus có vật liệu di truyền là ARN (virus cúm, virus dại, HIV,...) thì gen là một đoạn ARN mã hoá cho một protein xác định được đọc mã qua bộ máy phiên dịch của tế bào chủ. Phần lớn gen nằm trong nhân tế bào, phần nhỏ nằm trong yếu tố di truyền ngoài nhiễm sắc thể chẳng hạn plasmid (plasmid F, plasmid R), và các yếu tố di truyền di động (yếu tố IS và transposon).

Theo quan niệm hiện hành dòng thông tin di truyền từ nhiễm sắc thể đến tế bào chất ở mọi VSV diễn ra như sau:



Bản thân chất di truyền (ADN hoặc ARN) có khả năng tự nhân lên, quá trình này được gọi là sao chép (1). Mặt khác ADN được dùng làm khuôn để tổng hợp ARN (m-ARN, t-ARN và r-ARN) trong quá trình phiên mã (2a). Một số virus (chẳng hạn Retrovirus) mà có chất di truyền là ARN, để có thể gắn genom của chúng vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ phải tổng hợp dạng ADN trung gian từ sợi khuôn ARN. Quá trình này được gọi là phiên mã ngược (2b). Cuối cùng, dịch mã hay sinh tổng hợp protein (3a) diễn ra trên phức hợp bao gồm các sợi m-ARN, ribosom (có chứa các r-ARN) và t-ARN (mang acid amin). Tuy nhiên, liệu quá trình 3b có tồn tại trong tự nhiên hay không? còn đang trong quá trình chờ đợi các nhà khoa học trả lời trong tương lai.

Ta phân biệt genotyp (kiểu gen – bộ máy di truyền của một tế bào) và phenotyp (kiểu hình – biểu hiện bên ngoài của bộ máy trên) của VSV. Genotyp là tổng tính trạng di truyền trong một cá thể, nhưng chưa chắc được biểu hiện hết, mà trong mỗi tương quan với môi trường chỉ một kiểu hình (phenotyp) trong đó được biểu hiện mà thôi. Cần phân biệt genom (hệ gen, bộ gen, tổng gen) của cơ thể sống và genotyp (kiểu gen) của cá thể sống nói riêng.

2. SAO CHÉP ADN, PHIÊN MÃ, DỊCH MÃ

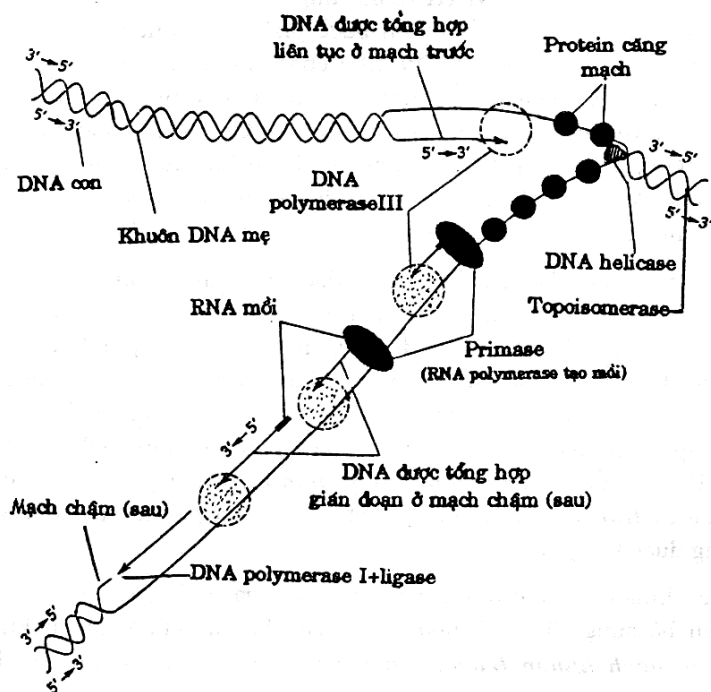
2.1. Sao chép ADN

Quá trình sao chép được nghiên cứu kỹ nhất ở *E. coli*. Như đã biết, hệ gen (genom) của *E. coli* là một ADN sợi kép, dạng vòng có một điểm khởi phát sao chép (oriC), là một đơn vị replicon. Sao chép bắt đầu ở điểm gốc oriC và tiếp tục cho đến kết thúc. Khi một số protein nhận ra điểm oriC, hai sợi đơn ADN sẽ được tách ra tạo thành chạc sao chép, ADN sẽ được tổng hợp theo hai hướng ngược nhau: trên sợi thứ nhất tổng hợp tiến theo chiều 5' → 3' một cách liên tục, còn trên sợi thứ hai cũng từ 5' → 3' nhưng tổng hợp từng đoạn ADN theo hướng lùi, rồi gắn các đoạn lại với nhau. Các enzym và protein tham gia tổng hợp ADN gồm: gyrase (topoisomerase II), enzym tháo xoắn; helicase gắn vào 2 sợi đơn, tiếp tục cởi xoắn ADN; protein liên kết sợi đơn (SSB) giữ căng sợi đơn; ADN polymerase, phức hợp enzym có 3 thành phần: pol I, pol II, pol III. Cả ba ADN polymerase đều có khả năng sao chép ADN theo hướng 5' → 3', cần có một đoạn 3'-OH để gắn nucleotid vào. Đầu 3'-OH này do một đoạn ARN ngắn (mồi primer – do primase tạo ra) cung cấp. Primase gắn với polypeptid tạo thành primosom, có khả năng nhận biết thứ tự đặc biệt trên ADN để tổng hợp mồi. ADN polymerase có cả hoạt tính nuclease. Về chức năng ADN pol III tổng hợp, ADN pol I để tổng hợp bổ sung và sửa chữa, ADN pol II để hỗ trợ.

Tổng quát lại sao chép ADN ở *E. coli* diễn ra như sau:

Một số protein (proteinB) nhận ra gốc oriC trên ADN và gyrase tháo xoắn ở đây, 2 phân tử helicase gắn vào 2 sợi đơn ADN tiếp tục cởi xoắn, các protein SSB gắn vào sợi đơn sau helicase, trên sợi 3' → 5' primase tổng hợp mồi primer (duy nhất) và pol III gắn tiếp vào 3'-OH của các nucleotid tương ứng, rồi cứ thế tiếp tục (sợi con được gọi là sợi trước) hướng vào chỗ 3'.

Trên sợi khuôn thứ hai, primase tổng hợp nhiều mồi, pol III gắn tiếp vào đầu 3'-OH của các nucleotid và kéo dài các đoạn nucleotid đến 1.000 – 2.000base (đoạn Okazaki) hướng ra ngoài. Khi pol III bắt gặp đoạn mồi ARN trước thì dừng lại, pol I cắt bỏ mồi đồng thời gắn bổ sung các nucleotid vào, ligase hàn khe hở giữa các đoạn Okazaki (cần tiêu thụ NADH₂). Như vậy, sợi con tạo thành trên sợi ADN khuôn 5' → 3' được sao chép theo kiểu gián đoạn và được gọi là sợi muộn (hình 5.1).



Hình 5.1. Sao chép ADN ở *E. coli*

Sinh tổng hợp của 2 sợi con được phối hợp nhờ tạo thành một núm trên sợi muôn gần chạc, nhờ vậy dimer của pol III có thể sao chép đồng thời cùng hướng cả hai sợi.

Tổng hợp ADN ở phage ϕ X174 chỉ theo một hướng, và chỉ cần pol I và ligase, và cũng không cần ARN làm môi. Có thể tồn tại trong tế bào replisom giống như ribosom cho sinh tổng hợp protein.

2.2. Phiên mã

Phiên mã trong tế bào VSV cũng diễn ra theo hướng 5' 3'. Ở *E. coli* enzym xúc tác phiên mã sinh tổng hợp cả 3 loại ARN là ARN polymerase bao gồm 5 chuỗi peptid: 2 α , β , β' , δ (holoenzym). 4 Chuỗi peptid đầu gắn chặt với nhau và có hoạt tính polymerase gọi là enzym tối thiểu. Chuỗi 5 gắn lỏng lẻo vào enzym tối thiểu, giúp enzym này gắn chính xác vào vị trí mở đầu (promoto) của mỗi gen.

Phiên mã chỉ diễn ra trên một sợi, thậm chí chỉ trên từng đoạn của ADN, mặt khác, ARN polymerase không cần môi và cũng không có hoạt tính nuclease. Phiên mã ở *E. coli* diễn ra như sau:

ARN polymerase gắn vào promoto trên ADN và cởi xoắn ở đây nhờ “chỉ chỗ” của yếu tố σ . Phiên mã bắt đầu gắn ATP hoặc GTP (làm nucleotid thứ nhất) vào chuỗi $3'$. Sau khi phiên mã được 12 nucleotid, nó tách khỏi phức hợp và phiên mã tiếp tục. Khi phiên mã gần đến kết thúc gen, ARN polymerase sẽ gặp một trong hai dạng tín hiệu kết thúc: tín hiệu kết thúc mạnh dạng kẹp tóc, hoặc tín hiệu kết thúc yếu cũng có dạng kẹp tóc, nhưng thiếu yếu tố oligo U và cần yếu tố protein rho; rho nhận ra và gắn vào đoạn ARN sợi đơn, thủy phân ATP rồi di động đến bóng phiên mã và tách mARN khỏi phức hợp.

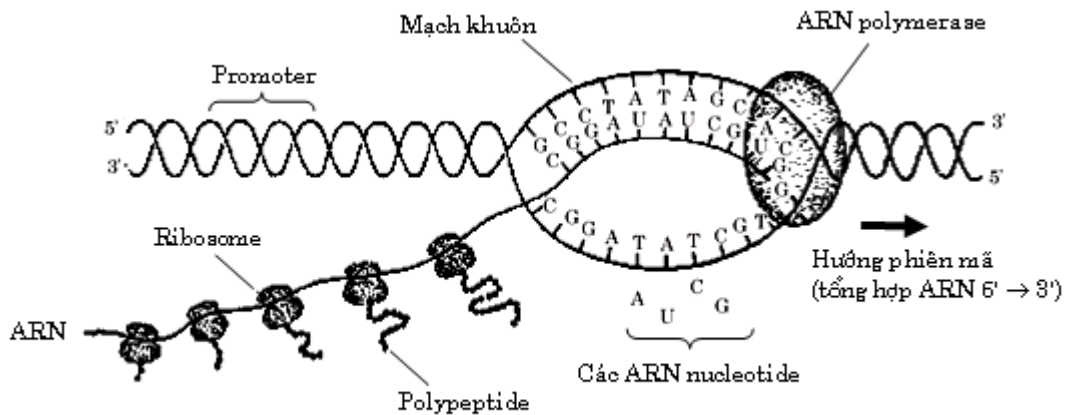
Sau khi tổng hợp dựa trên sợi khuôn, ARN còn phải được chế tác trở thành dạng cuối cùng tham gia vào chu trình sống của tế bào, đó là tách các nucleotid thừa, cải biến các nucleotid và bổ sung các nucleotid.

- Tách các nucleotid thừa: Nói chung khoảng 22% nucleotid của sản phẩm phiên mã ban đầu bị cắt đi. Ví dụ: sự hình thành các rARN 16S và 23S từ các p 16S và p 23S,...

- Cải biến các nucleotid: Trong quá trình trưởng thành của các ARN thường xảy ra cải biến, ví dụ: thực hiện gắn methyl vào một nucleotid từ adenosylmethionin nhờ methyltransferase, hoặc isomer hoá uridilat thành pseudouridilat, hay uridin thành thiouridin,....

- Bổ sung các nucleotid: Trình tự CCA được thêm vào ARN khi phiên mã nhờ tác dụng của

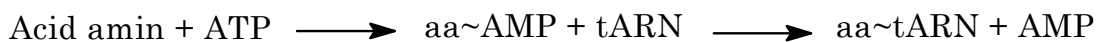
nucleotidyl transferase, và enzym này cũng có chức phận thêm trình tự CCA vào tARN đã bị loại mất CCA sau mỗi vòng trao đổi chất.



Hình 5.2. Phiên mã ở Prokarya

2.3. Dịch mã

Dịch mã cũng được nghiên cứu kỹ nhất ở *E. coli* với 3 bộ phận chính ribosom, mRNA và tARN. Như đã biết, ở Prokarya, ribosom thuộc loại 70S được cấu thành từ 2 đơn vị nhỏ 50S và 30S. Đơn vị 50S chứa 34 protein (L1 – L34) và 2 loại rARN (23S và 5S), đơn vị 30S chứa 21 protein và một loại rARN 16S. Trên ribosom có 2 vị trí gắn tARN: vị trí A gắn aminoacyl-tARN và vị trí P gắn peptidyl-tARN. tARN chỉ chứa 70 – 90 nucleotid, gồm nhiều base cải biến (dihydro-pseudo-thiouridin, inosin, ribothymidin,...) có cấu trúc lá chẻ ba với cuống và thùy 3'. Đầu 5' của cuống luôn tận cùng bằng CCA, là vị trí gắn acid amin, còn 3 thùy lần lượt được gọi là DHU (dihydro-uridin), AC (anticodon) và TúrX. Mở đầu dịch mã luôn là methionin, vì vậy tế bào cần 1 loại tARN vận chuyển methionin vào đầu chuỗi (tARN^{fMet}) và 1 loại vận chuyển methionin vào giữa chuỗi (tARN^{mMet}). Acid amin được hoạt hoá trước khi tham gia tổng hợp protein:



Ở *E. coli* và các tế bào procaryota, mRNA là polycistron (đọc mã cho hơn 1 polypeptid) và hầu như phiên mã và dịch mã xảy ra đồng thời, do đó mà hầu như không có mRNA nguyên vẹn. Dịch mã có 3 giai đoạn: mở đầu, kéo dài và kết thúc.

2.3.1. Mở đầu

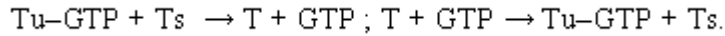
Tham gia vào giai đoạn này còn có thêm 3 tác nhân protein IF-1, IF-2, IF-3. Trước tiên, nhờ kích thích, IF-3, mRNA liên kết được với ribosom 30S, rồi phức fMet-ARN^{fMet}-IF-2-GTP được chuyển vào vị trí P trên phần 30S ứng với codon đầu AUG của methionin (với sự hỗ trợ của IF-1). Nhờ trình tự 3 – 9 nucleotid bắt cặp với nhau trên đầu cuối 5' của mRNA và đầu cuối 3' của rARN 16S (tín hiệu Shine-Dalgarno, hay vị trí liên kết ribosom, RBS) mà codon dẫn đầu AUG được chuyển chính xác vào vị trí khởi đầu. Lúc này, IF-3 bị tách ra. Khi fMet-ARN^{fMet} gắn chính xác vào vị trí mở đầu thì hạt 50S gắn vào thành monosom 70S, đồng thời GTP bị IF-2 thủy phân, năng lượng giải phóng ra đẩy cả IF-1 và IF-2 ra, và phức khởi đầu [70S-mRNA-fMet-ARN^{fMet}] được tạo thành.

2.3.2. Kéo dài

Giai đoạn này còn có sự tham gia của hai yếu tố protein kéo dài: EF-T và EF-G. Yếu tố T lại được cấu thành bởi Tu và Ts liên kết lỏng lẻo với nhau. Liên kết của acid amin thứ 2 (aa~tARN) trở đi vào ribosom cần sự kích thích của Tu và GTP trong phức aa~tARN-Tu-GTP.

Tiếp theo, [aa2~tARN-Tu-GTP] gắn vào vị trí A của ribosom với codon tương ứng, và tương tự

như bước đầu GTP bị Tu phân giải và Tu-GTP bị đẩy ra. Nhờ Ts mà Tu lại được tái hoạt:

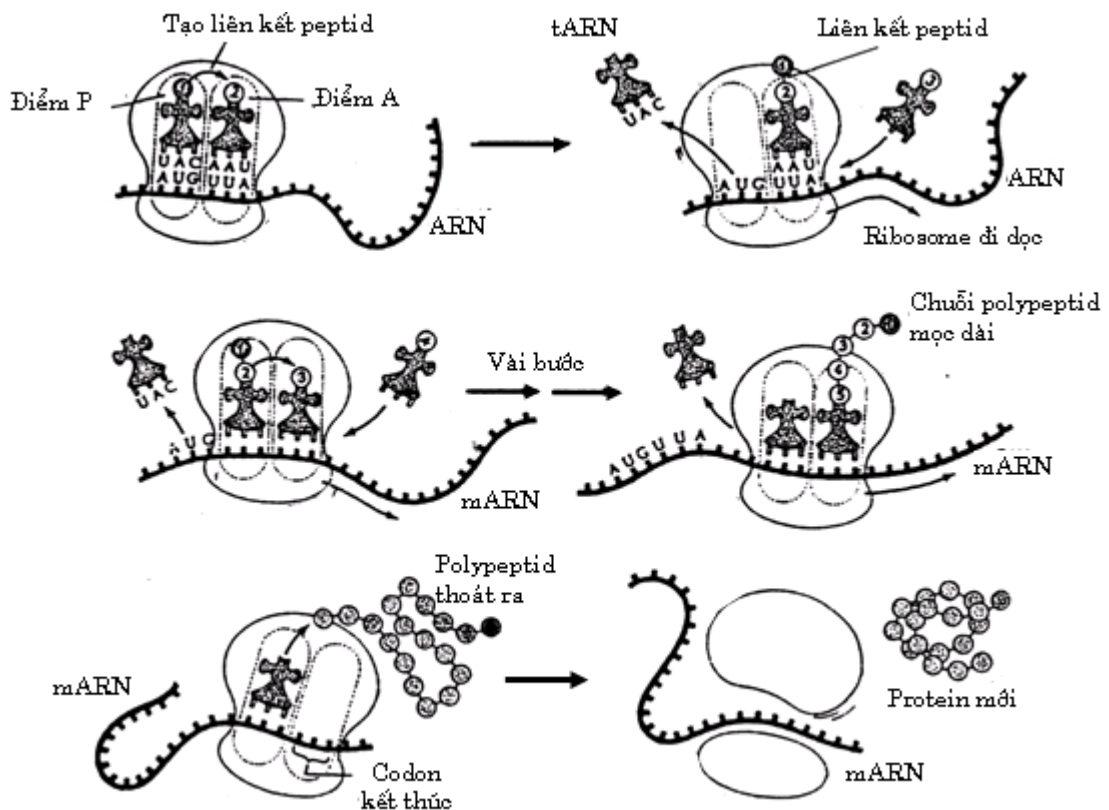


Nhờ chuyển nhóm -COOH của fMet sang nhóm NH₂ của aa2 bởi peptidyl-transferase (ribozym 23S của ribosom 50S) mà liên kết peptid thứ nhất được tạo thành. Lúc này, fMet-aa2 tARN dịch chuyển từ A sang P và đẩy tARN_{fMet} trống ra ngoài. Tiếp tục, [aa3~tARN-Tu-GTP] lại gắn vào vị trí A và các bước cứ thế tiếp diễn cho đến kết thúc.

2.3.3. Kết thúc

Khi tổng hợp xong chuỗi polypeptid ribosom sẽ gặp một trong 3 codon kết thúc hay codon vô nghĩa UAA, UAG hay UGA. Ở vi khuẩn có 3 protein tham gia vào giai đoạn này: RF-1 (UAA, UAG), RF-2 (UAA, UGA), và RF-3 kích thích hai protein trên. Ngoài ra, yếu tố tách rời RRF của ribosom và yếu tố kéo dài EF-G cũng cần thiết.

Chuỗi polypeptid bị tách khỏi tARN cuối cùng, phản ứng này được xúc tác bởi peptidyl-transferase, và ribosom cũng bị phân ly. Tuy nhiên, dịch mã không phải chỉ diễn ra trên một monosom mà diễn ra trên nhiều monosom kề cạnh liên kết với nhau gọi là polysom.



Hình 5.3. Mô hình dịch mã ở ribosom

3. PHÁT SINH ĐỘT BIẾN VÀ CÁC KIỂU ĐỘT BIẾN

Cũng như ở sinh vật bậc cao, tế bào VSV cũng chịu đột biến. Đột biến ở vi khuẩn chịu tác động trực tiếp của môi trường. Nói chung, đột biến (mutation) là sự thay đổi kiểu gen của VSV, tuy nhiên cũng có thể đạt được điều này nhờ tái tổ hợp (recombination). Đột biến có thể là ngẫu nhiên, hay nhân tạo (gây tạo). Tái tổ hợp có thể là hữu tính hay cận (giả) hữu tính (parasexual recombination) hay tái tổ hợp di truyền.

3.1. Đột biến ngẫu nhiên và đột biến gây tạo

3.1.1. Đột biến ngẫu nhiên

Trong quần thể VSV luôn diễn ra đột biến ngẫu nhiên với tần suất khoảng $10^{-10} - 10^{-5}$. Nguyên nhân có thể là do tác động của môi trường và do chuyển hoá tautomer (hỗ biến) của các base khi sao chép, ví dụ: T tồn tại bình thường ở trạng thái keto (=oxo) sẽ ghép đôi (sóng đôi, bắt cặp) với A. Nhưng khi sao chép đúng lúc T hỗ biến chuyển sang dạng enol (hydroxy) sẽ ghép đôi với G. Hậu quả là trong sợi ADN mới sau một thế hệ, một cặp GC sẽ thay vào vị trí lẽ ra là của cặp AT.

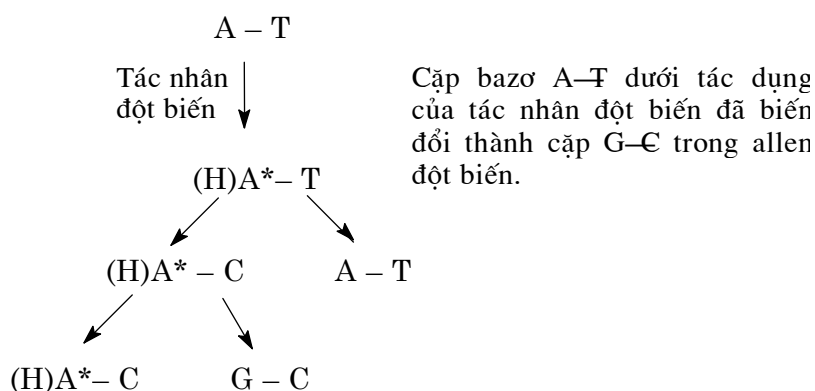
3.1.2. Đột biến gây tạo

Khi xử lý tế bào VSV với các tác nhân đột biến (vật lý, hoá học, sinh học hay kết hợp các tác nhân ấy) đại đa số VSV bị giết chết. Trong số các VSV sống sót xuất hiện các cá thể mang đột biến. Đột biến như thế được gọi là đột biến gây tạo. Tác nhân đột biến có thể là vật lý, hoá học hay sinh học. Về tổng thể có hai dạng đột biến: đột biến tổng gen (genom) và đột biến gen.

Đột biến tổng gen là làm thay đổi số genom của sinh vật (ví dụ: từ đơn bội thành đa bội), có giá trị trong cải tạo giống thực vật.

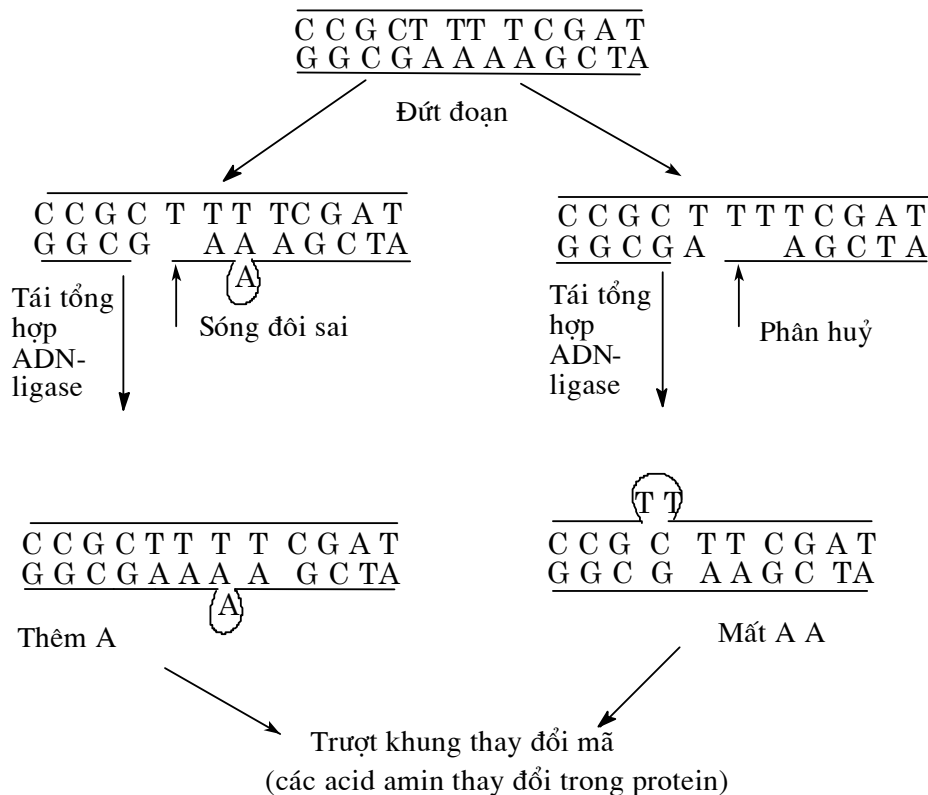
Đột biến gen là làm thay đổi cấu trúc của gen. Đột biến này có hai kiểu chính: đột biến điểm và đột biến chuyển (trượt) khung.

- Đột biến điểm xảy ra khi một cặp base bị thế bằng một cặp base khác, ví dụ: AT bị thay bằng GC, đây là sự chuyển dịch (transition) – base purin được thay thế bằng base purin; còn khi AT bị thay bằng CG, đây là sự đảo dịch (transversion) – base purin được thay thế bằng base pirimidin. Hình 5.4 giới thiệu đột biến đổi cặp (chuyển dịch).



Hình 5.4. Đột biến điểm đổi cặp base

- Đột biến chuyển khung (trượt khung) xảy ra khi một đoạn ADN gồm một số base, thậm chí nhiều gen bị loại đi, bị chuyển chỗ, hoặc bị cách ra do sự xen vào (chèn vào) của đoạn ADN lạ. Hình 5.5 giới thiệu đột biến trượt khung.



Hình 5.5. Đột biến trượt khung

3.2. Cơ chế tác dụng của các tác nhân đột biến

3.2.1. Lắp chất tương tự base

Chất tương tự base là chất kháng trao đổi (anti-metabolite), tế bào nhầm lẫn lắp vào ADN, thường dùng để gây đột biến là BU (5-bromo-uracil) và AP (2-amino-purin). BU tương tự như T nên trong ADN BU chiếm chỗ T sóng đôi với A. Tuy nhiên, do khuynh hướng dễ tautomer hoá thành dạng enol mà ở vòng sao chép tiếp theo BU sẽ sóng đôi với G. Hậu quả là đột biến điểm đổi dịch TA thành CG. AP cũng tác dụng tương tự: mặc dù thể hiện như A, nhưng thường tautomer hoá thành dạng imino sóng đôi với C.

3.2.2. Thay đổi hoá học của base

– Acid nitơ (HNO_2) khử amin của A hoặc G nhưng không làm đứt sợi, do đó thay thế nhóm NH_2 bằng OH , nên:

A → thành hypoxantin ghép đôi với C, do đó đổi AT → GC đột biến.

G → thành xantin, vẫn sóng đôi với C nên không gây đột biến.

– Hydroxylamin phản ứng chủ yếu với C, khiến base này sóng đôi với A, do đó cũng dẫn đến đột biến: CG → TA.

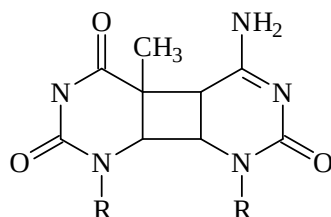
– Ethyl- và methyl-sulfonat, ethylenimin, N-nitroso-guanidin là các tác nhân alkyl hoá gây đột biến mạnh. Ví dụ: EMS (ethyl-methansulfonat) ethyl hoá chủ yếu N-7 của guanin. 7-alkylguanin bị tách khỏi chuỗi để lại một lỗ hổng, khi sao chép, một base sai thường lắp vào đây.

3.2.3. Chèn thêm vào hoặc loại đi một cặp base

Phân tử acridin xen vào giữa các cặp base trên chuỗi ADN làm tăng khoảng cách giữa chúng, việc này sẽ làm mất đi một cặp base nucleotid hoặc lắp thêm vào một cặp base và như vậy làm chuyển khung đọc trong tổng hợp protein, gây đột biến.

3.2.4. Ánh sáng tử ngoại UV và các bức xạ ion hoá

Ánh sáng tử ngoại UV, tia Ronghen và các bức xạ ion khác có tác dụng gây chết mạnh và gây đột biến. Ánh sáng UV, 253 – 280nm, tác dụng lên acid nucleic dẫn đến dime hoá thymin (TT), thymin–cytosin (TC) hoặc cytosin (CC) tại vị trí C4 và C5. Hậu quả là sao chép bị sai lệch vì ADN–polymerase dễ lắp một nucleotid không chính xác vào vị trí trên. Cấu trúc của dime TC có công thức sau:



Ánh sáng tử ngoại thường gây ra các đột biến đổi dịch GC đ AT, trượt khung, thậm chí mất đoạn.

Tia Ronghen, tia ó và tia ò được sử dụng khi các tác nhân đột biến khác không sử dụng được (ví dụ khi tế bào chất không cho ánh sáng đi qua). Khi sử dụng các tia ion hoá thì xác suất tạo ra sự đứt đoạn trên cả 2 sợi ADN sẽ tăng lên mạnh mẽ. Các đứt đoạn trên một sợi sẽ được cơ chế cắt bỏ nucleotid sửa chữa 90%. Cơ chế sửa chữa phụ thuộc recA (sửa chữa hậu sao chép – post replication repair) cũng tham gia. Nếu cả hai sợi cùng bị đứt thì có thể kéo theo các thay đổi nghiêm trọng như chuyển vị (translocation), đảo cặp (inversion), cũng như các đột biến nhiễm sắc thể tương tự khác.

4. TÁI TỔ HỢP DI TRUYỀN VÀ SỰ CHUYỂN TÍNH TRẠNG

4.1. Tái tổ hợp di truyền

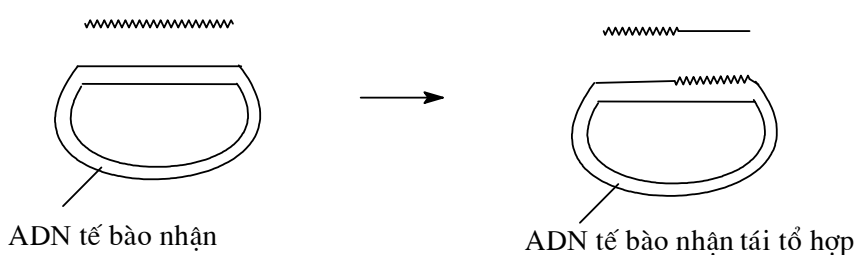
Ở tế bào nhân nguyên thủy cũng xảy ra tái tổ hợp, tuy nhiên, ở đây tái tổ hợp có khác biệt so với tế bào nhân thật. Hợp tử không phải là sản phẩm kết hợp của hai tế bào, thường chỉ một phần ADN của tế bào cho được chuyển sang cho tế bào nhận, do đó, chỉ xuất hiện hợp tử một phần. ADN của tế bào nhận và đoạn ADN của tế bào cho song đôi và trao đổi đoạn, và khi phân bào tiếp theo sẽ xuất hiện một tế bào chỉ chứa nhiễm sắc thể đã tái tổ hợp. Tùy theo cách chuyển vận ADN mà ta phân biệt ba kiểu chuyển tính trạng ở vi khuẩn: biến nạp, tải nạp và tiếp hợp.

Tái tổ hợp di truyền:

Có hai cơ chế qua đó ADN lạ xâm nhập vào tế bào vi khuẩn có thể tái tổ hợp vào nhiễm sắc thể vi khuẩn hoặc plasmid: *tái tổ hợp phổ biến* hoặc tương đồng và *tái tổ hợp đặc hiệu* vị trí hoặc đặc hiệu thứ tự.

4.1.1. Tái tổ hợp phổ biến

Tái tổ hợp phổ biến là quá trình mà trong đó ADN lạ mới xâm nhập vào trong tế bào được liên kết với ADN của tế bào chủ qua việc ghép đôi đoạn tương đồng, bẻ vỡ và trao đổi chéo 2 đoạn ADN có trình tự giống nhau. Ít nhất có 6 enzym tham gia vào quá trình này, trong đó đáng chú ý là protein liên kết sợi đơn –SSB protein, và RecA protein (hình 5.6).

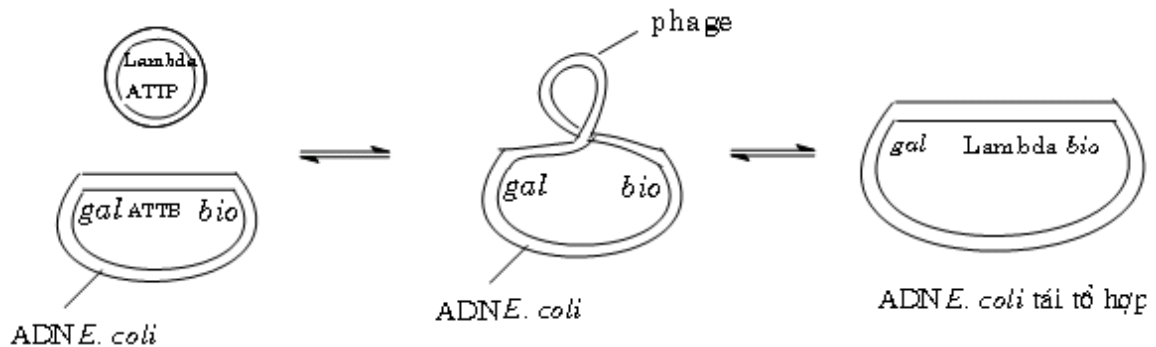


Hình 5.6. Cơ chế tái tổ hợp phổ biến

4.1.2. Tái tổ hợp đặc hiệu vị trí

Tái tổ hợp đặc hiệu vị trí hoặc đặc hiệu thứ tự xảy ra tại vị trí đặc biệt, chỉ cần một đoạn ADN

tương đồng rất nhỏ để nhận biết – gọi là trình tự nhận biết, quá trình này cần các enzym đặc hiệu cho các phân tử ADN tái tổ hợp. Nếu chỉ một phân tử ADN mang thứ tự nhận biết, thì gọi là tái tổ hợp đặc hiệu một vị trí. Cả hai phân tử ADN đều mang trình tự nhận biết, thì gọi là tái tổ hợp đặc hiệu hai vị trí. Sự hợp nhất của phage ở và của plasmid F vào genom của *E. coli* là ví dụ về kiểu tái tổ hợp này (hình 5.7).



Hình 5.7. Tái tổ hợp đặc hiệu vị trí nhờ phage ở

với: AATP – vị trí gắn của phage – Attachment site of phage
 ATTB – vị trí gắn của vi khuẩn – Attachment site of bacterium

Khi chuyển sang trạng thái prophage, phage lambda (λ) gắn vào nhiễm sắc thể chủ ở vị trí giữa galactose–operon và vùng biotin. Việc gắn mở đầu bằng sự sắp hàng của hai thứ tự base tương đồng gồm 15 cặp base dùng làm vùng nhận biết đối với enzym integrase do phage tổng hợp. Enzym cắt ADN sợi kép của phage và của tế bào chủ ở vùng này (ATTP và ATTB). Các đầu tự do xuất hiện và sẽ được liên kết chéo nhờ ligase. Sự lắp vào của phage là thuận nghịch. Một enzym khác cũng do phage đọc mã, excisionase xúc tác việc tách genom của phage ra. Cả hai quá trình lắp vào và tách ra của phage này diễn ra có sự tham gia đồng thời của một protein tạo thành bởi tế bào chủ, nhân tố hợp nhất của tế bào chủ, IHF (integration host factor).

4.1.3. Các nhân tố di truyền động

Các nhân tố di truyền chuyển dịch chỗ (IS, Transposon, phage Mu) tăng cường khả năng tái tổ hợp di truyền ở vi khuẩn.

4.1.3.1. Nhân tố chèn vào IS (insertion sequence)

IS là các nhân tố di truyền, có thể lắp vào các vị trí rất khác nhau trên genom của vi khuẩn. Đặc tính này tạo cho nhân tố IS khả năng di động rộng rãi, còn được gọi là chuyển chỗ. Các nhân tố IS được tìm thấy đầu tiên ở các biến chủng ngẫu nhiên ở *E. coli*, do chèn vào ADN của tế bào chủ mà làm mất tính liên tục của các gen. Chúng gồm khoảng 800 – 1.400 cặp base nucleotid và không mang một phenotyp nào khác ngoài chức năng chuyển chỗ. Chức năng này được đảm bảo bởi enzym transposase.

4.1.3.2. Transposon (Tn)

Cũng thuộc các nhân tố di truyền động, gây đột biến và cũng được gọi là “gen nhảy”. Khác với nhân tố IS, các Tn đọc mã cho một số tính trạng dễ nhận thấy về kiểu hình như tính kháng kháng sinh (penicilin, tetracyclin, kanamycin,...), tính kháng kim loại nặng (ví dụ Ag). Sự “nhảy” hoặc sự chuyển chỗ của Tn là kết quả của sự sao chép Tn mà không làm mất Tn ở vị trí chèn vào ban đầu trong ADN.

4.1.3.3. Bacteriophage Mu

Bacteriophage Mu có chung đặc tính hợp nhất không bình thường của IS và Tn. Khi hợp nhất vào gen của tế bào chủ, phage sẽ gây đột biến (Mu là viết tắt mutator–tác nhân đột biến).

Bacteriophage Mu tác dụng như Tn không lồ. *Đảo ngược gen* là đặc tính đáng chú ý của Bacteriophage Mu. Sự đảo ngược đầu đoạn G của Bacteriophage Mu. Đoạn G mã hoá tổng hợp các protein sợi đuôi. Nếu đoạn này nằm theo hướng G^+ , các protein đuôi S và U được tạo thành và phage nhiễm vào *E. coli* K12. Nếu đoạn đảo ngược theo hướng G^- , một promotor khác sẽ hoạt động và sợi ADN đối diện sẽ được sử dụng, sợi này phiên mã các gen khác mà sản phẩm của chúng là một protein đuôi S' và U' khác làm thay đổi phổ vật chủ của phage. Nhờ vậy, phage có thể hấp thụ vào các tế bào *E. coli* C và các vi khuẩn đường ruột khác. Sự đảo ngược cũng liên quan đến *Salmonella*, và ở đây liên quan đến sự thay đổi tổng hợp tiên mao của vi khuẩn.

4.2. Biến nạp (transformation)

Sự chuyển gen ADN được giải phóng từ một vi khuẩn cho hoặc chiết được từ vi khuẩn này sang vi khuẩn nhận khác được gọi là biến nạp.

Các tế bào ở trạng thái có thể biến nạp được bởi một ADN trong môi trường là các tế bào khả nạp (competent). Các chi *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Haemophyllus*, *Mycobacterium*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* và *Synechococcus* có đặc tính này. Trạng thái khả nạp do các gen nhiễm sắc thể mã hoá và được kích thích bởi một số điều kiện môi trường. Các vi khuẩn như thế là các vi khuẩn có khả năng khả nạp tự nhiên. Nhiều vi khuẩn phải qua xử lý nhân tạo, ví dụ: ủ với các cation hoá trị 2 nồng độ cao mới trở thành khả nạp, gọi là các hệ thống biến nạp nhân tạo.

Đối với các *D. pneumoniae*, khi khoảng 12 protein phân tử nhỏ được tổng hợp và được bài tiết vào môi trường, và khi nồng độ của cả tế bào và yếu tố khả nạp đạt đến nồng độ nhất định thì tính khả nạp được phát triển. Màng ngoài của thành tế bào khả nạp chứa một số cấu trúc dạng túi là những nếp gấp màng ngoài, ở gốc của mỗi túi có những capilaire nhỏ. Bên trong mỗi túi có protein liên kết đặc hiệu với một trình tự ADN gồm 11 cặp base bắt gặp ở 600 vị trí trên genom.

Ngay sau khi ADN tương đồng được bổ sung vào quần thể vi khuẩn khả nạp, các túi hướng ra ngoài biến mất và xuất hiện các túi hướng vào trong. Có thể sự liên kết ADN làm túi bị mất gấp khúc, tạo thành cấu trúc được gọi là *transformasom*. ADN bên trong *transformasom* khi đi qua thành tế bào chỉ được chuyển thành dạng sợi đơn ngay trước khi tái tổ hợp với genom tế bào nhận.

Còn tế bào *H. influenzae* có thể hấp thụ các plasmid nguyên vẹn nếu plasmid chứa trình tự 11 cặp base phù hợp.

B. subtilis khi biến nạp với ADN như của *D. pneumoniae* và plasmid bao giờ cũng phân cắt và chuyển chúng thành sợi đơn khi xâm nhập tế bào.

Ở các vi khuẩn khả nạp tự nhiên, tính trạng được biến nạp là tính kháng độc tố và tính nguyên dưỡng đối với acid amin. Trong trạng thái sinh lý thích hợp, tế bào khả nạp có bề mặt tế bào thay đổi, thành tế bào xốp và có hoạt tính của các enzym ngoại bào cao, đồng thời yếu tố khả nạp đã được tạo ra và tiết vào môi trường. Nồng độ của ADN thích hợp cho biến nạp chỉ cần thấp: với 0,1 μ g ADN/ml huyền dịch tế bào là có thể đủ để biến nạp 5% quần thể tế bào nhận.

Đối với các vi khuẩn trong điều kiện bình thường không có khả năng biến nạp, tính khả nạp có thể cảm ứng được nhờ xử lý tế bào với dung dịch $CaCl_2$ hoặc ủ ở nhiệt độ lạnh.

Đối với các vi khuẩn G^+ chi *Bacillus* và các xạ khuẩn chi *Streptomyces*, việc sử dụng các thể nguyên sinh chất thiếu vách (tế bào trần) để biến nạp có ý nghĩa thực tế cao. Việc hấp thụ ADN plasmid nhờ cảm ứng với polyethylenglycol qua thể nguyên sinh chất thiếu vách, hay chuyển ADN nhiễm sắc thể qua dung hợp trực tiếp các thể nguyên sinh chất có thể thực hiện được. Các thể nguyên sinh chất đã dung hợp kết hợp genom của cả hai tế bào bố mẹ có thể tái sinh lại thành các tế bào nguyên vẹn trong các điều kiện thích hợp. Các thể tái tổ hợp được tạo ra từ sự dung hợp như trên mang tính trạng của cả hai bố mẹ nhờ quá trình tái tổ hợp.

Phương pháp dung hợp tế bào trần (lai ghép nguyên sinh chất) nhờ xung điện cũng được sử dụng có hiệu quả. Phương pháp này tạo cho các màng sinh học trở thành dễ thấm và dễ dung hợp nhờ xung kích thích của điện trường. Các ADN plasmid của vi khuẩn G^+ và G^- cũng có thể biến nạp thành công nhờ xung điện. Thí nghiệm Grifith là thí nghiệm biến nạp kinh điển (Xem giáo trình Sinh học đại cương).

4.3. Tải nạp (transduction)

Tải nạp là sự chuyển gen ADN từ tế bào cho sang tế bào nhận nhờ phage. Thường chỉ một đoạn ngắn ADN của tế bào cho được chuyển. Có *tải nạp phổ biến* và *tải nạp đặc hiệu* và trong cả hai trường hợp phage tải nạp thường bị khuyết tật, như mất khả năng dung giải tế bào chủ. Tải nạp gặp ở các loài *Bacillus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* và *Vibrio*. Tuy nhiên, không phải tất cả các phage đều có thể tải nạp và tất cả vi khuẩn đều tải nạp được.

4.3.1. Tải nạp không đặc hiệu (tải nạp phổ biến)

Tải nạp không đặc hiệu là kiểu tải nạp mà trong đó một đoạn bất kỳ của ADN tế bào chủ được lắp thêm vào hoặc thay thế bằng genom của phage.

Tải nạp không đặc hiệu được Lederberg và Zinder phát hiện năm 1951 ở *S. typhimurium*. Chúng cho *S. typhimurium* B⁺ được nhiễm pha ôn hoà P22. Sau khi tế bào chủ bị dung giải, các pha được tách riêng và được ủ với chủng nhận *S. typhimurium* B⁻ khác với *S. typhimurium* B⁺ ít nhất một đặc tính di truyền. Khi cấy sàng lọc trên môi trường chọn lọc nhận thấy trong số các *S. typhimurium* B⁻ có một số biến thể có tính trạng của *S. typhimurium* B⁺. Như vậy khi phage P22 nhân lên trong *S. typhimurium* B⁺, ADN của tế bào chủ bị phân cắt thành các phân đoạn, và một vài đoạn nào đó có thể được bao bọc bởi vỏ capsid của phage. Tất nhiên, trong số các phage mới được tạo ra vẫn có các phage bình thường do đó mà dẫn đến sự dung giải tế bào. Đến giai đoạn sau, trong số các tế bào *S. typhimurium* B⁻ nhận phage, một số nhận được phage tải nạp khuyết tật có ADN tái tổ hợp với hệ gen của thể nhận. Các đoạn tương đồng trao đổi có thể đưa đến việc thay thế một gen khuyết tật trong thể nhận bằng một gen nguyên vẹn của thể cho. Vì chỉ có một đoạn nhỏ ADN của thể cho được tải nạp, nên xác suất tái tổ hợp của một tính trạng nhất định là khoảng $10^{-8} - 10^{-6}$. Đối với phage P22 của *Salmonella* và phage P1 của *E. coli*, chỉ một tính trạng hoặc các gen nằm rất gần nhau là có thể được tải nạp. Đoạn ADN được tải nạp với ADN của phage chỉ bằng 1 – 2% ADN của vi khuẩn. Đặc biệt, phage PBS1 của *B. subtilis* là ngoại lệ khi có thể tải nạp được 8% genom của tế bào chủ.

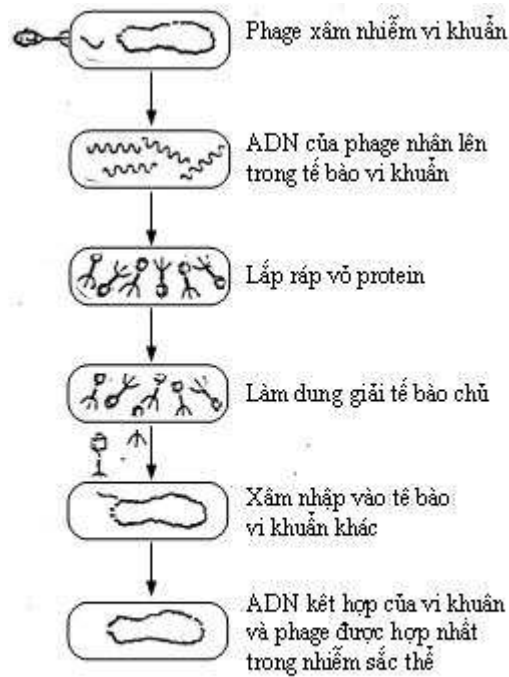
4.3.2. Tải nạp đặc biệt

Trong trường hợp này, chỉ một số đoạn ADN xác định được tải nạp mà thôi. Chẳng hạn, phage ở thường chỉ tải nạp gen *gal* và gen *bio*.

Nếu phage tải nạp nhiễm vào một tế bào nhận bị khuyết tật, chẳng hạn ở gen *gal* (*gal*⁻), tái tổ hợp có thể xảy ra qua trao đổi gen *gal*⁻ bằng gen tải nạp *gal*⁺. Các thể tái tổ hợp hoặc các thể tải nạp tạo thành sẽ là *gal*⁺.

Việc tải nạp gen bởi phage ɸ80 cũng giống thế: phage chèn vào ngay cạnh gen *trp*, do đó tải nạp được gen *trp*. Trong tải nạp đặc hiệu thì sự chèn đặc hiệu của phage vào genom chủ là tiền đề quan trọng cho việc tải nạp ADN đạt hiệu quả.

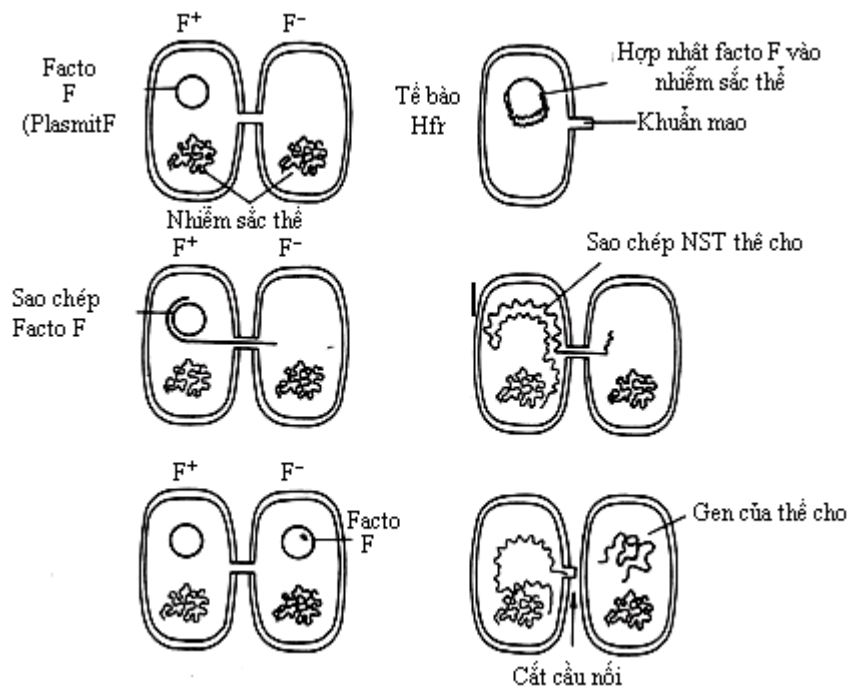
Trong một số trường hợp, đoạn ADN tải nạp không tái tổ hợp mà nằm ngoài nhiễm sắc thể của thể nhận: tế bào là dị hợp về tính trạng được chuyển tải – ADN tải nạp được phiên mã nhưng không được sao chép. Vì vậy, khi phân bào, đoạn ADN của thể cho chỉ được phân vào một tế bào con. Những tế bào như thế được gọi là thể tải nạp khuyết. Nếu thể nhận là khuyết dưỡng về tính trạng và ADN của thể cho bổ sung cho tính trạng ấy, thì chỉ những tế bào di truyền tiếp đoạn ADN nói trên mới có thể sinh trưởng và tạo thành khuẩn lạc rất nhỏ trên môi trường thạch. Hình 5.8 minh họa quá trình tải nạp.



Hình 5.8. Quá trình tải nạp nhờ phage

4.3. Tiếp hợp (conjugation)

Tiếp hợp là sự vận chuyển ADN qua thiết lập cầu tiếp hợp trực tiếp giữa hai tế bào vi khuẩn, sự chuyển dịch được định hướng từ tế bào cho (đực) sang tế bào nhận (cái) (hình 5.9).

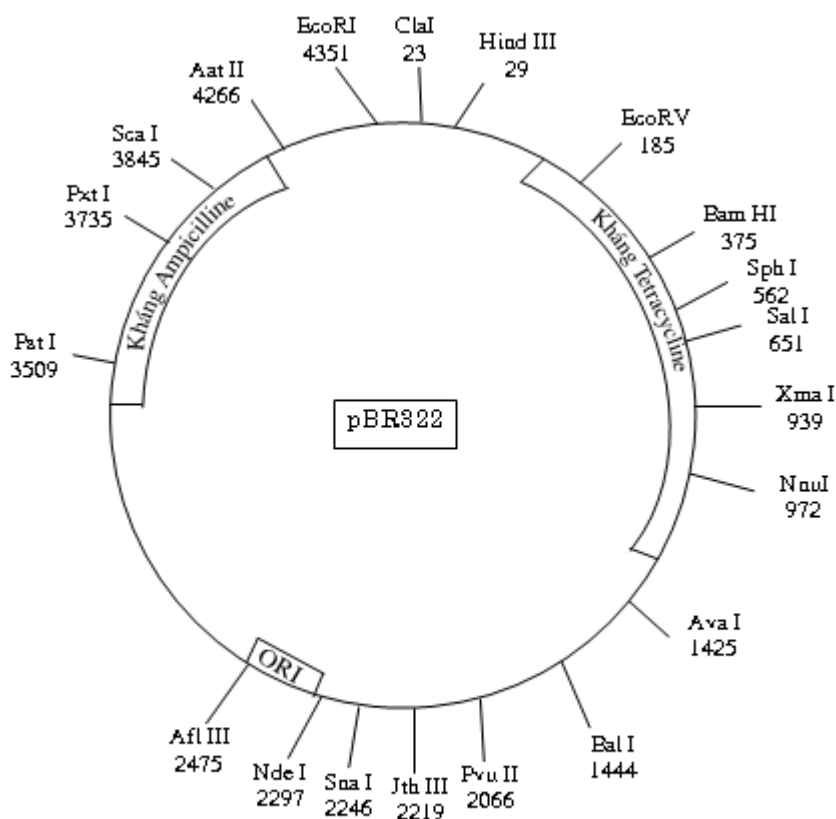


Hình 5.9. Tiếp hợp ở vi khuẩn

Tế bào cho chứa một yếu tố ADN có thể di chuyển được gọi là plasmid giới tính F (fertility plasmid). Những tế bào thiếu plasmid F (F⁻) chỉ có thể là thể nhận. Khi tiếp hợp, plasmid F được

chuyển với xác suất 100% nhưng không tính trạng nào của nhiễm sắc thể được hợp chuyển. Plasmid F có thể hợp nhất vào nhiễm sắc thể, khi tiếp hợp, ADN của nhiễm sắc thể sẽ được chuyển từ vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận với tần suất cao hơn hàng ngàn lần so với dùng chủng F^+ . Các tế bào này được gọi là các tế bào Hfr (High Frequency of Recombinants = Tần suất cao của các thể tái tổ hợp). Plasmid F lắp thuận nghịch vào nhiễm sắc thể ở vị trí xác định, và khi tách ra nếu không chính xác sẽ kéo theo một đoạn ADN nhiễm sắc thể tế bào, tạo thành plasmid F' ($F' = F + \text{đoạn ADN}$). Tế bào chứa F' gọi là tế bào F' .

Plasmid F là phân tử ADN sợi kép, vòng kín, kích thước khoảng 10^5 base, có khả năng tự sao chép độc lập với nhiễm sắc thể. Plasmid F chứa các gen cần cho sự tiếp hợp, các gen xác định tiêm mao giới tính F. Nó có một đặc tính chung giống với các plasmid khác như chứa một số gen cho phép sao chép trong tế bào, thể hiện tính không tương thích do vòng Inc quy định: nếu đã có một plasmid trong tế bào thì sự sao chép của các plasmid thân thuộc sẽ bị kìm hãm. Plasmid F thuộc nhóm không tương hợp gọi là Inc F_1 (hình 5.10).



Hình 5.10. Plasmid của tế bào vi khuẩn

Các plasmid thẳng thường ít gặp ở các procaryota. Cho tới nay mới chỉ phát hiện được ở *Streptomyces*, *Streptococcus* và *Nocardia opaca*. Sự tồn tại của chúng trong tế bào tránh được sự phân giải của exonuclease còn chưa rõ.

4.4. Vai trò của các plasmid trong sinh học

Các tính trạng được mã hoá bởi plasmid thường cung cấp cho các tế bào chủ các ưu thế sinh trưởng, và nhờ đó mà các tế bào này thu được ưu thế chọn lọc.

4.4.1. Plasmid kháng

Như đã trình bày, plasmid R (plasmid kháng thuốc) là nguyên nhân của kháng thuốc ngoài nhiễm sắc thể, giúp cho vi khuẩn tiếp nhận đề kháng với các kháng sinh và hoá trị liệu. Một số

plasmid khác cung cấp tính kháng với kim loại nặng, như bạc, niken, coban, cadimi, đồng, kẽm, crôm, arsen, antimon, telur hoặc thủy ngân. Các plasmid R có thể được chuyển tải nhờ tiếp hợp hoặc biến nạp. Cùng với sự chuyển tải của plasmid R, một số gen nhiễm sắc thể cũng được chuyển, như vậy các gen này được huy động bởi plasmid R.

4.4.2. Plasmid mã hoá bacteriocin

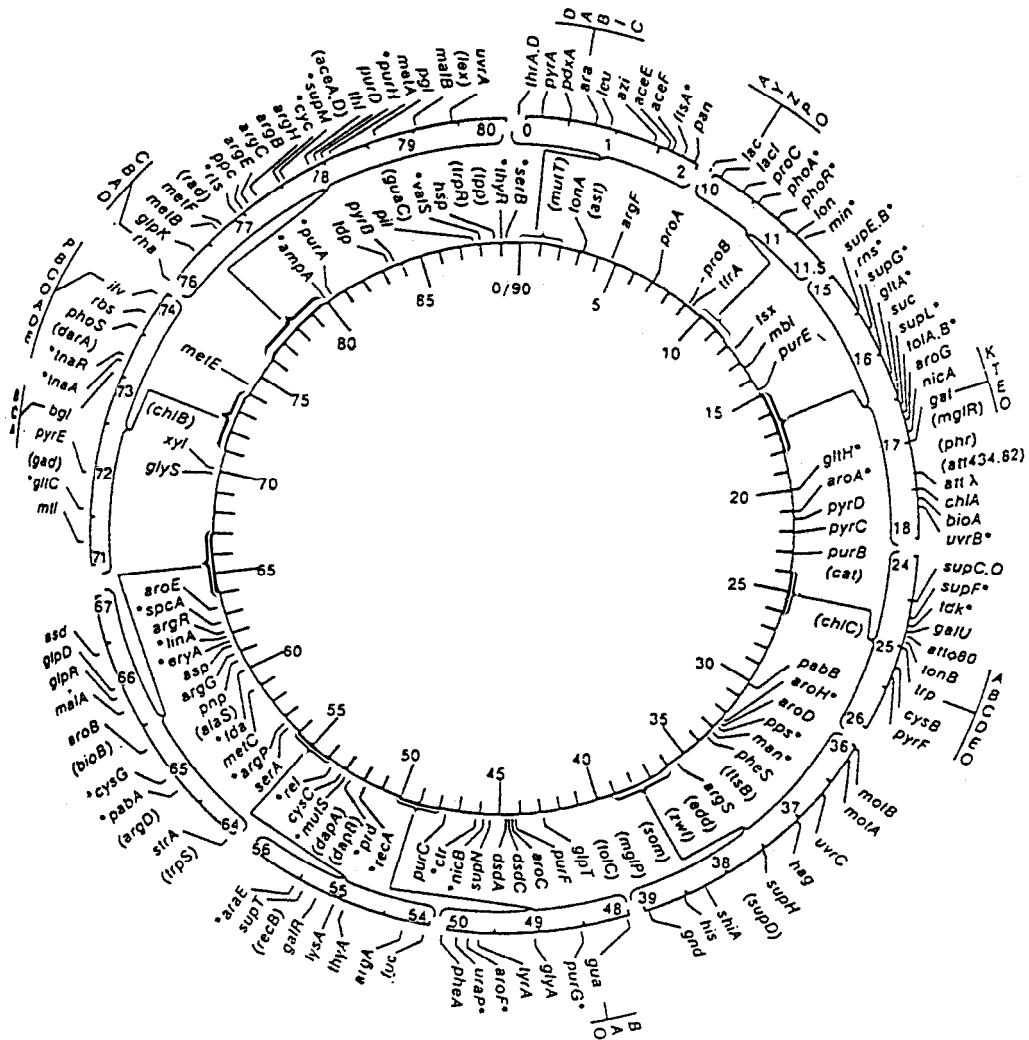
Nhiều vi khuẩn tạo thành các protein có khả năng giết chết hoặc kìm hãm sinh trưởng của các loài thân thuộc. Các protein có tác dụng đặc hiệu này được gọi là các bacteriocin và do plasmid đọc mã. Bacteriocin đã được phân lập từ *E. coli* (colixin), *P. aeruginosa* (pyoxin), *B. megaterium* (megaxin),...

4.4.3. Plasmid mã hoá yếu tố gây bệnh

Các VSV có khả năng nhiễm hại vì chúng có các yếu tố xâm nhiễm, yếu tố gây bệnh và các yếu tố độc tính. Một số trong số các yếu tố này do plasmid đọc mã, cũng vì vậy mà các yếu tố ấy được phổ biến nhanh chóng. Đó là các yếu tố xâm thực giúp VSV phát triển mạnh mẽ trên bề mặt các màng nhày (invasin), được plasmid đọc mã giúp cho *Shigella flexneri* xâm nhập tích cực vào trong các tế bào biểu mô ruột. Enterotoxin (độc tố ruột), có tác dụng độc trong đường ruột và gây ỉa chảy, thường cũng được đọc mã bởi plasmid. Hemolysin có tác dụng dung giải hồng cầu. Đối với các vi khuẩn đường ruột gây bệnh, khả năng sử dụng ion sắt là tiền đề quan trọng cho sự xâm nhập của chúng vào các tế bào và mô. Và các siderophor liên kết sắt như aerobactin cũng được đọc mã bởi plasmid.

4.4.4. Plasmid mã hoá trao đổi chất phức tạp

Có một số plasmid mang gen chịu trách nhiệm các phản ứng trao đổi chất phức tạp: như cố định nitơ tạo thành nốt sần, tổng hợp các enzym của quá trình phản ứng nitrat hoá,... Các plasmid trao đổi chất này thường là các plasmid khổng lồ, kích thước khoảng 300 – 1.200kb, được gọi là các mega plasmid. Đặc biệt, một số hệ thống giới hạn và cải biến bảo vệ vi khuẩn khỏi sự xâm nhập của ADN lạ ở một số vi khuẩn có nguồn gốc từ plasmid, tuy nhiên, trong số vi khuẩn khác gần gũi về chủng loại phát sinh lại nằm trên ADN. Sự định vị khác nhau của gen cho thấy hệ gen giữa nhiễm sắc thể và plasmid được trao đổi và plasmid đóng vai trò quan trọng trong tiến hoá của hệ gen tế bào nhân nguyên thủy. Hình 5.11 giới thiệu bản đồ nhiễm sắc thể của *E. coli*.



Hình 5.11. Bản đồ nhiễm sắc thể của *E. coli*

4.4.5. Các thể hệ plasmid

– Các plasmid thể hệ thứ nhất: Đây là các plasmid tìm thấy trong tự nhiên (ColE1, pSC101,...), đã góp phần trong tạo dòng đầu tiên các gen Eucaryota. Nhưng các plasmid này có ít các đặc tính cần thiết nên các nhà nghiên cứu đã tạo ra các plasmid thể hệ hai.

– Các plasmid thể hệ hai: Đây là các plasmid được tạo ra bằng cách tập trung các đặc tính quý của nhiều plasmid tự nhiên vào một plasmid. Họ plasmid pBR được hình thành theo cách này, mà đại diện rất nổi tiếng là plasmid pBR322. pBR322 có kích thước 4.363bp, mang 2 gen kháng kháng sinh (kháng ampicilin và tetracyclin) và 20 vị trí nhận biết của các restrictase (RE), mà 11 trong số đó nằm trong các gen kháng kháng sinh, nên việc gắn một trình tự ADN lạ vào một trong các vị trí đó sẽ làm mất tính kháng thuốc tương ứng.

– Các plasmid thể hệ ba: Đây là các plasmid mạnh nhất hiện nay với 2 đặc tính cơ bản là: (1) kích thước nhỏ nên sao chép rất nhanh, tạo được nhiều bản sao trong vi khuẩn; (2) có mang một polylinker (polycloning site), là một đoạn polynucleotid tổng hợp tương ứng với một dãy các vị trí nhận biết duy nhất của các RE. Có 3 phân nhóm chính:

+ Các plasmid nhóm pUC: khoảng 2.600bp, có gen *amp^r* và một phần gen *lacZ*, xen vào giữa *lacZ* là polylinker.

+ Nhóm các plasmid pSP và Gemini: khoảng 3.000bp, có gen *amp^r* và *polylinker*, không có *lacZ*, nhưng các plasmid nhóm này (pSP64, 56, Gemini) có promotor đặc trưng cho ARN polymerase (SP6, T7) cho phép phiên mã ADN gắn trong vector thành rất nhiều đoạn ARN,

+ Các plasmid Bluescript: Kết hợp được ưu điểm của các nhóm trên và có tiềm năng nhất hiện nay.

5. GIỚI HẠN VÀ CẢI BIẾN VÀ CƠ SỞ KỸ THUẬT GEN

Nhìn chung phage nhiễm sinh phát triển trong chủng *E. coli* này lại không thể nhiễm sinh trong những chủng khác. Sự hạn chế này chính là do enzyme của vi khuẩn đã nhận ra vị trí đặc biệt trên ADN “lạ” của phage và cắt loại bỏ chúng, khi đó ADN của tế bào được bảo vệ nhờ sự cải biến bởi enzyme và do đó không bị enzyme giới hạn (restrictase-RE) nhận ra.

Hệ thống giới hạn và cải biến là khá phổ biến ở VSV, một mặt được sử dụng để đánh dấu ADN của tế bào, mặt khác lại phân huỷ ADN lạ mới xâm nhập. Hệ thống enzyme giới hạn (restrictase) gồm có hai loại hoạt tính enzyme: endonuclease và methyltransferase. Cả hai thể hiện hoạt tính ở một đoạn xác định thứ tự phân biệt. Trong trường hợp của ADN tế bào, thứ tự này được cải biến hoá học nhờ methyltransferase qua phản ứng methyl hoá adenyl ở vị trí N-6 và không bị cắt bởi endonuclease qua sự thủy phân liên kết phospho dieste. Một trình tự nucleotid xác định là cơ chất cho một hoặc hai enzyme hoạt tính mà thôi. Methyltransferase cải biến ADN của tế bào khi sao chép, sản phẩm một sợi kép ADN bởi sợi đơn ADN được methyl hoá. Sau đó, hoạt tính endonuclease được kích thích khi trong tế bào xuất hiện ADN không bị cải biến (ADN lạ), là cơ chất cho enzyme này.

5.1. Các endonuclease giới hạn

Các endonuclease được dịch mã bởi genom vi khuẩn, phage và plasmid. Có ba loại endonuclease và đều cắt ADN sợi kép. Enzyme giới hạn Loại I được cùng một protein mang cả hai hoạt tính (endonuclease và methyltransferase) có trình tự nhận biết đặc biệt, cắt ADN ngẫu nhiên. Enzyme giới hạn Loại II có endonuclease và methyltransferase được mang bởi hai protein khác nhau, có trình tự nhận biết đặc hiệu, vị trí cắt cũng đặc hiệu và nằm trong vùng nhận biết, thể hiện sự đối xứng quay kép (hai sợi có cùng trình tự khi đọc theo cùng một chiều phân cực). Kết quả là xuất hiện những đoạn ADN với trình tự xác định. Endonuclease loại II được sử dụng hữu hiệu trong kỹ thuật tạo dòng nhân bản gen. Enzyme giới hạn loại III được cùng một protein mang cả hai hoạt tính (endonuclease và methyltransferase), có vị trí nhận biết đặc hiệu và vị trí cắt cũng đặc hiệu. Hiện nay có khoảng hàng trăm enzyme giới hạn được thương mại trên thị trường (bảng 5.1).

Bảng 5.1. Một số enzyme giới hạn

Nguồn gốc enzyme	Tên gọi	Trình tự nhận biết
<i>Escherichia coli</i> RY13	EcoRI	5'-G↓A↓T↓A*-T-T-C-3' 3'-C-T-T-A*-A-G-5'
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	HhaI	5'-G-C*↓G↓C-3' 3'-C-G↓C*-G-5'
<i>Brevibacterium albidum</i>	BalI	5'-T-G-G↓C*-C-A-3' 3'-A-C-C*-G-G-T-5'
<i>Haemophilus aegypticus</i>	HaeIII	5'-G-G↓C*-C-3' 3'-C-C*-G-G-5'

Mũi tên chỉ vị trí cắt của enzyme, đường ----- là trục quay thứ tự nhận biết, và ngôi sao * chỉ methyl hoá.

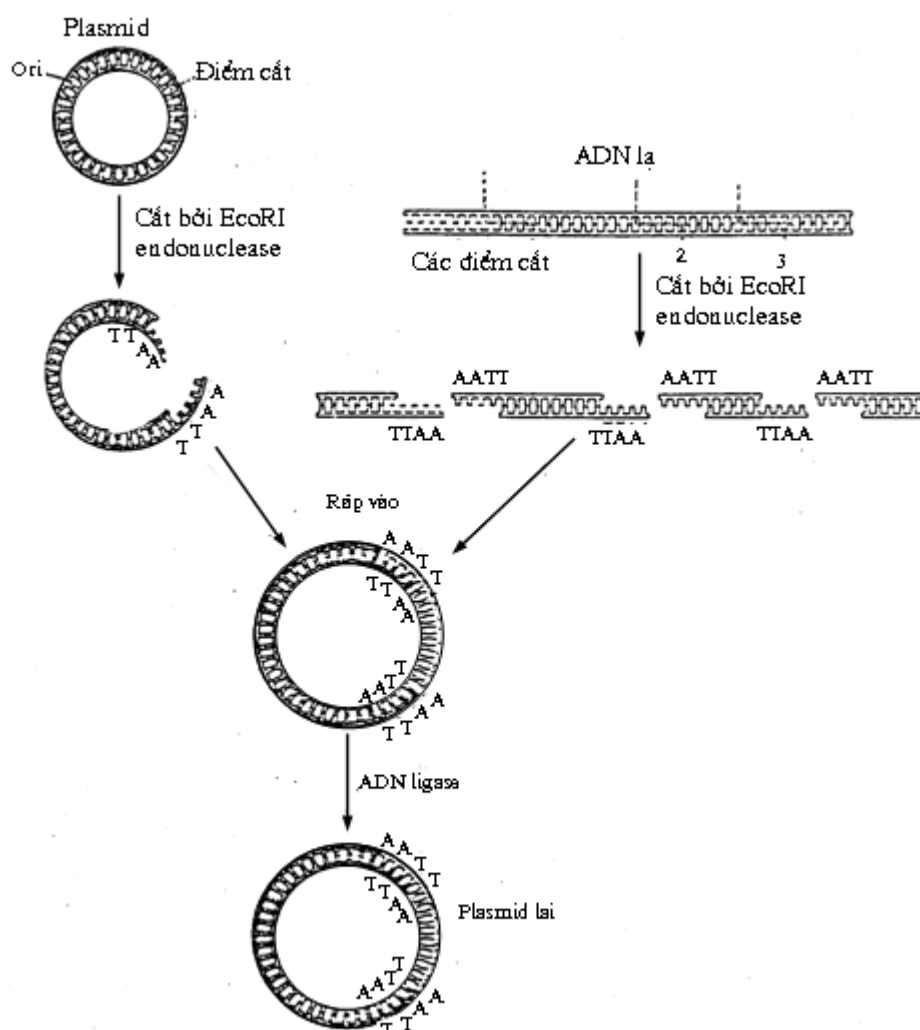
Nhiều enzyme endonuclease cắt 2 sợi ADN trên trình tự đặc hiệu lệch đi sẽ tạo ra các đoạn ADN

gắn đầu dính (cổ kết), còn số enzym khác nếu cắt trên cùng một vị trí sẽ tạo ra các đầu bằng (tù). Trên các đoạn ADN với các đầu dính, các sợi đơn bổ sung có thể gắn với nhau nhờ liên kết hydro, sau đó nhờ ligase kết hợp với sử dụng ATP các liên kết đường – phosphat sẽ được hàn lại.

5.2. Thiết kế các plasmid (vector) tái tổ hợp

Nếu hai loại ADN được xử lý với cùng một enzym giới hạn (restrictase) thì mỗi ADN sẽ có đầu dính tương hợp nhau và 2 đoạn ADN ấy sẽ gắn lại được với nhau tạo thành ADN duy nhất. Plasmid mà có chứa 2 loại ADN có nguồn gốc khác nhau được gọi là plasmid tái tổ hợp.

Có thể gắn gen (bản sao cADN) của sinh vật nhân thật bậc cao (ví dụ: vượn, người) vào một plasmid, nhưng cần thực hiện theo các bước sau: từ mô vật chủ ta chiết lấy pre-m-ARN từ gen mục tiêu, rồi loại bỏ các intron và ghép nối các exon ta được m-ARN trưởng thành. Từ m-ARN trưởng thành nhờ enzym phiên mã ngược tổng hợp cADN (kỹ thuật RT-PCR), và cADN được ghép với plasmid tạo thành plasmid lai (hình 5.12).



Hình 5.12. Các bước chỉnh chế tạo plasmid tái tổ hợp

5.3. Đưa plasmid tái tổ hợp vào tế bào vi khuẩn nhận

Phương pháp đưa plasmid tái tổ hợp này vào tế bào thường sử dụng là phương pháp biến nạp. Tuy nhiên, đa số vi khuẩn không dễ dàng tiếp nhận plasmid tái tổ hợp. Để tăng cường tần suất biến nạp người ta xử lý tế bào nhận với dung dịch CaCl_2 ở nhiệt độ thấp ($0 - 4^\circ\text{C}$ với *E. coli*), bổ sung plasmid tái tổ hợp rồi đun nóng tế bào nhận (tới 42°C với *E. coli*) để gây shock nhiệt chung. Nhờ vậy, tính thấm của tế bào VSV thay đổi, cho phép plasmid xâm nhập tế bào. Plasmid cũng có thể được tế bào hấp thụ sau khi bị xử lý với shock điện (xung điện), shock điện tạo thành các mao dẫn, qua đó plasmid có

thể dễ dàng xâm nhập tế bào.

Người ta sử dụng các gen kháng kháng sinh như kháng tetracyclin, ampicilin để làm dấu hiệu nhận biết tế bào đã dung nạp plasmid. Nếu ban đầu các vi khuẩn nhận là mẫn cảm với các kháng sinh trên thì sau khi biến nạp trong quần thể VSV, những tế bào nào kháng kháng sinh chính là những tế bào đã tiếp nhận plasmid biến nạp. Khi hỗn dịch các vi khuẩn sau biến nạp được cấy sàng lọc trên môi trường thạch có chứa kháng sinh chỉ thị, thì chỉ những vi khuẩn có chứa plasmid tái tổ hợp mới phát triển tạo thành khuẩn lạc được.

Khi tế bào vi khuẩn nhận plasmid tái tổ hợp, tế bào sinh sản tạo thành một quần thể lớn các tế bào giống nhau gọi là một dòng. Vì plasmid là tác nhân biến truyền nhờ đó mà gen mới được đưa vào tế bào vi khuẩn nên plasmid còn được gọi là vectơ (vector) tạo dòng. Với một số plasmid, việc cho vào môi trường nồng độ thấp của chloramphenicol sẽ dẫn đến việc sao chép plasmid mất điều khiển khiến cho hàng trăm bản sao plasmid (và tất nhiên gen ngoại lai trong đó) có thể được tổng hợp bởi mỗi một tế bào vi khuẩn. Sự sao chép bất thường như vậy của plasmid gọi là sự khuếch đại.

6. KỸ THUẬT PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) VÀ XÁC ĐỊNH TRÌNH TỰ ADN

6.1. Phản ứng chuỗi trùng hợp (PCR)

Phản ứng chuỗi trùng hợp PCR là phương pháp tạo dòng (khuếch đại) ADN *in vitro*, được áp dụng rộng rãi trong kỹ thuật di truyền ngày nay. Công bố trong năm 1985 nhờ phát minh của Karl Mullis và cộng sự, kỹ thuật PCR thực sự đã trở thành công cụ đắc lực của sinh học phân tử và kỹ thuật di truyền.

6.1.1. Nguyên tắc

Trong điều kiện *in vitro*, với các đoạn mồi chuyên biệt bắt cặp được với hai đầu một đoạn ADN, enzym Taq ADN polymerase, ion Mg^{2+} và các nucleotid tương ứng, trong 3 chu kỳ nhiệt thích hợp, đoạn ADN đã nêu sẽ được tổng hợp khuếch đại lên một cách mạnh mẽ.

Tất cả các ADN polymerase khi hoạt động tổng hợp một mạch ADN mới từ mạch khuôn đều cần sự hiện diện của những mồi chuyên biệt. Mồi (đoạn ADN mồi – probe) ở đây là những đoạn ADN ngắn có khả năng song đôi bổ sung với một đầu của mạch khuôn và ADN polymerase sẽ nối dài mồi để hình thành mạch ADN mới, nằm giữa hai mồi. Để khuếch đại một trình tự ADN mục tiêu, cần có thông tin tối thiểu về trình tự đó đủ để tạo các mồi bổ sung chuyên biệt. Các mồi này bao gồm một mồi xuôi (sens primer) và một mồi ngược (antisens primer). “Xuôi” và “ngược” được hiểu theo nghĩa “xuôi” và “ngược” so với chiều phiên mã của gen.

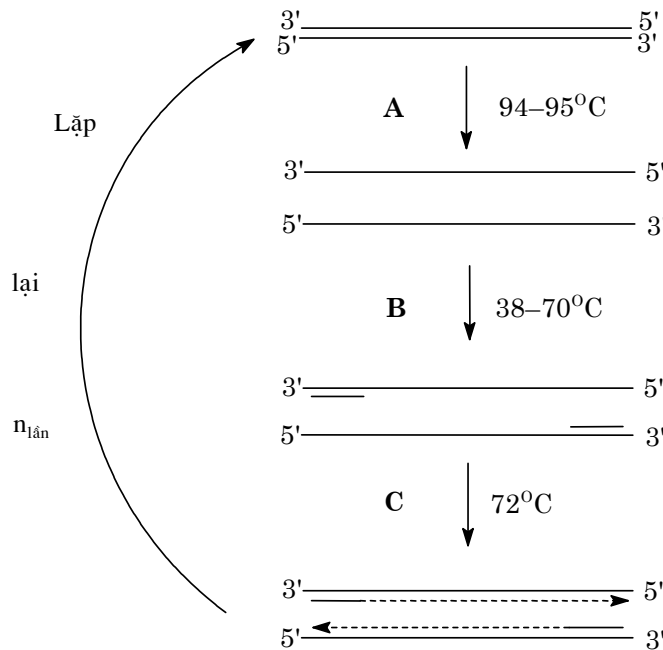
6.1.2. Thực nghiệm

Phản ứng PCR bao gồm chuỗi phản ứng nhiều chu kỳ nối tiếp nhau. Mỗi chu kỳ gồm 3 bước sau (hình 5.13):

Bước 1. Trong dung dịch phản ứng có các thành phần cần thiết cho sao chép, phân tử (đoạn) ADN được biến tính ở $94 - 95^{\circ}\text{C}$ (nhiệt độ này cao hơn nhiệt độ nóng chảy T_m của ADN) trong 30 giây – 1 phút. Sợi kép ADN sẽ tách thành 2 sợi đơn. Đây là giai đoạn biến tính (denaturation).

Bước 2. Nhiệt độ lúc này được hạ xuống (thấp hơn T_m của các mồi) cho phép các ADN mồi bắt cặp được với các ADN khuôn sợi đơn. Chu kỳ nhiệt độ này giao động trong khoảng từ $38 - 70^{\circ}\text{C}$, tùy thuộc vào T_m của các mồi được sử dụng, và kéo dài từ 30 giây – 1 phút. Đây là giai đoạn lai.

Bước 3. Nhiệt độ được tăng lên 72°C , và được giữ ở đây từ 30 giây – vài phút giúp cho ADN polymerase chịu nhiệt (Taq ADN polymerase) tổng hợp các ADN sợi kép mới từ các ADN sợi đơn đã được bắt cặp với đoạn mồi từ chu kỳ trước. Đây là giai đoạn tổng hợp hay kéo dài.



Hình 5.13. Các bước chu kỳ của kỹ thuật PCR

A. *Biến tính*: tách rời 2 mạch của phân tử (đoạn) ADN; B. *Lai*: cặp mỗi chuyên biệt cho một trình tự ADN được cho bắt cặp với khuôn; C. *Kéo dài*: ADN polymerase tổng hợp mạch ADN mới từ mỗi đã bắt cặp. Chu kỳ này được lặp lại n lần.

Một chu kỳ gồm 3 bước trên sẽ được lặp đi lặp lại nhiều lần và mỗi lần sẽ làm tăng gấp đôi lượng mẫu ADN của lần trước. Đây là sự khuếch đại theo cấp số nhân: sau 30 chu kỳ, sự khuếch đại sẽ tăng lên 10^6 lần so với lượng khuôn mẫu ADN ban đầu.

– ADN mẫu thật tinh khiết là tốt nhất cho PCR, tuy nhiên, ADN thu nhận được trực tiếp từ dịch chiết tế bào vẫn có thể sử dụng được. Lượng ADN mẫu có thể trong khoảng 100ng đến 1μg.

– ADN polymerase sử dụng ở đây là enzym chịu nhiệt chịu nhiệt – Taq ADN polymerase – được chiết xuất từ vi khuẩn suối nước nóng *Thermus aquaticus*. Ngày nay, bên cạnh Taq ADN polymerase còn có enzym Tth ADN polymerase cũng được ứng dụng (được chiết từ *Thermus thermophilus*), hoạt động như enzym phiên mã ngược khi có mặt của ARN làm khuôn và ion Mn^{2+} ; tuy nhiên khi có mặt ADN khuôn và ion Mg^{2+} lại hoạt động như ADN polymerase. Vậy khi khuếch đại ARN, sử dụng Tth ADN polymerase cần bổ sung Mn^{2+} , kết quả sẽ thu được cADN từ ARN khuôn ban đầu. Đây là nguyên lý cơ bản của phương pháp RT-PCR rất hữu hiệu để khuếch đại các m-ARN, vrARN,...

– Mỗi phải được chọn để không có sóng đôi bổ sung giữa mỗi “xuôi” và mỗi “ngược”, T_m không cách nhau quá xa, có cân bằng cặp base, có tính đặc trưng cho ADN cần khuếch đại.

– Nồng độ 4 loại nucleotid thường là 20 – 200μM cho mỗi loại. Nồng độ Mg^{2+} cũng rất quan trọng, tuy nhiên phải xác định cụ thể.

– Thực tế không vượt quá 40 chu kỳ cho một phản ứng PCR. Nếu số lượng bản mẫu ban đầu là 10^5 , thì cần 20 – 30 chu kỳ. Nếu số lượng mẫu là $10^2 - 10^3$, cần 35 – 40 chu kỳ.

6.2. Kỹ thuật xác định trình tự ADN

Hai phương pháp xác định trình tự chính là phương pháp hoá học của Maxam và Gilbert (1977) và phương pháp enzym học qua việc sử dụng các dideoxynucleotid của Sanger và cộng sự (1977). Vì tính tiện ích và dễ đơn giản bớt, ở đây chỉ trình bày phương pháp của Sanger và cộng sự.

Phương pháp Sanger dựa vào sự tổng hợp nhờ enzym ADN polymerase mạch bổ sung cho trình tự ADN mạch đơn cần xác định. Đặc trưng của phương pháp là ngoài 4 loại nucleotid thông thường

còn cần sử dụng thêm 4 loại dideoxynucleotid không có khả năng hình thành các liên kết phosphodiester và vì thế làm ngưng quá trình tổng hợp.

Trình tự ADN cần xác định phải được tạo dòng trong một vector mạch đơn (phage M13). ADN polymerase sử dụng ở đây có thể là đoạn Klenow của ADN polymerase hay Taq ADN polymerase, hay Sequenase. Sự tổng hợp mạch mới bắt đầu từ 1 mồi sóng đôi với trình tự chuyên biệt trên phage M13, với sự hiện diện của 4 loại nucleotid, trong đó 1 loại được đánh dấu đồng vị phóng xạ (35S). Phản ứng tổng hợp được tiến hành trong 4 phân đoạn riêng. Người ta lần lượt cho vào mỗi phân đoạn một trong 4 loại dideoxynucleotid (ddNTP) với hàm lượng rất nhỏ (~1% so với dNTP). Do nồng độ thấp mà thỉnh thoảng mới có một dideoxynucleotid được sử dụng vào phản ứng tổng hợp một oligonucleotid; và lập tức, sự tổng hợp oligonucleotid đó ngừng lại. Tính xác suất thì trong mỗi phân đoạn sẽ có mặt tất cả các nucleotid hiện diện trên trình tự ADN đối tượng. Ví dụ, nếu trình tự ADN cần xác định là AATCGATAGGCTTGCATG thì trong phân đoạn có mặt dideoxynucleotid ddC sẽ có sự tổng hợp các oligonucleotid sau:

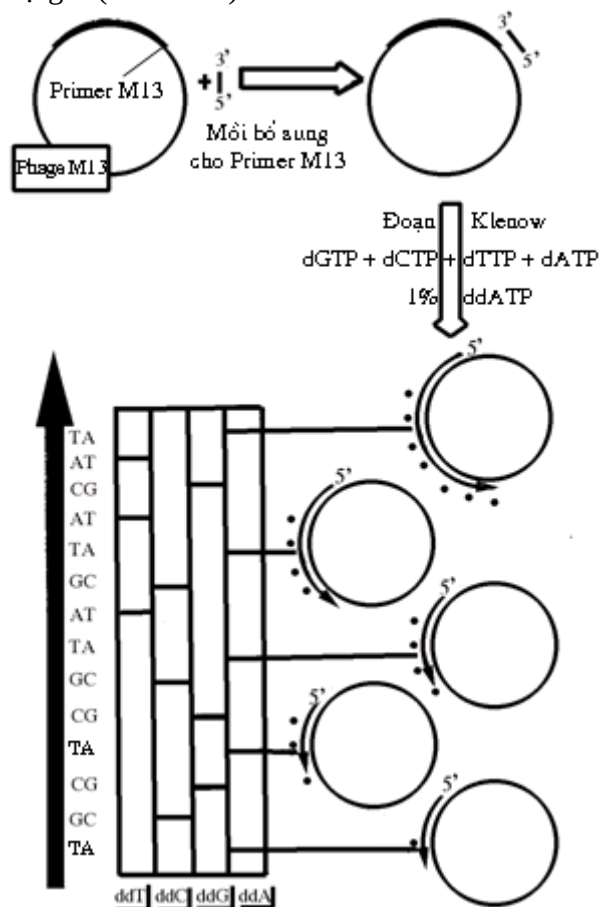
AATC

AATCGATAGGC

AATCGATAGGCTTGC

AATCGATAGGCTTGCATG

Sau đó, 4 phân đoạn phản ứng tổng hợp sẽ được đem phân tích trên gel polyacrylamid và kết quả được đọc trên bản phóng xạ tự ghi (hình 5.14).



Hình 5.14. Phương pháp Sanger sử dụng các dideoxynucleotid

Trình tự cần xác định được tạo dòng trong phage M13. Ví dụ cho thấy sự hình thành 5 vạch trong bản điện di có cho thêm ddATP; mỗi vạch tương ứng với một đoạn ADN đã kết nạp một ddA thay vì dA và do đó không tiếp tục kéo dài thêm. Bản điện di được đọc theo chiều mũi tên. Trình tự đọc bên trái chính là trình tự bổ sung cho trình tự được đọc trên bản điện di.

Tuy nhiên, có một số cải tiến để đơn giản hoá phương pháp trên. Người ta tạo dòng ADN cần

xác định trình tự với vector là plasmid thể hệ 3 ngay từ đầu. Ở hai bên của đoạn ADN được tạo vòng, các plasmid này có mang hai trình tự chuyên biệt, mỗi trình tự nằm trên một mạch. Khi cần xác định trình tự của mạch nào người ta biến tính tách rời hai mạch (nhờ NaOH) rồi sử dụng mỗi bắt cặp với trình tự chuyên biệt nằm trên mạch đó. Phản ứng tổng hợp xảy ra theo nguyên tắc đã nêu ở trên.

Khi xác định trình tự bằng máy tự động, người ta không đánh dấu bằng các đồng vị phóng xạ mà bằng hoá chất – các flourchrom. Mỗi loại dideoxynucleotid được đánh dấu bằng một flourchrom có màu khác nhau. Như vậy, tất cả các oligonucleotid cùng kết thúc tại một loại dideoxynucleotid sẽ có cùng một màu. Sau khi điện di trên gel polyacrylamid, kết quả sẽ được đọc qua hệ thống gắn vi tính điều khiển.

PCR cho phép xác định trình tự một ADN được khuếch đại bằng PCR không qua tạo vòng. Phương pháp chỉ sử dụng được khi trình tự đoạn ADN đã được biết trước, được ứng dụng để xác định nhanh đột biến điểm. Trước hết, đoạn ADN cần xác định trình tự được khuếch đại bằng phương pháp PCR. Sau đó, hai mạch của ADN được tách rời ra. Mỗi mạch được bắt cặp với một môi (có thể là môi dùng cho phản ứng PCR hay một môi nằm bên trong đoạn ADN). Phản ứng tổng hợp xảy ra tương tự như enzym sử dụng dideoxynucleotid.

7. CÁC ỨNG DỤNG CỦA KỸ THUẬT GEN (GENETIC ENGINEERING)

Kỹ thuật gen – kỹ nghệ di truyền– hiện tại và tương lai có thể góp phần quan trọng vào chăm sóc sức khỏe, cung cấp dược phẩm, thực phẩm, cung cấp dịch vụ, cải tạo môi trường. Công nghệ được phẩm sử dụng kỹ thuật biến đổi gen đã sản xuất được các hoạt chất, dược chất dùng trong điều trị như: insulin người, yếu tố sinh trưởng người (hGH), plasminogen của mô, urokinase (dùng xử lý cục máu đông), interferon, somatostatin (hormon vỏ não),... Các chất hoạt động sinh học được sản xuất nhờ kỹ thuật gen ngày càng nhiều và ứng dụng ngày càng đa dạng. Kỹ thuật mới sản xuất vaccin đã được phát triển từ kỹ nghệ di truyền.

7.1. Vaccin phòng bệnh lở mồm long móng, vaccin tái tổ hợp và vaccin chống viêm gan B

– Gen protein vỏ đặc hiệu của virus gây bệnh lở mồm long móng ở động vật được đưa vào plasmid và plasmid tái tổ hợp được biến nạp vào *E. coli*. Khi nuôi cấy *E. coli* biến đổi gen sẽ tạo ra protein đặc thù trên, và sau khi được chiết xuất rồi tiêm vào trâu, bò sẽ kích thích sản xuất kháng thể trong động vật chống lại bệnh lở mồm long móng. Phương pháp sản xuất vaccin này cho phép tránh được nguy hiểm và khó khăn gặp phải khi sản xuất vaccin bệnh lở mồm long móng sử dụng phương pháp thông thường.

– Trong trường hợp vi khuẩn *Vibrio cholera*, người ta loại bỏ một phần gen mã hoá enterotoxin của vi khuẩn trước khi dùng chúng để sản xuất vaccin. Kết quả là protein sinh ra có hoạt tính giảm đáng kể mà vẫn giữ được tính kháng nguyên cao. Kết quả tương tự cũng nhận được đối với *S. typhimurium* với đột biến trên gen *aro*.

– Máu của những người mắc bệnh virus viêm gan B (HBV) kinh niên có chứa các hạt protein nhỏ vô hại của virus. Đây là protein HBsAg, có thể chiết xuất được, rồi xử lý diệt virus và tinh chế. Khi tiêm HBsAg vào trong người sẽ kích thích miễn dịch chống lại các virus gây bệnh. Mặt khác HBsAg có thể sản xuất được nhờ *S. cerevisiae* biến đổi gen (tiếp nhận gen mã hoá cấu trúc của HBsAg), và HBsAg nội bào được chiết xuất sau khi tế bào nấm men bị phá vỡ. Với kỹ thuật này, protein HBsAg biến đổi gen đã được sản xuất với khối lượng lớn và sử dụng làm vaccin phòng bệnh viêm gan B. Đây là vaccin biến đổi gen đầu tiên được sản xuất để phòng bệnh cho người.

7.2. Vaccin chống AIDS

– Gen mã hoá gp160 của HIV được gắn vào ADN của Baculovirus tấn công côn trùng. Khi các tế bào mô côn trùng bị nhiễm Baculovirus tái tổ hợp được nuôi cấy, gen gp160 được biểu hiện và protein gp160 được tạo ra. Thí nghiệm về tạo ra đáp ứng miễn dịch chủ động ở người đối với protein gp 160 đang được nghiên cứu. Tuy nhiên các đột biến kháng với tần suất xuất hiện cao là trở ngại

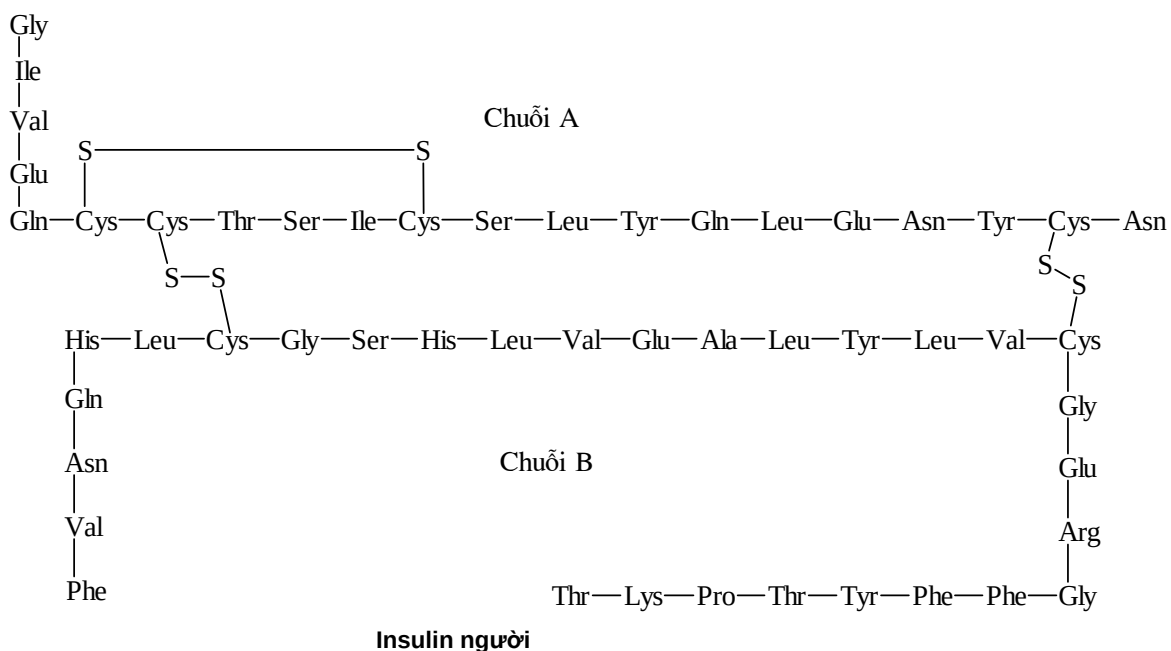
lớn trong nghiên cứu phát triển vaccin chống HIV/AIDS.

– Vaccin ADN HIV-1 đã và đang được thử nghiệm phòng chống HIV/AIDS. Vaccin ADN HIV-1 là vector liệu pháp gen cải biến từ bộ gen của HIV-1. Một số loại vaccin ADN để thử nghiệm phòng chống HIV/AIDS được tạo thành từ các plasmid tái tổ hợp gồm pTXGE và các gen đặc hiệu của hệ thống miễn dịch người như *il-2*, *ifn- α* và gen *gm-csf*. Plasmid thể hệ 3 pTXGE được tạo thành từ plasmid pTX (4,55kb) gắn thêm bộ gen HIV-1 cải biến (đã xoá bỏ một số vùng gen của HIV như gen *pol*, và các gen *vpu*, *vpr*, *tat* bị xoá một vài vùng nhỏ). Vaccin ADN HIV-1 thử nghiệm trên động vật thực nghiệm cho kết quả tốt, có thể là một trong những giải pháp chống HIV/AIDS trong tương lai.

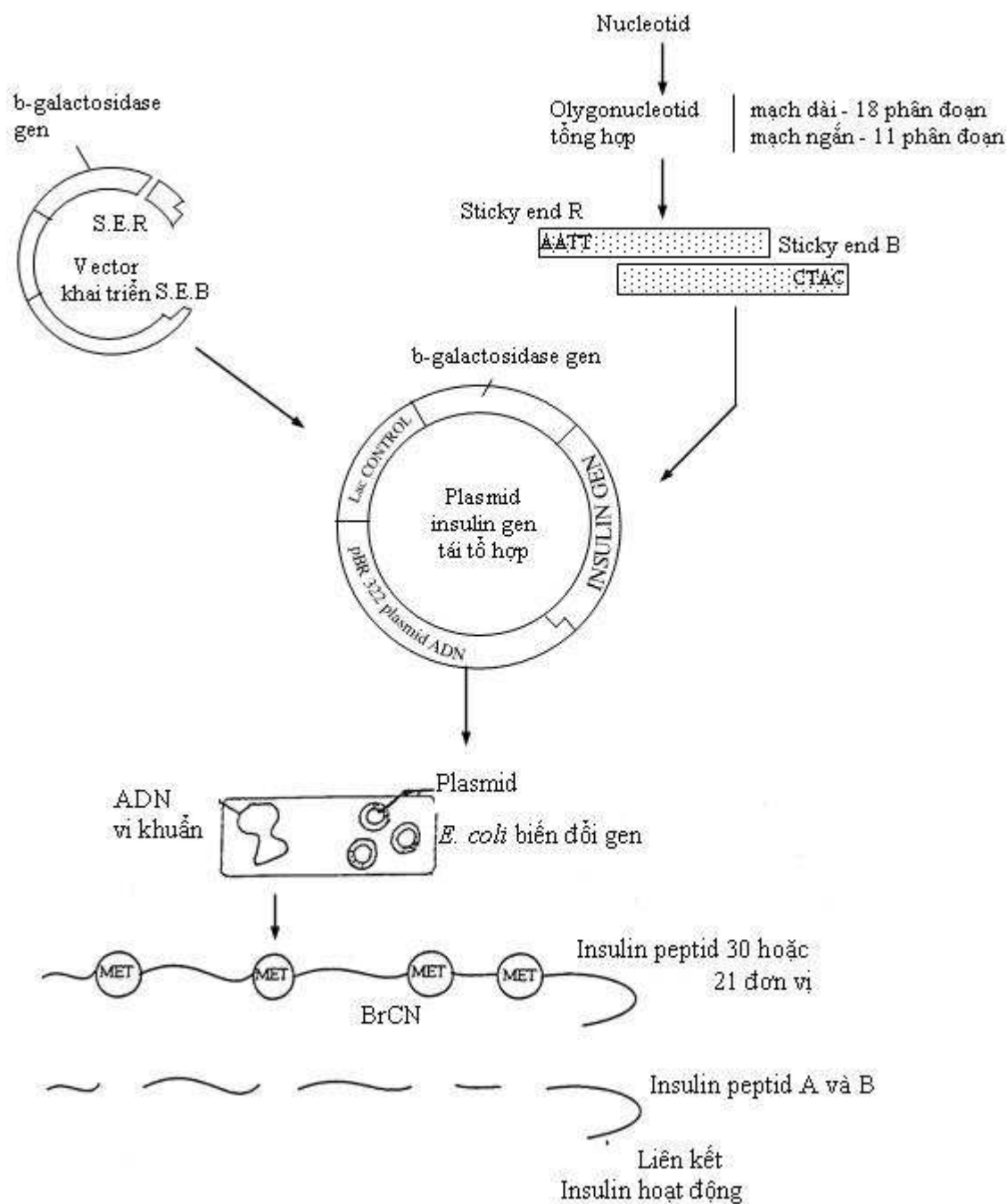
7.3. Sản xuất insulin

Với sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ gen, người ta có thể nhờ VSV sản xuất được các hoạt chất mà khởi thủy không một thông tin nào được chứa trong VSV đó – sản phẩm hoàn toàn xa lạ với VSV. Nguyên lý: Gen chuyên trách về cấu trúc insulin thu được từ các nguồn khác nhau (tổng hợp hoá học, hay phân lập – từ các nguồn khác nhau rồi được khuếch đại) được đưa vào tế bào VSV. Khi các VSV biến đổi gen này được nuôi cấy cho phát triển sẽ biểu hiện gen mới này và tạo ra hoạt chất insulin mà ta mong muốn.

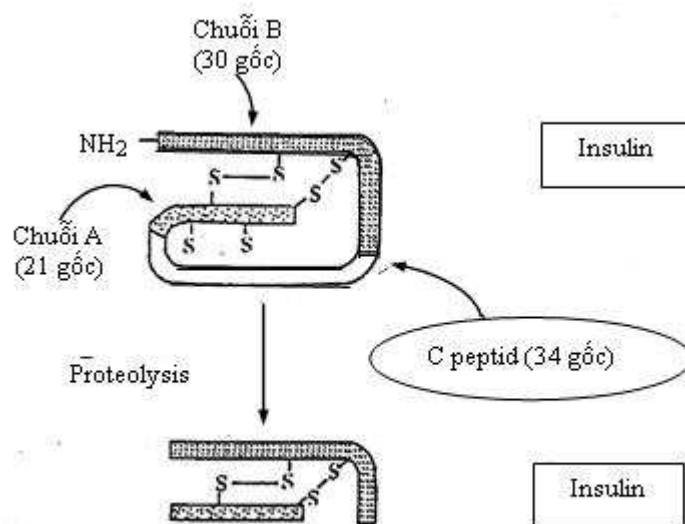
Insulin bao gồm 2 mạch polypeptid: mạch dài 30 (B) và mạch ngắn 21 (A) đơn vị acid amin. Gen mã hoá polypeptid này chứa hai chuỗi ADN: chuỗi dài chứa 18 phân đoạn nucleotid, và chuỗi ngắn chứa 11 phân đoạn. Hai chuỗi nucleotid này được tổng hợp thành hai đoạn gen riêng biệt và được ghép riêng rẽ vào plasmid pBR322 gần phần cuối của gen α -galactosidase. Plasmid được biến nạp vào *E. coli* và được nhân bản lên trong *E. coli*. Sau khi được phiên mã sang mARN, hai mạch A và B của insulin được tạo thành và được bài tiết ra cùng với α -galactosidase. Sau khi tách từng polypeptid khỏi enzym bằng BrCN, hai mạch A và B được gắn lại với nhau tạo ra insulin hoạt động (kỹ thuật 2 block, hình 5.15).



Phương pháp sản xuất insulin một bước cũng bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN, các nhà khoa học đã gắn gen mã hoá tổng hợp proinsulin vào tế bào *E. coli*, rồi nuôi cấy *E. coli* biến đổi gen và chiết lấy proinsulin. Thủy phân tiền insulin bằng protease cắt mạch peptid C (chứa 34 acid amin) cho ta insulin hoạt động. Phương pháp này cũng có thể áp dụng được đối với nấm men *S. cerevisiae* (hình 5.16).



Hình 5.15. Sản xuất insulin với kỹ thuật 2 block



Hình 5.16. Sản xuất insulin theo kỹ thuật 1 block

7.4. Kỹ thuật di truyền vi sinh vật với nông nghiệp

Trong nông nghiệp ngày nay có thể sử dụng các chủng *Pseudomonas syringae* và *Pseudomonas fluorescens* biến đổi gen để bảo vệ cây quả chống lại sương giá. Nhờ kỹ thuật ADN tái tổ hợp, một phần gen mã hoá protein tạo nhân (làm tế bào như là lõi kết tinh) trong VSV bình thường bị loại bỏ, và khi gây nhiễm các VSV này cho cây ăn quả, các vi khuẩn biến đổi gen có thể thay thế các chủng bình thường, nhờ vậy sẽ bảo vệ cây quả khỏi tác dụng gây hại của sương giá. Nhờ kỹ thuật di truyền, tính kháng nhiệt và chịu hạn của cây trồng được cải thiện, cũng như có thể tạo ra các cây trồng có tính kháng côn trùng và các VSV gây bệnh. Việc tạo ra và kết hợp thành công các vi khuẩn cố định nitơ có khả năng cộng sinh với các cây ngũ cốc sẽ làm tăng đáng kể sản lượng nông nghiệp, đặc biệt ở những vùng thiếu phân bón hoá học.

Kỹ thuật di truyền cũng có thể cung cấp các biện pháp mới cho bảo vệ môi trường. Chẳng hạn, một số vi khuẩn đã được lai ghép gen phân giải dầu mỏ nhằm giải quyết các vụ tràn dầu ra biển. Công nghiệp xử lý, giải quyết ô nhiễm, cũng như công nghiệp mỏ và thu hồi dầu cũng cần sự đóng góp của kỹ nghệ di truyền.

Tuy nhiên kỹ nghệ di truyền cũng có thể gây nhiều tác hại nếu như không có sự kiểm tra chặt chẽ. Chẳng hạn, việc tạo dựng các plasmid mới, nếu không được điều chỉnh một cách thận trọng có thể đưa gen tạo thành độc tố vào các vi khuẩn mà trước đó không tồn tại. Các thí nghiệm liên kết toàn bộ hay một phần ADN từ các virus sinh khối u, hay các virus khác vào trong các nhân tổ ADN sao chép độc lập (các plasmid của vi khuẩn hay các ADN virus khác) cũng đặt ra những rủi ro tương tự.

8. DƯỢC HỌC THỜI HẬU GENOM NGƯỜI

Năm 2004, các nhà khoa học công bố đã giải mã được bộ gen người. Công trình giải mã genom người thành công đã mở ra một kỷ nguyên mới cho các ngành khoa học sự sống trong đó có y dược học. Người ta có thể xác định trình tự gen riêng nào đó của từng người và trên cơ sở so sánh với gen đó trong bộ genom chung, có thể tiên đoán được đáp ứng của từng cá thể đối với các tác động khác nhau và nhờ đó có thể phân nhóm được các cá thể đang khảo sát. Về phương diện Dược học, ngày nay đang dần hình thành môn khoa học mới là *Di truyền dược học* hoặc *Di truyền dược lý* (*Pharmacogenetics*), nghiên cứu xác định một số gen đặc trưng của các bệnh nhân mà căn cứ vào đó có thể dự đoán trước được các đáp ứng dùng thuốc của bệnh nhân, giúp tránh được phản ứng phụ hay phản ứng phản vệ thuốc, cũng như hỗ trợ lựa chọn thuốc chính xác, an toàn hơn. Ví dụ: Cá thể người có gen mã hoá glucose-6-phosphat dehydrogenase (G6PD) bị đột biến khi sử dụng thuốc chứa naphthalen hoặc một số dẫn xuất khác có thể gây vỡ hồng cầu, dẫn đến hậu quả nghiêm trọng, thậm chí

chí tử vong. Nếu nhờ giải được trình tự gen và xác định được đó là cá thể mang gen đột biến thì thầy thuốc sẽ chỉ định thuốc khác, chữa được bệnh an toàn.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các kiểu đột biến, cơ chế tác dụng của các tác nhân đột biến đối với các VSV Prokarya và ứng dụng.
2. Trình bày tái tổ hợp di truyền và các con đường chuyển tính trạng di truyền đối với các VSV Prokarya.
3. Trình bày vai trò của các enzym giới hạn, các phương pháp đưa plasmid vào tế bào vi khuẩn.
4. Trình bày kỹ thuật PCR và phương pháp xác định trình tự ADN.
5. Trình bày các khả năng ứng dụng của kỹ nghệ di truyền.

PHẦN HAI

NHIỄM TRÙNG VÀ MIỄN DỊCH HỌC

Chương 6

NHIỄM TRÙNG

MỤC TIÊU

1. Trình bày được khái niệm nhiễm trùng và các hình thái nhiễm trùng
2. Trình bày được các yếu tố tạo nên độc lực của VSV gây bệnh.
3. Phân tích và so sánh được các phương thức truyền nhiễm.
4. Nêu các tác hại và các biện pháp phòng tránh nhiễm trùng.

1. KHÁI NIỆM NHIỄM TRÙNG

Nhiễm trùng (infection) là hiện tượng xâm nhập, phát triển, nhân lên của VSV trong các mô cơ thể, có thể không biểu hiện rõ rệt về lâm sàng, hoặc có thể gây các tổn thương tại chỗ, có thể trở thành hệ

thông khi lan toả tới hệ bạch huyết hoặc hệ tuần hoàn. Khái niệm nhiễm trùng còn ám chỉ một bệnh nhiễm trùng.

Cần phân định rằng, những VSV ký sinh bình thường trên một số bộ phận của cơ thể, nhưng không xâm nhập vào mô thì không gọi là nhiễm trùng. Phần lớn chúng không gây bệnh, nhưng khi gặp điều kiện thuận lợi thì gây bệnh, đó là trường hợp nhiễm trùng cơ hội, còn bình thường chúng có thể có lợi cho cơ thể chủ, như cung cấp một số vitamin, đó là một số VSV sống hội sinh (commensalism). Một số VSV gây bệnh đôi khi cũng có khả năng hội sinh tạm thời.

2. HÌNH THÁI NHIỄM TRÙNG

Tuỳ theo mức độ lây nhiễm mà ta chia nhiễm trùng thành các hình thái chính sau đây:

2.1. Bệnh nhiễm trùng

Ta nói đến bệnh nhiễm trùng trong trường hợp VSV xâm nhiễm gây ra rối loạn cơ chế điều hoà của cơ thể, làm mất cân bằng nội môi, và dẫn đến những biểu hiện lâm sàng của các dấu hiệu chủ quan và khách quan như sốt, ho, đau, sưng tấy, nổi mẩn,... được gọi là triệu chứng. Bệnh nhiễm trùng có thể biểu hiện cấp tính khi các triệu chứng chỉ tồn tại trong khoảng thời gian ngắn, bệnh nhân hoặc là khỏi hẳn hoặc là chết. Một số trường hợp cấp tính có thể chuyển thành bệnh mãn tính, biểu hiện bằng các triệu chứng không dữ dội nhưng lại kéo dài. Thể bệnh nhiễm trùng này có thể do VSV ký sinh nội bào gây ra.

2.2. Nhiễm trùng thể ẩn

Người bị nhiễm trùng mà không có biểu hiện lâm sàng nhưng có thể có thay đổi công thức máu, và tìm thấy các kháng thể dịch thể.

2.3. Nhiễm trùng tiềm tàng

VSV có thể cư trú tại một cơ quan, bộ phận của cơ thể rồi đến một lúc nào đó chúng có thể gây ra nhiễm trùng rõ rệt.

Sự biểu hiện trong thực tế các hình thái nhiễm trùng kể trên là hàm số tương quan giữa VSV và cơ thể, phụ thuộc vào khả năng gây bệnh của VSV và sức đề kháng của cơ thể. Yếu tố môi trường cũng có những ảnh hưởng quan trọng tới mối tương quan giữa chủ thể và VSV ký sinh. Bản thân VSV cũng không tránh khỏi các mối tương quan với các VSV khác cùng tồn tại trong cơ thể. Mối quan hệ này có thể là đối kháng (antagonism, antibiosis), hoặc hiệp tác (synergism). Khả năng gây bệnh của VSV được biểu thị bằng độc lực của chúng.

3. ĐỘC LỰC CỦA VI SINH VẬT

Độc lực là mức độ gây bệnh của VSV. Đại đa số VSV chỉ có thể gây bệnh cho một loài vật cụ thể, tuy nhiên, cũng có một số VSV có thể gây bệnh cho nhiều loài. Muốn đánh giá được độc lực của một chủng VSV gây bệnh nào đó, người ta thường tiêm (nói chung là gây nhiễm bệnh thực nghiệm: sát lên da bị làm xước,...) VSV đó cho động vật thực nghiệm có nhạy cảm bằng dây pha loãng hỗn dịch chủng, rồi xác định liều thấp nhất còn đủ gây ra đáp ứng, thông thường là động vật chết. Kết quả được biểu thị bằng liều chết tối thiểu (Minimal Lethal Dose) – MLD. Tuy nhiên, trong thực tế khó xác định được MLD thật chính xác, vì đáp ứng cá thể của từng động vật được tiêm có khác biệt, vì thế mà cần xác định LD50 (median lethal dose) – liều chết trung bình. Đây là việc xác định liều mà VSV có thể gây chết 50% số động vật thí nghiệm bằng phương pháp đánh giá trên đồ thị hoặc theo xử lý thống kê. Các phương pháp tương tự cũng được áp dụng để xác định "cường độ" của các độc tố. Độc lực của VSV bao gồm nhiều yếu tố sau đây:

3.1. Khả năng bám vào tế bào chủ

Bám được vào tế bào chủ là điều kiện đầu tiên để VSV có thể xâm nhập được vào tế bào chủ và gây ra nhiễm trùng. Sự hấp thụ đặc hiệu của virus đã được biết đến từ lâu, nhưng đối với vi khuẩn thì vẫn còn nhiều điều phải nghiên cứu. Tính bám đặc hiệu được ghi nhận đầu tiên ở các vi khuẩn cư trú ở ruột già. Tại đây nhu động ruột rất mạnh dồn ép VSV ra ngoài, nhưng nhờ bám đặc hiệu mà trong

ruột vẫn có được sự cân bằng về chủng loại và số lượng vi khuẩn.

3.2. Khả năng xâm nhập

Xâm nhập là yếu tố quyết định đối với nhiễm trùng, vì nếu không có xâm nhập VSV thì cũng không có nhiễm trùng. Khái niệm nhiễm trùng bao gồm cả sự định cư trên bề mặt niêm mạc (vi khuẩn tả, vi khuẩn bạch hầu,...), cả sự xâm nhập vào bên trong tế bào (vi khuẩn ly, *E. coli*, các virus,...), và vào các mô của cơ thể (phế cầu, tụ cầu vàng).

Đối với các vi khuẩn gây bệnh bằng ngoại độc tố thì ngay sau khi phân huỷ bề mặt các tế bào chủ, ngoại độc tố do chúng tiết ra sẽ thâm sâu ngay vào trong cơ thể và gây ra các rối loạn bệnh lý rất nguy hiểm. Đối với các vi khuẩn có độc lực yếu thì chúng thường phải xâm nhập sâu vào bên trong tế bào rồi mới gây bệnh bằng nội độc tố hoặc bằng các sản phẩm chuyển hoá của chúng. Còn đối với các virus và *Rickettsia* thì chúng gây bệnh bằng cách nhân lên bên trong tế bào chủ.

3.3. Độc tố

Độc tố (toxin) là sản phẩm chuyển hoá của tế bào vi khuẩn, được chia làm hai loại: ngoại độc tố và nội độc tố. Ngoại độc tố là các chất do các tế bào vi khuẩn sống tiết ra. Nội độc tố là thành phần của thành tế bào vi khuẩn và chỉ được giải phóng khi các tế bào này bị ly giải. Chi tiết sẽ được trình bày trong chương sau.

3.4. Enzym ngoại bào

Trong quá trình sống, tế bào vi khuẩn tiết ra bên ngoài môi trường nhiều loại enzym được gọi là các enzym ngoại bào có liên quan nhiều đến khả năng gây bệnh của các vi khuẩn đó. Một số ví dụ được minh hoạ tiếp theo đây.

- Hyaluronidase: Enzym này còn được gọi là yếu tố khuếch tán vì nó có khả năng phân huỷ acid hyaluronic của các mô liên kết làm cho vi khuẩn có khả năng lan rộng. Nhiều loại vi khuẩn G+ chế tiết ra enzym này. Nếu dùng các kháng thể chống lại hyaluronidase để điều trị bệnh hoại thư sinh hơi do vi khuẩn *Cl. perfringens* gây ra thì vi khuẩn không còn khả năng lan toả rộng ra được.

- Coagulase là enzym có tác dụng làm đông huyết tương, thường do tụ cầu vàng và một số vi khuẩn khác bài tiết ra. Enzym này biến đổi fibrinogen của máu thành fibrin. Sự lắng đọng của fibrin xung quanh tế bào vi khuẩn làm ngăn cản thực bào và tác dụng của các kháng sinh, kháng thể.

- Fibrinolysin: Các enzym này còn có tên gọi là staphylokinase và streptokinase do tụ cầu và liên cầu khuẩn sinh ra. Các enzym này biến đổi plasminogen thành plasmin dẫn đến hiện tượng làm tan sợi huyết và do đó vi khuẩn dễ lan tràn.

- Hemolysin: Đây là enzym có tác dụng làm tan hồng cầu. Nhiều vi khuẩn có khả năng bài tiết ra nên được coi là một tiêu chuẩn trong việc phát hiện vi khuẩn gây bệnh.

3.5. Độc lực của virus

Độc lực của virus là tập hợp của nhiều yếu tố giúp cho chúng nhân lên và gây tổn hại cho các tế bào bị xâm nhiễm. Ngoài yếu tố bám và xâm nhập, độc lực của virus còn bao gồm các yếu tố sau:

- Ngăn cản sự tổng hợp các polyme (đại phân tử) của tế bào chủ để phục vụ cho sự nhân lên của virus.

- Làm thay đổi tính thấm của lysosom và có thể dẫn đến sự giải phóng của nhiều loại enzym.

- Gắn vỏ peplon vào màng tế bào, và làm tổn hại các màng này. Một số virus tuy không có vỏ peplon nhưng lại gắn kháng nguyên của chúng làm thay đổi cấu trúc và chức năng của màng tế bào.

- Các tiểu thể virus phá huỷ cấu trúc và chức năng tế bào.

- Gây biến dạng nhiễm sắc thể.

- Làm mất kiểm soát kháng nguyên bề mặt tế bào, gây chuyển dạng và loạn sản tế bào (các virus gây ung thư).

3.6. Sự né tránh các đáp ứng miễn dịch

Sự phát triển có tính tiến hoá của VSV đã tạo ra cho chúng một số khả năng chống lại các cơ chế

bảo vệ của cơ thể.

– Sự ẩn náu của VSV trong tế bào (vi khuẩn lao, vi khuẩn hủi,...) đã làm cho chúng có khả năng tránh được các tác dụng của nhiều loại kháng sinh. Một số virus gắn ADN của chúng vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ rồi phát triển nhân lên.

– Một số vi khuẩn có thể tiết (tạo) ra các yếu tố ngăn cản kháng thể, chẳng hạn như tụ cầu vàng tiết ra protein A có khả năng kết hợp vào phần Fc của phân tử kháng thể.

– Một số vi khuẩn như phế cầu, màng não cầu, tiết protease thủy phân các Ig.

– Khả năng biến dị của nhiều loài VSV về cấu trúc kháng nguyên (tụ cầu, vi khuẩn dịch hạch, virus cúm, HIV,...) đã tạo cho chúng khả năng hạn chế tác dụng của miễn dịch đặc hiệu, gây khó khăn rất lớn cho việc nghiên cứu các loại vaccin phòng bệnh.

4. NGUỒN GỐC VÀ PHƯƠNG THỨC TRUYỀN NHIỄM

VSV có khả năng gây ra các bệnh nhiễm trùng ở người có nguồn gốc từ 3 nguồn truyền nhiễm:

– Người truyền cho người: Đây là nguồn truyền nhiễm quan trọng nhất.

– Động vật truyền cho người: Nguồn truyền nhiễm này ngày càng quan trọng hơn.

– Các vật thể tự nhiên: Tương đối không quan trọng.

Tầm quan trọng của ba nguồn truyền nhiễm kể trên tùy thuộc chủ yếu vào sự khác biệt về độ thụ cảm của các VSV khác nhau đối với các mô khác nhau trong cơ thể con người.

4.1. Người truyền cho người

Trẻ sơ sinh mới được sinh ra một cách bình thường đều trong trạng thái vô trùng, nhưng chỉ một thời gian ngắn sau trẻ đã có nhiều VSV và dần dần hình thành cả phức hệ các khu hệ vi khuẩn (bacterial flora). Các vi khuẩn này được lây truyền từ những người xung quanh và thay đổi theo năm tháng trong suốt cuộc đời. Thông thường, chúng là vô hại, nhưng vì một lý do nào đó nếu chúng ra khỏi nơi cư trú bình thường thì lại có thể gây bệnh, chẳng hạn, *E. coli* là vi khuẩn khi sống cộng sinh trong ruột người thì không gây bệnh, nhưng khi ruột bị thủng, chúng sẽ gây viêm màng bụng. Vi khuẩn này cũng thường gây ra các nhiễm trùng đường tiết niệu. *Streptococcus viridans*, *Haemophilus influenzae* và *Pneumococcus* là những vi khuẩn sống bình thường ở niêm mạc đường hô hấp trên, nhưng có thể gây ra viêm phế quản, phế quản phế viêm, viêm xoang, viêm tai giữa,... nếu như niêm mạc đường hô hấp trên bị tổn thương do virus cúm, sởi, cảm lạnh.

Những người bệnh đang ở trong thời kỳ ủ bệnh (incubation period) của bệnh nhiễm trùng nào đó khi mầm bệnh đang nhân lên ở mô cơ thể nhưng chưa có những biểu hiện về lâm sàng là nguồn truyền bệnh khá nguy hiểm. Điển hình là với các bệnh nhiễm virus đường hô hấp như sởi, quai bị, bại liệt thì trong vài ba ngày trước khi phát bệnh, độ lây nhiễm bệnh rất cao.

Các bệnh nhân đang trong thời kỳ toàn phát là những người luôn đào thải ra ngoài môi trường lượng VSV rất lớn. Tùy theo từng loại bệnh mà các mầm bệnh được đào thải ra khỏi cơ thể theo những con đường khác nhau. VSV gây bệnh vì thế mà có mặt trong phân, trong nước tiểu, trong đờm và các hạt nước bọt cũng như trong mủ và trong các dịch bài tiết từ các vết loét, vết thương. Đối với đa số các bệnh cấp tính, VSV gây bệnh thường bị chết hoặc chỉ có thể tồn tại một thời gian ngắn trong cơ thể người bệnh. Tuy nhiên một số VSV gây bệnh như *Mycobacterium tuberculosis*, *Treponema pallidum* và *Neisseria gonorrhoeae* lại có khuynh hướng gây bệnh mãn tính, do đó các mầm bệnh này thường được đào thải ra bên ngoài trong thời gian lâu hơn. Loại virus *Herpes simplex* có khả năng tồn tại dai dẳng hình thành nên thể tiềm tàng trong cơ thể, để thỉnh thoảng lại gây ra cho bệnh nhân chứng viêm loét.

Không phải tất cả các bệnh nhân bị mắc bệnh nhiễm trùng đều là nguồn lây nhiễm cho người khác. Chẳng hạn như khi mầm bệnh có độc lực rất mạnh gây ra cái chết nhanh cho người bệnh thì bản thân mầm bệnh cũng chẳng còn điều kiện để tồn tại và lây truyền tiếp.

Các bệnh nhân trong giai đoạn phục hồi cũng đôi khi là nguồn truyền nhiễm. Một số bệnh nhân sau khi khỏi bệnh bạch hầu hoặc viêm họng do liên cầu, tuy nhiên, do vi khuẩn vẫn tồn tại khá lâu trong họng của họ nên vẫn có mầm bệnh có thể lây nhiễm cho người khác. Sau khi mắc các bệnh như thương hàn, lỵ, bại liệt, bệnh nhân vẫn còn tiếp tục đào thải VSV ra theo phân. Tùy theo thời gian

đào thải mầm bệnh dài hay ngắn mà những người này được phân làm hai loại: Nếu thời gian đào thải mầm bệnh chỉ trong thời gian dưới 1 năm thì gọi là người mang mầm bệnh tạm thời (temporary carriers); còn nếu thời gian đào thải là trên 1 năm thì được gọi là những người mang mầm bệnh mãn tính (chronic carriers).

Một số đối tượng khác có khả năng lây truyền qua đường tiếp xúc. Phần lớn họ là những nhân viên y tế do thường xuyên tiếp xúc với các VSV gây bệnh, nhưng ở họ lại không hề có các biểu hiện bệnh lý nào.

4.2. Động vật truyền cho người

Một số bệnh có nguồn truyền nhiễm từ động vật. Đây cũng là những nguồn truyền nhiễm đáng kể. Trong sữa của những con bò sữa bị bệnh có thể có những mầm bệnh như *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*. Vi khuẩn than (*Bacillus anthracis*) có thể còn sống sót nhiều năm trong xác chết của trâu, bò, bào tử của chúng tồn tại được khá lâu dài trong đất và thành nguồn lây nhiễm bệnh cho người. Chó bị mắc bệnh dại khi cắn người sẽ truyền virus dại gây bệnh cho người. Loài chuột mắc bệnh dịch hạch cũng có thể truyền mầm bệnh nguy hiểm này sang cho người qua trung gian là bọ chét chuột. Ngày nay, cúm gia cầm gây bệnh cho người đang là nguy cơ đối với nhân loại.

4.3. Các nguồn truyền nhiễm khác

Một số loài VSV như *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* và nhiều chủng *Clostridium* có thể tồn tại lâu dài trong đất, là nơi mà chúng có thể hấp thụ nguồn dinh dưỡng từ các chất hữu cơ của xác động, thực vật chết. Chúng cũng thường là các vi khuẩn sống hội sinh trong đường ruột người và ruột động vật, và cũng từ đó mà trở lại môi trường đất qua phân. *Ps. aeruginosa* và *Proteus* thường hay gây ra các nhiễm trùng vết thương, vết bỏng và nhiễm trùng đường tiết niệu. *Clostridium tetani* và *Cl. perfringens* gây bệnh uốn ván và hoại thư sinh hơi khi chúng có điều kiện xâm nhập vào các mô mềm trong điều kiện kỵ khí và các vết thương sâu có lẫn bùn đất. Các loại đồ hộp bị nhiễm vi khuẩn *Cl. botulinum* – vi khuẩn kỵ khí sinh ngoại độc tố rất mạnh thường hay gây ra các vụ ngộ độc thực phẩm đóng hộp.

4.4. Phương thức truyền nhiễm

Các mầm bệnh có thể nhiễm truyền vào cơ thể người mạnh khoẻ đôi khi theo con đường trực tiếp, còn chủ yếu là gián tiếp qua các vật dụng, dụng cụ, hay các môi trường truyền nhiễm trung gian được coi như là những vật mang thích hợp. Các vật mang đó có thể là bụi, không khí, quần áo, sách vở, chăn màn, nước uống, thực phẩm và thậm chí cả các dụng cụ y tế không vô trùng. Con đường truyền nhiễm khác là qua các côn trùng hút máu như muỗi, bọ chét, chấy rận, ve,... Tóm lại, VSV thâm nhập vào cơ thể có thể qua 4 con đường chính dưới đây:

- Đường tiêu hoá.
- Đường hô hấp.
- Đường da và niêm mạc.
- Qua đường nhau thai.

Một số loài VSV gây bệnh có khả năng xâm nhập vào cơ thể theo nhiều con đường, chẳng hạn như vi khuẩn lao có thể lây nhiễm qua đường hô hấp, qua ăn uống và qua tiêm truyền. Đa số các VSV đều xâm nhập vào cơ thể và gây ra nhiễm trùng một khi chúng vào theo con đường thích hợp đặc trưng. Ví dụ như các *Salmonella* chỉ có thể gây ra nhiễm trùng đường ruột nếu như đi qua con đường tiêu hoá chứ không thể gây ra các vết thương ở ngoài da. Nhiều khi đường xâm nhập lại không hoàn toàn trùng hợp với các cơ quan biểu hiện bệnh lý, chẳng hạn như virus bại liệt vào cơ thể qua hậu huyệt và đường tiêu hoá nhưng bộ máy thần kinh lại là nơi xảy ra những thay đổi bệnh lý.

4.4.1. Các nhiễm trùng đường tiêu hoá

Các nhiễm trùng đường tiêu hoá thường thông qua các con đường truyền nhiễm sau đây:

- Lây nhiễm trực tiếp: Vật dụng sinh hoạt thông thường hay bị lây nhiễm bởi phân và qua bàn tay. Ngay cả những người được coi là “sạch sẽ” thì bàn tay họ cũng thường bị nhiễm các vi khuẩn có trong

phân mỗi khi đi đại tiện. Những người bị bệnh tiêu chảy thì khả năng nhiễm bẩn bàn tay lại càng nhiều hơn. Vi khuẩn *E. coli* và *Shigella* là những loại vi khuẩn hay lây nhiễm theo cách này nhất.

– Lây nhiễm qua thực phẩm: Thực phẩm là nguồn lây nhiễm khá quan trọng trong các nhiễm trùng đường tiêu hoá. Sữa, thịt, cá tươi sống và kể cả những loại thức ăn đã được chế biến sẵn đều rất dễ bị nhiễm các loại VSV gây bệnh. Đây là các môi trường thuận lợi cho chúng sinh sôi nảy nở nên một khi chúng qua khâu thực phẩm mà xâm nhập vào đường tiêu hoá thì thường gây ra những biểu hiện bệnh lý.

– Lây nhiễm qua nước: Các nguồn nước sinh hoạt dễ bị ô nhiễm bởi nhiều loại VSV khác nhau. Các loài vi khuẩn như vi khuẩn tả, lỵ, thương hàn đã và đang là những mầm bệnh nguy hiểm gây ra nhiều vụ dịch lớn từ trước đến nay ở Việt Nam. Cung cấp nước sạch, xử lý nước uống hợp vệ sinh cho dân cư đang là yêu cầu cấp bách của nước ta và nhiều nước đang phát triển.

4.4.2. Các nhiễm trùng đường hô hấp

– Lây nhiễm trực tiếp: Quan trọng nhất là sự lây truyền trực tiếp qua không khí. Tuy nhiên, những nụ hôn hay thông qua những dụng cụ như cốc, đĩa, thìa,... cũng được xem như là phương cách trực tiếp lây truyền qua đường hô hấp khá quan trọng.

– Lây truyền qua không khí: Thông qua các hạt nước bọt như các bệnh nhân mắc các bệnh như lao, quai bị, cúm, sởi, dịch hạch,... mà các VSV theo đó mà xâm nhập vào người khỏe mạnh. Trong không khí còn thường xuyên có những hạt bụi bị gió cuốn từ đất lên và có thể mang theo một số vi khuẩn hiếu khí, vi khuẩn tan máu, tụ cầu khuẩn, liên cầu khuẩn và bào tử của nhiều loại nấm mốc. Việc đảm bảo thường xuyên có một bầu không khí trong lành, ít bị ô nhiễm về mặt VSV học là rất quan trọng trong việc phòng ngừa các căn bệnh lây lan theo đường hô hấp.

4.4.3. Lây truyền qua nhau thai

Thông thường thì nhau thai là hàng rào sinh học rất hữu hiệu cho việc bảo vệ bào thai khỏi các VSV có trong cơ thể người mẹ. Tuy nhiên, một số VSV đặc biệt vẫn có thể xâm nhập xuyên qua hàng rào này mà nhiễm vào cơ thể thai nhi. Chẳng hạn, khi người mẹ bị mắc bệnh giang mai, xoắn khuẩn *Treponema pallidum* có thể luôn lách vượt qua hàng rào bảo vệ màng nhau gây ra bệnh giang mai bẩm sinh cho trẻ sơ sinh. Khi có thai trong 3 tháng đầu, thai phụ mắc bệnh cúm hay bệnh Rubella thì rất có khả năng bào thai sẽ bị mắc các dị tật bẩm sinh. HIV cũng là loài virus có khả năng truyền từ các bà mẹ sang cho con trong thời kỳ mang thai.

4.4.4. Truyền qua da và niêm mạc

Bình thường thì da và niêm mạc đóng một vai trò như bức tường thành sinh học ngăn cách giữa cơ thể (nội môi) và ngoại cảnh. Tuy nhiên, trong nhiều trường hợp khác nhau, VSV vẫn có thể qua đường da và niêm mạc mà xâm nhập vào cơ thể.

– Do tiếp xúc trực tiếp: Một số vi khuẩn, nấm mốc, ký sinh trùng có thể gây ra các nhiễm trùng ngoài da ngay cả khi da ở trạng thái bình thường thông qua tiếp xúc hoặc là trực tiếp với bệnh nhân, hoặc là thông qua các vật dụng như quần áo, chăn màn, khăn mùi xoa, khăn tắm,... để gây ra các bệnh như tróc da, mụn nhọt, đầu đinh, ghẻ cóc, một số loại nấm gây bệnh ngoài da, ấu trùng giun móc,... Bệnh hủi do *Mycobacterium leprae* gây ra chủ yếu lây lan qua đường niêm mạc mũi do sử dụng chung chậu rửa, khăn mặt và các vật dụng khác với bệnh nhân. Nhiều bệnh về mắt như bệnh mắt hột, viêm kết giác mạc cũng đều lây truyền theo phương cách này. Đặc biệt, một số VSV có khả năng xâm nhập do tiếp xúc trực tiếp qua niêm mạc đường sinh dục như lậu, giang mai, hạ cam, HIV,... được gọi là những căn bệnh lây lan theo đường tình dục.

– Lây lan qua các vết thương: Các vết thương ngoài da và niêm mạc chính là những cửa ngõ làm thông thương nội môi và ngoại môi, tạo điều kiện cho rất nhiều căn bệnh lây lan theo con đường này.

Vết thương ngoài da và niêm mạc có thể do tai nạn, bỏng, sinh đẻ hay do phẫu thuật là những nhiễm trùng hay gặp nhất. Qua các vết thương này mà nhiều loài VSV xâm nhập vào cơ thể gây ra nhiều trường hợp bệnh lý khác nhau. Các loại vi khuẩn như *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Cl. perfringens*, *Cl. tetani* là những loài vi khuẩn thường gặp trong các nhiễm trùng lây lan qua vết thương. *B. anthracis*, *Leptospira* thường xâm nhập vào cơ thể lây qua các vết đứt ở tay, chân.

– Lây lan qua con đường tiêm chích: nhiều loài VSV có cơ hội xâm nhập vào cơ thể qua con đường tiêm chích hoặc qua các vết đốt của nhiều loại côn trùng hút máu.

Bệnh viêm gan do virus B gây ra thường lây nhiễm vào cơ thể qua các mũi tiêm, qua dụng cụ y tế như kim nhỏ răng, các ống thông, các dụng cụ nội soi,... Các loại xoắn khuẩn như giang mai, hay ký sinh trùng sốt rét cũng có thể lây lan từ người này sang người khác qua con đường truyền máu. Các loại kim tiêm ở môi trường bệnh viện nếu tiệt trùng không kỹ cũng có thể là nguồn lây nhiễm HIV, trực khuẩn mủ xanh, vi khuẩn...

Các loại côn trùng hút máu người và một số động vật là một trong số những tác nhân truyền bệnh nguy hiểm. Đây là những vector truyền nhiều loại VSV gây bệnh từ bệnh nhân sang người lành, từ động vật sang người. Muỗi là một loại côn trùng có khả năng truyền nhiều loại bệnh như bệnh sốt xuất huyết (sốt Dengue), bệnh viêm não Nhật Bản B, bệnh sốt rét, bệnh giun chỉ. Các loài bọ chét có thể truyền vi khuẩn gây bệnh dịch hạch, *Rickettsia* gây bệnh sốt phát ban dịch tễ. Chấy rận truyền các VSV gây bệnh sốt hồi quy, bệnh sốt phát ban dịch tễ. Ve truyền bệnh sốt phát ban do ve, sốt hồi quy Châu Phi, viêm não xuân hè Nga, và nhiều bệnh viêm não do virus Arbo gây ra. Ruồi Tse (Tse flies) truyền bệnh ngủ do *Trypanosoma rhodesiense* gây ra.

5. NHIỄM TRÙNG DO THUỐC

Thuốc là các chế phẩm được dùng được sử dụng với các mục đích điều trị, phòng bệnh và chẩn đoán, được đưa vào cơ thể theo nhiều con đường khác nhau. Trong thành phần của thuốc, ngoài các hoạt chất chính có tác dụng dược lý được gọi là dược chất, thì còn có nhiều chất phụ gia khác bao gồm các tá dược có thành phần rất khác nhau mà trong số đó có thể có chất trở thành nguồn dinh dưỡng cho nhiều loại VSV. Chính vì thế mà các loại thuốc khác nhau cũng thường có thể bị lây nhiễm và có thể gây ra nhiễm trùng tại các cơ sở y tế và cộng đồng. Việc thực hiện nghiêm ngặt quy trình sản xuất thuốc tốt theo tiêu chuẩn GMP (Good Manufacturing Practice) là một trong những yêu cầu được đặt ra để tiêu chuẩn hoá sản xuất, hạn chế tối đa việc lây nhiễm VSV vào các thành phẩm được sản xuất tại các xí nghiệp dược phẩm. Khâu kiểm định vi sinh, khâu đóng gói bảo quản và phân phối thuốc đến tay người bệnh cần tuân thủ đầy đủ các quy định để hạn chế các sự cố nhiễm trùng do thuốc có thể xảy ra.

5.1. Nguy cơ của thuốc bị nhiễm VSV

Thuốc bị nhiễm VSV có thể gây ra hậu quả là làm hỏng thuốc và tạo ra nguy cơ cho sức khỏe người dùng thuốc.

Trong nhiều năm theo dõi người ta đã xác định được rằng, nhiều loại thuốc được sản xuất ra đã bị hỏng do nguyên nhân bị nhiễm VSV. Thuốc hỏng có thể nhận biết được qua những thay đổi về cảm quan, vật lý, hoá học, sinh học. Những thành phần hoạt tính có thể bị VSV chuyển hoá làm giảm sút hiệu lực, hoặc mất tác dụng dược lý. Những thuốc bị VSV làm hư hỏng, nếu như vẫn được sử dụng để điều trị, sẽ gây ra những hậu quả đáng tiếc cho bệnh nhân, ảnh hưởng đến uy tín và gây ra tổn thất về kinh tế cho nhà sản xuất. Bảng dưới đây liệt kê những trường hợp thuốc bị nhiễm VSV từ đầu thế kỷ trước đến nay.

Bảng 6.1. Các loại thuốc đã bị nhiễm VSV trên thế giới

Năm	Tên thuốc	VSV lây nhiễm
1907	Vaccin phòng dịch hạch	<i>Cl. tetani</i>
1943	Thuốc nhỏ mắt có chất huỳnh quang	<i>Ps. aeruginosa</i>
1946	Bột talc	<i>Cl. tetani</i>
1955	Cloxylenol vô trùng	<i>Ps. aeruginosa</i>
1966	Thuốc viên nội tiết tố tuyến giáp	<i>Sal. muenchen</i>
1966	Thuốc mỡ mắt kháng sinh	<i>Ps. aeruginosa</i>
1966	Dung dịch nước muối sinh lý	<i>Serratia marcescens</i>
1967	Bột carmin	<i>Sal. cubana</i>
1969	Nước peppermint	<i>Ps. aeruginosa</i>
1970	Dung dịch sát trùng Clohexidin-cetrimid	<i>Ps. cepacia</i>
1972	Bột tụy tạng	<i>Sal. agona</i>

5.2. Các nguồn lây nhiễm

Có nhiều nguồn lây nhiễm cho các sản phẩm thuốc, tuy nhiên chủ yếu là do khâu sản xuất và sử dụng.

5.2.1. Lây nhiễm trong khâu sản xuất

Lây nhiễm VSV có thể xảy ra trong khâu sản xuất hoặc trong các xí nghiệp dược phẩm hoặc trong các phòng bào chế tại các bệnh viện. Sự nhiễm khuẩn có thể bắt đầu từ nguyên liệu, nhất là các nguyên liệu có nguồn gốc phủ tạng động vật, rồi đến nước. Các loại máy móc, trang thiết bị, các loại thùng chứa dùng trong sản xuất nước cũng nhiều khi bị nhiễm khuẩn. Không khí trong nhà xưởng nếu không lọc vô trùng tốt là nguồn truyền nhiễm vào các sản phẩm. Vật liệu dùng đóng gói, nếu không đảm bảo vô trùng cũng có thể là nguồn lây nhiễm vào thuốc. Và nhân tố người lao động tham gia vào dây chuyền sản xuất cũng có thể là nguồn lây nhiễm qua quần áo, chân tay,... Các thành phẩm đạt tiêu chuẩn vô khuẩn cao chính là các chế phẩm thuốc được sản xuất trong các cơ sở sản xuất đạt GMP.

5.2.2. Lây nhiễm trong khâu sử dụng

Thuốc cũng có thể bị nhiễm trùng trong quá trình sử dụng. Các loại thuốc thường hay bị lây nhiễm VSV nhiều nhất là các dạng thuốc được đóng gói lớn để dùng chung cho nhiều bệnh nhân, chẳng hạn như các dung môi để pha thuốc tiêm, các loại dịch truyền, các loại thuốc dùng ngoài, các loại thuốc nhỏ mắt (mở rộng ra là cả các loại mỹ phẩm). Các con đường truyền nhiễm có thể là trực tiếp như bệnh nhân làm cho thuốc bị nhiễm, sau đó, các thuốc bị lây nhiễm này lại truyền sang cho các bệnh nhân khác, hoặc theo phương thức chéo như một bệnh nhân nào đó làm cho thuốc bị nhiễm VSV rồi thông qua đó mà truyền qua bàn tay của các nhân viên y tế. Thường thì các loại vi khuẩn sống cộng sinh ngoài da như *Staphylococcus*, *Micrococcus* và các vi khuẩn Diptheroids là những vi khuẩn hay gây ô nhiễm cho thuốc qua khâu sử dụng.

5.3. Tác hại của thuốc nhiễm VSV

Tác hại của thuốc bị nhiễm VSV đối với bệnh nhân tùy thuộc vào các chủng VSV xâm nhiễm. Các VSV này được phân ra làm hai loại chính: mầm bệnh thực sự và mầm bệnh cơ hội. Khi thuốc bị nhiễm các vi khuẩn như *Clostridium tetani* và *Salmonella ssp.* thì có thể gây ra tác hại cực kỳ nguy hiểm. Thực tế đã xảy ra nhiều trường hợp trẻ sơ sinh bị chết do bệnh uốn ván vì xoa phải phân rôm mà bột talc bị nhiễm *Clostridium tetani*. Các rối loạn tiêu hoá do ngộ độc vi khuẩn *Salmonella* khi uống phải các nội tiết tố tuyến giáp hoặc men tiêu hoá được điều chế từ tuyến tụy.

Các loại vi khuẩn khác như *Ps. aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia* và các loại vi khuẩn sống tự do khác được xem như là các mầm bệnh cơ hội (opportunistic pathogens). Đối với những người khỏe mạnh chúng không gây tác hại gì, nhưng đối với những đối tượng đặc biệt như những người cao tuổi, những bệnh nhân bị bỏng, bị chấn thương hoặc những người bị suy giảm miễn dịch thì chúng có thể gây ra các trạng thái bệnh lý nghiêm trọng.

5.4. Các biện pháp phòng ngừa và kiểm tra sự lây nhiễm

Các biện pháp phòng ngừa sự lây nhiễm VSV vào các chế phẩm thuốc bao giờ cũng tốt hơn là xử lý lây nhiễm. Trong khâu sản xuất, các nguyên lý thực hành sản xuất thuốc tốt (GMP) cần được chấp hành nghiêm chỉnh; các thành phẩm sau khi sản xuất phải được bảo quản và đóng gói trong những thùng chứa thích hợp để giảm thiểu sự lây nhiễm có thể xảy ra; khâu kiểm nghiệm độ nhiễm khuẩn là yêu cầu bắt buộc đối với hầu hết các loại thuốc, nhất là thuốc tiêm.

Việc phòng tránh nhiễm VSV vào thuốc trong khâu sử dụng có nhiều khó khăn và hạn chế. Đối với môi trường bệnh viện, các loại thuốc ban đầu được đóng làm nhiều liều cần được phân thành từng liều đơn cho mỗi lần sử dụng trước khi đến tay bệnh nhân. Điều này rất khó thực hiện đối với các loại thuốc dùng ngoài và các dung dịch dùng để pha tiêm. Tương đối dễ thực hiện hơn là các loại thuốc viên dùng để uống. Cuối cùng biện pháp hiệu quả nhất để phòng tránh lây nhiễm thuốc trong môi trường bệnh viện là huấn luyện và giáo dục cho người bệnh và các y tá sử dụng một cách tối ưu nhất và phòng ngừa tích cực.

6. NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

6.1. Khái niệm

Nhiễm trùng bệnh viện (Nosocomical infection) là những căn bệnh bị lây nhiễm trong môi trường bệnh viện sau khi nhập viện 48 giờ. Đối với bệnh nhân đang nằm viện điều trị bất kể loại bệnh gì cũng đều có thể bị lây nhiễm vi khuẩn, virus, nấm,... gây bệnh có trong môi trường bệnh viện và trở thành bị mắc một hay nhiều loại bệnh khác với căn bệnh ban đầu. Nói rộng ra, nhiễm trùng bệnh viện còn để chỉ những đối tượng khác như người nhà bệnh nhân, các y bác sĩ, y tá, điều dưỡng viên, hộ lý và nhân viên các phòng thí nghiệm. Việt Nam chưa có thống kê chính thức về nhiễm trùng bệnh viện, còn đối với một số nước phát triển như Australia trong năm 1979 có tỷ lệ nhiễm trùng bệnh viện là 3,5%, ở Mỹ là 5,2%.

6.2. Nguồn truyền nhiễm

Nguồn gốc gây ra nhiễm trùng bệnh viện phần lớn là từ môi trường bên ngoài thông qua các dụng cụ y tế bị nhiễm trùng, quần áo, chăn màn của bệnh viện, người nhà của bệnh nhân và kể cả đội ngũ nhân viên y tế.

Rất nhiều loại VSV có thể gây ra nhiễm trùng bệnh viện, chủ yếu là trực khuẩn *E. coli* và các *Proteus*. Chiếm tỷ lệ cao nhất trong các nhiễm trùng bệnh viện là sau các trường hợp phẫu thuật và các thủ thuật y khoa như tiêm truyền, chọc dò, nội soi,... Cơ quan thường bị nhiễm trùng nhiều nhất là đường tiết niệu rồi đến các vết mổ, tiếp theo là đường hô hấp, ngoài da, và nhiễm trùng huyết. *E. coli* là loại vi khuẩn hay gặp nhất trong nhiễm trùng đường tiết niệu; *Klebsiella* trong nhiễm trùng đường hô hấp; *S. aureus* trong các nhiễm trùng ngoài da. Mặt khác, *Proteus* cũng rất thường hay gặp trong các đường tiết niệu, trong các vết mổ và những nhiễm trùng ở bệnh nhân cao tuổi.

Gần đây người ta thường đề cập nhiều đến những khả năng nhiễm trùng bệnh viện gây ra bởi trực khuẩn lao, bởi các virus như HBV, HCV, HIV, và nhiều loại nấm như *C. albicans*. Bệnh nhân, người thân và đội ngũ thầy thuốc là những đối tượng có nguy cơ cao đối với các nhiễm trùng loại này.

Những VSV gây ra nhiễm trùng bệnh viện có thể xâm nhập vào cơ thể theo tất cả các con đường truyền thống, thông thường, đường tiêm truyền, đường qua vết mổ, vết chấn thương (tai nạn, bỏng, dụng cụ đỡ đẻ, nạo thai, nhổ răng, nội soi,...), qua tay và qua không khí là những con đường phổ biến nhất.

6.3. Các đối tượng thường bị nhiễm trùng bệnh viện

Đại đa số những đối tượng thường bị nhiễm trùng bệnh viện đều là những người ít nhiều có suy giảm khả năng đề kháng của cơ thể – miễn dịch.

- Những người bị mắc các bệnh của cơ quan miễn dịch, chẳng hạn như hội chứng suy giảm miễn dịch bẩm sinh hay mắc phải (HIV/AIDS).

- Những người dùng thuốc áp chế miễn dịch (immunosuppressors).

- Những bệnh nhân sau khi phẫu thuật, bị bỏng nặng, bệnh nhân bị mắc các bệnh về nội tiết như đái tháo đường, bệnh thiếu năng tuyến giáp, những bệnh nhân già cả, trẻ nhỏ và những trẻ bị suy dinh dưỡng hay những người được điều trị kháng sinh lâu dài.

6.4. Các nguyên tắc phòng ngừa

Phòng ngừa bao giờ cũng tốt hơn so với xử lý đối với các nhiễm trùng bệnh viện. Các nguyên tắc chính cần tuân thủ:

- Cải thiện và tăng cường sức đề kháng của bệnh nhân bằng chế độ bồi dưỡng, ăn nghỉ và điều trị thích hợp.

- Làm trong sạch, cải thiện môi trường bệnh viện, thường xuyên tẩy uế và tiệt trùng phòng mổ, phòng pha chế và bệnh phòng. Thực hiện xử lý nghiêm ngặt tất cả các chất thải của bệnh nhân được gọi chung là các chất thải bệnh viện.

- Tiệt trùng tốt, đảm bảo vệ sinh các dụng cụ y tế, quần áo, giường chiếu, chăn màn,... và giáo dục ý thức cho đội ngũ nhân viên y tế và người nhà bệnh nhân.

- Trong khi điều trị, nhất là đối với điều trị sử dụng các loại kháng sinh cần tuân thủ đúng các quy định điều trị, để hạn chế tối đa sự nhờn thuốc dẫn đến việc hình thành các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh từ trong bệnh viện, rồi từ đó lây lan ra cộng đồng xã hội.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày khái niệm nhiễm trùng, các hình thái nhiễm trùng; trình bày các yếu tố tạo độc lực của VSV gây bệnh.
2. Trình bày nguồn gốc và phương thức truyền nhiễm; trình bày tác hại của thuốc bị nhiễm VSV.

Chương 7

MIỄN DỊCH

MỤC TIÊU

1. Nêu các hình thức đáp ứng miễn dịch của cơ thể.
2. Nêu định nghĩa và tính chất của kháng nguyên, kháng thể.
3. Nêu được khái niệm và mô tả cấu trúc của phân tử MHC.
4. Phân tích được đáp ứng miễn dịch của cơ thể chống vi khuẩn và virus.
5. Trình bày được nguyên lý và nguyên tắc sử dụng vaccin, huyết thanh.
6. Trình bày được nguyên lý, mục đích của các phản ứng miễn dịch.

1. KHÁI NIỆM VỀ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH

Miễn dịch (immunity) là khả năng cơ thể nhận ra và loại bỏ các vật lạ.

Đáp ứng miễn dịch chia hai loại: miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thu được

1.1. Miễn dịch tự nhiên (Native immunity) – Miễn dịch không đặc hiệu

Miễn dịch tự nhiên (hay miễn dịch không đặc hiệu) là khả năng tự bảo vệ sẵn có và mang tính di truyền trong các cá thể cùng một loài. Khả năng này có ngay từ lúc mới sinh và không cần phải có sự tiếp xúc trước của cơ thể với các yếu tố lạ.

Miễn dịch tự nhiên đóng vai trò là tuyến phòng thủ đầu tiên ngăn chặn sự xâm nhập và tiêu diệt VSV trước khi chúng kịp nhân lên trong cơ thể, nhờ đó mà hệ miễn dịch đặc hiệu có đủ thời gian hình thành.

Gọi là miễn dịch không đặc hiệu là do nó đáp ứng miễn dịch với tất cả các loại kháng nguyên là như nhau.

1.1.1. Các hàng rào của đáp ứng miễn dịch tự nhiên

1.1.1.1. Hàng rào vật lý

Da, niêm mạc ngăn cách môi trường trong cơ thể với môi trường bên ngoài. Da bao phủ mặt ngoài cơ thể, có cấu tạo gồm lớp biểu bì chứa các tế bào biểu mô sắp xếp ken chặt tạo hàng rào cơ học ngăn cản sự xâm nhập của VSV. Trên mặt lớp biểu bì là lớp tế bào sừng hoá chứa keratin, không thấm nước, các VSV không phân giải được keratin sẽ không thể theo nước ngấm vào cơ thể.

Niêm mạc bao phủ mặt trong cơ thể như đường tiêu hoá, hô hấp, tiết niệu, sinh dục... Niêm mạc chỉ có một lớp tế bào trên được phủ bởi lớp chất nhầy, tạo một màng bảo vệ ngăn không cho các VSV lạ bám vào lớp tế bào mô hoặc cơ quan. Trên bề mặt niêm mạc hô hấp có nhiều lông mao chuyển động liên tục theo một hướng để cản các vi sinh từ bụi và đẩy chúng ra ngoài bằng phản xạ ho, hắt hơi. Bề mặt niêm mạc (mắt, miệng, tiết niệu) luôn tiết dịch (nước mắt, nước bọt, nước tiểu) tạo ra dòng dịch thể rửa trôi VSV trên bề mặt.

1.1.1.2. Hàng rào hoá học

Các VSV nếu qua được hàng rào vật lý thì vấp phải hàng rào hoá học đó là:

– Độ acid trên mặt da nhờ có chất tiết tạo độ toan như acid lactic, acid béo của mồ hôi, tuyến mồ hôi dưới da mà các VSV không tồn tại lâu được.

– Dịch vị do dạ dày tiết ra có độ pH 1 – 2 nên đa số VSV xâm nhập vào bằng đường tiêu hoá không sống sót được.

– Lysozym: Dịch tiết của các tuyến như nước mắt, nước bọt, nước mũi, sữa có chứa lysozym, là một chất có khả năng ức chế sự tổng hợp thành tế bào vi khuẩn Gram dương.

– Các protein gắn sát là nguyên tố cần thiết cho sinh trưởng của VSV. Một số protein gắn sát

như lactoferin, transferin làm giảm nồng độ sắt tự do trong máu xuống rất nhiều lần so với nhu cầu của VSV.

1.1.1.3. Hàng rào thể dịch

Các yếu tố bảo vệ có trong máu và dịch nội mô như:

- Interferon (IFN) là nhóm glycoprotein cảm ứng, được sản xuất bởi nhiều loại tế bào như tế bào bạch cầu, đại thực bào, tế bào biểu mô, tế bào sơ non khi được cảm ứng bởi virus hoặc acid nucleic. IFN có hoạt tính kháng virus một cách không đặc hiệu như ngăn cản sự nhân lên của virus, hoạt hoá các tế bào diệt tự nhiên. IFN có khả năng chống lại các tế bào ung thư do ức chế tế bào trưởng thành, ức chế sự phân bào.

- Bổ thể là hệ thống nhiều protein thành phần, được hoạt hoá theo một trình tự nhất định. Hoạt động của bổ thể gây tổn thương thành tế bào, sau đó gây tan bào, đồng thời giúp tăng cường hiện tượng thực bào.

1.1.1.4. Hàng rào tế bào

Trên niêm mạc có rất nhiều tế bào có khả năng thực bào. Chúng được Metchnikoff phát hiện từ đầu thế kỷ XX, gồm hai loại: tiểu thực bào (microphage là những bạch cầu đa nhân trung tính của máu), đại thực bào (macrophage là những tế bào bắt nguồn từ tuỷ xương, phân hoá thành mono bào ở máu rồi di tản tới các mô).

Quá trình thực bào chia ba giai đoạn:

- Giai đoạn gắn: Các VSV khi gặp các tế bào thực bào sẽ bị dính vào màng tế bào nhờ các receptor bề mặt khác nhau.

- Giai đoạn nuốt: Màng tế bào lõm vào, chất nguyên sinh sẽ tạo ra các chân giả bao lấy VSV, rồi đóng kín lại tạo “hốc thực bào” – Phagosome.

- Giai đoạn tiêu: Các hạt lysosom tiến đến gần hốc thực bào và xảy ra hiện tượng hoà màng, màng lysosom nhập vào cùng màng phagosome – gọi là phagolysosome. Các chất có trong lysosom sẽ đổ vào trong hốc thực bào để tiêu diệt đối tượng cần thực bào. Trong phagolysosome các VSV sẽ bị tiêu diệt bằng: pH acid, enzym thuỷ phân, superoxyt....

Tế bào diệt tự nhiên (Natural killer – NK) là tế bào dạng lympho có hạt lớn trong sinh chất, có ở máu ngoại vi, có chức năng diệt các tế bào đích (tế bào bị nhiễm virus, tế bào ung thư) bằng chất tiết (perforin). Hoạt tính này của NK tăng lên khi được kích thích bởi interferon.

Tế bào K (Killer cell) là tế bào dạng lympho, còn gọi là tế bào “null”, trên bề mặt tế bào có thụ thể dành cho Fc của kháng thể, chức năng gây độc tế bào đích nhờ hiệu quả ADCC (Antibody dependent cellular cytotoxicity – gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể).

1.1.1.5. Hàng rào VSV

Mặc dù bề mặt cơ thể được bảo vệ chống lại sự xâm nhập của VSV nhưng một số loài nhất định vẫn có khả năng sống, đó là hệ khuẩn chí bình thường của cơ thể. Đa số chúng là vi khuẩn trong đường tiêu hoá, một số phân bố tự nhiên và tạo quần thể trên da, xoang miệng, đường hô hấp, đường sinh dục,... Thông thường, các VSV này không gây bệnh, chúng chỉ phát triển trên bề mặt mà không xâm nhập sâu vào bên trong mô, chúng cạnh tranh vị trí bám, thức ăn, làm giảm nồng độ oxy, tiết một số chất diệt khuẩn gây bất lợi cho các VSV xâm nhập gây bệnh.

Hệ khuẩn chí bình thường là một quần thể phức tạp và cân bằng. Nếu trạng thái cân bằng bị mất, các VSV không gây bệnh trở thành gây bệnh, gọi là những VSV gây bệnh cơ hội.

1.1.1.6. Sốt

Thân nhiệt người luôn ổn định ở mức 37°C. Sốt là sự tăng thân nhiệt, là cơ chế bảo vệ tự nhiên của cơ thể, sốt làm tăng tốc độ phản ứng enzym phân huỷ VSV, tăng hoạt động của interferon, giảm nồng độ sắt tự do trong máu.

1.1.1.7. Viêm không đặc hiệu

Phản ứng viêm được tạo thành nhằm khu trú các VSV mới xâm nhập vào một nơi, không cho chúng lan rộng và tiêu diệt chúng. Hiện tượng này đã được nêu với 4 triệu chứng kinh điển là: sưng,

nóng, đỏ, đau.

– Sưng là do tăng thấm thành mạch, tiết dịch tập trung quanh tế bào mô. Tăng tính thấm kéo theo sự xuyên mạch của các tế bào thực bào tới ổ viêm.

– Nóng là hậu quả của sự dẫn mạch, dòng máu tăng cường tới nơi nhiễm trùng làm nhiệt độ tăng lên.

– Đỏ do các tế bào bạch cầu kiềm và tế bào mast tiết chất hoạt mạch, gây dẫn mạch, dòng máu dồn đến nhiều hơn.

– Đau trong trường hợp viêm là do tế bào tiết ra bradykinin và prostaglandin kích thích dây thần kinh gây đau.

Như vậy, về cơ bản, phản ứng viêm là có lợi, nó chỉ gây hại khi phản ứng quá mức, gây nhiễm toan, rối loạn thăng bằng nước – điện giải...

Tóm lại, khi một VSV lạ xâm nhập vào cơ thể, chúng sẽ gặp phải hàng loạt các cơ chế bảo vệ không đặc hiệu trong đáp ứng miễn dịch tự nhiên với mục đích tiêu diệt và loại trừ chúng ra khỏi cơ thể.

1.2. Miễn dịch thu được hay Miễn dịch đặc hiệu (specific immunity)

1.2.1. Khái niệm

Miễn dịch thu được hay miễn dịch đặc hiệu là trạng thái miễn dịch xuất hiện khi cơ thể đã có tiếp xúc với kháng nguyên (đưa vào chủ động hay tiếp xúc ngẫu nhiên). Miễn dịch đặc hiệu có thể có khi được truyền kháng thể hoặc các tế bào miễn dịch.

Đáp ứng miễn dịch đặc hiệu có 2 hình thức là: Miễn dịch dịch thể (Humoral immunoresponse) và miễn dịch qua trung gian tế bào (Cell mediated immunoresponse).

1.2.2. Đặc điểm cơ bản của đáp ứng miễn dịch đặc hiệu là:

- Tính đặc hiệu.
- Phân biệt lạ – quen.
- Tính đa dạng.
- Trí nhớ miễn dịch.
- Điều hoà miễn dịch.

1.2.3. Viêm đặc hiệu

Phản ứng viêm đặc hiệu xảy ra khi cơ thể đã tiếp xúc với kháng nguyên và đã có kháng thể dịch thể hoặc kháng thể tế bào. Sự kết hợp kháng nguyên với kháng thể đặc hiệu khởi phát phản ứng viêm cũng gồm 4 triệu chứng: sưng, nóng, đỏ, đau.

1.2.4. Phân loại miễn dịch đặc hiệu

1.2.4.1. Miễn dịch chủ động (active immunity)

Là trạng thái miễn dịch của một cơ thể do hệ miễn dịch của bản thân cơ thể đó sinh ra khi có kháng nguyên kích thích.

Miễn dịch chủ động chia làm 2 loại:

- Miễn dịch chủ động tự nhiên là trạng thái miễn dịch có được khi cơ thể vô tình tiếp xúc với kháng nguyên.
- Miễn dịch chủ động thu được là trạng thái miễn dịch có được khi kháng nguyên được chủ động đưa vào cơ thể, như tiêm vaccin.

1.2.4.2. Miễn dịch thụ động (passive immunity)

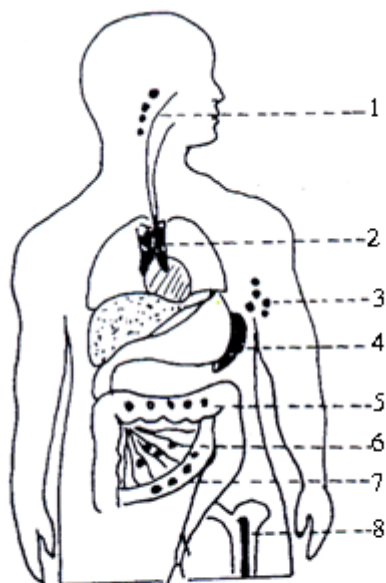
Là trạng thái miễn dịch có được nhờ kháng thể được truyền từ ngoài vào. Miễn dịch thụ động chia làm 2 loại:

- Miễn dịch thụ động tự nhiên là trạng thái miễn dịch có được do kháng thể được truyền từ mẹ sang con qua rau thai hoặc qua sữa.
- Miễn dịch thụ động thu được là trạng thái miễn dịch có được khi kháng thể được đưa vào cơ thể, như dùng liệu pháp huyết thanh.

Sự đề kháng của cơ thể gồm 2 hình thức: đáp ứng miễn dịch tự nhiên và đáp ứng miễn dịch đặc hiệu. Hai hình thức này luôn bổ sung, hỗ trợ và không thể tách rời nhau. Miễn dịch tự nhiên có trước ngăn cản VSV trước khi chúng kịp nhân lên trong cơ thể và nhờ đó mà hệ thống miễn dịch đặc hiệu có đủ thời gian hình thành và đóng vai trò chủ chốt.

2. CÁC CƠ QUAN VÀ TẾ BÀO THAM GIA VÀO QUÁ TRÌNH MIỄN DỊCH

Đáp ứng miễn dịch là một quá trình bảo vệ rất quan trọng và phức tạp, là kết quả của sự hợp tác nhiều loại cơ quan, tổ chức và tế bào khác nhau để nhận diện và phản ứng với kháng nguyên.



Hình 7.1. Các cơ quan và mô lympho chủ yếu

1. Vòng Waldeyer; 2. Tuyến ức; 3. Hạch lympho; 4. Lamina propria; 6. Hạch mạc treo; 7. Màng Peyer; 8. Tuỷ xương

2.1. Cơ quan lympho

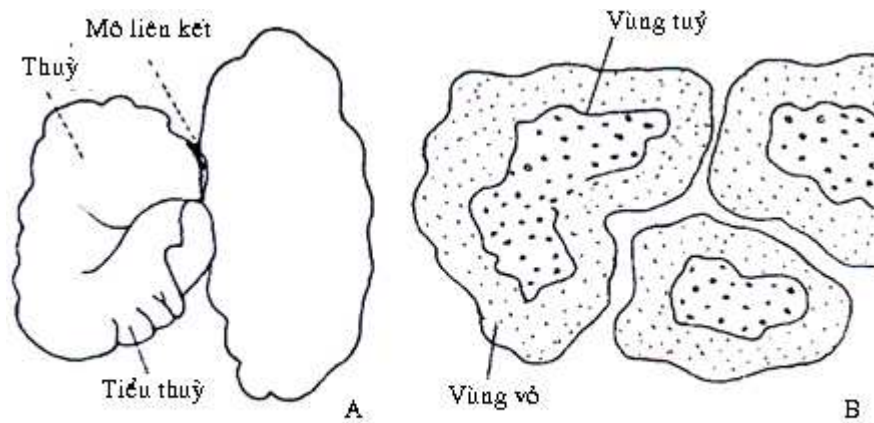
Cơ quan lympho là nơi sản sinh, huấn luyện và tàng trữ các tế bào lympho, được chia thành: cơ quan lympho trung ương và cơ quan lympho ngoại vi.

2.1.1. Cơ quan lympho trung ương

Là nơi biệt hoá tế bào nguồn thành tế bào lympho chín không cần sự kích thích của kháng nguyên.

2.1.1.1. Tuyến ức (Thymus) là một khối dẹt gồm 2 thùy nằm sát ngay sau xương ức, đây là cơ quan lympho xuất hiện sớm nhất trong thời kỳ bào thai, nó phát triển về kích thước trong thời kỳ này và sau khi trẻ ra đời. Đến tuổi dậy thì là phát triển tối đa (30 – 50g) và thoái triển dần và chỉ còn dưới 15g ở người già. Tuyến ức được cấu tạo bởi các tế bào dạng lympho và các tế bào dạng biểu mô.

Mỗi thùy tuyến ức lại chia thành nhiều tiểu thùy. Mỗi tiểu thùy được chia 2 vùng: vùng vỏ và vùng tuỷ.



Hình 7.2. Tuyến ức

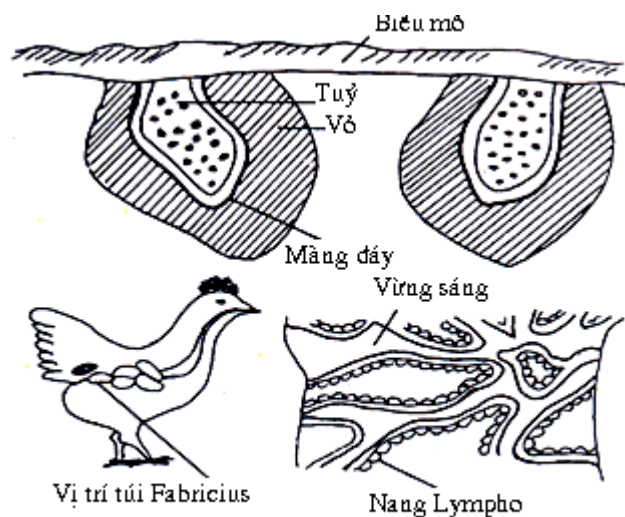
A. Hình thể ngoài; B. Cắt ngang.

Các tế bào nguồn từ tủy xương di cư đến tuyến ức, tại vùng vỏ các tiền tế bào T được biệt hoá phân chia nhiều lần thành tế bào T chín và đi vào vùng tủy. Vùng tủy là nơi tiếp tục biệt hoá của các tế bào T chín thành các lympho bào T chức năng và rời tuyến vào máu đến các cơ quan lympho ngoại vi. Như vậy, tuyến ức là nơi đảm nhận chức năng huấn luyện, phân chia, biệt hoá các lympho bào dòng T.

2.1.1.2. Bursa Fabricius (túi Fabricius)

Túi Fabricius chỉ có ở loài chim, loài gà, là cơ quan lympho nằm sát ổ nhóp. Túi chứa các nang lympho và là nơi biệt hoá tế bào nguồn thành tế bào lympho B chín.

Ở động vật có vú, tế bào nguồn được biệt hoá thành tế bào lympho B chín ngay tại tủy xương.



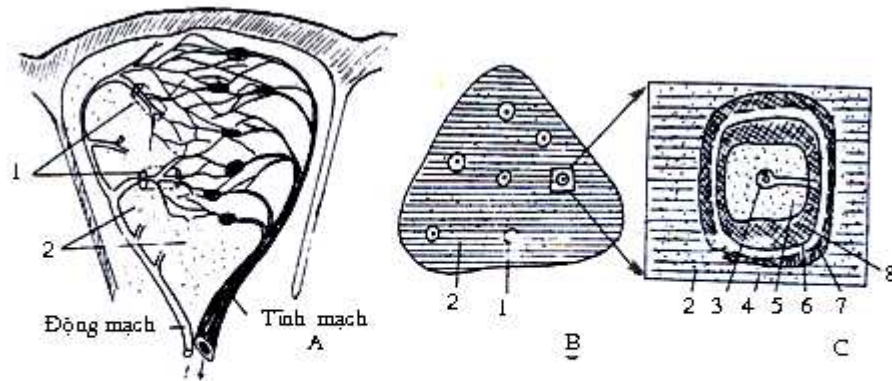
Hình 7.3. Vị trí túi Fabricius ở gà

Các tế bào lympho B chín vào máu và đến cơ quan lympho ngoại vi, ở đó chúng tiếp xúc với kháng nguyên, biệt hoá trở thành tế bào plasma sản xuất kháng thể dịch thể.

2.1.2. Cơ quan lympho ngoại vi

Là nơi cư trú của các tế bào lympho đã được biệt hoá.

2.1.2.1. Lách là một cơ quan lympho lớn có chức năng: lọc, dự trữ máu cho cơ thể, tập trung kháng nguyên xâm nhập bằng đường tĩnh mạch rồi tạo đáp ứng miễn dịch chống lại.



Hình 7.4. Cấu tạo vi thể của lách

A. Một thủy lách. B. Các điểm tủy trắng nằm giữa tủy đỏ. C. Phóng đại một đám tủy trắng
1. Tủy trắng; 2. Tủy đỏ; 3, 4. Tiểu động mạch; 5. Áo lympho T quanh động mạch;
6, 7. Xoang rìa; 8. Nang lympho nguyên thủy.

Nhu mô lách được chia làm 2 phần: tủy đỏ chiếm 4/5 khối lượng lách và tủy trắng là những điểm rải rác xen vào khối tủy đỏ. Tủy trắng có hai vùng: một vùng có các nang lympho chứa các tâm điểm mầm của dòng lympho B, gọi là vùng không phụ thuộc tuyến ức, một vùng chứa các lympho bào T gọi là vùng phụ thuộc tuyến ức. Tủy đỏ có vai trò như một cái lọc đối với hồng cầu bị huỷ hoại do tổn thương hoặc do già, các mảnh tế bào chết. Tủy đỏ có nhiều xoang tĩnh mạch chứa hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu và lympho bào.

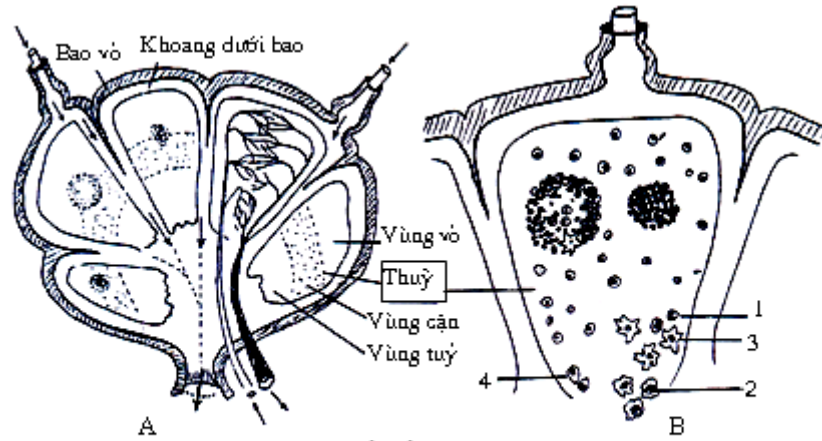
2.1.2.2. Hạch lympho

Hạch lympho còn gọi là hạch bạch huyết có hình hạt đậu được bọc trong một vỏ liên kết. Hạch nằm rải rác trên đường đi của mạch bạch huyết, và thường tập trung thành đám tại chỗ giao nhau của mạch bạch huyết như cổ, nách, bẹn... Hạch có đường kính khoảng 1 – 25mm, chúng to lên rõ rệt khi bị nhiễm khuẩn, bị u ác tính. Dịch bạch huyết thu thập từ một vùng nhất định trong cơ thể được dẫn vào hạch, sau đó ra khỏi hạch tới hạch khác hoặc chảy vào ống ngực (cơ quan bạch huyết lớn của cơ thể).

Hạch gồm các thủy, mỗi thủy chia hai vùng: vùng vỏ và vùng tủy. Vùng vỏ lại chia hai: Vùng vỏ nông có nhiều nang lympho chứa tế bào lympho B, còn gọi là vùng không phụ thuộc tuyến ức. Vùng vỏ sâu chứa chủ yếu là tế bào lympho T, ngoài ra, còn có đại thực bào và một ít tế bào lympho B được gọi là vùng phụ thuộc tuyến ức.

Vùng tủy là trung tâm hạch có nhiều lympho T, đại thực bào, từ đây các tế bào rời hạch ra ngoài.

Hạch hoạt động như một cái lọc với các phân tử lạ, là nơi các tế bào miễn dịch tiếp xúc với kháng nguyên. Các vật lạ phải di chuyển theo những mạch nhỏ và hẹp với vận tốc nhỏ để tiếp xúc với đại thực bào và các tế bào lympho. Đôi khi VSV vượt qua hạch trước nhưng lại bị giữ lại ở hạch sau. Khi bị nhiễm trùng, VSV vượt qua tất cả hạch để vào máu, tuy nhiên, hệ thống hạch đã làm chậm lại sự nhiễm trùng để kịp thời huy động hệ miễn dịch đặc hiệu.



Hình 7.5. Sơ đồ cấu trúc hạch lympho

A: Toàn thể hạch; B: Một thụ thể của hạch.

1. Tế bào lympho T; 2. Đại thực bào; 3. Tế bào lưới; 4. Tường bao

2.1.2.3. Các cơ quan lympho khác

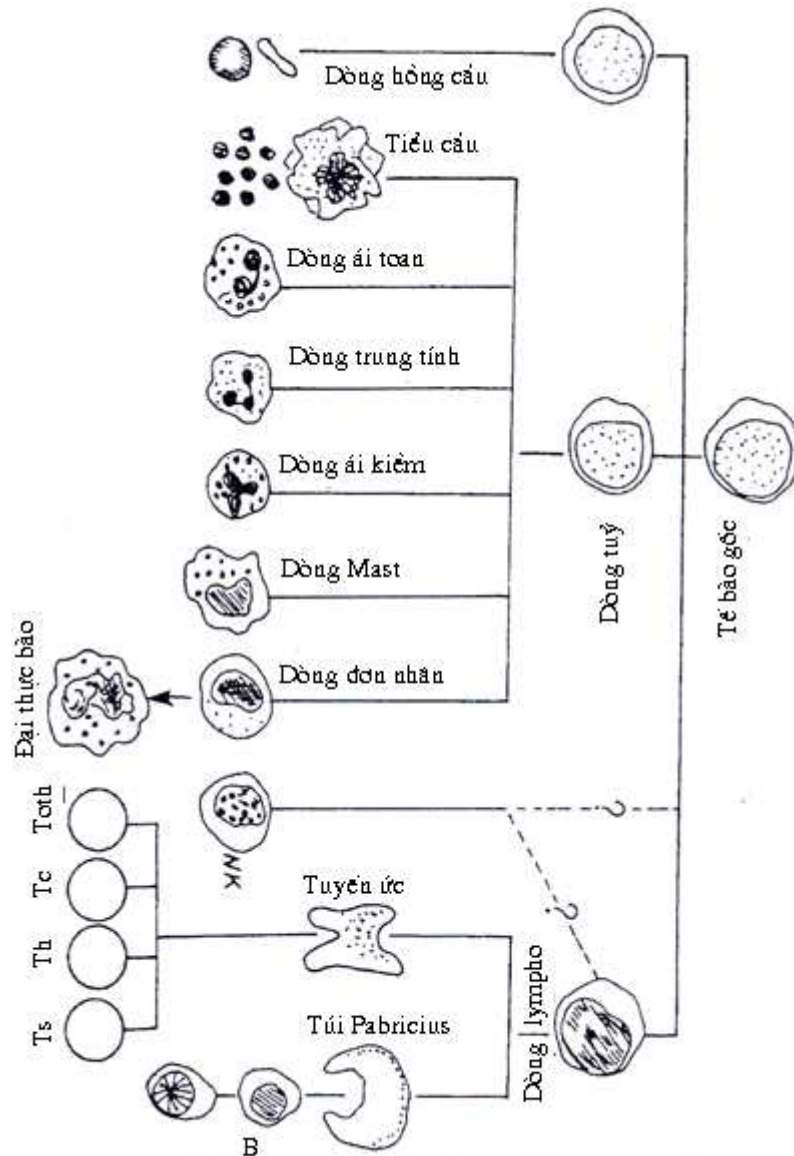
– Các mô lympho ở ruột: Gồm mảng Peyer và các nang lympho nằm rải rác ở niêm mạc ruột. Mảng Peyer là những nang lympho mà trung tâm chứa nhiều lympho B, lympho T và đại thực bào. Các tế bào lympho sẽ tiếp xúc với kháng nguyên xâm nhập qua đường tiêu hoá, có vai trò quan trọng trong cơ chế bảo vệ tại chỗ.

– Hạch hạnh nhân là những mô lympho ở họng. Các hạch hạnh nhân hợp thành vòng Waldeyer: hạch nhân lưỡi, khẩu cái, hầu, vòm.

– Ở một số nơi khác như: phế nang, phế quản, đường niệu, đường sinh dục cũng chứa mô lympho nằm dưới lớp niêm mạc.

2.2. Các tế bào tham gia đáp ứng miễn dịch

Các tế bào của hệ thống miễn dịch đều được sinh ra từ các tế bào nguồn ở tủy xương. Trong quá trình biệt hoá đã tạo ra dòng tủy, dòng hồng cầu và dòng lympho.



Hình 7.6. Sơ đồ tế bào nguồn của tế bào miễn dịch và tế bào máu

Dòng tạo máu tiếp tục biệt hoá thành ba dòng: dòng hồng cầu, dòng tế bào tạo tiểu cầu và dòng tuỷ. Các tế bào dòng tuỷ lại biệt hoá thành hai nhánh: một nhánh tạo tế bào đơn nhân để rồi thành đại thực bào, một nhánh tạo tế bào đa nhân rồi phân hoá thành bạch cầu trung tính, bạch cầu ưa kiềm, bạch cầu ưa acid.

Dòng tế bào lympho vào cơ quan lympho trung tâm để biệt hoá thành các tế bào chín. Tế bào NK (Natural killer), tế bào K (killer) là những lympho bào không biệt hoá trong cơ quan lympho trung tâm.

2.2.1. Tế bào lympho

Tế bào lympho có trong tuần hoàn máu và bạch huyết, có hai loại tế bào lympho: lympho T và lympho B.

2.2.1.1. Lympho T

Lympho T là tế bào chịu trách nhiệm đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào. Lympho T chiếm 70% tổng số lympho bào máu ngoại vi và chiếm đa số ở các mô lympho.

Từ tế bào nguồn ở tuỷ xương, lympho T được biệt hoá và trưởng thành ở tuyến ức (Thymus, nên ký hiệu là T).

Quá trình biệt hoá tế bào T ở tuyến ức đã tạo ra hai dòng tế bào T: một dòng chứa kháng nguyên

T4 (hay CD4) gọi là tế bào T4, một dòng chứa kháng nguyên T8 (hay CD8) gọi là tế bào T8.

– Dòng tế bào T4 lại tiếp tục biệt hoá tạo thành các phân lớp:

+ Lympho T hỗ trợ – TH (Helper T cells): nhận biết kháng nguyên, thúc đẩy hoạt động của các lympho T khác và lympho B.

+ Lympho T gây quá mẫn muộn – TDTH (Delayed type hypersensitivity T cell) có chức năng hoạt hoá đại thực bào và bạch cầu gây quá mẫn muộn.

+ Lympho T điều hoà ngược – TFR (Feedback regulator T lymphocyte): hoạt hoá lympho T ức chế.

– Dòng T8 tiếp tục biệt hoá thành các phân lớp:

+ Lympho T độc tế bào – TC (Cytotoxic T lymphocyte): nhận biết kháng nguyên, tấn công trực tiếp các tế bào có kháng nguyên lạ trên bề mặt (tế bào đích).

+ Lympho T ức chế – TS (Suppressor T lymphocyte): có nhiệm vụ điều hoà miễn dịch, ức chế hoạt động các lympho khác.

Các dòng tế bào T này rời tuyến ức vào tuần hoàn máu để tạo quần thể tế bào T ở các cơ quan lympho ngoại vi.

2.2.1.2. Tế bào lympho B

Lympho B là tế bào chịu trách nhiệm đáp ứng miễn dịch dịch thể. Quá trình biệt hoá tế bào B của chim, gia cầm ở túi Bursa Fabricius, ở người là tủy xương (Bone marrow) không cần sự kích thích kháng nguyên.

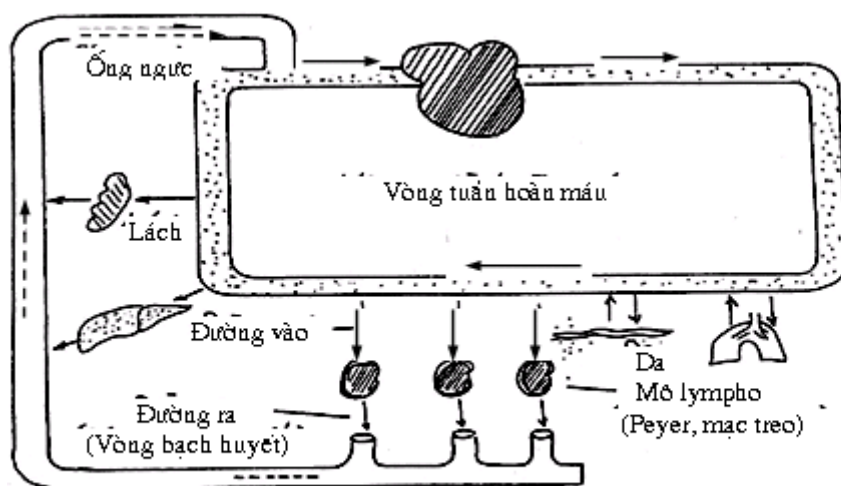
Tế bào nguồn → tiền B → B chưa chín → B chín.

Lympho B chín ở người được đặc trưng bởi sự hiện diện của thụ thể globulin bề mặt (SIg: Surface Immuglobulin). Các lympho bào B với các SIg bề mặt đến các mô lympho ngoại vi, khi có sự kích thích của kháng nguyên thì lại biệt hoá, tăng sinh thành các tương bào sản xuất kháng thể.

B chín → B biệt hoá, tăng sinh → tương bào → kháng thể dịch thể.

2.2.1.3. Di chuyển và tái tuần hoàn của các lympho bào

Sau khi trưởng thành ở tủy xương, tuyến ức, các lympho bào theo hệ tuần hoàn di chuyển đến các mô lympho ngoại vi. Nếu không có kháng nguyên kích thích thì các lympho bào chết sau 2 – 3 ngày. Nếu có kháng nguyên kích thích thì sống khoảng 120 – 140 ngày, rồi từ hạch đi theo đường bạch huyết ra ống ngực rồi trở lại tuần hoàn máu.



Hình 7.7. Sơ đồ tái tuần hoàn lympho bào (trong máu và trong mạch bạch huyết)

2.2.1.4. Tế bào NK (Natural Killer Cell)

NK là những tế bào lympho trong máu ngoại vi không phân loại được là tế bào T hay B. NK có khả năng diệt các tế bào đích như: tế bào u, tế bào chủ nhiễm virus.

2.2.1.5. Đại thực bào

- Đại thực bào là những tế bào có kích thước lớn có khả năng bắt giữ, xử lý kháng nguyên cũng như hợp tác với các tế bào lympho.
- Đại thực bào có hai loại:
 - + Loại cố định ở hạch, lách, tuỷ xương, gan.
 - + Loại di động trong máu và bạch huyết.
- Sự tham gia của đại thực bào trong đáp ứng miễn dịch:
 - + Thực bào kháng nguyên lạ xâm nhập.
 - + Trình diện thông tin về kháng nguyên lạ cho các tế bào lympho.
 - + Có thụ thể với Fc của kháng thể và bổ thể C3b.
 - + Tiết một số chất có hoạt tính sinh học như: lysozym, interferon,...

2.2.1.6. Bạch cầu hạt trung tính (BCTT)

BCTT còn gọi là tiểu thực bào, có chức năng bắt, tiêu diệt vi khuẩn. BCTT chiếm 60 – 70% tổng số bạch cầu máu ngoại vi, đời sống khoảng 4 – 5 ngày, có khả năng vận động mạnh bằng giả túc, dễ dàng lách qua thành mạch đến ổ viêm, BCTT có thụ thể với kháng thể và C3 bổ thể.

2.2.1.7. Bạch cầu ái kiềm (BCAK)

BCAK chỉ chiếm 0,5% tổng số bạch cầu ngoại vi, có vai trò quan trọng trong phản ứng phản vệ và dị ứng do bề mặt có thụ thể với IgE, bào tương chứa các hạt có hoạt tính sinh học như: histamin, serotonin, heparin.

2.2.1.8. Bạch cầu ái toan (BCAT)

BCAT chiếm 1 – 5% tổng số bạch cầu ngoại vi. BCAT tăng trong các trường hợp nhiễm ký sinh trùng, cơ chế của hiện tượng này thì chưa rõ.

3. KHÁNG NGUYÊN

3.1. Định nghĩa

Kháng nguyên (Antigen– Ag) là chất có khả năng:

- Kích thích cơ thể sinh đáp ứng miễn dịch.
- Kết hợp đặc hiệu với kháng thể hoặc với các thụ thể tế bào lympho.

3.2. Tính chất của kháng nguyên

3.2.1. Tính sinh miễn dịch

Tính sinh miễn dịch của một kháng nguyên phụ thuộc:

3.2.1.1. Tính “lạ” của kháng nguyên

Là sự khác biệt chủng loại giữa tác chủ và kháng nguyên, chất càng lạ thì khả năng kích thích miễn dịch càng mạnh.

3.2.1.2. Khối lượng phân tử

Những chất có phân tử lượng lớn hơn 1.000 dalton 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.

3.2.1.3. Cấu trúc phân tử phức tạp

- 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 vào cơ thể bằng đường tiêu hoá thì rất dễ bị mất tác dụng.
- Lipid không có tính kháng nguyên nhưng khi gắn với protein (lipoprotein) thì trở thành kháng

nguyên.

- Polysaccharid: Tính kháng nguyên yếu, vì cấu trúc lặp lại, thiếu đa dạng, khi vào cơ thể chúng dễ bị phân giải.
- Acid nucleic là kháng nguyên yếu nhưng nếu gắn với protein (nucleoprotein) thì tính kháng nguyên tăng.

3.2.2. Tính đặc hiệu của kháng nguyên

- Mỗi kháng nguyên có một cấu trúc đặc hiệu riêng được gọi là quyết định kháng nguyên (epitop), đây là phần quan trọng của kháng nguyên nơi các tế bào miễn dịch và kháng thể nhận dạng và gắn đặc hiệu.
- Phần kết hợp với một epitop kháng nguyên trên mỗi phân tử kháng thể gọi là vị trí kết hợp kháng nguyên (paratop), còn trên tế bào lympho là thụ thể (receptor).
- Mỗi epitop chỉ gắn đặc hiệu với một paratop hoặc một thụ thể tế bào lympho và chỉ sinh một dòng kháng thể đặc hiệu.

3.3. Các loại kháng nguyên

- Kháng nguyên đơn giá có một epitop.
- Kháng nguyên đa giá có nhiều epitop khác nhau.
- Hai kháng nguyên chéo là hai kháng nguyên khác nhau nhưng có một hoặc nhiều epitop giống nhau.

3.4. Phân loại kháng nguyên

3.4.1. Theo cấu trúc hoá học

- Kháng nguyên protein.
- Kháng nguyên polysaccharid.
- Kháng nguyên lipid.
- Kháng nguyên acid nucleic.

3.4.2. Kháng nguyên VSV

3.4.2.1. Kháng nguyên vi khuẩn

- Ngoại độc tố là những chất độc do vi khuẩn tiết ra ngoài, bản chất là protein. Ngoại độc tố có thể xử lý với formalin 0,5% ở 37°C trong 1 đến 2 tháng để khử tính độc gọi là giải độc tố (anatoxin), nhưng còn tính kháng nguyên và được ứng dụng để điều chế vaccin phòng bệnh.
- Enzym ngoại bào độc lực ở một số vi khuẩn như hyaluronidase, leucocidin, hemolysin, coagulase,... Các enzym này là kháng nguyên tốt kích thích cơ thể tạo kháng thể đặc hiệu. Một số enzym được sử dụng trong chẩn đoán như streptolysin O của liên cầu.
- Kháng nguyên vách (kháng nguyên O), ở vi khuẩn Gram(+), 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(–) 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.
- 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.
- Kháng nguyên lông (kháng nguyên H). Sợi lông của vi khuẩn tạo thành bởi các protein sợi (Flagellin). Kháng nguyên lông được dùng để phân loại một số vi khuẩn.

3.4.2.2. Kháng nguyên virus

– 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.

– Các kháng nguyên cấu tạo virus:

+ Kháng nguyên lõi virus: Acid nucleic là bán kháng nguyên nhưng 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.

4. TRÌNH DIỆN KHÁNG NGUYÊN – PHÂN TỬ MHC

MHC (Major Histocompatibility Complex) là phức hợp hoà hợp mô chủ yếu có vai trò quan trọng trong trình diện kháng nguyên.

Phân tử MHC hay còn gọi là kháng nguyên MHC, đó là những phân tử protein biểu lộ trên bề mặt nhiều loại tế bào trong cơ thể, nó khiến cơ thể này khác cơ thể kia nếu không phải là sinh đôi cùng trứng hoặc không cùng một dòng thuần chủng.

Phân tử MHC lớp I có trên bề mặt tất cả tế bào có nhân của động vật có xương sống.

Phân tử MHC lớp II có trên bề mặt tế bào lympho B, đại thực bào, và một số tế bào trình diện kháng nguyên khác như tế bào tua Dendritic, tế bào Langerhans.

Các kháng nguyên không thể trình diện trực tiếp cho tế bào lympho B hoặc lympho T, mà phải được các tế bào trình diện kháng nguyên (Antigen Presenting cell – APC) xử lý, nghĩa là chuyển các protein phức tạp thành các đoạn peptid phù hợp với rãnh gắn peptid trên phân tử MHC của tế bào APC đó.

Ở người, kháng nguyên phù hợp tổ chức là HLA (Human Leucocyte Antigen) – kháng nguyên bề mặt bạch cầu người.

4.1. Cấu trúc của các phân tử MHC

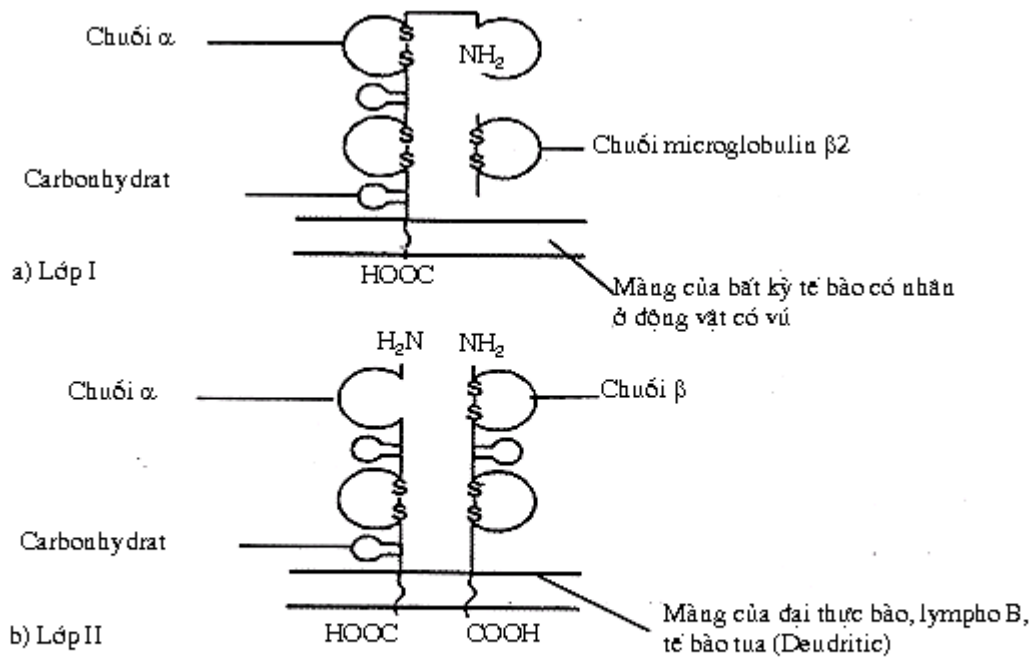
4.1.1. Phân tử MHC lớp I

Phân tử MHC lớp I là các glycoprotein gồm 2 chuỗi polypeptid: chuỗi α cắm sâu vào màng sinh chất, vùng có đầu tận amin ngoại bào trên chuỗi α mang các rãnh gắn peptid; chuỗi β là một polypeptid nhỏ không gắn trực tiếp với tế bào.

4.1.2. Phân tử MHC lớp II

Phân tử MHC lớp II là phân tử protein gồm 2 chuỗi polypeptid: chuỗi α và chuỗi β kết hợp không đồng hoá trị với nhau và cùng cắm sâu vào màng sinh chất. Đoạn amin ngoại bào của cả 2 chuỗi tạo nên các rãnh gắn peptid.

Cấu trúc phân tử MHC giữa các loài động vật, thậm chí giữa các cá thể trong cùng một loài là không giống nhau. Điều này giải thích hiện tượng thải loại khi ghép mô giữa hai cá thể.



Hình 7.8. Cấu trúc của phân tử MHC

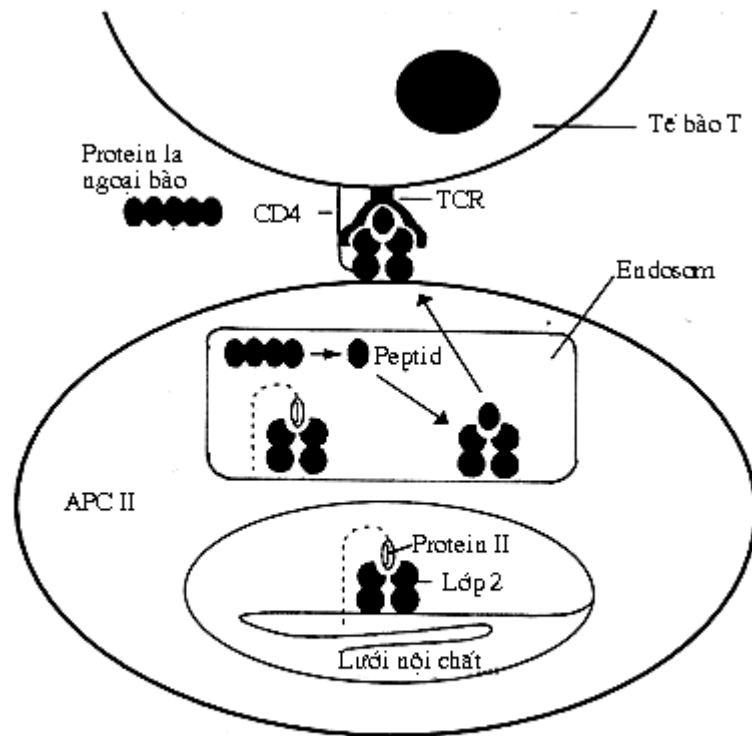
4.2. Sự trình diện kháng nguyên ngoại bào kết hợp với phân tử MHC lớp II

Tế bào trình diện các kháng nguyên ngoại bào thường gặp là đại thực bào và lympho B, tế bào tua Deudritic.

Kháng nguyên protein lạ được các tế bào APC tóm bắt và đưa vào trong nội bào, sau đó chúng được cắt thành những đoạn peptid nhỏ, thẳng, nhưng còn khả năng sinh miễn dịch và được tích tụ lại trong các nang endosom.

Các phân tử MHC lớp II được tổng hợp trong lưới nội chất và được che phủ bằng các protein bao vây (blocking protein – protein này ngăn không cho phân tử MHC lớp II gắn với các peptid khác cũng được tạo ra trong lưới nội chất). Sau đó phân tử MHC lớp II cùng protein bao vây đi vào endosom. Tại đây protein bao vây được phân giải, do đó, các phân tử MHC lớp II sẽ được gắn với đoạn peptid kháng nguyên tạo phức hợp MHC lớp II–peptid kháng nguyên và được chuyển lên bề mặt tế bào APC để trình diện cho lympho T.

Lympho T đến tiếp xúc trực tiếp với tế bào APC và hình thành cặp kết dính CD4–MHC lớp II và TCR–peptid kháng nguyên, để nhận diện kháng nguyên lạ.

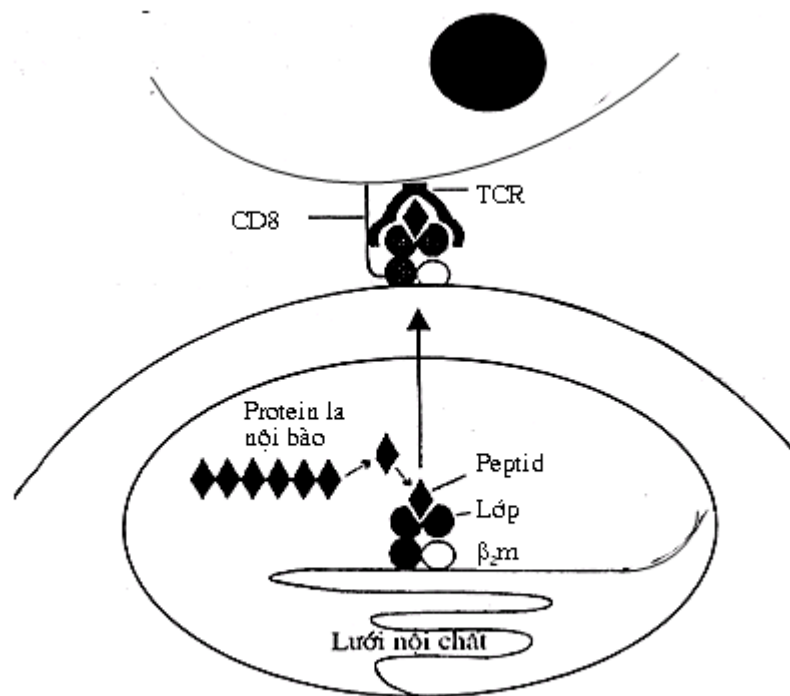


Hình 7.9. Trình diện kháng nguyên ngoại bào nhờ phân tử MHC lớp II

4.3. Sự trình diện kháng nguyên nội bào kết hợp với phân tử MHC lớp I

Kháng nguyên nội bào là loại kháng nguyên được hình thành trong tế bào chủ, có thể là các protein virus, kháng nguyên ung thư, hoặc tự kháng nguyên. Các kháng nguyên này được tế bào chủ xử lý bằng các enzym phân giải thành các peptid. Các peptid này gắn với phân tử MHC lớp I trong lưới nội chất, để tạo phức hợp MHC lớp I– peptid kháng nguyên rồi chuyển lên bề mặt tế bào.

Lympho T đến tiếp xúc trực tiếp với tế bào và hình thành cặp kết dính CD8– MHC lớp I và TCR–peptid kháng nguyên để nhận diện và tiết chất độc tiêu diệt tế bào mang kháng nguyên (tế bào đích).



Hình 7.10. Trình diện kháng nguyên nội bào nhờ phân tử MHC lớp I

5. ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH DỊCH THỂ

5.1. Tế bào lympho B

Tế bào lympho B là tế bào sinh kháng thể dịch thể, được biệt hoá ở túi Bursa Fabricius đối với chim và gia cầm, ở người là tuỷ xương, sau đó, các tế bào B chín vào máu rồi đến cư trú tại lách và hạch ngoại vi.

5.2. Quá trình tăng sinh, biệt hoá tế bào lympho B

Dưới kính hiển vi điện tử, các tế bào lympho B có bề mặt xù xì, nổi gai, đó là các globulin miễn dịch bề mặt SIg (Surface immunoglobuline). Quá trình tăng sinh, biệt hoá lympho B diễn ra kèm theo sự thay đổi SIg.

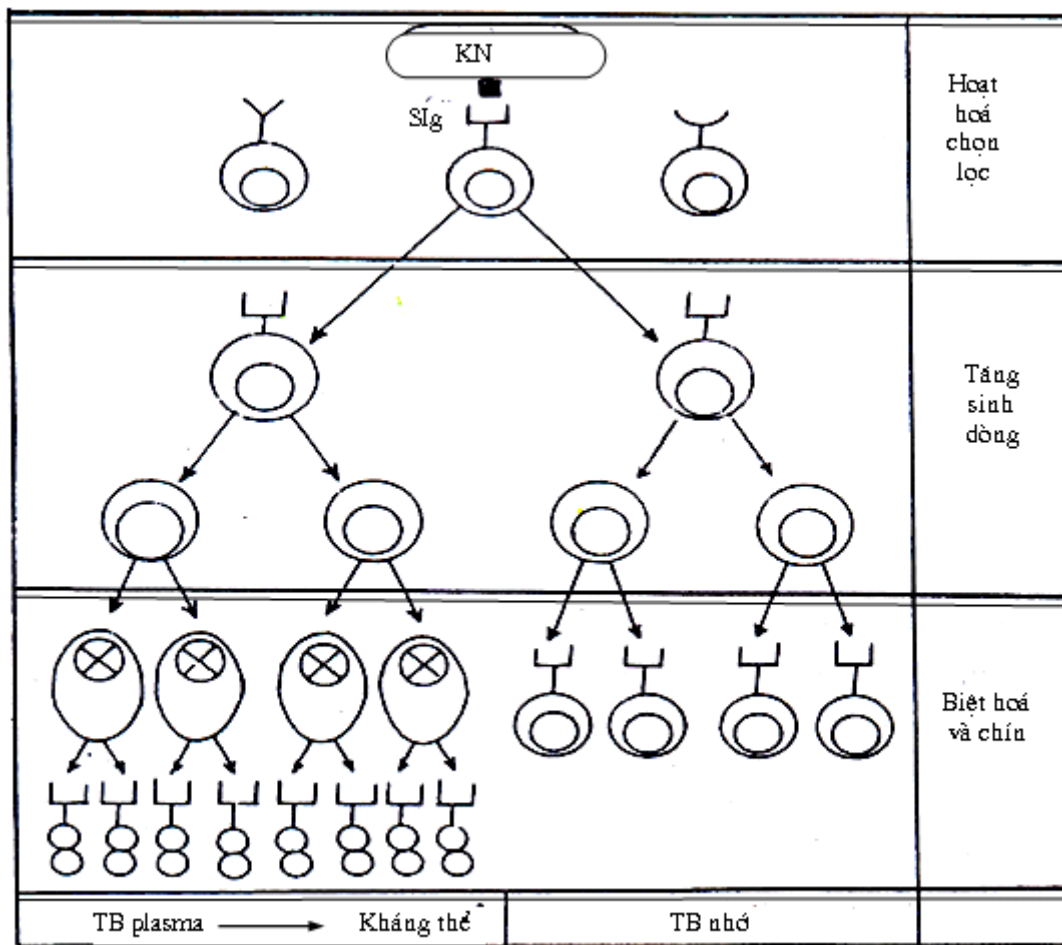
Quá trình gồm 2 giai đoạn:

5.2.1. Giai đoạn 1

Các tế bào nguồn trong tuỷ xương phát triển thành tiền lympho B, các tế bào này chưa có SIg. Tiếp theo, tiền lympho B thành lympho B chưa chín rồi thành lympho B chín với sự xuất hiện của SIg. Mỗi lympho B có khoảng $0,5 - 1,5 \cdot 10^5$ phân tử SIg, chúng hoạt động như các thụ thể bề mặt tiếp nhận kháng nguyên. Ở giai đoạn này, sự phát triển của lympho B không cần sự kích thích của kháng nguyên và sự hỗ trợ của lympho T.

5.2.2. Giai đoạn 2

Giai đoạn này cần có sự kích thích của kháng nguyên và sự hỗ trợ của tế bào lympho TH. Kháng nguyên khi vào cơ thể sẽ chọn lọc gắn với lympho B chín có SIg thích hợp, tạo phức hợp “kháng nguyên – SIg”. Lúc này, tế bào lympho B sẽ trải qua một quá trình tăng sinh, biệt hoá thành dòng tế bào plasma (tương bào) sản xuất kháng thể dịch thể và dòng tế bào nhớ (memory B cell) giúp cho đáp ứng lần sau với chính kháng nguyên đó nhanh và mạnh hơn.



Hình 7.11. Cơ sở tế bào của sự sản xuất kháng thể

5.3. Kháng thể dịch thể (Antibody)

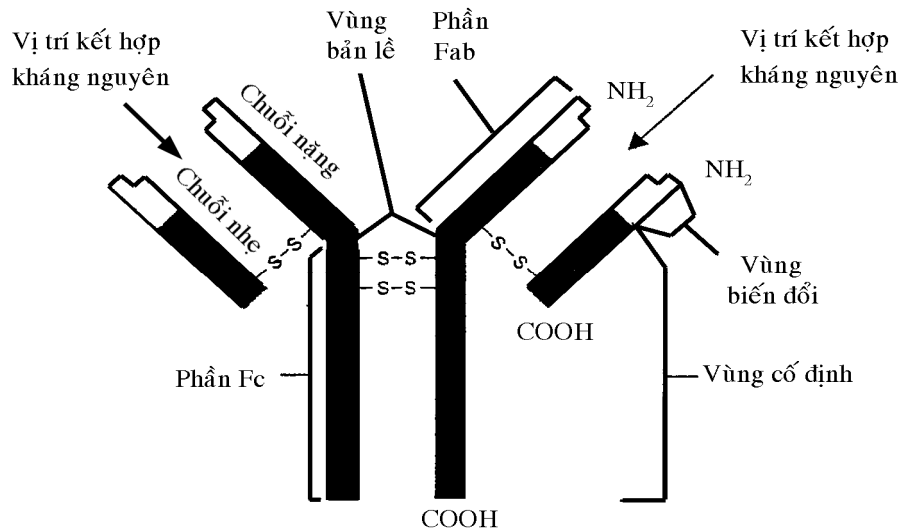
Là các globulin có trong huyết thanh có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đã kích thích sinh ra nó.

Kháng thể miễn dịch – Immunoglobulin ký hiệu là Ig.

Hai đặc tính sinh học quan trọng của kháng thể là khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên và khả năng biểu hiện như một kháng nguyên, tức là kích thích sinh kháng kháng thể.

5.3.1. Cấu trúc

Phân tử globulin miễn dịch gồm một hay nhiều đơn vị hình thành. Mỗi đơn vị là một phân tử protein gồm 4 chuỗi polypeptit giống nhau từng đôi một: 2 chuỗi nhẹ và 2 chuỗi nặng nối với nhau bằng cầu disulfua.



Hình 7.12a. Cấu trúc của kháng thể

5.3.1.1. Chuỗi nhẹ, ký hiệu L (Light chain)

Chuỗi nhẹ có khối lượng phân tử khoảng 23.000 chứa 211 – 221 acid amin, có 2 loại chuỗi nhẹ chung cho tất cả các lớp globulin miễn dịch.

- Chuỗi nhẹ Kappa (ký hiệu κ).
- Chuỗi nhẹ Lambda (ký hiệu λ).

Mỗi phân tử globulin chỉ chứa một loại chuỗi nhẹ hoặc Kappa, hoặc Lambda mà không bao giờ chứa cả hai.

Mỗi chuỗi nhẹ chứa hai vùng acid amin.

– Vùng có trật tự acid amin không thay đổi gọi là vùng cố định, ký hiệu là C (constant), vùng này nằm ở phía đầu carboxyl ($-\text{COOH}$). Trật tự acid amin vùng này luôn giống nhau ở tất cả các lớp kháng thể.

– Vùng có trật tự acid amin thay đổi gọi là vùng biến đổi, ký hiệu là V (variable), vùng này nằm ở phía đầu amin ($-\text{NH}_2$). Trật tự acid amin vùng này khác nhau kể cả ở các phân tử globulin do cùng một tế bào sinh ra.

5.3.1.2. Chuỗi nặng ký hiệu H (Heavy chain)

Chuỗi nặng có khối lượng phân tử từ 50.000 đến 70.000, chia thành 5 loại: γ , μ , α , δ , ϵ , tương ứng với 5 lớp kháng thể là IgG, IgM, IgA, IgD, IgE. Các chuỗi nặng có tính đặc hiệu riêng và quyết định globulin miễn dịch thuộc lớp nào.

Chuỗi nặng có khoảng 440 acid amino và cũng có hai vùng.

– Vùng cố định nằm ở đầu carboxyl ($-\text{COOH}$), ký hiệu là C, có trật tự acid amino giống nhau ở tất cả globulin miễn dịch thuộc cùng một lớp.

– Vùng biến đổi nằm ở phía đầu amin ($-\text{NH}_2$), ký hiệu là V, trong trật tự acid amin có một số đoạn hay thay đổi xen giữa những đoạn tương đối ổn định.

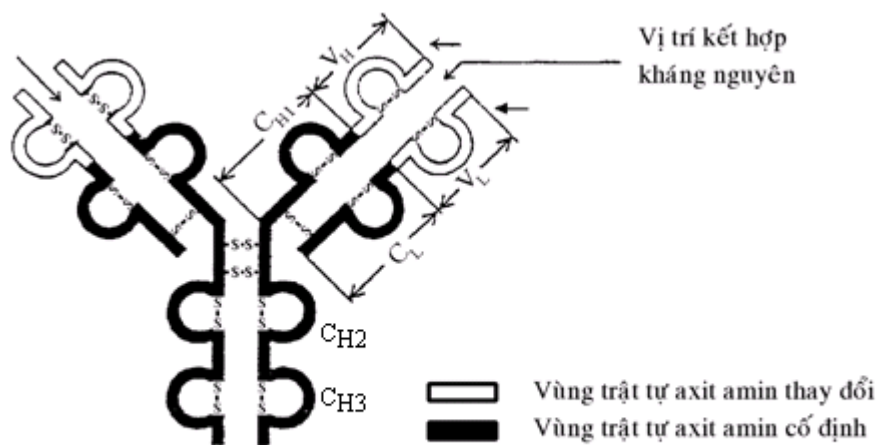
Hai vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng nằm kề nhau tham gia vào sự hình thành vị trí kết hợp kháng nguyên hay paratop của phân tử kháng thể mang tính đặc hiệu cho từng quyết định kháng nguyên.

5.3.1.3. Vùng gấp khúc (domain), vùng bản lề và các mảnh phân tử globulin miễn dịch

Các cầu nối disulfua vừa nối các chuỗi polypeptid với nhau vừa nối các acid amin nằm xa nhau trong cùng chuỗi để tạo nên những khúc xoắn hoặc cuộn hình cầu được gọi là domain. Chuỗi nhẹ có 2 domain, chuỗi nặng có 4 domain. Edelman (1970) cho rằng chức năng vùng gấp khúc V_H và V_L là

hợp tác với nhau tạo bề mặt của vị trí gắn kháng nguyên, các vùng khác làm nhiệm vụ trung gian cho các chức năng của kháng thể như gắn với bề mặt, gắn với thụ thể cho Fc trên đại thực bào, bạch cầu trung tính,...

Trong chuỗi nặng, vùng giáp ranh giữa domain C_{H1} và C_{H2} được gọi là vùng bản lề. Vùng bản lề có đặc tính mềm mại giúp cho 2 cánh của phân tử kháng thể di động được, có thể mở ra, khép vào từ $0 - 180^\circ$, nhờ đó mà kháng thể dễ dàng kết hợp với kháng nguyên.



Hình 7.12b. Vùng gấp khúc Domain trên cấu trúc kháng thể

Vùng bản lề còn là nơi dễ bị tác động của các enzym tiêu protein. Nếu dùng papain và pepsin cắt phân tử globulin miễn dịch IgG, ta sẽ thu được các mảnh khác nhau:

– Với papain, thu 3 mảnh:

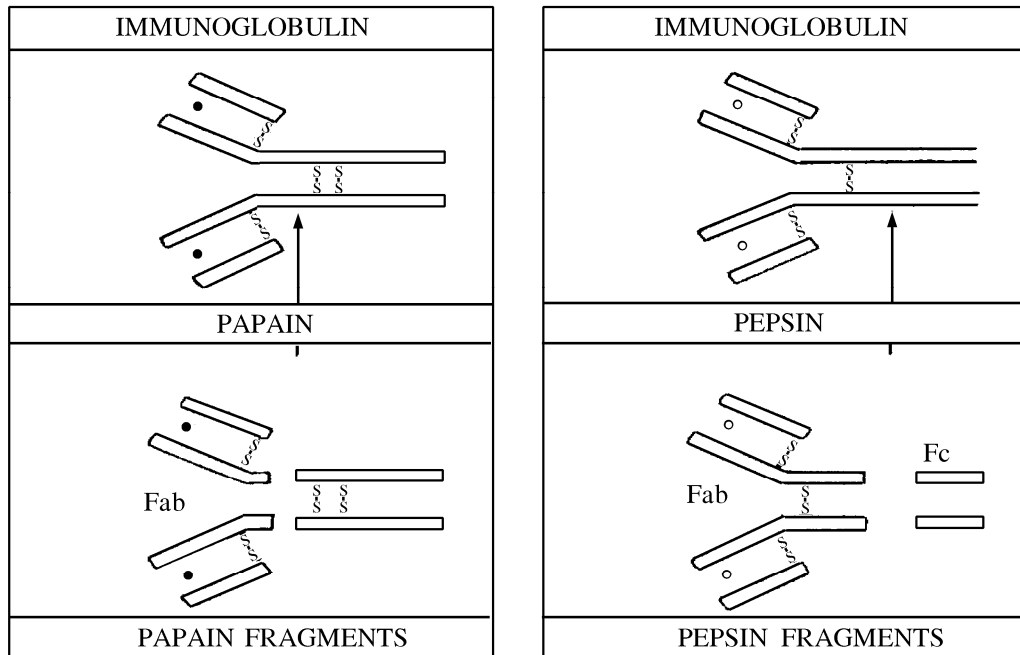
+ 2 mảnh Fab (Fragment of antigen binding), mỗi mảnh gồm một chuỗi nhẹ và nửa chuỗi nặng có đầu amin. Đây là nơi gắn với kháng nguyên.

+ 1 mảnh Fc (Fragment crystallizable), mảnh này có tính đặc hiệu kháng nguyên, có khả năng gắn lên bề mặt tế bào, hoạt hoá bề mặt.

– Với pepsin, thu 2 mảnh:

+ Mảnh lớn Fab, có cấu tạo gần như một phân tử hoàn toàn với 2 hoá trị do đó vẫn có khả năng phản ứng với kháng nguyên.

+ Mảnh nhỏ Fc.



Hình 7.13. Các mảnh phân tử Ig dưới tác dụng của papain và pepsin

5.3.2. Các lớp kháng thể

Có 5 lớp globulin miễn dịch: IgG, IgM, IgA, IgD, IgE.

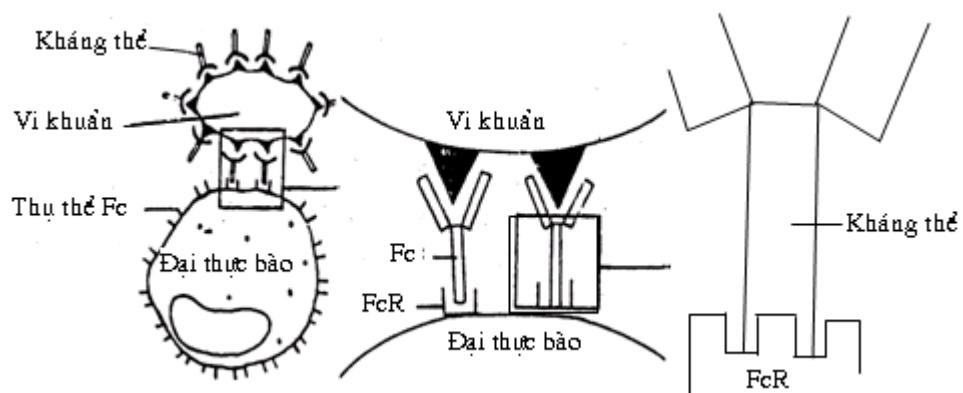
5.3.2.1. IgG có chuỗi nặng γ ký hiệu $\gamma 2\kappa 2$ hay $\gamma 2\lambda 2$

– Chiếm 80% tổng số Ig huyết thanh, vai trò chính bảo vệ cơ thể, xuất hiện sau và thay thế IgM trong chống nhiễm trùng. Là kháng thể duy nhất truyền từ mẹ sang con qua nhau thai.

– Căn cứ vào sự khác biệt tính kháng nguyên ở vùng cố định chuỗi nặng γ , IgG chia 4 phân lớp: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.

– Chức năng của IgG:

+ Opsonin hoá: phần Fc của IgG gắn với thụ thể thích hợp trên bề mặt đại thực bào, phần Fab gắn với quyết định kháng nguyên, tạo điều kiện cho đại thực bào bắt giữ và tiêu diệt kháng nguyên.

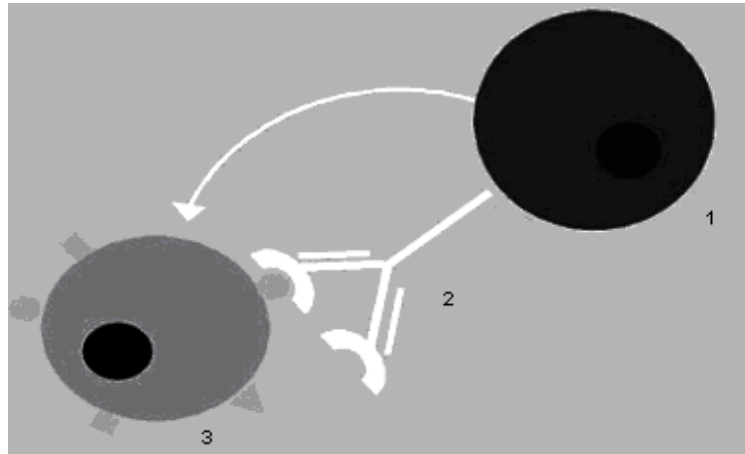


Hình 7.14. Hiện tượng opsonin

– Hoạt hoá bổ thể: IgG1, IgG2, IgG3 có khả năng hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển.

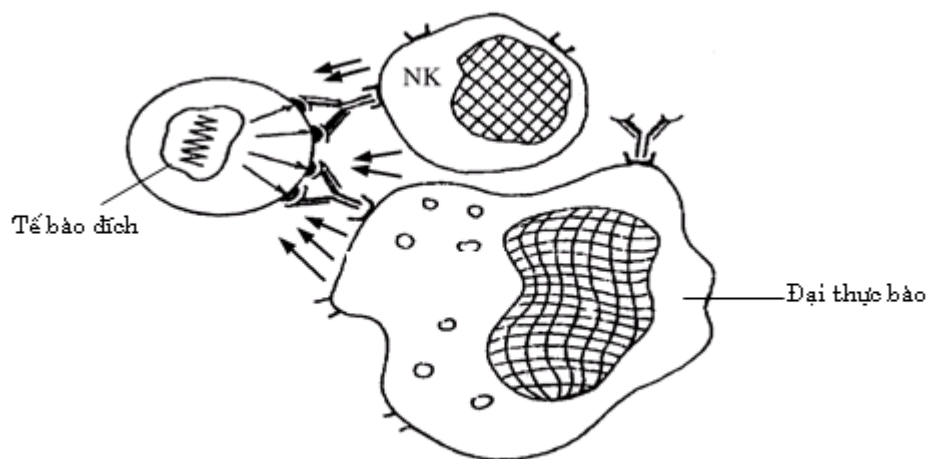
– Gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity –ADCC): phần Fab của IgG gắn với tế bào đích, phần Fc gắn với thụ thể tế bào K(Killer cell), tạo điều kiện cho tế bào giải phóng chất độc diệt tế bào đích (tế bào mang kháng nguyên lạ –Tumor

cell).



Hình 7.15. Hiện tượng ADCC
1. Tế bào diệt tự nhiên; 2. Kháng thể IgG; 3. Tế bào đích

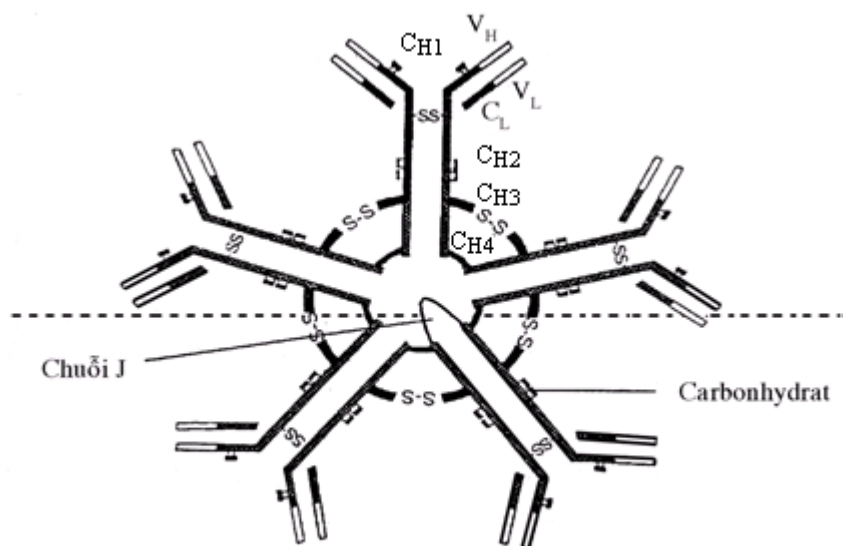
- Trung hoà ngoại độc tố.
- Gây ngưng kết tế bào vi khuẩn, trung hoà virus: IgG gắn trên bề mặt tế bào làm cho vi khuẩn kết thành đám, làm cho virus không bám được vào thụ thể tế bào chủ để xâm nhập.



Hình 7.16. Minh họa kháng thể hấp dẫn NK và đại thực bào diệt virus

5.3.2.2. IgM có chuỗi nặng μ , ký hiệu $\mu_2\kappa_2$ hay $\mu_2\lambda_2$

- Về cấu trúc: IgM do 5 đơn vị cơ bản hợp thành (pentamer), các đơn vị nối với nhau bởi chuỗi peptid J, tạo ra 10 vị trí kết hợp kháng nguyên.
- IgM chiếm 5 – 10% tổng số Ig huyết thanh, là kháng thể xuất hiện sớm nhất trong nhiễm trùng. IgM có 2 phân lớp là: IgM1 và IgM2.
- Chức năng của IgM:
 - + Hoạt hoá bổ thể
 - + Ngưng kết vi khuẩn.



Hình 7.17. Cấu trúc IgM

5.3.2.3. IgA có chuỗi nặng α ký hiệu $\alpha 2\kappa 2$ hay $\alpha 2\lambda 2$

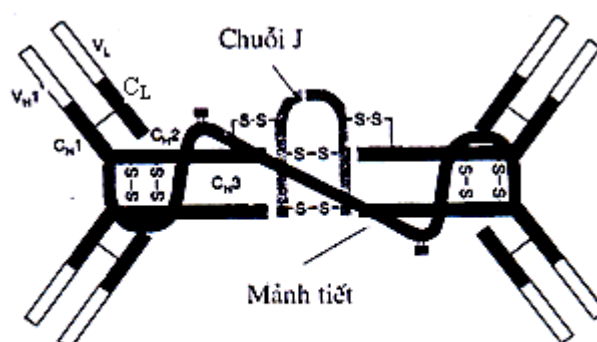
Có 2 loại IgA: IgA trong huyết thanh và IgA tiết.

– IgA huyết thanh chiếm 15 – 20% tổng Ig huyết thanh chủ yếu ở dạng monome, đời sống ngắn khoảng 6 ngày.

Chức năng: Hoạt hoá bổ thể theo đường nhánh.

– IgA tiết có trong sữa, nước bọt, nước mắt, dịch mũi, dịch tiết ở phế quản, đường tiêu hoá, đường sinh dục, tiết niệu. IgA tiết ở dạng dimer, hai phân tử gắn với nhau ở phần Fc nhờ chuỗi peptid J và mảnh tiết. Mảnh tiết là sản phẩm của tế bào biểu mô có tác dụng bảo vệ IgA trước enzym phân giải protein và giúp vận chuyển IgA tiết vào dịch tiết.

Chức năng IgA tiết: Chống VSV trên bề mặt niêm mạc, ngăn chúng xâm nhập sâu vào các cơ quan.



Hình 7.18. Cấu trúc IgA tiết

5.3.2.4. IgD có chuỗi nặng δ ký hiệu $\delta 2\kappa 2$ hay $\delta 2\lambda 2$

Chiếm 0,2 – 1 % tổng số Ig huyết thanh. Chức năng còn biết rất ít.

5.3.2.5. IgE có chuỗi nặng ϵ ký hiệu $\epsilon 2\kappa 2$ hay $\epsilon 2\lambda 2$

Nồng độ trong huyết thanh thấp, tăng lên khi dị ứng, nhiễm ký sinh trùng.

Chức năng: Gây quá mẫn tức thì, do phần Fc của IgE gắn với thụ thể thích hợp trên bề mặt bạch cầu ưa kiềm và tế bào mast. Khi kháng nguyên xâm nhập sẽ gắn với phần Fab, dẫn đến các tế bào trên được hoạt hoá giải phóng các hoạt chất như histamin, serotonin, locotrien gây dẫn mạch, tăng thấm thành mạch.

6. BỔ THỂ COMPLEMENT

6.1. Mở đầu

– Bổ thể là một nhóm protein huyết thanh thuộc hệ miễn dịch tự nhiên.

Năm 1930, Bordet đã chứng minh bằng các thí nghiệm in vitro là huyết thanh tươi của dê đã được gây miễn dịch chống phẩy khuẩn tả có tác dụng làm ngưng kết vi khuẩn này sau đó làm tan ra. Tác dụng này sẽ giảm và mất khi đun huyết thanh ở 56°C trong 30 phút. Như vậy, trong huyết thanh con vật đã được gây miễn dịch có hai yếu tố tham gia vào tác dụng làm tan vi khuẩn: một yếu tố chịu được nhiệt gây ngưng kết đặc hiệu với vi khuẩn nhưng chưa làm chết vi khuẩn, đó là kháng thể; yếu tố thứ hai có sẵn trong huyết thanh, bị bất hoạt ở 56°C sau 30 phút, có tác dụng làm tan vi khuẩn sau khi bị kháng thể ngưng kết, ban đầu được gọi là alexin sau gọi là bổ thể (complement) do tác dụng “bổ sung” của nó.

– Gan là cơ quan sản xuất mọi thành phần bổ thể cho máu, trừ C1 do biểu mô đường tiêu hoá và đường tiết niệu sản xuất.

– Các ký hiệu và quy ước quốc tế:

C là bổ thể toàn phần.

$\bar{C}$ là bổ thể được hoạt hoá, có hoạt tính enzym tác động tiếp lên các bổ thể tiếp theo, ví dụ: $\bar{C3b}$

Bổ thể bị mất hoạt tính được ký hiệu có chữ i (inactivated), ví dụ: iC3b.

Hệ thống bổ thể gồm 9 protein ký hiệu từ C1 – C9.

C1 gồm 3 thành phần: C1q, C1r, C1s

Nhiều thành phần bổ thể là tiền enzym khi bị phân cắt thành 2 mảnh: mảnh a và mảnh b.

– Phức hợp bổ thể do nhiều mảnh liên kết liết tạo thành, ví dụ: C4b2b3b.

6.2. Hoạt hoá bổ thể

Các bổ thể muốn hoạt động phải được hoạt hoá. Sự hoạt hoá theo kiểu phản ứng dây chuyền và theo trình tự nhất định. Một bổ thể khi được hoạt hoá lại có khả năng kích thích hoạt hoá bổ thể tiếp theo để tạo ra những hoạt chất có tác dụng sinh học thực hiện cơ chế bảo vệ.

6.2.1. Hoạt hoá theo con đường cổ điển

6.2.1.1. Tác nhân hoạt hoá

Là sự kết hợp đặc hiệu kháng thể với kháng nguyên. Chỉ có kháng thể IgM, IgG1, IgG2, IgG3 có khả năng này vì đây là những kháng thể có nồng độ cao trong máu, vì vậy, hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển xảy ra rất phổ biến.

6.2.1.2. Các bước hoạt hoá

– Sự kết hợp kháng nguyên – kháng thể.

– Hoạt hoá C1.

– Hoạt hoá C4 và C2 tách C4a và C2b tạo $\bar{C4bC2a}$ là enzym phân giải C3.

– Hoạt hoá C3 tách C3a tạo $\bar{C4bC2aC3b}$.

6.2.1.3. Kết quả

Tạo $\bar{C4bC2aC3b}$ (C5 – convertase) là enzym phân giải C5.

6.2.2. Hoạt hoá theo đường nhánh

Đường nhánh là một đường hoạt hoá khác, bên cạnh đường cổ điển, có thể xảy ra độc lập hoặc kết hợp với đường cổ điển.

6.2.2.1. Tác nhân hoạt hoá

– Bề mặt tế bào vi khuẩn, tế bào nhiễm virus, ký sinh trùng, tế bào nhiễm nấm.

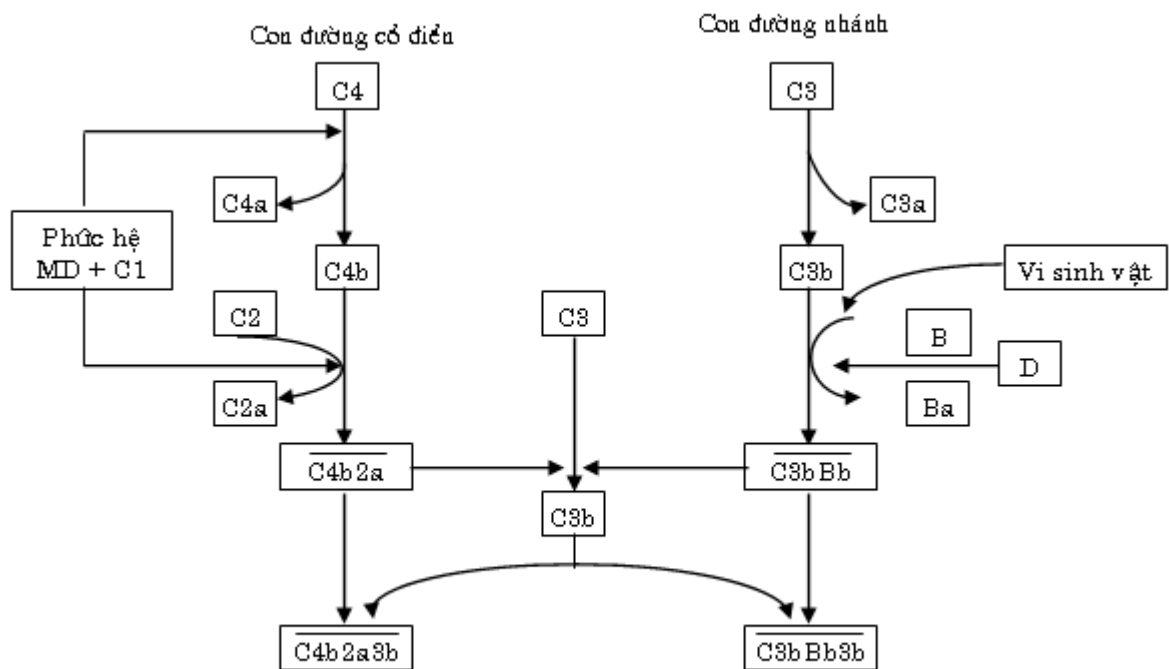
- Một số polysaccharid tự nhiên: zymosan, endotoxin,...
- Các yếu tố tham gia gồm: B, D và P (B là α -globulin; D là β -globulin, P là γ -globulin).

6.2.2.2. Các bước hoạt hoá

- Bình thường trong huyết thanh có một nồng độ thấp C3b (do quá trình hoạt hoá thường trực C3 với sự tham gia của yếu tố B và D).
- C3b bám vào bề mặt lạ, tác nhân hoạt hoá xúc tiến mạnh quá trình kết hợp với yếu tố B tạo $\overline{C3bBb}$, chất này lại tác động lên C3 tạo $\overline{BbC3b3b}$.

6.2.2.3. Kết quả

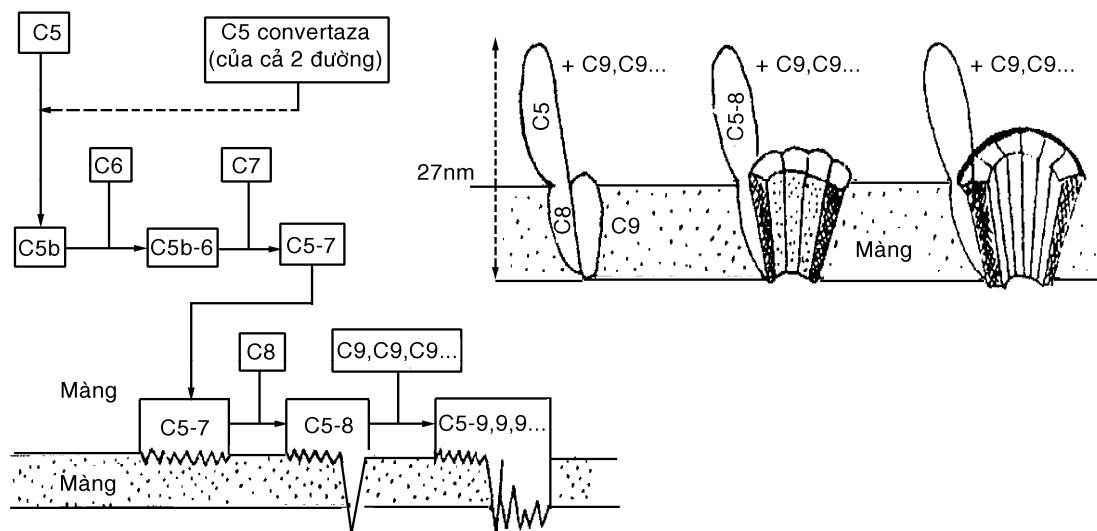
Tạo $\overline{BbC3b3b}$ (C5 – convertase) là enzym tác động lên C5.



Hình 7.19. Sơ đồ tóm tắt sự hoạt hoá bổ thể theo 2 đường và thân chung

6.2.3. Sự hình thành phức hợp tấn công màng

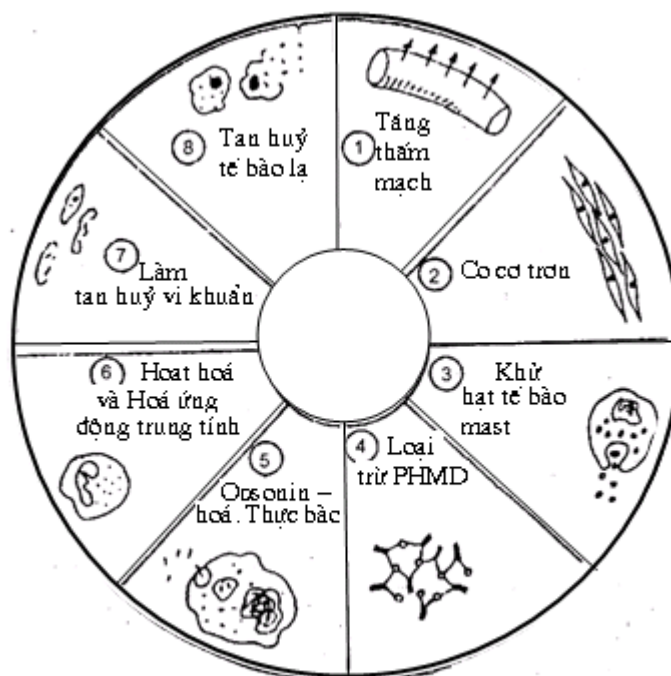
Là quá trình tiếp nối cho cả hai con đường, bắt đầu từ sự hoạt hoá C5 do enzym C5-convertase và kết thúc ở C9 tạo phức hợp tấn công màng (membrane attack complex-MAC), phức hợp này chọc thủng màng tế bào vi khuẩn gây tan bào.



Hình 7.20. Sơ đồ tóm tắt sự hình thành phức hợp tấn công màng

6.3. Tác dụng sinh học của hoạt hoá bổ thể

Ở vách một số vi khuẩn có các phân tử mannose liên kết với nhau, các phân tử này có khả năng gắn với chất lectin của cơ thể dưới sự hỗ trợ của hai phân tử protease huyết thanh. Sự kết hợp này cũng dẫn đến hoạt hoá C4 và từ đó quá trình hoạt hoá giống như con đường cổ điển.



Hình 7.21. Tóm tắt các tác dụng sinh học của bổ thể

7. MIỄN DỊCH QUA TRUNG GIAN TẾ BÀO (Cell Mediated Immunity–CMI)

– Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào là phương thức thứ hai, bên cạnh đáp ứng miễn dịch dịch thể nhằm loại trừ kháng nguyên lạ.

Gọi là đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào vì muốn gây miễn dịch thụ động thì phải dùng hỗn dịch tế bào mà không thể dùng huyết thanh (dịch thể).

- Tầm quan trọng của đáp ứng miễn dịch tế bào được thể hiện rõ rệt trong các trường hợp:
- Các bệnh nhiễm trùng do VSV ký sinh trong tế bào.
- Mẫn cảm do tiếp xúc.
- Các phản ứng của cơ thể chống ung thư và loại trừ mảnh ghép.
- Một số bệnh tự miễn.

7.1. Lympho T

Là tế bào phụ trách đáp ứng miễn dịch tế bào, có nguồn gốc từ tuỷ xương di chuyển đến tuyến ức để chín và biệt hoá.

7.2. Chức năng của lympho T

- Nhận biết kháng nguyên do lympho T có CD4 và CD8 phụ trách.
- Điều hoà, kiểm soát mức độ đáp ứng miễn dịch do TH và T_s phụ trách.
- Loại trừ kháng nguyên do T_c, T_{DTH} và các tế bào “diệt” phụ trách.
- Ghi nhớ miễn dịch.

7.2.1. Chức năng nhận biết kháng nguyên

Lympho T nhận biết kháng nguyên cho toàn hệ miễn dịch, còn lympho B chỉ nhận biết kháng nguyên cho đáp ứng miễn dịch dịch thể.

7.2.1.1. Vai trò của CD4 và CD8

a) Với kháng nguyên ngoại bào

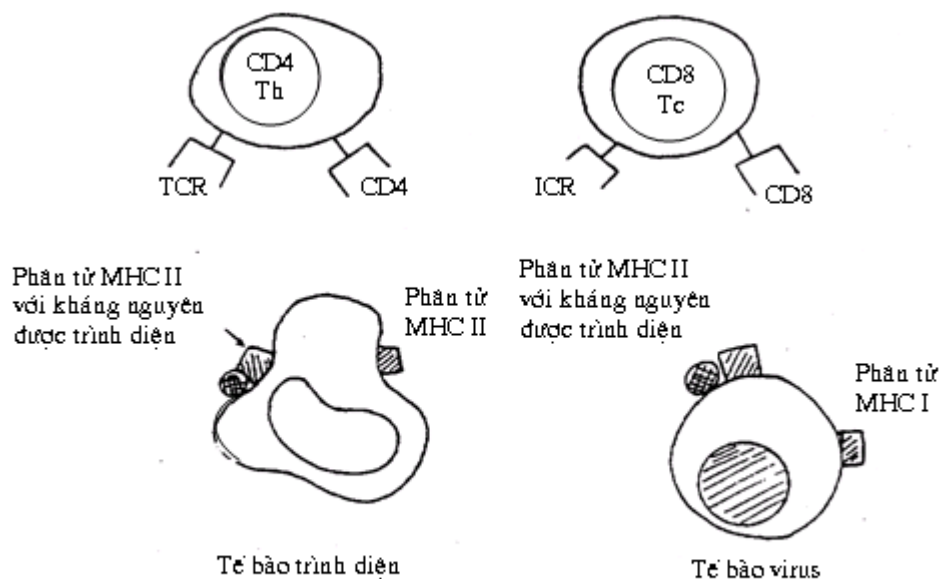
Kháng nguyên ngoại lai xâm nhập vào cơ thể được đại thực bào bắt giữ, xử lý và trình diện lên bề mặt nhờ phân tử MHC lớp II.

Phân tử CD4 của lympho bào T có thể gắn kết đặc hiệu với phân tử MHC lớp II, giúp lympho T tiếp cận với kháng nguyên.

b) Với kháng nguyên nội bào

Kháng nguyên lạ (protein của virus hay của tế bào ung thư) được trình diện lên trên bề mặt tế bào đích (tế bào mang kháng nguyên nội bào) nhờ phân tử MHC lớp I.

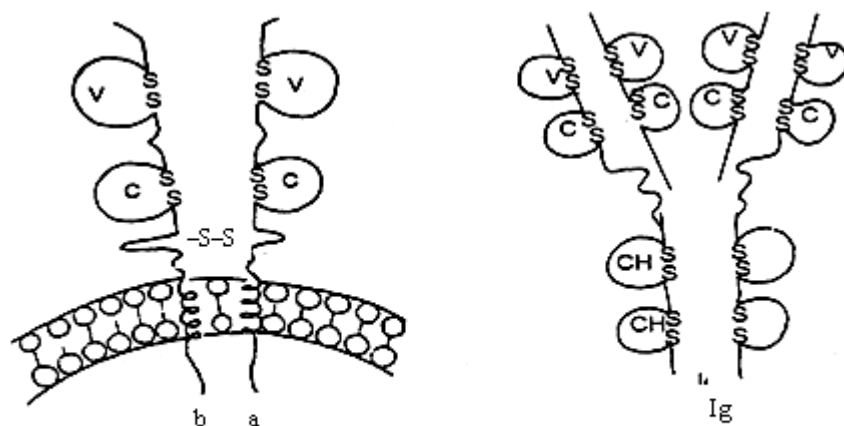
Phân tử CD8 của lympho bào T có thể gắn kết đặc hiệu với phân tử MHC lớp I, giúp lympho T tiếp cận với kháng nguyên.



Hình 7.22. Sơ đồ minh họa sự nhận biết kháng nguyên của lympho T

7.2.1.2. Vai trò của thụ thể TCR (Tcell receptor)

Phân tử CD4 và CD8 giúp lympho T tiếp cận đúng tế bào trình diện kháng nguyên bằng MHC lớp II hay MHC lớp I. Còn việc trực tiếp nhận diện kháng nguyên là do thụ thể TCR, nhờ việc gắn trực tiếp với kháng nguyên. Có rất nhiều quần thể lympho T mang đủ loại thụ thể TCR giúp nhận ra những kháng nguyên phù hợp.



Hình 7.23. Sơ đồ cấu trúc của TCR

TCR là một protein màng của các tế bào lympho T, về cấu trúc gồm 2 chuỗi polypeptid α và β gắn với nhau bằng những cầu nối disulfua.

TCR cũng có 2 vùng:

- Vùng biến đổi (V) nằm ở đầu amin của mỗi chuỗi và tạo nên vị trí kết hợp kháng nguyên, vùng này có trật tự acid amin biến đổi mạnh, tạo nên sự đa dạng của thụ thể TCR, và mỗi quần thể lympho T chỉ nhận ra một kháng nguyên phù hợp.

– Vùng hằng định (C): Vùng này có trật tự acid amin không đổi, giống nhau ở tất cả các TCR.

7.2.1.3. Vai trò của các phân tử kết dính

Các cặp liên kết phân tử MHC lớp II– CD4, MHC lớp I– CD8, TCR–KN, là những cặp kết dính quan trọng. Ngoài ra còn rất nhiều cặp kết dính khác như: trên bề mặt tế bào trình kháng nguyên có phân tử ICAM (Intercellular Adhere Molecule: phân tử kết dính liên tế bào), trên phân tử nhận biết kháng nguyên có các phân tử LFA–1 (Lympho Function Antigen: kháng nguyên chức năng của lympho bào) và các CD (Class – phân lớp, differentiation – biệt hoá, đây là các protein bề mặt tế bào lympho biểu thị sự biệt hoá của các phân lớp) làm nhiệm vụ kết dính.

Vai trò của các phân tử kết dính: Liên kết chặt tế bào trình kháng nguyên và tế bào nhận biết kháng nguyên, giúp cho sự nhận biết kháng nguyên hiệu quả hơn, giúp hoạt hoá và kích thích lympho T tiết các hoạt chất (lymphokine).

7.2.1.4. Vai trò của các cytokin

Cytokine là các hoạt chất do tế bào miễn dịch tiết ra khi tiếp xúc với kháng nguyên đặc hiệu, có ảnh hưởng tới hoạt động của các tế bào khác (cyto: tế bào, kinin: hoạt chất).

Các hoạt chất do bạch cầu tiết ra gọi là leukin, do các tế bào lympho tiết gọi là lymphokine.

Các hoạt chất quan trọng trong tương tác giữa các tế bào được quy định tên gọi quốc tế là interleukin– IL. Hiện tìm được từ IL–1, IL–2,..., IL–10.

Trong quá trình nhận biết kháng nguyên của lympho T có CD4 và CD8, không thể thiếu vai trò của các interleukin.

Với T_H , các cặp kết dính CD4–MHC lớp II, TCR – kháng nguyên là tín hiệu thứ nhất, còn hiện tượng đại thực bào tiết IL–1 tác động lên T_H là tín hiệu thứ hai cần và đủ cho T_H nhận diện kháng nguyên và hoạt hoá.

Với T_C , các cặp kết dính CD8–MHC lớp I, TCR – kháng nguyên là tín hiệu thứ nhất, còn tín hiệu thứ hai cần và đủ tác động lên T_C là IL–2, giúp T_C nhận diện kháng nguyên và hoạt hoá.

7.2.2. Chức năng loại trừ kháng nguyên

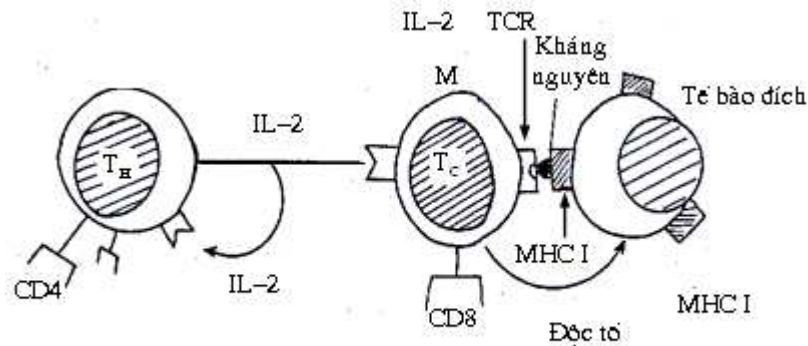
7.2.2.1. Vai trò của lympho T_{DTH}

T_{DTH} là phân nhánh của lympho T có CD4.

T_{DTH} có khả năng nhận diện kháng nguyên ngoại lai do MHC lớp II của đại thực bào trình diện, đây là tín hiệu thứ nhất, tín hiệu thứ hai cần và đủ là sự kích thích của IL–2 giúp T_{DTH} hoạt hoá và phân chia để tăng sinh với mật độ cao ở vùng kháng nguyên xâm nhập. Các tế bào T_{DTH} hoạt hoá có khả năng tiết ra các lymphokine thu hút đại thực bào, bạch cầu trung tính tới tạo ổ viêm nhằm tiêu diệt kháng nguyên. Ổ viêm do T_{DTH} hình thành muộn sau 48 – 72 giờ, do đó T_{DTH} được gọi là lympho gây quá mẫn muộn.

7.2.2.2. Vai trò của T_C

Sau khi được hoạt hoá bởi 2 tín hiệu, tiền lympho T_C được biệt hoá thành T_C hoạt động có khả năng diệt các tế bào mang kháng nguyên nội sinh, các tế bào ghép dị gen bằng việc tiết các lymphotoxin gây độc tế bào. Đặc điểm của cơ chế gây độc trực tiếp này là T_C tiếp xúc trực tiếp và gắn chặt vào tế bào, tiết chất độc phá huỷ các thành phần bên trong tế bào trước khi màng tế bào bị vỡ ra.



Hình 7.24. Hoạt hoá T_c do kháng nguyên virus

7.2.2.3. Tế bào NK (Natural killer: tế bào diệt tự nhiên)

Trên bề mặt tế bào NK có thụ thể với interferon và IL-2, đây là chất gây hoạt hoá NK, giúp nó hoạt hoá tiết chất độc phá huỷ tế bào đích.

7.2.2.4. Tế bào lympho B

Đáp ứng miễn dịch dịch thể do tế bào lympho B phụ trách đối với kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức (đa số kháng nguyên trong cuộc sống thuộc loại này), phải được sự hỗ trợ của T_H .

Tế bào T_H sau khi nhận diện kháng nguyên sẽ tiết IL-2 để tự hoạt hoá, chức năng chi phối miễn dịch dịch thể của T_H là việc tiếp tục tiết IL-4 là yếu tố sinh trưởng giúp một quần thể tế bào B tăng sinh, tiếp đó T_H tiết IL-6 hỗ trợ quần thể tế bào B này biệt hoá, chín, trở thành tương bào sản xuất kháng thể đặc hiệu.

7.2.3. Chức năng điều hoà, kiểm soát miễn dịch

7.2.3.1. Chức năng điều hoà miễn dịch của T_H

T_H chi phối các hoạt động của các tế bào miễn dịch nhờ việc tiết IL-2, IL-4, IL-6, giúp cho sự sinh sản và hoạt hoá các tế bào hiệu ứng đủ mức để loại trừ kháng nguyên.

7.2.3.2. Chức năng kiểm soát miễn dịch của T_S

T_S là phân nhóm của lympho T có CD8, nó có vai trò ức chế phản ứng loại trừ kháng nguyên do T_H phát động nếu nó quá mạnh.

7.2.4. Ghi nhớ miễn dịch

7.3. Quá trình hình thành CMI

Quá trình hình thành miễn dịch qua trung gian tế bào bao giờ cũng có sự tương tác giữa quần thể tế bào lympho và đại thực bào.

7.3.1. Đại thực bào trình diện kháng nguyên cho lympho T

Kháng nguyên xâm nhập vào cơ thể (kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức) được đại thực bào ăn, xử lý và trình diện nhóm quyết định kháng nguyên ra bề mặt nhờ MHC lớp II.

7.3.2. Mẫn cảm để gây hoạt hoá lympho T

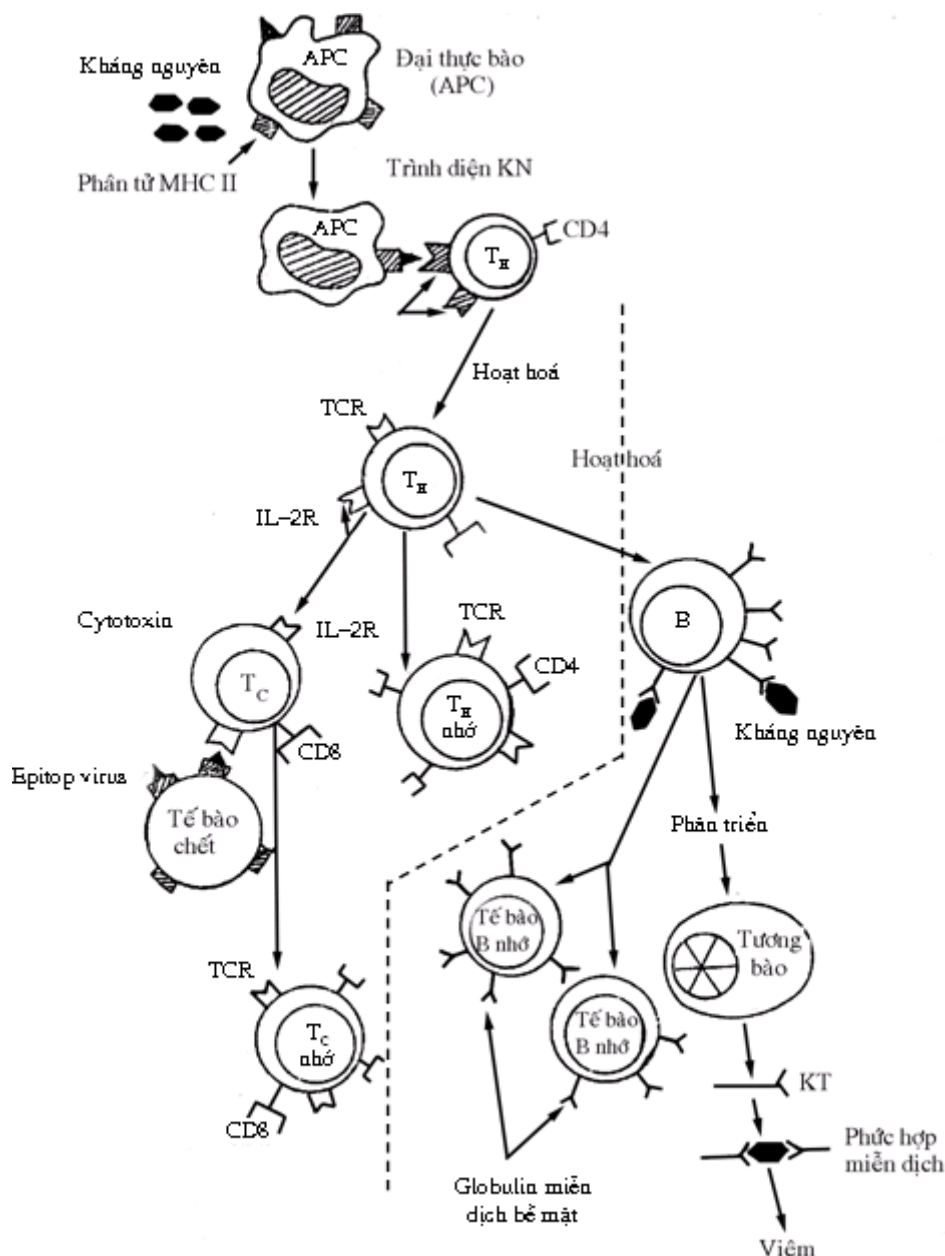
7.3.2.1. Mẫn cảm lần đầu (viêm không đặc hiệu)

Đại thực bào theo đường bạch huyết tới hạch gần nhất, các lympho T ở vùng vỏ tăng sinh mạnh mẽ làm hạch sưng to lên. Trên bề mặt các tế bào T hình thành những receptor đặc hiệu với đại thực bào để nhận diện kháng nguyên. Sau khoảng 6 ngày, những tế bào T này đã được mẫn cảm sẽ rời hạch ban đầu đi tới các hạch khác, tới lách để gây mẫn cảm cho những tế bào T khác, đồng thời, tạo ra dòng tế bào T nhớ cho đáp ứng miễn dịch thứ phát khi kháng nguyên xâm nhập lần sau. Như vậy, một quần thể tế bào T trong hạch, lách, tuần hoàn đã được mẫn cảm sẵn sàng nhận diện kháng nguyên lạ và tiêu diệt

chúng.

7.3.2.2. Mẫn cảm lần sau (viêm đặc hiệu)

Nếu kháng nguyên gây mẫn cảm lần đầu vào lại lần sau, thì chỉ cần một lượng nhỏ, sau khoảng 6 – 8 giờ phản ứng viêm đã hình thành và đạt tối đa sau khoảng 48 – 72 giờ.



Hình 7.25. Vai trò trung tâm của T_H trong đáp ứng miễn dịch

7.4. Một số hiện tượng CMI

7.4.1. Hiện tượng Koch

Robert Koch là nhà bác học Đức, là người đầu tiên tiêm vi khuẩn lao vào dưới da chuột lang bình thường. Sau 10 – 14 ngày, tại chỗ tiêm xuất hiện một cục rắn, sau vỡ ra tạo một ổ loét không lành được và chuột chết. Nhưng nếu tiêm vi khuẩn lao cho chuột lang đã bị nhiễm lao trước đó, thì sau 2 ngày xuất hiện ổ viêm cứng có thâm nhiễm đại thực bào và lympho bào, ổ viêm bong da tạo ổ loét nông và chóng lành, chuột không chết.

Thí nghiệm của Koch cho thấy ở chuột lang đã nhiễm lao có đáp ứng miễn dịch chống vi khuẩn. Đáp ứng này giúp cơ thể chuột khu trú vi khuẩn, không cho lan toả và tiêu diệt chúng.

7.4.2. Hiện tượng bong mảnh ghép

Lấy mảnh da của chuột A ghép cho chuột B (cùng loài nhưng không thuần chủng) trong điều kiện vô trùng. Trong vài ngày đầu mảnh da vẫn hồng hào bình thường, từ ngày thứ 3 đến thứ 9 thì có biểu hiện mảnh da tím đi, hoại tử xuất hiện và lan rộng, rồi da khô và bong ra, để lộ chỗ ghép bị viêm tấy. Đó là hiện tượng bong mảnh ghép. Tiếp đó lại lấy da chuột A ghép cho chuột B thì mảnh ghép lần sau ngày càng bong nhanh hơn.

7.5. Các biện pháp đánh giá CMI

– Test trong da:

Đưa một lượng nhỏ và thích hợp kháng nguyên đặc hiệu vào trong da, nếu cơ thể đã có đáp ứng miễn dịch tế bào thì tại nơi tiêm diễn ra sự tương tác giữa kháng nguyên và các lympho T mẫn cảm dẫn đến sự hình thành các lymphokine thu hút, hoạt hoá đại thực bào, tạo một phản ứng viêm sau 48 – 72 giờ, gọi là quá mẫn muộn.

Một số test trong da thuộc loại quá mẫn muộn để phát hiện miễn dịch tế bào như: test Mantoux dùng kháng nguyên tuberculin, đánh giá miễn dịch chống lao. Test Mitsuda dùng kháng nguyên lepromin đánh giá miễn dịch chống vi khuẩn phong,...

– Xác định số lượng, tỷ lệ lympho T trong máu.

8. MIỄN DỊCH CHỐNG NHIỄM VI SINH VẬT

Trong cuộc sống, con người luôn phải tiếp xúc với nhiều căn nguyên gây bệnh là các VSV. Để tự bảo vệ, cơ thể đã sử dụng các hình thức đáp ứng miễn dịch tự nhiên và miễn dịch đặc hiệu. Để tồn tại và phát triển, các VSV cũng sử dụng nhiều hình thức né tránh miễn dịch.

8.1. Miễn dịch chống vi khuẩn

8.1.1. Miễn dịch chống vi khuẩn ngoại bào

Vi khuẩn ngoại bào sống và nhân lên bên ngoài tế bào chủ, gây bệnh bằng độc tố và tạo ra phản ứng viêm dẫn đến huỷ hoại tổ chức.

Đáp ứng miễn dịch của cơ thể là trung hoà độc tố, loại trừ vi khuẩn.

8.1.1.1. Cơ chế bảo vệ tự nhiên chống vi khuẩn ngoại bào

a) Thực bào

Hiện tượng thực bào được thực hiện bởi bạch cầu trung tính, đại thực bào tổ chức, monocyte. Khả năng thực bào bị giảm sút khi độc lực của vi khuẩn mạnh.

b) Hoạt hoá bổ thể

Nội độc tố của vi khuẩn Gram(–) là một tác nhân gây hoạt hoá bổ thể theo con đường nhánh, kết quả tạo được C3b gây opsonin hoá giúp tăng cường thực bào, tạo phức hợp tấn công màng gây tan bào, các sản phẩm hoạt hoá bổ thể như C3a, C5a làm tăng cường phản ứng viêm nhằm loại trừ vi khuẩn.

c) Giải phóng cytokin

Nội độc tố của vi khuẩn Gram(–) có khả năng kích thích đại thực bào, các tế bào nội mạc mạch sản xuất cytokin và các chất gây viêm để hoạt hoá các tế bào miễn dịch, giúp bạch cầu bám dính, xuyên mạch làm nhiệm vụ thực bào.

8.1.1.2. Cơ chế bảo vệ đặc hiệu

– Miễn dịch thể là đáp ứng bảo vệ chính chống vi khuẩn ngoại bào:

+ Kháng nguyên không phụ thuộc tuyến ức trực tiếp kích thích lympho B hoạt hoá để sản xuất kháng thể đặc hiệu.

+ Kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức được đại thực bào bắt giữ, xử lý, và trình diện cùng phân tử MHC– II cho tế bào TCD4+, các tế bào này sẽ hoạt hoá và tiết lymphokine, giúp lympho B sản xuất

kháng thể đặc hiệu.

– Vai trò của kháng thể:

+ Trung hoà độc tố làm mất tính độc, ngăn không cho độc tố bám vào tế bào.

+ IgA tiết ngăn cản vi khuẩn bám vào niêm mạc ngăn không cho chúng xâm nhập cơ thể.

+ Tăng cường thực bào nhờ opsonin hoá: các kháng thể gắn đặc hiệu với kháng nguyên tại phần Fab, còn phần Fc gắn thụ thể của C3b hoặc với thụ thể trên bề mặt đại thực bào. Nhờ opsonin hoá mà vi khuẩn nhanh chóng bị tiêu diệt và đào thải.

8.1.1.3. Sự né tránh đáp ứng miễn dịch của vi khuẩn ngoại bào

– Thay đổi các protein bề mặt có khả năng bám chắc vào bề mặt tế bào để tiếp cận và xâm nhập sâu.

– Các vi khuẩn tạo vỏ bọc chống thực bào, ức chế hoạt hoá bổ thể.

– Ngoại độc tố gây độc các tế bào thực bào.

– Biến đổi kháng nguyên bề mặt tạo kháng nguyên mới làm mất hiệu lực miễn dịch đã có.

8.1.2. Miễn dịch chống vi khuẩn nội bào

Vi khuẩn nội bào sống và nhân lên trong tế bào chủ, ví dụ như trực khuẩn lao, phong,... Các kháng thể dịch thể lưu thông không tiếp cận được, do đó các cơ chế đáp ứng miễn dịch chống vi khuẩn nội bào khác với cơ chế chống vi khuẩn ngoại bào.

8.1.2.1. Cơ chế bảo vệ tự nhiên

Thực bào là hình thức bảo vệ tự nhiên chủ yếu, nhưng nhiều trường hợp vi khuẩn khi bị tế bào thực bào nuốt nhưng không bị tiêu diệt mà vẫn sống và tăng sinh ngay trong các tế bào này.

8.1.2.2. Cơ chế bảo vệ đặc hiệu

Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào là hình thức bảo vệ chính. Đại thực bào bắt, nuốt vi khuẩn không tiêu diệt được chúng nhưng vẫn trình diện được quyết định kháng nguyên của vi khuẩn cho các tế bào lympho TCD4. Các tế bào lympho này sẽ tăng cường sản xuất lymphokin kích thích đại thực bào tiêu diệt vi khuẩn.

Nhiễm khuẩn nội bào là vấn đề phức tạp, ngoài tính kháng nguyên, đường vào của vi khuẩn, còn có khả năng đề kháng, tính phản ứng của cơ thể là vấn đề cần được nghiên cứu thêm.

8.1.2.3. Sự né tránh đáp ứng miễn dịch

Vi khuẩn nội bào lẩn tránh đáp ứng miễn dịch của cơ thể bằng biện pháp chống lại hiện tượng thực bào, ví dụ, trực khuẩn lao sau khi bị đại thực bào bắt, nuốt vào phagosome thì chúng đã phản ứng bằng cách:

– Ức chế hoà nhập của phagosome và lysosome.

– Kháng lại các enzym tiêu trong phagolysosome.

– Đục thủng màng phagosome thoát vào bào tương trước khi có sự hoà nhập của phagosome và lysosome.

8.2. Miễn dịch chống virus

Virus là loại VSV sống nội bào, chúng sử dụng bộ máy của tế bào sản xuất ra các protein lạ gây đáp ứng miễn dịch dẫn đến tổn thương tế bào, hoặc gây chuyển biến tế bào chủ thành tế bào ác tính. Trước sự tấn công như vậy, cơ thể đã tự bảo vệ bằng các cơ chế sau:

8.2.1. Cơ chế bảo vệ không đặc hiệu

– Tăng sản xuất interferon từ tế bào nhiễm, chất này ức chế sự nhân lên của virus và hạn chế sự xâm nhập của virus vào các tế bào lân cận.

– Tế bào NK tăng hoạt động diệt tế bào nhiễm virus.

– Ngoài ra các tế bào thực bào, bổ thể cũng tham gia vào hoạt động nhằm tiêu diệt virus.

8.2.2. Cơ chế bảo vệ đặc hiệu

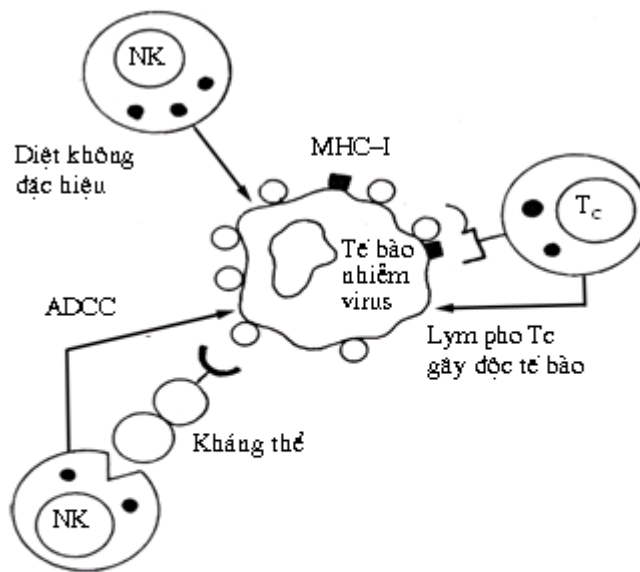
Miễn dịch đặc hiệu chống virus bao gồm cả miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào.

Kháng thể dịch thể đặc hiệu có vai trò quan trọng trong giai đoạn sớm khi virus chưa xâm nhập vào tế bào. Các IgA tiết ngăn cản các virus tấn công theo đường niêm mạc, các IgM và sau đó là IgG ngăn cản virus bám dính vào bề mặt tế bào chủ.

Khi có kháng thể dịch thể, tế bào NK được tăng cường hoạt động phụ thuộc kháng thể nhằm diệt tế bào nhiễm virus (hiện tượng ADCC).

Kháng thể dịch thể có vai trò quan trọng trong giai đoạn ban đầu, nhưng không thể loại trừ được virus khi nó đã xâm nhập vào tế bào. Vậy, cơ chế chính của miễn dịch đặc hiệu chống virus là miễn dịch tế bào với vai trò của T độc, tức T_C .

Các tế bào T độc mang $CD8^+$ nhận biết kháng nguyên virus trong sự kết hợp với phân tử MHC-I. T độc được hoạt hoá sẽ kích thích các enzym, các cytokin hoạt động hạn chế sự xâm nhập, ly giải tế bào nhiễm, tiêu diệt virus.



Hình 7.26. Đáp ứng miễn dịch chống virus

- Cơ chế không đặc hiệu: tế bào NK gây độc không có kháng thể.
- Cơ chế đặc hiệu: + tế bào NK gây độc có kháng thể.
+ diệt virus do T_C .

Miễn dịch đặc hiệu chống virus là vấn đề rất phức tạp hiện nay vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu. Bên cạnh tác dụng bảo vệ tích cực, trong một số trường hợp, đáp ứng miễn dịch lại gây tổn thương cơ thể do tạo thành phức hợp miễn dịch lắng đọng trên bề mặt mô, hoặc do ly giải mạnh các tế bào nhiễm dẫn đến hoại tử mô...

8.2.3. Sự né tránh đáp ứng miễn dịch của virus

- Thay đổi kháng nguyên bề mặt như virus cúm, nhờ vậy mà chúng né tránh được kháng thể đặc hiệu đã hình thành, do đó làm mất tác dụng của kháng thể.

- Làm tổn thương các tế bào có thẩm quyền miễn dịch như HIV tấn công tế bào $CD4^+$, là tế bào quan trọng của hệ miễn dịch với chức năng nhận biết kháng nguyên lạ, hoạt hoá các tế bào miễn dịch khác.

9. VACCIN VÀ HUYẾT THANH MIỄN DỊCH

9.1. Vaccin

9.1.1. Nguyên lý

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

Cơ thể có được miễn dịch sau khi dùng vaccin 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.

9.1.2. Phân loại vaccin

9.1.2.1. Theo nguồn gốc

– Vaccin VSV chết: Nuôi cấy VSV 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 VSV nhưng vẫn còn tính kháng nguyên, ví dụ: vaccin phòng bệnh tả.

– Vaccin VSV sống là những VSV đã được làm mất độc lực nhưng vẫn còn tính kháng nguyên. Có thể nuôi cấy VSV 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 để có vaccin phòng bệnh đậu mùa. Các vaccin VSV sống phải được đảm bảo thuần khiết về mặt di truyền, nghĩa là những VSV đó không bao giờ có thể trở lại dạng gây bệnh ban đầu.

Ví dụ: vaccin BCG phòng lao, vaccin Sabin phòng bại liệt.

9.1.2.2. Theo thành phần vi sinh vật

– Vaccin giải độc tố là vaccin được sản xuất từ ngoại độc tố của VSV được làm mất độc lực bằng các nhân tố lý học, hoá học nhưng vẫn giữ được tính kháng nguyên.

Ví dụ: vaccin giải độc tố bạch hầu, uốn ván.

– Vaccin vỏ polysaccharid:

Ví dụ: vaccin phế cầu, haemophilus influenza typ b.

– Vaccin kháng nguyên bề mặt:

– Vaccin viêm gan B sản xuất từ huyết tương.

– Vaccin ADN tái tổ hợp:

– Vaccin viêm gan B sản xuất từ nấm men.

9.1.2.3. Theo hiệu lực miễn dịch

– Vaccin đơn giá: Vaccin được sản xuất từ một chủng VSV, do đó chỉ có tác dụng phòng ngừa một bệnh.

Ví dụ: vaccin phòng bệnh lao, bại liệt.

– Vaccin đa giá: vaccin gồm nhiều loại kháng nguyên cùng một lúc được đưa vào cơ thể để phòng nhiều bệnh với điều kiện các kháng nguyên này không ức chế lẫn nhau.

Ví dụ: vaccin bạch hầu, uốn ván, ho gà.

9.1.3. Nguyên tắc sử dụng vaccin

9.1.3.1. Phạm vi tiêm chủng rộng, đạt tỷ lệ cao

– 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.

– 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.

9.1.3.2. Đối tượng dùng vaccin

Những người có điều kiện tiếp xúc với VSV 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 VSV 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.

9.1.3.3. Điều kiện sức khỏe

Để đảm bảo vaccin có đủ điều kiện gây được miễn dịch, nói chung nên dùng cho những người khỏe 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 vẫn dùng được 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 VSV sống giảm độc lực không được dùng cho những người suy giảm miễn dịch, người đang dùng thuốc gây suy giảm miễn dịch, những người mắc bệnh ác tính hoặc phụ nữ có thai.

9.1.3.4. 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 2 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 1 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 2 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, ví 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.

9.1.3.5. *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).

9.1.3.6. Đường dùng vaccin

– *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 0,5ml.

– *Tiêm trong da*: Phương pháp tiêm trong da chỉ cần một lượng vaccin nhỏ (0,1ml), 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 bị 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*: 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.

9.1.3.7. 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 trùng 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.

9.1.3.8. 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 và 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.

9.1.4. Lịch tiêm chủng

Căn cứ vào đặc điểm dịch tễ học của các bệnh truyền nhiễm, tuổi tốt nhất cho việc tiêm chủng, thời gian nguy cơ mắc bệnh, sự đáp ứng miễn dịch của các đối tượng được tiêm chủng, khả năng cung cấp vaccin để làm cơ sở xây dựng lịch tiêm chủng (bảng 7.1).

Bảng 7.1. Lịch tiêm chủng

Tháng tuổi	Vaccin	Mũi tiêm
* Sơ sinh hoặc bất kỳ lúc nào sau đó.	– BCG (phòng lao). – Viêm gan B.	1 mũi, tiêm trong da. Mũi 1, tiêm bắp.
* 2 tháng	– Bại liệt. – Bạch hầu, ho gà, uốn ván. – Viêm gan B.	Lần 1, uống. Mũi 1, tiêm bắp. Mũi 2, tiêm bắp.
* 3 tháng	– Bại liệt. – Bạch hầu, ho gà, uốn ván. – Bại liệt.	Lần 2, uống. Mũi 2, tiêm bắp.
* 4 tháng	– Bạch hầu, ho gà, uốn ván. – Viêm gan B.	Lần 3, uống. Mũi 3, tiêm bắp.
* 9 tháng	– Sởi.	Mũi 1, tiêm dưới da. Nhắc lại mũi 2 trong chiến dịch tiêm chủng.
* 1 – 5 tuổi	– Viêm não Nhật Bản B.	– Mũi 1, tiêm bắp. – Mũi 2 tiêm sau 1 – 2 tuần. – Mũi 3 tiêm sau mũi 2 một năm.
* 2 – 5 tuổi	– Tả (Dùng cho vùng nguy cơ).	– 2 lần uống cách nhau 2 tuần.
* 3 – 5 tuổi	– Thương hàn (Chỉ tiêm chủng vùng nguy cơ)	– 1 mũi tiêm.

9.2. Huyết thanh miễn dịch

9.2.1. 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.

9.2.2. Nguyên tắc sử dụng

9.2.2.1. Đối tượng

Huyết thanh được dùng để điều trị và phòng bệnh cho những bệnh nhân đã nhiễm VSV 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.

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

9.2.2.2. Liều lượng

Tuỳ theo từng lứa tuổi và mức độ của bệnh mà sử dụng liều khác nhau, 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 1 lần.

9.2.2.3. 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.

9.2.2.4. Đề 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 ngứa đỏ thì có thể tiêm huyết thanh. Nếu có ngứa đỏ tại nơi tiêm thì không nên tiêm. Trong trường hợp 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 lý kịp thời nếu có phản ứng xảy ra.

9.2.3. Các phản ứng phụ khi dùng huyết thanh

9.2.3.1. Tại chỗ

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

9.2.3.2. 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.

10. CÁC PHẢN ỨNG MIỄN DỊCH TRONG CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

10.1. Mục đích

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

10.1.1. Phát hiện kháng nguyên

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

Kỹ thuật này có thể dùng kháng thể mẫu để phát hiện trực tiếp kháng nguyên của VSV 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 VSV, tìm hiểu về cấu trúc kháng nguyên VSV khi cho kết hợp với kháng huyết thanh mẫu.

10.1.2. 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 VSV gây bệnh. Dùng các kháng nguyên mẫu đã biết trước cho kết hợp với huyết thanh bệnh nhân để phát hiện kháng thể, 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 VSV, ví dụ: Khi dùng thử nghiệm một loại vaccin nào đó, phải đánh giá hiệu lực đáp ứng miễn dịch bằng cách xác định hiệu giá kháng thể.

Dù là 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.

10.2. 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.

10.3. Các phản ứng kết hợp kháng nguyên, kháng thể

10.3.1. 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.

10.3.1.1. 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 loại phản ứng kết tủa:

+ Phản ứng kết tủa 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

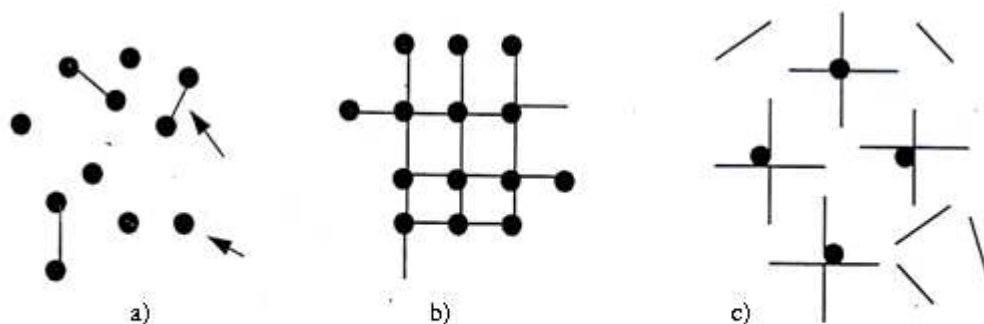
hoà nhiều loại kháng thể và dung dịch kháng nguyên có nhiều loại thì trong thạch sẽ xuất hiện nhiều đường tua.

10.3.1.2. 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 (ngưng kết tố) 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.



Hình 7.27. Mạng lưới ngưng kết chỉ hình thành khi kháng nguyên và kháng thể có nồng độ tương đương nhau

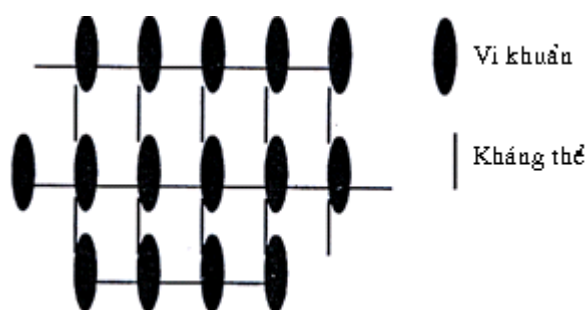
a) KN quá nhiều; b) KN – KT tương đương; c) KT quá nhiều.

– Các loại phản ứng ngưng kết:

- + 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.

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

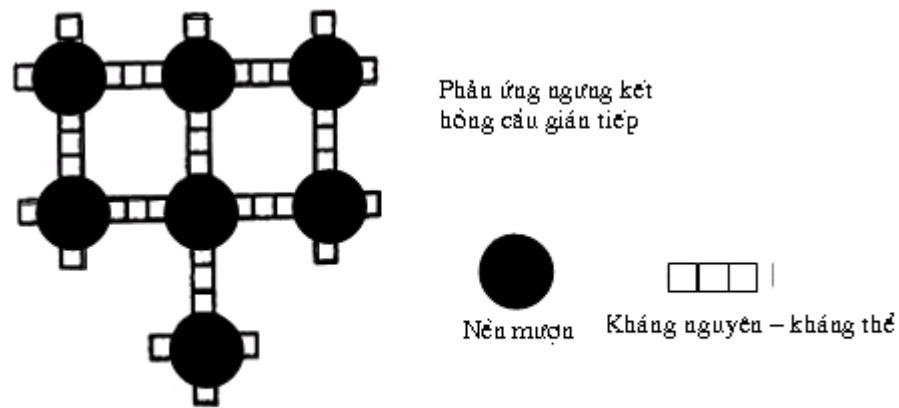


Hình 7.28. Phản ứng ngưng kết trực tiếp giữa vi khuẩn và KT đặc hiệu

- + 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 murex (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 murex 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.



Hình 7.29. Phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp

10.3.2. Phản ứng dựa vào hoạt động sinh học của kháng thể

Có 2 loại phản ứng thường được sử dụng trong chẩn đoán VSV là phản ứng trung hoà và phản ứng kết hợp bổ thể.

10.3.2.1. 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 loại phản ứng trung hoà: Có nhiều phản ứng trung hoà được tiến hành trên ống nghiệm (invitro) hoặc trên súc vật (invivo) để chẩn đoán các bệnh do vi khuẩn, virus, 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.

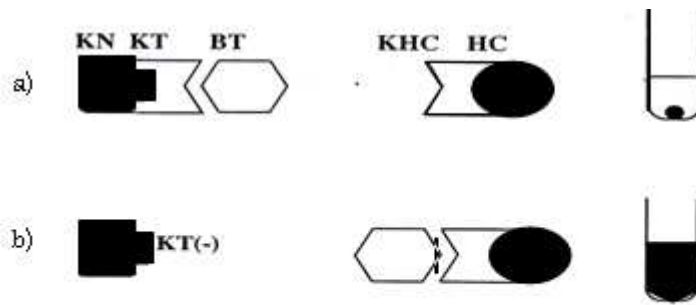
Virus + kháng thể đặc hiệu + tế bào → Tế bào không bị hoại tử.

+ 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, người 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 được xác định là bạch hầu.

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

Nguyên lý: Kháng thể đặc hiệu với sự tham gia của bổ thể sẽ gây ly giải tế bào vi khuẩn hoặc một số tế bào động vật. Phản ứng kết hợp bổ thể thường được dùng nhiều trong chẩn đoán.



Hình 7.30. Phản ứng kết hợp bổ thể

a) Trong huyết thanh có kháng thể; b) Trong huyết thanh không có kháng thể.

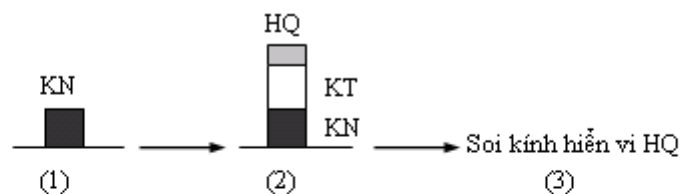
10.3.3. Phản ứng dùng kháng nguyên hoặc kháng thể đánh dấu

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.

10.3.3.1. 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.

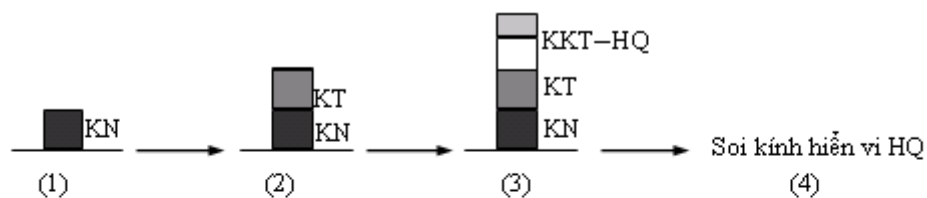
- Phản ứng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp: Phương pháp này dùng kháng thể gắn huỳnh quang để phát hiện kháng nguyên. Bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang trực tiếp có thể phát hiện nhanh kháng nguyên VSV trong bệnh phẩm và thường được dùng trong chẩn đoán virus.



Hình 7.31. Phản ứng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp

1. Cố định dịch bệnh phẩm chứa kháng nguyên cần xét nghiệm lên tiêu bản
2. Phủ kháng thể gắn huỳnh quang lên vùng đã cố định kháng nguyên.
Nếu kháng nguyên và kháng thể là đặc hiệu thì sẽ gắn chặt.
3. Đọc kết quả bằng kính hiển vi huỳnh quang: kháng nguyên gắn đặc hiệu với kháng thể sẽ phát sáng khi quan sát

- Phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp: Phương pháp này dùng kháng nguyên mẫu và kháng thể (KKT) gắn huỳnh quang để phát hiện kháng thể.



Hình 7.32. Phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp

1. Cố định kháng nguyên mẫu cần lên tiêu bản.
2. Phủ kháng thể cần xét nghiệm trong huyết thanh bệnh nhân lên vùng đã cố định kháng nguyên. Nếu kháng nguyên và kháng thể là đặc hiệu thì sẽ gắn chặt. Rửa loại bỏ kháng thể không gắn.
3. Phủ tiếp kháng thể gắn huỳnh quang lên tiêu bản. Kháng thể sẽ gắn đặc hiệu với kháng thể ở bước 2.
4. Đọc kết quả bằng kính hiển vi huỳnh quang: kháng nguyên gắn đặc hiệu với kháng thể sẽ phát sáng khi quan sát.

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

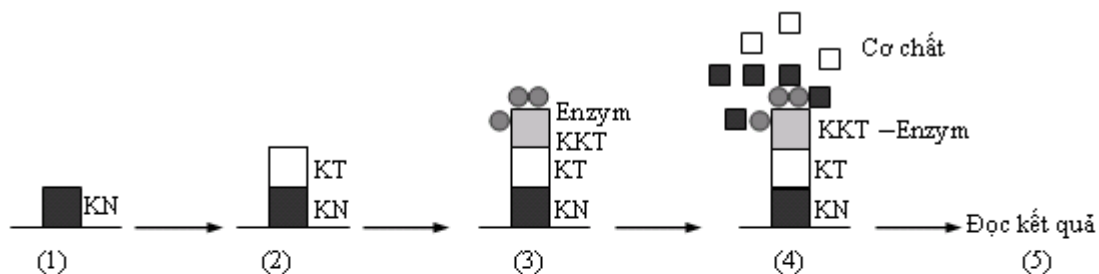
Trong phản ứng miễn dịch phóng xạ, chất đánh dấu là chất đồng vị phóng xạ, phức hợp kháng nguyên – kháng thể được phát hiện nhờ chất đồng vị phóng xạ. Phát hiện nơi xảy ra phản ứng kết hợp kháng nguyên – kháng thể nhờ hiện tượng phát xạ.

10.3.3.3. Phản ứng miễn dịch men ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

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

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

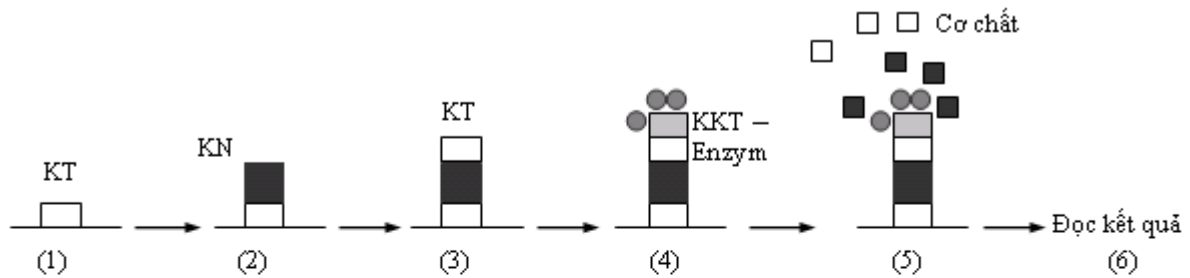
- Kỹ thuật dùng kháng kháng thể (KKT) gắn enzyme để phát hiện kháng thể



Hình 7.33. Kỹ thuật ELISA phát hiện KT

1. Gắn kháng nguyên mẫu vào thành giếng của bản nhựa phản ứng.
2. Cho tiếp dịch huyết thanh bệnh nhân chứa kháng thể cần xét nghiệm. Nếu kháng nguyên và kháng thể là đặc hiệu thì sẽ gắn chặt.
3. Rửa, cho tiếp cộng hợp kháng thể gắn enzyme vào giếng. Kháng thể sẽ gắn với kháng thể ở bước 2.
4. Rửa, cho tiếp cơ chất phù hợp với enzyme vào giếng phản ứng. Enzyme thủy phân cơ chất làm thay đổi màu của dung dịch.
5. Đọc kết quả. Sự thay đổi màu có thể nhìn bằng mắt thường hoặc đo bằng quang phổ kế.

- Kỹ thuật dùng kháng kháng thể (KKT) gắn enzyme để phát hiện kháng nguyên



Hình 7.34. Kỹ thuật ELISA phát hiện KN

1. Gắn kháng thể mẫu vào thành giếng của bản nhựa phản ứng.
2. Cho tiếp dịch bệnh phẩm chứa kháng nguyên cần xét nghiệm.
Nếu kháng nguyên và kháng thể là đặc hiệu thì sẽ gắn chặt.
3. Rửa, cho tiếp kháng thể mẫu vào giếng phản ứng.
4. Rửa, cho tiếp cộng hợp kháng kháng thể gắn enzym vào giếng.
Kháng kháng thể sẽ gắn với kháng thể ở bước 2.
5. Rửa, cho tiếp cơ chất phù hợp với enzym vào giếng phản ứng.
Enzym thủy phân cơ chất làm thay đổi màu của dung dịch.
6. Đọc kết quả. Sự thay đổi màu có thể nhìn bằng mắt thường hoặc đo bằng quang phổ kế.

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

10.4.1. 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 nhóm A.

10.4.2. 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.

10.5. 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, cần phải lấy bệnh phẩm 2 lần, lần thứ nhất vào tuần đầu của bệnh và lần thứ hai sau 7 – 10 ngày để tìm động lực kháng thể.

Động lực kháng thể là đại lượng đặc trưng cho mức độ thay đổi hiệu giá kháng thể theo thời gian. Động lực kháng thể là thương số giữa hiệu giá kháng thể của mẫu huyết thanh lần thứ hai và lần thứ nhất. Động lực kháng thể ít nhất phải bằng 4 thì mới có giá trị chẩn đoán bệnh nhân đang mắc bệnh nhiễm trùng.

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

11. TỔNG QUÁT VỀ QUÁ TRÌNH ĐIỀU HOÀ MIỄN DỊCH

Cũng như mọi quá trình sinh học, đáp ứng miễn dịch luôn được điều hoà để đảm bảo cân bằng hoạt động của hệ miễn dịch, giữ hằng định nội môi. Nếu sự đáp ứng chưa đủ lập tức được kích thích gia tăng, nếu đáp ứng quá mức sẽ bị kìm hãm để giảm bớt và khi không cần thiết sẽ ngưng hoạt

động. Sự điều hoà miễn dịch bao gồm cả việc không để hệ miễn dịch chống lại các kháng nguyên của bản thân nhằm tránh mắc các bệnh tự miễn.

Tìm hiểu quá trình điều hoà miễn dịch có lợi ích quan trọng trong việc điều trị các bệnh lý miễn dịch như suy giảm, quá mẫn, trong việc điều chế vaccin phòng bệnh có hiệu lực.

Tham gia kiểm soát và điều hoà miễn dịch là quá trình rất phức tạp với các yếu tố như: kháng nguyên, kháng thể, các cytokin, mạng lưới idiotyp – kháng idiotyp, sự hợp tác của các tế bào lympho, hệ thần kinh nội tiết. Dưới đây chúng tôi chỉ giới thiệu một mô hình tổng quát về hợp tác tế bào và điều hoà miễn dịch chống kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức.

Theo mô hình này (hình 7.35), các kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức khi xâm nhập sẽ bị đại thực bào bắt giữ, xử lý rồi trình diện quyết định kháng nguyên trên bề mặt cho tế bào T nhờ các phân tử MHC lớp II. Tế bào lympho T cảm ứng (inducer T cell- T_I) khởi đầu quá trình điều hoà bằng việc tiết yếu tố có tác dụng hoạt hoá đại thực bào (macrophage activating factor- MAF) làm đại thực bào hoạt hoá và tiết IL-1, chất này tác động trở lại lympho T_I , lúc này T_I đã nhận đủ 2 tín hiệu kích thích: một là quyết định kháng nguyên nằm trong phức hợp với MHC lớp II và hai là IL-1. T_I được hoạt hoá sẽ tăng sinh và tiết IL-2, chất này sẽ tác động lên các tế bào cùng đến nhận diện quyết định kháng nguyên trên bề mặt đại thực bào, đó là lympho T hỗ trợ, lympho T gây quá mẫn muộn. Các tế bào này sau khi nhận diện kháng nguyên sẽ xuất hiện thụ thể bề mặt tiếp nhận sự kích thích của IL-2, sau khi nhận đủ 2 tín hiệu chúng được hoạt hoá để phát huy tác dụng.

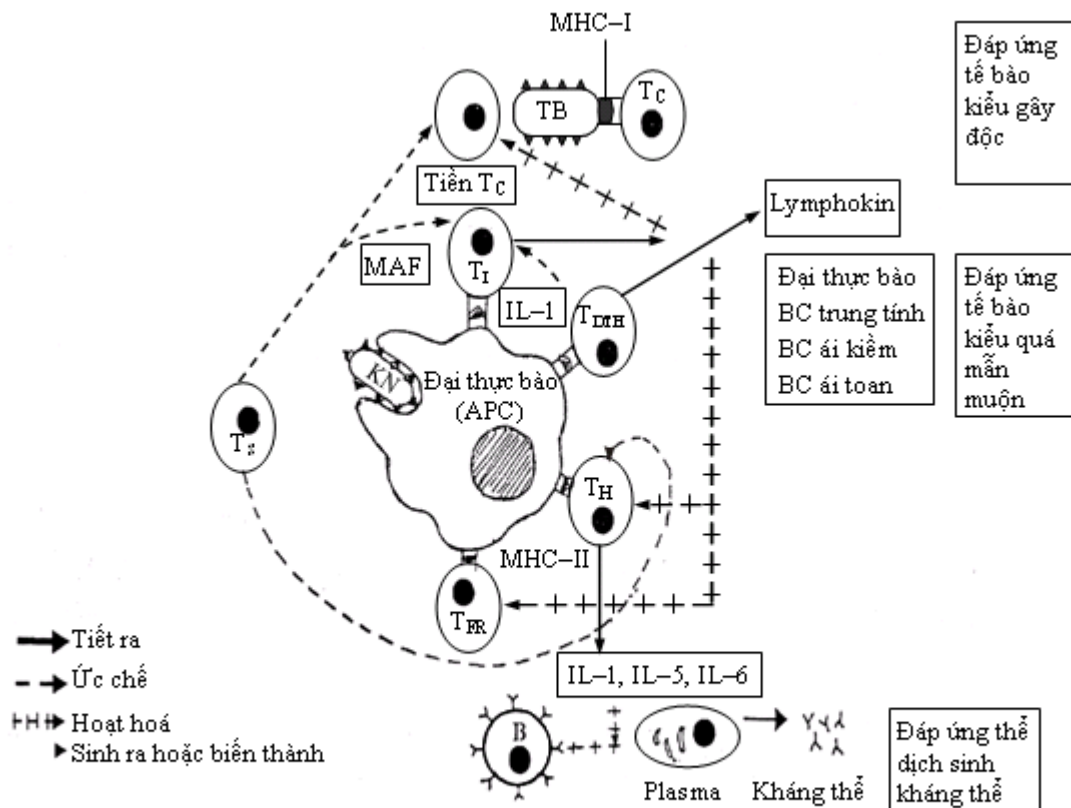
- Lympho T gây quá mẫn muộn (T_{DTH}) được hoạt hoá sẽ tăng sinh tiết các lymphokin tác động lên các bạch cầu hạt (bạch cầu trung tính, bạch cầu ái kiềm, bạch cầu ái toan) và đại thực bào thu hút chúng đến nơi có kháng nguyên, hình thành phản ứng viêm kiểu quá mẫn muộn nhằm loại trừ kháng nguyên.

- Lympho T hỗ trợ lympho B (T_H) khi nhận đủ 2 tín hiệu kích thích sẽ tăng sinh và tiết IL-4, IL-5, IL-6 thúc đẩy lympho B biệt hoá thành tế bào plasma sản xuất kháng thể.

- Tiên lympho T độc sau khi nhận diện kháng nguyên lạ trên bề mặt tế bào đích thì xuất hiện thụ thể để tiếp nhận tín hiệu từ IL-2. Sau khi nhận đủ 2 tín hiệu, tiên T độc sẽ biệt hoá thành lympho T độc (T_C) có khả năng gây độc trực tiếp tế bào đích.

- Trong mô hình này cho thấy đồng thời với các tế bào T_I , T_H , T_{DTH} , tế bào TFR cũng tương tác với đại thực bào để nhận diện kháng nguyên và hình thành thụ thể để nhận kích thích từ IL-2. Sau khi nhận đủ 2 tín hiệu tế bào này sẽ hoạt hoá và kích thích các lympho T ức chế (T_S). T ức chế hoạt động sẽ tác động trở lại với T_I điều hoà việc bài tiết IL-2 và tác động lên các loại T_I , T_H , T_{DTH} làm giảm hoặc ngừng đáp ứng miễn dịch. Tác dụng ức chế của T_S chỉ tác động lên các tế bào trên ở giai đoạn đang biệt hoá do vậy không làm đáp ứng miễn dịch dập tắt ngay từ đầu mà chỉ khi đáp ứng đã khởi phát và xảy ra ở một mức độ nào đó.

Mô hình trên đây chưa hoàn toàn đúng trong mọi trường hợp cụ thể, song nó cho phép cho chúng ta hình dung các bước xảy ra trong quá trình đáp ứng miễn dịch một cách tổng quát.



Hình 7.35. Cơ chế hợp tác tế bào và điều hoà miễn dịch
 (đối với kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức)

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Nêu các hình đáp ứng miễn dịch tự nhiên của cơ thể.
2. Nêu khái niệm và đặc điểm cơ bản của miễn dịch đặc hiệu.
3. Trình bày phân loại miễn dịch đặc hiệu.
4. Phân tích chức năng của các tế bào tham gia vào quá trình miễn dịch.
5. Nêu định nghĩa và tính chất của kháng nguyên.
6. Trình bày phân loại kháng nguyên VSV.
7. Trình bày quá trình tăng sinh, biệt hoá tế bào lympho B.
8. Nêu định nghĩa và hai đặc tính quan trọng của kháng thể.
9. Trình bày cấu trúc, chức năng của phân tử kháng thể.
10. Bỏ thể là gì? Tại sao phải hoạt hoá bỏ thể. Trình bày tác dụng sinh học của hoạt hoá bỏ thể.
11. Trình bày nguồn gốc và chức năng của lympho T và quá trình hình thành CMI.
12. Trình bày đáp ứng miễn dịch của cơ thể chống vi khuẩn ngoại bào.
13. Trình bày đáp ứng miễn dịch của cơ thể chống vi khuẩn nội bào.
14. Trình bày đáp ứng miễn dịch của cơ thể chống virus.
15. Nêu nguyên lý và nguyên tắc sử dụng vaccin.
16. Trình bày phân loại vaccin.
17. Nêu nguyên lý và nguyên tắc sử dụng huyết thanh.
18. Trình bày mục đích, nguyên lý, cách nhận định kết quả của các phản ứng miễn dịch.

PHẦN THỨ BA

VI SINH VẬT GÂY BỆNH

Chương 8

CÁC VI KHUẨN GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

MỤC TIÊU

- Trình bày được đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của các vi khuẩn gây bệnh.
- Nêu được phương pháp chẩn đoán vi khuẩn học của các vi khuẩn gây bệnh.
- Nêu được nguyên tắc phòng và điều trị bệnh do vi khuẩn gây ra.

1. 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(+) thuộc loại tụ cầu (*Staphylococcus*), thuộc loại liên cầu (*Streptococcus*) và song cầu (*Diplococcus* hay *Streptococcus pneumoniae*).
- Các cầu khuẩn Gram(–) thuộc loại *Neisseria*.

TỤ CẦU

(Staphylococci)

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:

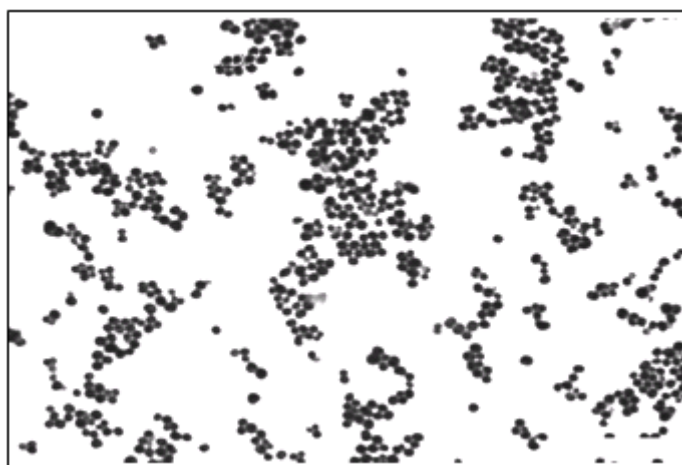
- *Planococcus*: không gây bệnh cho người.
- *Micrococcus*: gây bệnh cho người.
- *Staphylococcus*: gây bệnh cho người, giống này có 13 loài, trong đó có 3 loài có vai trò quan trọng trong y học là: *S. aureus* (tụ cầu vàng), *S. epidermidis* (tụ cầu da) gây nhiễm khuẩn cơ hội và *S. saprophyticus* gây nhiễm khuẩn tiết niệu.

1.1. Tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus*)

1.1.1. Đặc điểm sinh vật học

1.1.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Tụ cầu là những vi khuẩn hình cầu có đường kính 0,8 – 1µm đứng tụ lại với nhau thành từng đám như chùm nho, bắt màu Gram(+). Tụ cầu thường không có vỏ, không có lông, không sinh nha bào.



Hình 8.1. *Staphylococcus aureus* quan sát dưới kính hiển vi quang học

1.1.1.2. Tính chất nuôi cấy

Tụ cầu vàng thuộc loại dễ nuôi cấy, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Nhiệt độ thích hợp là 10 – 45°C và nồng độ muối cao tới 10%.

– Trong môi trường canh thang, vi khuẩn đã phát triển mạnh và làm đục đều môi trường, để lâu đáy có lắng cặn.

- Trong môi trường thạch thường, sau 24 giờ ở 37°C, tạo khuẩn lạc dạng S, có màu vàng chanh.
- Trong môi trường thạch máu, tụ cầu phát triển nhanh tạo khuẩn lạc dạng S, tan máu hoàn toàn.

1.1.1.3. Tính chất hoá sinh

– Các enzym:

Tụ cầu có hệ thống enzym phong phú, các enzym dùng trong chẩn đoán là:

+ Coagulase: Có khả năng làm đông huyết tương người và động vật khi đã được chống đông.

Đây là tiêu chuẩn quan trọng nhất để chẩn đoán và phân biệt tụ cầu vàng.

Có 2 loại 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 vàng tránh được tác dụng của kháng thể và hiện tượng thực bào.

+ Fibrinolysin (staphylokinase) là enzym đặc trưng cho các chủng gây bệnh ở người. Enzym này làm tan cục máu và hình thành những vật tắc mạch nhỏ tạo ra nhiễm khuẩn di căn.

+ Hyaluronidase: Phân giải các acid hyaluronic của mô liên kết giúp vi khuẩn lan tràn vào mô.

+ β lactamase: Làm mất tác dụng của penicillin.

+ Catalase: Xúc tác gây phân giải $H_2O_2 \rightarrow O_2 + H_2O$.

+ Desoxyribonuclease: Phân giải ADN.

– Lên men đường mannitol.

1.1.1.4. Độc tố

– Độc tố ruột (Enterotoxin): Đa số tụ cầu vàng tiết ra độc tố ruột gây nhiễm độc thức ăn và viêm ruột cấp.

– Ngoại độc tố (Efoliatin toxin): Gây nên hội chứng phỏng rộp và tróc lở da ở trẻ em.

– Độc tố gây hội chứng shock nhiễm độc (Toxic shock syndrome toxin). Độc tố này thường gặp ở những người bị nhiễm trùng vết thương.

– Ngoại độc tố sinh mủ (Pyogenic exotoxin) có tác dụng sinh mủ và phân bào lymphocyte.

– Độc tố bạch cầu (Leucocidin) 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. Nó cũng có tác dụng làm hoại tử da thỏ.

– Dung huyết tố (Hemolysin). Có 4 loại dung huyết tố:

+ Dung huyết tố α gây tan hồng cầu thỏ, cừu, gây hoại tử da thỏ và gây chết chuột và thỏ, gây hoại tử tế bào nuôi cấy.

+ Dung huyết tố β gây tan hồng cầu người, cừu, bò. Liều cao gây chết thỏ, hoại tử tế bào nuôi cấy.

+ 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 nuôi cấy.

1.1.1.5. 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 vàng, 100% các chủng tụ cầu vàng có kháng nguyên này. Những chủng tụ cầu sản sinh nhiều protein A thì tác dụng thực bào giảm đi rõ rệt.

– Polysaccharid: Một số chủng tụ cầu có vỏ thì có kháng nguyên này. Vỏ có tác dụng chống thực bào.

– Kháng nguyên adherin (yếu tố bám): Đây là một protein bề mặt của tụ cầu, có tác dụng bám vào các receptor đặc hiệu của tế bào.

1.1.1.6. Sức đề kháng

Tụ cầu vàng có sức đề kháng với nhiệt độ và hoá chất cao hơn các loại vi khuẩn không sinh nha bào. Bị chết ở 80°C trong một giờ. Tụ cầu có khả năng gây bệnh sau một thời gian dài sống ngoài môi trường.

1.1.1.7. Kháng kháng sinh

Khả năng kháng kháng sinh của tụ cầu vàng là một đặc điểm rất đáng quan tâm. Đa số các chủng kháng lại penicillin G do sản sinh được penicillinase nhờ gen trên R-plasmid. Một số chủng kháng lại methicillin gọi là methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), do tạo ra những protein gắn vào vị trí

tác động của kháng sinh. Hiện nay, một số chủng đề kháng cả với cephalosporin các thế hệ, kháng sinh được dùng trong trường hợp này là vancomycin.

1.1.2. Khả năng gây bệnh cho người

1.1.2.1. Nhiễm khuẩn ngoài da

Tụ cầu ký sinh 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 apxe, eczema, hậu bối,... Mức độ nhiễm khuẩn phụ thuộc vào sự đề kháng của cơ thể và độc lực của vi khuẩn. Nhiễm tụ cầu ngoài da thường gặp ở trẻ em và người suy giảm miễn dịch.

1.1.2.2. Nhiễm khuẩn huyết

Tụ cầu vàng là vi khuẩn hay gây nhiễm khuẩn huyết nhất.

Nhiễm khuẩn thường xảy sau những nhiễm khuẩn tiên phát, đặc biệt là các nhiễm khuẩn ngoài da, từ đó vi khuẩn xâm nhập vào máu. Đây là một nhiễm trùng nặng, từ máu, tụ cầu đến các cơ quan khác gây các ổ apxe (ở gan, phổi, não, xương) có thể gây viêm tắc tĩnh mạch, tỷ lệ tử vong cao.

1.1.2.3. Nhiễm độc thức ăn và viêm ruột cấp

Nhiễm độc thức ăn thường do ăn uống phải độc tố ruột hoặc do tụ cầu vàng vốn cư trú ở đường ruột, khi dùng kháng sinh kéo dài, vi khuẩn chí bình thường bị tiêu diệt thì tụ cầu vàng (kháng kháng sinh) có điều kiện thuận lợi phát triển nhanh về số lượng tiết độc tố ruột gây bệnh.

Triệu chứng ngộ độc rất cấp tính. Sau khi ăn phải thức ăn nhiễm độc tố vài giờ, bệnh nhân nôn và tiêu chảy dữ dội, phân nhiều nước. Có thể dẫn đến sốc do mất nước và điện giải.

1.1.2.4. 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 do tụ cầu vàng, gặp ở trẻ em, người già và những người suy yếu. Tỷ lệ tử vong khá cao.

1.1.2.5. Nhiễm khuẩn bệnh viện

Thường rất hay gặp, nhất là gây nhiễm trùng vết mổ, vết bỏng,... từ đó dẫn đến nhiễm khuẩn huyết, các chủng tụ cầu ở bệnh viện kháng kháng sinh rất mạnh.

Ngoài các bệnh thường gặp trên, tụ cầu còn có thể gây hội chứng phỏng rộp da, viêm da hoại tử, sốc nhiễm độc do phụ nữ sử dụng bông gạc không sạch khi kinh nguyệt.

1.1.3. Miễn dịch

Miễn dịch thu được với tụ cầu ít có vai trò bảo vệ. Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào có thể xảy ra, nhưng không làm tăng sự diệt khuẩn. Miễn dịch dịch thể cũng xuất hiện để chống lại độc tố và enzym, nhưng tụ cầu ít tiếp xúc với kháng thể do thường ở trong các ổ apxe, cục máu đông.

1.1.4. Chẩn đoán vi khuẩn học

– Bệnh phẩm: Tuỳ theo thể bệnh mà lấy bệnh phẩm thích hợp. Bệnh phẩm phải lấy đúng vị trí, đúng thời gian và đảm bảo vô khuẩn.

– 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 ký sinh nhưng không gây bệnh.

– Nuôi cấy và xác định tính chất sinh 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 xác định kiểm tra các tính chất sinh hoá học của tụ cầu.

+ Bệnh phẩm là máu: Lấy 5 – 10ml máu tĩnh mạch bằng thủ thuật vô khuẩn cấy vào bình môi trường có khoảng 100 – 150ml canh thang. Ủ ủ ấm 37°C, theo dõi hàng ngày. Nếu môi trường đục thì nhuộm soi, nếu có tụ cầu Gram(+) thì cấy chuyển sang môi trường thạch máu và các môi trường

kiểm tra các tính chất sinh hoá học của tụ cầu.

+ Bệnh phẩm là phân: cấy vào môi trường Schapman, để ủ ấm 37°C. Sau 24 – 48 giờ, chọn khuẩn lạc lên men đường mannitol cấy chuyển sang các môi trường kiểm tra các tính chất sinh hoá học của tụ cầu.

- Tiêu chuẩn chẩn đoán tụ cầu vàng:
- + Cầu khuẩn hình chùm nho bắt màu Gram(+).
- + Khuẩn lạc dạng S, màu vàng, tan máu.
- + Lên men đường mannitol.
- + Coagulase(+), Catalase(+).

1.1.5. Phòng và điều trị bệnh

– 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, vệ sinh ăn uống. Đặc biệt là 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 trước khi dùng cho bệnh nhân.

– Điều trị: Tụ cầu bị tiêu diệt bởi nhiều kháng sinh như: oxacillin, kanamycin, gentamycin,... Tuy nhiên, do việc dùng kháng sinh rộng rãi và tùy tiện nên tụ cầu vàng đã kháng lại nhiều loại kháng sinh. Việc điều trị cần thiết phải dựa vào kháng sinh đồ để chọn thuốc thích hợp.

1.2. *Staphylococcus epidermidis* và *Staphylococcus saprophyticus*

Hai loại tụ cầu này là những vi khuẩn bình thường, ký sinh trên da và niêm mạc, được phân biệt với tụ cầu vàng bằng tính chất sau: không có coagulase, không có sắc tố vàng, không lên men đường manitol.

Sự ký sinh của vi khuẩn có ý nghĩa:

– Chống lại sự xâm nhập của các vi khuẩn khác, do các vi khuẩn ký sinh đã chiếm mất receptor là chỗ bám trên bề mặt niêm mạc.

– Trên cơ địa suy giảm miễn dịch, loại tụ cầu này có thể gây bệnh cơ hội, mà rất thường gặp là:

S. epidermidis gây nhiễm khuẩn da và viêm nội tâm mạc cấp.

S. saprophyticus gây nhiễm khuẩn tiết niệu.

– Các vi khuẩn này cư trú trên cơ thể và trong môi trường bệnh viện có thể truyền cho nhau khả năng kháng thuốc, làm cho sự kháng kháng sinh tăng lên, và việc điều trị càng khó khăn.

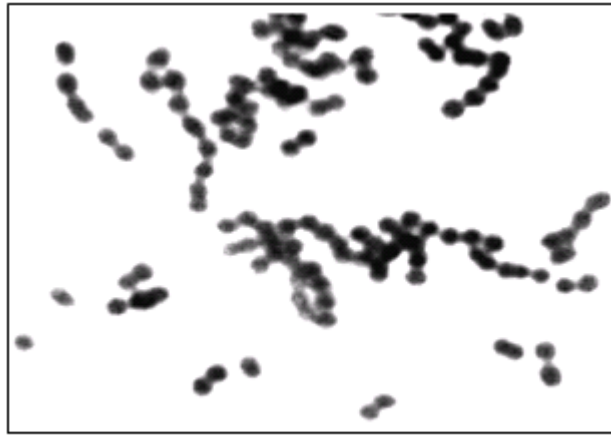
1.3. Liên cầu khuẩn (*Streptococcus*)

Liên cầu được Billroth mô tả lần đầu tiên vào năm 1874 sau khi phân lập từ mủ các tổn thương viêm quầng da và các vết thương nhiễm trùng. Năm 1880, L. Pasteur phân lập được liên cầu ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết.

1.3.1. Đặc điểm sinh vật học

1.3.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Liên cầu là những cầu khuẩn hình cầu đường kính 0,6 – 1µm, xếp liên tiếp với nhau thành từng chuỗi. Đôi khi có vỏ, không có lông, không sinh nha bào, bắt màu Gram(+).



Hình 8.2. Liên cầu quan sát dưới kính hiển vi quang học

1.3.1.2. 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 CO_2 . Nhiệt độ thích hợp là 37°C , một số phát triển được ở $10 - 40^\circ\text{C}$ như liên cầu đường ruột.

- Trong môi trường lỏng, liên cầu phát triển hình thành những chuỗi dài không bị gãy, sau đó tạo thành những hạt nhỏ, hoặc những hạt như bông rồi lắng xuống đáy. Sau 24 giờ, môi trường nuôi cấy trở nên trong và có lắng cặn.

- Trong môi trường đặc, vi khuẩn phát triển thành những khuẩn lạc tròn, lồi, bóng khô, màu hơi xám.

- Trong môi trường thạch máu liên cầu phát triển tốt, có thể làm tan máu dưới 3 hình thức α , β , g 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 vòng 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 (g): 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 *S. faecalis*.

1.3.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Liên cầu không có men catalase.

- Liên cầu có khả năng phát triển ở môi trường có mật, muối mật, etyl hydrocuprein.

- Liên cầu nhóm A đặc biệt nhạy cảm với bacitracin.

1.3.1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Liên cầu có cấu trúc kháng nguyên rất phức tạp.

- 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 đến R. Liên cầu nhóm A và D có khả năng gây bệnh cho người. Các nhóm khác gây bệnh cho súc vật hoặc không gây bệnh.

- Kháng nguyên M (Protein M): Đặc hiệu typ 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. Kháng nguyên M có khả năng chống lại thực bào, vì vậy, nó liên quan trực tiếp tới độc lực của liên cầu.



Hình 8.3. Sơ đồ cấu trúc kháng nguyên của liên cầu

1. Vách tế bào; 2. Màng nguyên tương; 3. Nguyên tương;
4. Mucopeptid;
5. Carbohydrat; 6. Vỏ (hyaluronic); 7. Protein (kháng nguyên M, T, R)

– Những kháng nguyên khác của liên cầu:

- + Kháng nguyên T: là protein của vách tế bào vi khuẩn.
- + Kháng nguyên P: bản chất là nucleoprotein.
- + Kháng nguyên R: bản chất là protein, nằm ở vách tế bào vi khuẩn.

1.3.1.5. Các enzym và độc tố

– Streptokinase thường ở liên cầu nhóm A, C, G, có khả năng làm tan tơ huyết, hoạt hoá xung quanh vùng tổn thương, tạo điều kiện cho vi khuẩn lan tràn. Enzym này còn là một kháng nguyên có khả năng kích thích cơ thể hình thành kháng thể antistreptokinase. Người ta sản xuất kháng nguyên này từ liên cầu nhóm C và ứng dụng trong điều trị bệnh đông fibrin trong máu.

– Streptodornase có khả năng thủy phân ADN, làm lỏng mủ nhưng chỉ có tác dụng khi có mặt của ion Mg. *Streptodornase* có 4 loại A, B, C, D và đều là những kháng nguyên kích thích cơ thể hình thành kháng thể đặc hiệu.

– Hyaluronidase có tác dụng phân huỷ acid hyaluronic của tổ chức, tạo điều kiện cho vi khuẩn lan truyền sâu rộng vào các mô. Enzym này cũng có tính kháng nguyên kích thích cơ thể sinh kháng thể đặc hiệu.

– DPNase (Diphospho pyridine nucleotidase) có ở liên cầu nhóm A, C, G, có độc tính với tế bào bạch cầu, gây chết bạch cầu và cũng là một enzym có tính kháng nguyên, kích thích cơ thể tạo kháng thể.

– Proteinase có tác dụng thủy phân protein và kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

– Dung huyết tố liên cầu tan máu (β) có khả năng hình thành hai loại dung huyết tố.

+ Streptolysin O bị mất hoạt tính bởi oxy. 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 (ASLO). Việc định lượng kháng thể này có giá trị trong chẩn đoán bệnh do liên cầu, đặc biệt là bệnh thấp tim và viêm cầu thận cấp.

+ Streptolysin S không bị mất hoạt tính bởi oxy, tính kháng nguyên yếu nên không kích thích cơ thể hình thành kháng thể.

– Độc tố hồng cầu (erythrogenic toxin) còn được gọi là độc tố sinh đỏ, bản chất là protein gây phát ban trong bệnh tinh hồng nhiệt.

1.3.2. Khả năng gây bệnh

1.3.2.1. Gây bệnh cho người

a) Bệnh do liên cầu nhóm A

Liên cầu nhóm A gây bệnh quan trọng nhất ở người, tùy từng typ huyết thanh mà gây nên các thể lâm sàng:

- Nhiễm khuẩn tại chỗ: Viêm họng, eczema, tróc 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 cấp.

- 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, và một số typ 4, 18, 25, 49, 52, 55. Bệnh thường xảy ra sau khi mắc viêm họng hoặc 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 tim: 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 phản ứng chéo của glycoprotein van tim, bao khớp với kháng thể chống liên cầu nhóm A.

b) 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. Liên cầu nhóm D có thể gây nhiễm khuẩn đường tiết niệu, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng não, đôi khi gây viêm màng trong tim.

c) Bệnh do liên cầu Viridans

Liên cầu Viridans 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 cấu trúc van tim không bình thường.

1.3.2.2. 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 apxe, viêm khớp, nhiễm khuẩn huyết.

1.3.2.3. Miễn dịch

Trong các loại kháng thể được tạo thành, chỉ có kháng thể kháng protein M có khả năng chống lại quá trình nhiễm trùng, kháng thể này mang tính đặc hiệu typ.

1.3.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

1.3.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Lấy bệnh phẩm: Bệnh phẩm có thể là mủ vết thương, dịch ngoáy họng, máu, nước, não tủy, dịch ổ apxe,... tùy từng thể bệnh. Các loại bệnh phẩm phải được nuôi cấy ngay, hoặc 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 lấy máu nhiều lần.

- Nhuộm soi: Bằng phương pháp nhuộm Gram, nếu thấy cầu khuẩn Gram(+) xếp thành chuỗi thì tiếp tục phân lập xác định liên cầu.

- Nuôi cấy phân lập:

- + Bệnh phẩm là máu, dịch não tủy: Nuôi cấy vào bình canh thang glucose, để 37°C, theo dõi hàng ngày. Nếu môi trường trong suốt, đáy có lắng cặn thì nhuộm soi, khi thấy liên cầu thì tiếp tục cấy chuyên và kiểm tra các tính chất sinh hoá học.

- + Bệnh phẩm là mủ, dịch ngoáy họng:

Nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường thạch máu, để ủ 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(+) đứng thành chuỗi thì xác định tính chất sinh hoá học. Đặc biệt xác định tính chất liên cầu nhóm A bằng thử nghiệm bacitracin. Phân biệt liên cầu với phế cầu bằng thử nghiệm Optochin và Neufeld.

Hiện nay còn có phương pháp chẩn đoán nhanh liên cầu nhóm A từ tấm bông ngoáy họng bằng cách sử dụng phản ứng ngưng kết latex, đây là phương pháp có độ đặc hiệu cao nhưng độ nhạy kém.

– 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 (–).

1.3.3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tìm kháng thể trong huyết thanh để 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.

1.3.4. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh: Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh, nên chủ yếu vẫn là vệ sinh cá nhân, vệ sinh môi trường. Để tránh nhiễm trùng thứ phát và biến chứng khớp, tim, viêm cầu 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. Sử dụng kháng sinh thích hợp phòng liên cầu sau các phẫu thuật đường hô hấp, tiết niệu,...

– Điều trị: Các kháng sinh penicillin, 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.

1.4. Phế cầu khuẩn (*Streptococcus pneumoniae*)

Phế cầu được phân lập lần đầu bởi L. Pasteur ở Pháp năm 1880.

1.4.1. Đặc điểm sinh vật học

1.4.1.1. 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. Trong môi trường nuôi cấy có thể nhiều đôi xếp liên tiếp với nhau thành từng chuỗi dễ lẫn với liên cầu. Bắt màu Gram(+), không di động, không sinh nha bào, trong bệnh phẩm hay trong môi trường nuôi cấy có nhiều albumin thì có vỏ.



Hình 8.4. *Streptococcus pneumoniae*

1.4.1.2. Tính chất nuôi cấy

Phế cầu phát triển tốt ở môi trường có nhiều chất dinh dưỡng, khí trường có 5% CO₂, nhiệt độ thích hợp 37°C.

Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc nhỏ, tròn, lồi, bóng, trong như giọt sương, xung quanh có vòng tan máu α. Những phế cầu có vỏ khuẩn lạc thường lớn, hơi nhầy, màu xám nhạt.

1.4.1.3. Tính chất sinh 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 etyl hydrocuprein (thử nghiệm Optochin +).

1.4.1.4. Cấu tạo kháng nguyên

- Kháng nguyên vỏ: Vỏ của phế cầu được cấu tạo bởi polysaccharid có tính kháng nguyên đặc hiệu typ. Hiện nay đã có 85 typ huyết thanh của phế cầu đã được ghi nhận bởi kháng nguyên này.
- Kháng nguyên thân: Phế cầu có 3 loại kháng nguyên thân: kháng nguyên polysaccharid C là kháng nguyên đặc hiệu loài, kháng nguyên M là những protein đặc hiệu typ và kháng nguyên R hiểu biết còn ít.

1.4.1.5. Sức đề kháng

Phế cầu dễ bị tiêu diệt bởi nhiệt độ ($60^{\circ}\text{C}/30$ phút) và các thuốc sát khuẩn thông thường.

1.4.1.6. Các yếu tố độc lực

- Phế cầu không có nội và ngoại độc tố.
- Phế cầu gây bệnh chủ yếu do vỏ của vi khuẩn có tác dụng vô hiệu hoá kháng thể IgG và bổ thể. Do vậy, khả năng thực bào bị giảm xuống và vi khuẩn vẫn tồn tại để gây bệnh.
- Phế cầu còn tiết protease thuỷ phân IgA tiết, vì vậy, làm mất tác dụng ngăn cản sự xâm nhập của vi khuẩn vào niêm mạc hô hấp.

1.4. 2. Khả năng gây bệnh

1.4.2.1. Gây bệnh cho người

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 mũi họng, viêm phổi, viêm phế quản phổi, apxe phổi, viêm màng phổi. Viêm phổi do phế cầu thường xảy ra sau các bệnh nhiễm khuẩn đường hô hấp do virus như 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 ra, phế cầu còn gây viêm tai, viêm xoang, viêm màng não, viêm phúc mạc, nhiễm khuẩn huyết, viêm màng tim, viêm thận,...

Ở nơi tổn thương, phế cầu hình thành một lớp vỏ dày và có nhiều fibrin bao quanh tạo nên một vùng cách biệt làm cho kháng sinh khó tác dụng. Vì vậy, nên điều trị sớm và triệt để.

1.4.2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật cảm nhiễm là chuột nhắt trắng, chuột bạch, thỏ, khỉ.

1.4.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

1.4.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: Chất ngoáy họng, đờm, máu, dịch não tủy, dịch màng phổi, mủ,... tùy theo từng tổn thương. Phế cầu là vi khuẩn rất dễ chết khi ra ngoài môi trường, vì vậy bệnh phẩm phải được chuyển về phòng xét nghiệm trong vòng 2 – 4 giờ và giữ ở $4 - 8^{\circ}\text{C}$.

- Nhuộm soi: Nhuộm Gram, ít có giá trị trong trường hợp bệnh phẩm là chất ngoáy họng, dịch họng mũi hoặc đờm.

- Nuôi cấy phân lập:

- + Bệnh phẩm có nhiễm nhiều vi khuẩn như đờm, chất ngoáy họng được cấy vào môi trường thạch máu có gentamycin $5\mu\text{g}/1\text{ml}$ môi trường. Để ở điều kiện thích hợp, 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 liên cầu viridans.

- + Bệnh phẩm là máu, dịch não tủy được cấy vào môi trường canh thang máu, để ủ ấm 37°C có 5% CO_2 , theo dõi như phân lập liên cầu.

- Các thử nghiệm xác định phế cầu:

- + Thử nghiệm Neufeld.
- + Thử nghiệm Optochin.
- + Xác định độc lực của phế cầu gây bệnh bằng thực nghiệm trên chuột nhắt trắng.
- + Xác định vỏ của vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm vỏ hoặc dùng phương pháp phình vỏ (Quellung).

1.4.3.2. 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 gentamicin.
- Bị tan bởi muối mật hoặc sắc tố mật.
- Gây bệnh cho súc vật.

1.4.4. Phòng bệnh và điều trị

– 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 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.

– Điều trị: Phế cầu còn nhạy cảm với các kháng sinh thường dùng như penicillin, gentamycin, cephalosporin.

NEISSERIA

Neisseria là những cầu khuẩn Gram(–), không di động, không có vỏ, thường xếp thành từng đôi, được chia thành hai nhóm:

- 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* (lậu cầu)
- 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.

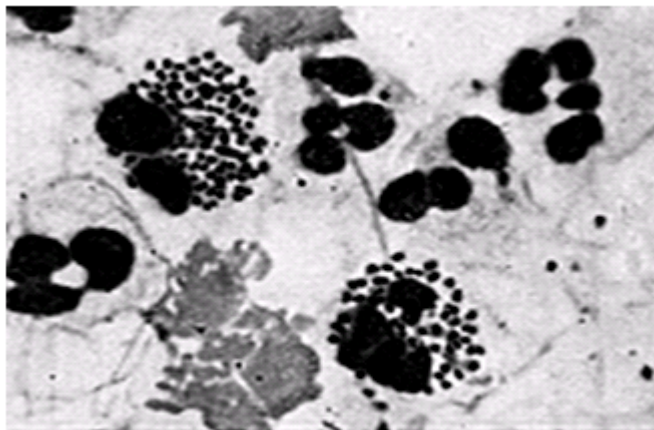
1.5. Não mô cầu (*Neisseria meningitidis*)

Neisseria meningitidis được Albrecht và Ghon mô tả lần đầu tiên vào năm 1901 và đặt tên vào năm 1903.

1.5.1. Đặc điểm sinh vật học

1.5.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Não mô cầu là loại song cầu hình hạt cà phê hai mặt lõm quay vào nhau, trông giống như hình hạt cà phê, kích thước khoảng 1µm, đứng riêng rẽ từng đôi hoặc nhiều đôi tụ với nhau thành từng đám. Có thể nằm trong hoặc ngoài bạch cầu đa nhân, không lông, không di động, không sinh nha bào, bắt màu Gram(–).



Hình 8.5. *Neisseria meningitidis*

1.5.1.2. Tính chất nuôi cấy

Não mô cầu chỉ phát triển tốt ở môi trường giàu chất dinh dưỡng như thạch máu, thạch chocolat, khí trường có 5 – 10% CO₂.

- Nhiệt độ thích hợp là 37°C.

- Trên môi trường thạch máu, khuẩn lạc tròn, nhẵn, lồi, bóng, sau 24 giờ đường kính khoảng 1mm, không tan máu.

- Trên môi trường thạch chocolat, khuẩn lạc dạng S, xám hoặc óng ánh.

1.5.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Lên men không sinh hơi các loại đường maltose, glucose. Tính chất lên men đường maltose để phân biệt với lậu cầu.

- Oxydase (+).

1.5.1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Não mô cầu có kháng nguyên vỏ là polysaccharid. Dựa vào kháng nguyên này hiện nay đã có 13 nhóm được biết, trong đó có 9 nhóm thường gặp là A, B, C, D, X, Y, Z, W-135, E29, 4 nhóm còn lại là H, I, K, L hiếm gặp hơn. Các nhóm A, B, C thường gây bệnh thành dịch.

Các kháng nguyên vỏ polysaccharid của não mô cầu được tìm thấy trong dịch não tủy và máu. Có thể phát hiện nhanh kháng nguyên bằng kỹ thuật miễn dịch.

Dựa vào protein màng ngoài tế bào lại chia mỗi nhóm kháng nguyên thành các typ huyết thanh.

1.5.1.5. Độc tố

Não mô cầu có nội độc tố vững bền với nhiệt độ.

1.5.1.6. 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 ở nhiệt độ 60°C/10 phút và sau khi ra khỏi cơ thể 3 – 4 giờ.

1.5.2. 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 có điều kiện thuận lợi, não mô cầu gây viêm họng mũi nhưng thường nhẹ, không có triệu chứng. Một tỷ lệ nhỏ trong các trường hợp này vi khuẩn từ mũi họng xâm nhập vào máu gây nhiễm khuẩn huyết. Nhiễm khuẩn huyết do não mô cầu có thể dẫn đến tình trạng shock do nội độc tố rất nặng. Cũng có thể vi khuẩn qua máu đến màng não gây viêm màng não mủ với các triệu chứng xuất hiện đột ngột như: nhức đầu dữ dội, nôn, cổ cứng, sốt cao, hôn mê. Hiếm hơn, có thể gặp não mô cầu gây các tổn thương ở khớp và phổi.

1.5.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

- Bệnh phẩm: Dịch mũi họng, dịch não tủy, máu, tủy theo thể bệnh.
- Nhuộm soi: Nhuộm soi từ dịch não tủy thấy có vi khuẩn trong tế bào bạch cầu đa nhân thì chẩn đoán là nguyên nhân gây bệnh.

Nếu thấy vi khuẩn ở dịch mũi họng thì cần nuôi cấy phân lập để phân biệt với các *Neisseria* khác.

- Nuôi cấy: Cấy dịch não tủy vào môi trường thạch máu hoặc chocolat, để ở điều kiện khí trường có CO₂ và 37°C, sau 24 giờ chọn khuẩn lạc nghi ngờ xác định tính chất sinh hoá học và làm phản ứng ngưng kết trên lam kính với kháng thể mẫu xác định nhóm, typ huyết thanh.

- 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 mủ do não mô cầu.

1.5.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:

- + 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).

- + Phòng không đặc hiệu: Phát hiện sớm bệnh nhân và cách ly ngay vì bệnh viêm màng não mủ 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.

- Điều trị: Nên điều trị sớm cho bệnh nhân bằng penicilin.

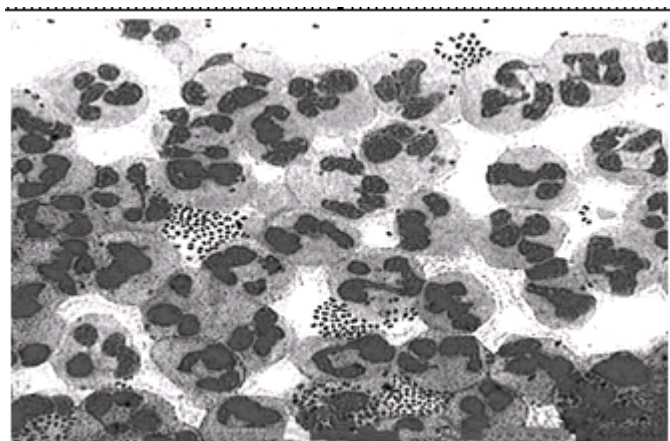
1.6. Lậu cầu (*Neisseria gonorrhoeae*)

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 lậu cầu.

1.6.1. Đặc điểm sinh vật học

1.6.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Lậu cầu là loại song cầu hình hạt cà phê, bắt màu Gram(-). Trường hợp lậu cấp vi khuẩn đứng trong tế bào bạch cầu đa nhân trung tính. Trường hợp lậu mãn tính, trên tiêu bản ít vi khuẩn và thường thấy vi khuẩn nằm ngoài tế bào bạch cầu. Lậu cầu không có vỏ, không có lông, không sinh nha bào.



Hình 8.6. *Neisseria gonorrhoeae*

1.6.1.2. 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, độ ẩm 70%.

Trên các môi trường nuôi cấy như thạch chocolate, Thayer–Martin. Sau 24 giờ, khuẩn lạc màu trắng xám, lồi, tròn, lấp lánh sáng.

1.6.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Oxydase(+).
- Catalase(+).
- Lên men đường glucose.
- Không lên men đường maltose, levulose. Dựa vào sự lên men 2 loại đường này để phân biệt lậu cầu với não mô cầu khuẩn.

Vi khuẩn	Glucose	Maltose	Levulose
Lậu cầu	+	–	–
Não mô cầu	+	+	–

1.6.1.4. 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. Với các chất sát khuẩn thông thường, vi khuẩn chết sau 2 – 5 phút tiếp xúc.

1.6.2. Khả năng gây bệnh

Lậu cầu có vật chủ duy nhất là người. Bệnh lây truyền chủ yếu bằng đường tình dục. Ở nam, vi khuẩn gây viêm niệu đạo, triệu chứng chủ yếu là đái buốt, đái khó, đái mủ, có thể gặp viêm tiền liệt tuyến, viêm mào tinh hoàn. Ở phụ nữ, triệu chứng phức tạp, viêm niệu đạo, âm đạo, viêm cổ tử cung, đôi khi viêm tử cung, vòi trứng, buồng trứng, cũng có khi triệu chứng không rõ ràng và khó chẩn đoán.

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. Ngoài ra, có thể gặp nhiễm cầu khuẩn lậu lan toả, thường gặp ở những người bị bệnh nhưng không được điều trị, sẽ có biểu hiện viêm khớp, viêm gan, viêm màng não,...

Bệnh lậu không được miễn dịch do kháng thể không có vai trò bảo vệ. Có thể chẩn đoán huyết thanh trong trường hợp bệnh lậu ngoài đường sinh dục như viêm khớp.

1.6.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

1.6.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm
- + 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.
- Nhuộm soi: Bệnh phẩm được nhuộm Gram hoặc xanh methylen.
- Nuôi cấy: Bệnh phẩm được cấy vào các môi trường thích hợp. Sau 48 giờ, nhận xét hình thái khuẩn lạc, nhuộm soi lại. Xác định là lậu cầu bằng các phản ứng sinh hoá học.

1.6.3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Trong một số bệnh, nhất là viêm khớp do lậu, kết quả nuôi cấy thường âm tính, có thể làm các phản ứng huyết thanh để chẩn đoán.

1.6.4. Phòng bệnh và điều trị

– 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, phát hiện và điều trị cho phụ nữ có thai bị bệnh lậu, tránh lây sang trẻ sơ sinh.

– Điều trị: Hiện nay đã xuất hiện nhiều chủng cầu khuẩn lậu kháng kháng sinh, do đó cần làm kháng sinh đồ để lựa chọn kháng sinh thích hợp. Cần điều trị triệt để không để bệnh chuyển sang mãn tính, rất khó chẩn đoán và điều trị.

2. HỌ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT (*Enterobacteriaceae*)

Họ vi khuẩn đường ruột bao gồm các trực khuẩn Gram(–) 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.
- Khử 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*.

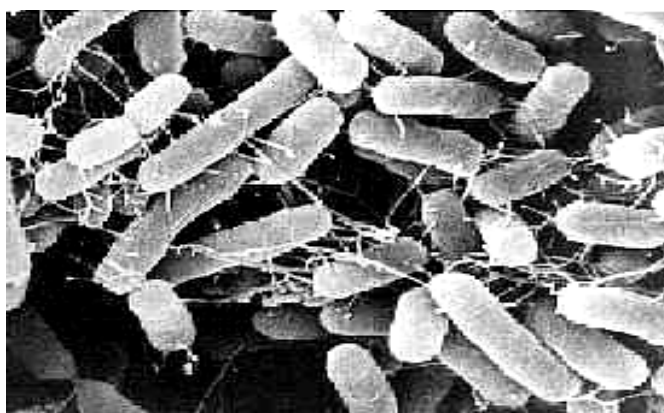
2.1. Trực khuẩn *Salmonella*

Trực khuẩn thương hàn được Grafky phân lập năm 1884.

2.1.1. Đặc điểm sinh vật học

2.1.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn *Salmonella* có kích thước trung bình dài 3µm, đường kính 0,5µm, Gram(–), có nhiều lông xung quanh thân, rất di động, không có vỏ, không sinh nha bào.



Hình 8.7. Trực khuẩn *Salmonella* (ảnh kính hiển vi điện từ).

2.1.1.2. 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, pH là 7,6.

– 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 với môi trường.

2.1.1.3. Tính chất sinh hoá học

– Lên men đường glucose kèm theo sinh hơi (trừ *S.typhi*).

– Không lên men đường lactose.

– Sinh H₂S.

– Catalase (+).

– Indol (–); urease (–)

2.1.1.4. Cấu trúc kháng nguyên

– Kháng nguyên O: là kháng nguyên thân của vi khuẩn. Dựa vào kháng nguyên O chia *Salmonella* thành các nhóm A, B, C, D, E.

– Kháng nguyên H: là kháng nguyên lông của *Salmonella*.

– Kháng nguyên K: là kháng nguyên bề mặt của vi khuẩn, chỉ có ở *S. typhi* và *S. paratyphi C* được gọi là kháng nguyên Vi (Virulence).

2.1.1.5. Độc tố

Nội độc tố có vai trò quyết định trong tính chất gây bệnh.

2.1.1.6. Sức đề kháng

Trực khuẩn *Salmonella* bị chết ở nhiệt độ 100°C/5 phút. Nhạy với các thuốc sát khuẩn thông thường. Trong nước, trực khuẩn sống được 2 – 3 tuần, trong nước đá và trong phân sống được 2 – 3 tháng.

2.1.1.7. Phân loại

Dựa theo cấu trúc kháng nguyên:

– *S. typhi* (trực khuẩn thương hàn): Chỉ gây bệnh cho người, là căn nguyên quan trọng gây bệnh thương hàn.

– *S. paratyphi A* (trực khuẩn phó thương hàn A): Gây bệnh cho người. Ở Việt Nam, là căn nguyên thứ 2 gây bệnh thương hàn sau *S.typhi*.

– *S. paratyphi B* (trực khuẩn phó thương hàn B): Chủ yếu gây bệnh cho người nhưng cũng có thể gây bệnh cho động vật.

– *S. paratyphi C* (trực khuẩn phó thương hàn C): gây bệnh thương hàn, gây viêm dạ dày – ruột và nhiễm khuẩn huyết. Thường gặp ở các nước Đông Nam Á. Ngoài 4 loại *Salmonella* trên, còn có một số *Salmonella* khác được đặt tên theo vật chủ hoặc theo tên địa phương phân lập được như:

– *S. typhimurium* (vật chủ là chuột) và *S. enteritidis*: Có khả năng gây bệnh cho cả người và động vật, là căn nguyên chủ yếu gây viêm dạ dày ruột cấp.

Đến nay, đã phát hiện được trên 1.500 typ huyết thanh *Samonella*.

2.1.2. Khả năng gây bệnh

2.1.2.1. Gây bệnh thương hàn

Các *Salmonella* gây bệnh bao gồm *S. typhi* và *S. paratyphi A, B, C*.

– Cơ chế gây bệnh: Vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hoá do thức ăn, nước uống bị

nhiễm bẩn. Số lượng vi khuẩn đủ để gây bệnh khoảng 10^5 đến 10^7 . Sau khi vào ống tiêu hoá, vi khuẩn bám vào niêm mạc ruột non, xâm nhập qua niêm mạc ruột đến các hạch mạc treo, sinh sản nhân lên ở đây rồi qua hệ thống bạch huyết và ống ngực vào máu, lúc này các triệu chứng bệnh bắt đầu xuất hiện. Từ máu, vi khuẩn qua lách và các cơ quan khác. Khi qua gan, vi khuẩn theo đường dẫn mật đổ xuống ruột rồi được đào thải ra ngoài theo phân, đây là đường thải vi khuẩn chính. Hoặc từ máu, vi khuẩn đến thận và được đào thải ra ngoài nước tiểu. Tới mảng Peyer ở ruột, vi khuẩn tiếp tục nhân lên.

Trực khuẩn thương hàn 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. Nội độc tố theo máu lên kích thích trung tâm thần kinh ở não, bệnh nhân thường sốt cao, thân nhiệt tăng nhưng nhịp tim không tăng (mạch nhiệt phân ly), tình trạng ly bì, có thể hôn mê, trụy tim mạch, tử vong. Khoảng 5% bệnh nhân sau khi khỏi bệnh trở thành người lành mang trùng, đây là nguồn truyền bệnh rất nguy hiểm vì vẫn tiếp tục thải vi khuẩn qua phân do nguồn vi khuẩn vẫn tồn tại ở túi mật.

2.1.2.2. Gây nhiễm khuẩn nhiễm độc thức ăn

Nhiễm khuẩn nhiễm độc thức ăn hay viêm dạ dày – ruột cấp, thường gặp do *S. typhimurium*, *S. enteritidis*.

Sau khi ăn phải thức ăn bị nhiễm khuẩn 10 – 48 giờ, bệnh nhân có biểu hiện sốt, nôn, tiêu chảy, có thể dẫn đến mất nước điện giải nếu không kịp thời điều trị. Trong trường hợp này, vi khuẩn chỉ gây bệnh tại đường tiêu hoá, không xâm nhập vào bạch huyết và máu.

2.1.2.3. Miễn dịch

Sau khi mắc bệnh thương hàn, trong huyết thanh bệnh nhân có các kháng thể chống kháng nguyên O, H và Vi. Kháng thể IgA trong dịch tiết đường ruột có vai trò quan trọng trong cơ chế bảo vệ. Tuy nhiên, vai trò bảo vệ của kháng thể không đầy đủ.

2.1.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

2.1.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

– Cấy máu: Cấy máu vào lúc bệnh nhân đang sốt và 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%. Cấy máu có vi khuẩn cho phép chẩn đoán chắc chắn bệnh nhân mắc bệnh thương hàn.

– Cấy phân: Vì trong phân có nhiều tạp khuẩn nên nuôi cấy vào môi trường phân lập thích hợp. Sau 24 giờ, chọn khuẩn lạc không lên men đường lactose cấy chuyển sang các môi trường xác định tính chất sinh hoá học.

2.1.3.2. Chẩn đoán gián tiếp

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 2 lần, ở tuần thứ nhất và thứ hai để xác định động lực kháng thể. Nếu động lực kháng thể cao mới cho phép chẩn đoán.

2.1.4. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh:

+ Phòng đặc hiệu bằng vaccin.

+ Phòng không đặc hiệu là các biện pháp như vệ sinh thực phẩm, vệ sinh môi trường, phát hiện sớm bệnh nhân và cách ly kịp thời.

– Điều trị:

Tỷ lệ vi khuẩn kháng kháng sinh ngày càng tăng nên điều trị tốt nhất là theo kháng sinh đồ.

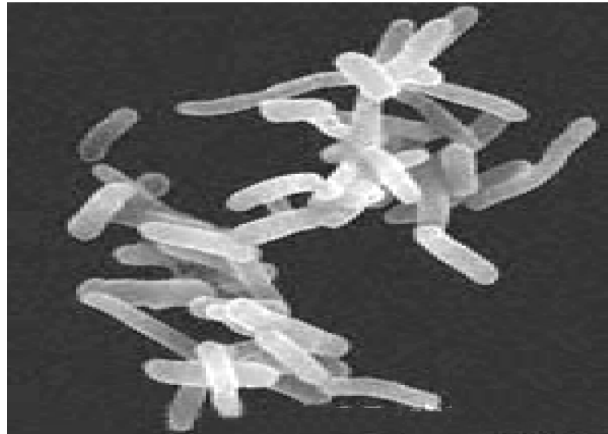
2.2. Trực khuẩn Shigella

Trực khuẩn *Shigella* được Chantemesse mô tả từ năm 1888 và Shiga phân lập lần đầu tiên năm 1898.

2.2.1. Đặc điểm sinh vật học

2.2.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Shigella là những trực khuẩn dài 1 – 3μm, bắt màu Gram(-), không có lông, không có vỏ, không sinh nha bào.



Hình 8.8. Trực khuẩn *Shigella*

2.2.1.2. 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, pH là 7,8.
- Trong môi trường lỏng, vi khuẩn mọc sớm và làm đục đều môi trường.
- Trên môi trường đặc, khuẩn lạc tròn, lồi, bờ đều.
- Trên môi trường phân lập có đường lactose như Istrati, SS: khuẩn lạc có màu cùng với màu môi trường.

2.2.1.3. Tính chất sinh 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 malnitol (trừ *S. dysenteriae*).
- *Shigella* không sinh H₂S và indol.

2.2.1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Tất cả các *Shigella* đều có kháng nguyên thân O, đây là kháng nguyên quan trọng nhất, một số chủng có kháng nguyên bề mặt K và tất cả đều không có kháng nguyên H.

2.2.1.5. Độc tố

Các *Shigella* đều có nội độc tố và một số chủng có thêm ngoại độc tố.

- Nội độc tố: Có độc tính mạnh.
- Ngoại độc tố: Chỉ có ở chủng *S. schmitzii* và *S. shiga*. Ngoại độc tố có độc tính cao, tác dụng đặc hiệu vào hệ thần kinh trung ương.

2.2.1.6. 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 100°C, bị tiêu diệt bởi các thuốc sát khuẩn thông thường và ánh sáng mặt trời.

2.2.2. Phân loại

Dựa vào kháng nguyên thân O và tính chất sinh hoá học, các trực khuẩn *Shigella* được chia làm 4 nhóm.

- Nhóm A (*S. dysenteriae*) có 10 typ huyết thanh. Đáng chú ý là typ 1 (*S. shiga*) và typ 2 (*S. schmitzii*) ngoài nội độc tố còn sinh ngoại độc tố.
- Nhóm B (*S. flexneri*) có 13 typ huyết thanh.
- Nhóm C (*S. boydii*) có 15 typ huyết thanh.
- Nhóm D (*S. sonnei*) chỉ có 1 typ huyết thanh.

2.2.3. Khả năng gây bệnh

Trực khuẩn *Shigella* gây nên bệnh lỵ ở người. Trực khuẩn xâm nhập vào cơ thể bằng đường ăn uống, 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 sung huyết, xuất tiết tạo thành những ổ loét và mảng 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 nhày máu.

Ngoại độc tố của trực khuẩn *Shigella* có tính độc với thần kinh trung ương, có thể gây viêm màng não và hôn mê.

Bệnh lỵ trực khuẩn thường ở thể cấp tính. Một số ít trường hợp trở thành mãn tính, những bệnh nhân này thỉnh thoảng lại có tiêu chảy và thải vi khuẩn ra ngoài theo phân.

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 B và C.

Sau khi mắc bệnh lỵ trực 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.

2.2.4. Chẩn đoán vi khuẩn học

2.2.4.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: Lấy bệnh phẩm là phân.
- Nhuộm soi trực tiếp: Làm tiêu bản nhuộm soi để xác định mật độ bạch cầu đa nhân và vi khuẩn chí.
- Cây phân: Cây phân là phương pháp được dùng chủ yếu để chẩn đoán bệnh lỵ trực khuẩn. Cây phân càng sớm càng tốt vì trực khuẩn lỵ chết nhanh sau khi ra khỏi cơ thể. Môi trường phân lập thường dùng là SS, Endo, Istrati. Sau 24 giờ, chọn khuẩn lạc nghi ngờ xác định tính chất sinh hoá học.
- Phản ứng ngưng kết xác định nhóm và typ huyết thanh.

Sau khi nuôi cấy xác định là *Shigella* thì tiến hành xác định nhóm bằng kháng huyết thanh đa giá nhóm. Nếu một trong các kháng huyết thanh đa giá nhóm ngưng kết thì tiến hành phản ứng ngưng kết với các kháng huyết thanh đơn giá theo từng nhóm.

2.2.4.2. Chẩn đoán huyết thanh

Phản ứng huyết thanh rất ít được làm để chẩn đoán bệnh lỵ trực khuẩn, vì đây là bệnh cấp tính cần chẩn đoán nhanh.

2.2.5. Phòng bệnh và điều trị

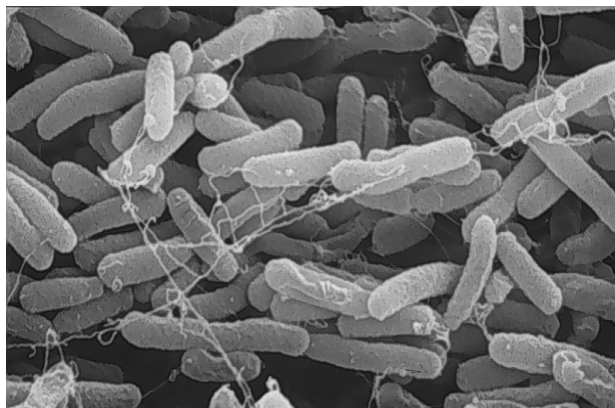
- Phòng bệnh:
 - + Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh.
 - + Thực hiện các biện pháp phòng bệnh không đặc hiệu: Vệ sinh an toàn thực phẩm, vệ sinh môi trường, phát hiện sớm, cách ly bệnh nhân.
- Điều trị:
 - Shigella* là một trong số các vi khuẩn có tỷ lệ kháng kháng sinh rất cao. Vì vậy, cần phải làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp.

2.3. Trục khuẩn *Escherichia coli*

2.3.1. Đặc điểm sinh vật học

2.3.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trục khuẩn *E. coli* kích thước dài, ngắn khác nhau, trung bình dài 2 – 3µm, đường kính 0,5µm, Gram(-). Một số ít chủng có vỏ, hầu hết có lông và di động, không sinh nha bào.



Hình 8.9. Trục khuẩn *Escherichia coli* (ảnh dưới kính hiển vi điện tử)

2.3.1.2. 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.

Trong điều kiện thích hợp, *E. coli* phát triển nhanh, thời gian thế hệ chỉ khoảng 20 đến 30 phút.

– Trong môi trường lỏng, sau 4 – 5 giờ nuôi cấy, vi khuẩn đã làm đục nhẹ, sau 24 giờ môi trường đục đều, sau 2 ngày môi trường có váng mỏng. Để lâu vi khuẩn lắng xuống đáy ống nghiệm.

– Trên môi trường thạch thường, sau 18 – 24 giờ khuẩn lạc dạng S, tròn, bờ đều, lồi bóng, không màu hoặc màu xám nhẹ.

– 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.

2.3.1.3. Tính chất sinh hoá học

– *E. coli* lên men nhiều loại đường và sinh hơi như glucose, malnitol, lactose (trừ loại EIEC lactose (-)).

– *E. coli* có khả năng sinh indol.

– Không sinh H₂S.

– Không có urease.

2.3.1.4. Cấu trúc kháng nguyên

– Kháng nguyên O là kháng nguyên thân gồm 160 yếu tố.

– Kháng nguyên K là kháng nguyên bề mặt. Có khoảng 100 yếu tố, được chia làm 3 loại A, B và L.

– Kháng nguyên H là kháng nguyên lông, gồm hơn 50 yếu tố.

2.3.1.5. Sức đề kháng

Nhạy cảm với các thuốc sát khuẩn thông thường. Ở nhiệt độ 55°C, vi khuẩn chết sau 1 giờ, 60°C chết sau 30 phút.

2.3.2. 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: 0111B4

(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 đường ruột EPEC (Enteropathogenic *E. coli*).
- Nhóm *E. coli* sinh độc tố ruột ETEC (Enterotoxigenic *E. coli*).
- Nhóm *E. coli* xâm nhập (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*).

2.3.3. 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 tiêu chảy, viêm đường tiết niệu, viêm đường mật. Đứng hàng thứ hai 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 tiêu chảy cấp ở trẻ em nhất là trẻ em dưới 2 tuổi, bệnh có tính chất dịch và gây tử vong cao 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^- dẫn đến tiêu chảy cấp mất nước và điện giải.
- 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, nhóm này có độc tố có cấu trúc kháng nguyên và cơ chế tác động giống ngoại độc tố của *S. shiga*.
- Nhóm EPEC: Cơ chế gây bệnh chưa rõ.

2.3.4. Chẩn đoán vi khuẩn học

2.3.4.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: Bệnh phẩm khác nhau tùy theo thể bệnh, có thể là máu, phân, nước tiểu, mủ, dịch tiết.
- Nhuộm soi trực tiếp.
- Nuôi cấy phân lập:
 - + Bệnh phẩm là máu: Cấy vào môi trường canh thang, theo dõi hằng ngày. Nếu môi trường đục thì nhuộm soi, nếu là trực khuẩn Gram(–) thì xác định các tính chất sinh hoá học.
 - + Bệnh phẩm là phân, dịch, mủ: Cấy vào môi trường chọn lọc như Endo, Macconkey, DCl, Istrati, sau 18 – 24 giờ, chọn khuẩn lạc nghi ngờ xác định các tính chất sinh 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.
- Phản ứng ngưng kết:
 - Làm phản ứng ngưng kết trên lam kính với kháng huyết thanh đa giá và đơn giá để xác định typ huyết thanh.

2.3.4.2. Chẩn đoán gián tiếp: Không sử dụng để chẩn đoán.

2.3.5. Phòng bệnh và điều trị

- 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. Thực hiện nghiêm túc nguyên tắc vô khuẩn khi tiến hành thăm dò hoặc đặt thông đường tiết niệu.

– Điều trị:

E. coli là vi khuẩn có tỷ lệ kháng thuốc cao, nhất là các chủng phân lập được từ nước tiểu. Vì vậy, cần làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp trong điều trị.

Trong trường hợp tiêu chảy, ngoài việc sử dụng kháng sinh, phải chú ý bồi phụ nước điện giải cho bệnh nhân.

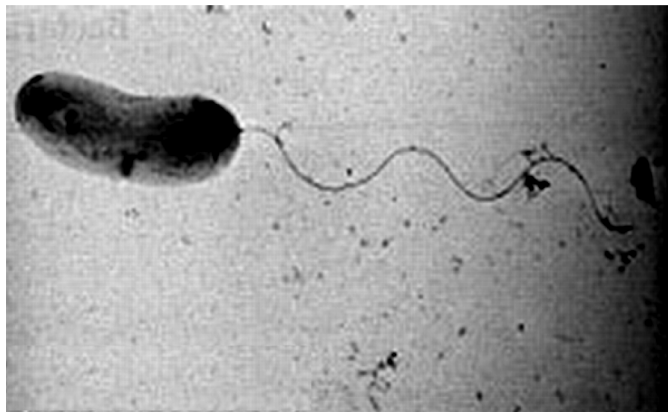
3. PHẪY KHUẨN TẢ (*Vibrio cholerae*)

Vibrio cholerae được R. Koch phát hiện năm 1883.

3.1. Đặc điểm sinh vật học

3.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Phẩy khuẩn tả có hình hơi cong như dấu phẩy, bắt màu Gram(–). Vi khuẩn có lông ở một đầu, di động rất nhanh và mạnh, không có vỏ, không sinh nha bào



Hình 8.10. *Vibrio cholerae* (ảnh dưới kính hiển vi điện tử)

3.1.2. Tính chất nuôi cấy

Phẩy khuẩn tả hiếu khí, môi trường thích hợp có pH kiềm 8,5 – 9,5 và nồng độ muối cao 3%, nhiệt độ 37°C.

- Trong môi trường pepton kiềm vi khuẩn mọc nhanh, sau 6 – 8 giờ đã tạo thành váng.
- Trên môi trường thạch kiềm sau 18 giờ khuẩn lạc tròn, lồi, nhẵn và trong suốt.

Trên môi trường TCBS (Thiosulfat, Citrate Bile Salts, Saccarose). Sau 18 giờ khuẩn lạc tròn, bóng, màu vàng (lên men đường saccarose).

3.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Lên men không sinh hơi đường glucose, saccarose, manose.
- Không lên men đường lactose, arabinose.
- Oxydase (+), indol (+).
- H₂S (–), urease (–).

3.1.4. Cấu tạo kháng nguyên và phân loại

Phẩy khuẩn tả có 2 loại kháng nguyên:

- Kháng nguyên H là kháng nguyên chung cho tất cả các loại vi khuẩn tả, dễ bị phá huỷ ở 100°C/2 giờ.
- Kháng nguyên O là một lipopolysaccharid, có tính đặc hiệu cao, bị phá huỷ ở 100°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 năm 1992 đều thuộc nhóm O₁. Năm 1992 xuất hiện một nhóm mới là O₁₃₉

gây dịch tả ở nhiều nước trên thế giới.

Dựa vào cấu trúc kháng nguyên chia *Vibrio cholerae* O₁ ra 3 typ huyết thanh:

Typ huyết thanh	Thành phần kháng nguyên
<i>Ogawa</i>	A, B
<i>Inaba</i>	A, C
<i>Hikojima</i>	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 2 typ sinh học (sinh typ): *V. cholerae* sinh typ cổ điển (gọi tắt là *V. cholerae*) được R.Koch phân lập năm 1883 trong một vụ dịch lớn ở Ai Cập 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 2 typ sinh học này là:

Tính chất	V. cổ điển	V. Eltor
Làm tan hồng cầu cừu	—	+
Ngưng kết hồng cầu gà	—	+
Nhạy cảm với polymycin B	+	—
Ly giải bởi phage IV	+	—
Ly giải bởi phage V	—	+

3.1.5. Sức đề kháng

Phẩy khuẩn tả có sức đề kháng yếu, dễ bị tiêu diệt bởi các chất sát khuẩn thông thường, nhưng có thể sống được một vài giờ trong phân và một vài ngày trong nước.

3.2. Khả năng và cơ chế gây bệnh

– Gây bệnh tả ở người:

+ Xâm nhập vào cơ thể bằng đường ăn uống.

+ Thời gian ủ bệnh ngắn, có thể một vài ngày.

+ Cơ chế: Vi khuẩn 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 (pH ≈ 8), 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 adenylyl 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 tiêu chảy cấp. Bệnh nhân chết vì mất nước và điện giải.

– Miễn dịch của bệnh:

+ Cơ chế đề kháng không đặc hiệu: Độ acid của dịch vị, hệ vi khuẩn chí cạnh tranh vị trí bám với phẩy khuẩn tả.

+ Cơ chế đề kháng đặc hiệu: Bệnh có khả năng tạo miễn dịch khá bền vững, thời gian bảo vệ của kháng thể khoảng 3 năm, với vai trò quan trọng của IgA tiết đường ruột.

– Dịch tễ:

Dịch tả là một trong những bệnh nguy hiểm do lây lan nhanh, tỷ lệ tử vong cao. Hiện nay, bệnh tả vẫn tản phát ở nhiều tỉnh nước ta, đặc biệt là vùng đồng bằng sông Cửu Long.

Nguồn lây là phân người bệnh và người lành mang bệnh, nước là yếu tố làm lan truyền bệnh.

3.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

3.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

– Bệnh phẩm là phân hoặc chất nôn của bệnh nhân, cần lấy sớm trước khi bệnh nhân uống kháng sinh.

– 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 đôi ngò, 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.

– Nuôi cấy phân lập:

+ Bệnh phẩm được nuôi cấy vào môi trường pepton kiềm, sau 6 giờ lấy vẩn trên mặt môi trường nhuộm soi và cấy chuyển sang các môi trường phân lập.

+ Đồng thời cấy bệnh phẩm vào môi trường như thạch kiềm, hoặc TCBS, sau 18 – 24 giờ, nhuộm soi và xác định tính chất sinh hoá học.

– Phản ứng ngưng kết:

Làm 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 để xác định nhóm và typ.

– Kỹ thuật kháng thể huỳnh quang trực tiếp:

Làm tiêu bản từ bệnh phẩm hoặc từ vẩn 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.

3.3.2. 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.

3.4. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh:

+ Phòng bệnh đặc hiệu: Hiện nay đã có các loại vaccin dùng bằng đường uống kích thích đáp ứng miễn dịch tại ruột. Vaccin phòng tả hiện nay ở Việt Nam đang dùng gồm cả O₁ và O₁₃₉ là vaccin bất hoạt dạng huyền dịch, đưa vào cơ thể bằng đường uống.

+ 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.

– 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.

4. TRỰC KHUẨN KHÁNG CÒN ACID

4.1. Trực khuẩn lao (*Mycobacterium tuberculosis*)

Trực khuẩn lao được Robert Koch phân lập được năm 1884 nên còn gọi là trực khuẩn Koch (Bacille Koch– BK).

4.1.1. Đặc điểm sinh vật học

4.1.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn lao có hình thẳng hoặc hơi cong, mảnh, 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.



Hình 8.11. Trực khuẩn lao (ảnh dưới kính hiển vi quang học)

4.1.1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn lao rất hiếu khí. Nhiệt độ thích hợp là 37°C. Môi trường nuôi cấy đòi hỏi phải giàu chất dinh dưỡng. Vi khuẩn phát triển rất chậm, thường sau 1 – 2 tháng trên môi trường mới có khuẩn lạc.

– Trên môi trường đặc Loewenstein, vi khuẩn mọc sau khoảng 1 tháng, khuẩn lạc dạng R, khô, xù xì, màu trắng vàng giống như chiếc súp lơ.

– Trên môi trường lỏng Sauton, trực khuẩn lao mọc thành vầng nhăn nhéo, khô và dính vào thành bình, đáy có lắng cặn.

4.1.1.3. Sức đề kháng

Trực khuẩn lao có sức đề kháng cao với các yếu tố lý hoá. 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, formaldehyd có thể tiêu diệt được vi khuẩn.

Vi khuẩn ngày càng kháng các thuốc chống lao như rifampicin, streptomycin, ethambutol, INH,...

4.1.1.4. Độc tố

Trực khuẩn lao không có nội và ngoại độc tố, hiện nay chưa xác định được yếu tố độc lực của trực khuẩn, nhưng có thể là tập hợp của nhiều yếu tố trong đó yếu tố sợi và lớp sáp ở vách tế bào có ý nghĩa quan trọng.

4.1.2. 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	(-)	(+)

4.1.3. Khả năng gây bệnh

4.1.3.1. Gây bệnh cho người

Bệnh lao là một bệnh xã hội, lây lan dễ ở các nước kém phát triển. Bệnh lao được thấy ở trên 50% ở các bệnh nhân AIDS. Trực khuẩn lao xâm nhập vào cơ thể chủ yếu theo đường hô hấp qua các

giọt nước bọt gây lao phổi (chiếm 90% các thể 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.

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,...

4.1.3.2. 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.

4.1.4. Miễn dịch

Sau khi khỏi bệnh lao, người bệnh có cả miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào nhưng kháng thể không có vai trò bảo vệ.

Phản ứng Mantoux là một test nội bì để đánh giá miễn dịch lao, bản chất là phản ứng quá mẫn muộn có nguyên lý là khi đưa một lượng kháng nguyên tuberculin tinh chế (từ trực khuẩn lao) vào trong da bệnh nhân. Ở những bệnh nhân mắc lao hoặc những người đã nhiễm lao thì sau 72 giờ tại nơi tiêm sẽ xuất hiện một phản ứng dị ứng đặc hiệu trong da với biểu hiện nổi quầng đỏ quanh chỗ tiêm, nền cứng, đường kính to nhỏ khác nhau tùy mức độ. Nếu đường kính 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. Có thể những người đang bị bệnh lao nhưng cơ thể suy giảm miễn dịch hoặc đang bị lao nặng cơ thể đã suy kiệt thì phản ứng cũng âm tính.

4.1.5. Chẩn đoán vi khuẩn học

4.1.5.1. Chẩn đoán trực tiếp

– Bệnh phẩm: Có thể là đờm, phân, nước não tủy, nước tiểu, tùy theo từng thể bệnh lao. Bệnh phẩm là đờm được xử lý với hoá chất để làm lỏng đờm và diệt tạp khuẩn. Sau đó ly tâm lấy cặn nhuộm soi hoặc nuôi cấy.

– Nhuộm soi trực tiếp: Làm tiêu bản từ bệnh phẩm, nhuộm Ziehl Neelsen phát hiện vi khuẩn kháng cồn acid – AFB (Acid Fast Bacillus). Kết hợp với các dấu hiệu lâm sàng và X quang thì rất có giá trị chẩn đoán. Nhuộm soi trực tiếp là phương pháp được sử dụng chủ yếu trong chẩn đoán bệnh lao phổi.

– Nuôi cấy phân lập: Bệnh phẩm sau khi đã được xử lý được nuôi cấy trên môi trường lỏng Sauton hoặc môi trường đặc Loewenstein, hoặc cả 2 môi trường, nuôi cấy cho kết quả chính xác nhưng 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.

4.1.5.2. Gây bệnh thực nghiệm

Tiêm truyền chuột lang, hiện nay ít dùng.

4.1.5.3. Phản ứng khuếch đại gen PCR

Phản ứng cho kết quả nhanh, chính xác, áp dụng tốt cho các chẩn đoán lao ngoài phổi nhưng chỉ thực hiện được ở cơ sở có điều kiện. Đây là kỹ thuật có độ nhạy và đặc hiệu cao nhưng đắt.

4.1.6. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh:

+ Phòng đặc hiệu: Vaccin BCG (Bacillus Calmette – Guerin) được hai nhà bác học Calmette và Guerin điều chế vaccin bằng cách nuôi cấy trực khuẩn lao bò nhiều lần trên môi trường có mật bò, làm cho trực khuẩn này mất khả năng gây bệnh nhưng còn sống và gây được miễn dịch tốt. Vaccin này được dùng cho trẻ sơ sinh trong chương trình tiêm chủng mở rộng, trẻ lớn và người lớn chỉ dùng khi phản ứng Mantoux âm tính.

+ 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.

– Điều trị: Các thuốc điều trị bệnh lao như INH, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol được dùng phối hợp và điều trị trong thời gian dài 6 – 9 tháng.

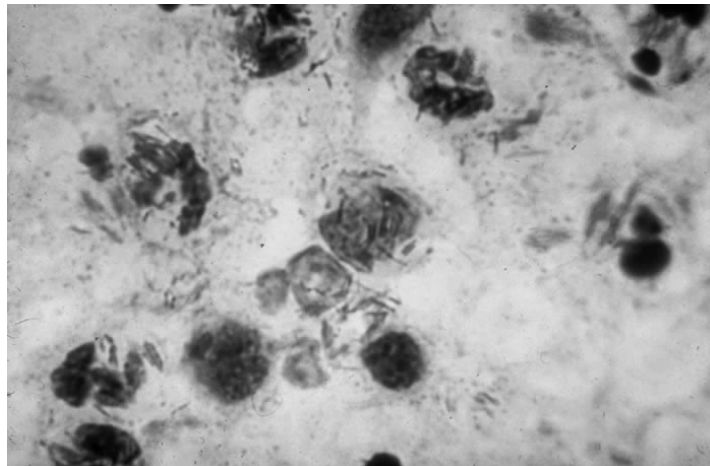
4.2. Trục khuẩn phong (hủi) (*Mycobacterium leprae*)

Trục khuẩn phong được Hansen, người Na Uy phát hiện năm 1874, nên còn được gọi là trục khuẩn Hansen (Bacillus Hansen – BH).

4.2.1. Đặc điểm sinh vật học

4.2.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trục khuẩn phong có hình dạng giống trục khuẩn lao nhưng mập hơn. Trên tiêu bản thường thấy vi khuẩn đứng với nhau thành từng đám như bó củi. Trục khuẩn phong không có vỏ, không có lông, không di động, không sinh nha bào.



Hình 8.12. Trục khuẩn phong

4.2.1.2. Tính chất nuôi cấy

Hiện nay chưa nuôi cấy được trục khuẩn phong trên môi trường nhân tạo. Khi tiêm truyền vào chuột Hamster, trục khuẩn phong sinh sản nhanh tại chỗ tiêm, như vậy có thể giữ chủng vi khuẩn để nghiên cứu.

4.2.1.4. 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 trục khuẩn phong.

4.2.2. Khả năng gây bệnh

Trục 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.

Các thể bệnh: Bệnh phong có 3 thể lâm sàng:

– Phong ác tính (phong u): Có những thương tổn lớn ở da, niêm mạc và các cơ quan. Tổn thương thần kinh nặng, dẫn đến teo cơ, co rút các ngón tay, chân, rụng các đốt xương gây tàn phế. Tổn thương tạo thành u cục lớn, nhất là vùng sụn mũi khiến bệnh nhân có bộ mặt dị dạng. Thể này trong nước mũi có nhiều trục khuẩn, khả năng lây mạnh nhất.

– Phong củ: Thể này còn gọi là phong lành tính, tổn thương thường thấy ở da và niêm mạc, tổn thương thần kinh nhẹ, bệnh tiến triển chậm.

– Phong bất định: 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.

4.2.3. Miễn dịch

Miễn dịch trong bệnh phong là miễn dịch qua trung gian tế bào. Dùng phản ứng Mitsuda để đánh

giá và tiên lượng bệnh phong.

4.2.4. Chẩn đoán vi khuẩn học

- Bệnh phẩm: Lấy dịch tiết ở hốc mũi, da vùng tổn thương,...
- Nhuộm soi trực tiếp: Tiêu bản nhuộm Ziehl Neelsen có thể thấy trực khuẩn hủi đứng thành từng đám, như bó củi, bắt màu đỏ nhạt.

4.2.5. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + Cách ly bệnh hủi ác tính kịp thời. Các thể khác có thể điều trị tại nhà hoặc tại các trại điều trị tập trung.
 - + Tiêm vaccin BCG cũng có tác dụng phòng bệnh hủi.
 - + Cải thiện đời sống cộng đồng, vệ sinh cá nhân tốt.
- 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).

5. XOẮN KHUẨN GÂY BỆNH

Xoắn khuẩn gây bệnh được giới thiệu nằm trong bộ *Spirochaetales*, gồm họ *Spirochaetaceae* và *Leptospiraceae*. Chúng có đặc điểm chung sau:

- Hình thể mảnh, xoắn lò xo, mềm mại.
- Nhuộm Fontana Tribondeau có màu vàng nâu trên nền vàng.
- Sức đề kháng yếu, nhạy với hoá chất sát trùng, kháng sinh.
- Phân loại: Bộ *Spirochaetales* có 3 giống đại diện:
 - + Giống *Treponema* đại diện là *T. pallidum* gây bệnh giang mai.
 - + Giống *Borrelia*, đại diện là *B. recurrentis* gây sốt hồi quy.
 - + Giống *Leptospira* gây bệnh *Leptospirosis*.

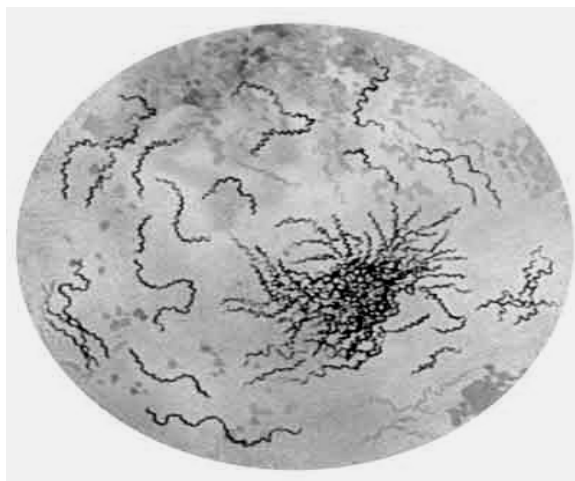
5.1. Xoắn khuẩn giang mai (*Treponema pallidum*)

Năm 1905, Schaudin và Hoffmann tìm thấy vi khuẩn trong dịch tiết vết loét của bệnh nhân giang mai.

5.1.1. Đặc điểm sinh vật học

5.1.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Xoắn khuẩn giang mai rất mảnh, hình xoắn như lò xo, thường có 8 – 14 vòng xoắn đều đặn. Soi tươi trên kính hiển vi nền đen thấy xoắn khuẩn chuyển động quay tròn. Nhuộm bằng phương pháp Fontana Tribondeau xoắn khuẩn có màu vàng nâu trên nền vàng.



Hình 8.13. *Treponema pallidum* (trên tiêu bản nhuộm)

5.1.1.2. Tính chất nuôi cấy

Hiện nay chưa có môi trường nhân tạo nuôi cấy xoắn khuẩn giang mai. Năm 1948, Nelson và Mayer đã điều chế môi trường cơ bản có thể giữ xoắn khuẩn sống được vài ngày để làm các phản ứng huyết thanh đặc hiệu. Phương pháp giữ chủng của Nichols từ năm 1911 đến nay vẫn là tiêm truyền liên tục vào tinh hoàn thỏ.

5.1.1.3. Sức đề kháng

Vi khuẩn bị tiêu diệt bởi các chất sát khuẩn thông thường. Dễ chết ở nhiệt độ phòng, đặc biệt ở điều kiện khô. Ở 50°C, vi khuẩn chết sau 1 giờ.

5.1.2. Khả năng gây bệnh

5.1.2.1. Gây bệnh cho người

– Giang mai mắc phải:

Giang mai là một bệnh xã hội hiện nay rất ít gặp. Xoắn khuẩn xâm nhập vào cơ thể chủ yếu qua đường tình dục. Có thể lây nhiễm qua da sây sát, niêm mạc mắt, miệng nhưng rất hiếm. Bệnh diễn biến qua 3 thời kỳ:

+ Giang mai thời kỳ I: Từ 10 – 30 ngày sau nhiễm khuẩn, xuất hiện các vết loét (chancre) ở bộ phận sinh dục. Vết loét nông, nền cứng, không ngứa, không đau, trong có nhiều xoắn khuẩn. Thời kỳ này dễ lây lan. Nếu không được điều trị thì sau vài tuần vết loét cũng lành không để lại sẹo. Vi khuẩn sẽ tiếp tục vào máu.

+ Giang mai thời kỳ II: Bắt đầu từ 4 – 8 tuần sau khi có vết loét. Tổn thương ngoài da là các dát màu hoa đào (gọi là đào ban). Trong các dát có ít vi khuẩn nhưng vẫn có khả năng lây lan.

+ Giang mai thời kỳ III: Sau thời gian 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, đặc biệt là tổn thương tim mạch và hệ thần kinh. Rất ít khi thấy vi khuẩn trong các "gôm" giang mai.

– Giang mai bẩm sinh:

Phụ nữ bị bệnh giang mai khi có thai từ tháng thứ 4 trở, đi xoắn khuẩn có thể qua nhau 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 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.

5.1.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

5.1.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

Thường áp dụng cho giang mai thời kỳ I, lấy bệnh phẩm là chất tiết ở các vết loét bộ phận sinh

dục.

- Soi tươi trên kính hiển vi nền đen.
- Nhuộm Fontana Tribondeau.

Nếu kết quả (+) rõ, kết hợp với tiền sử và triệu chứng lâm sàng thì có thể kết luận được bệnh.

5.1.3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Việc tìm kháng thể trong huyết thanh thường được tiến hành ở giai đoạn thời kỳ II hoặc III.

- Các phản ứng dùng kháng nguyên không đặc hiệu:

Sử dụng kháng nguyên là cardiolipin chiết xuất từ tim bê nhưng có cấu trúc gần giống chất lipoid của xoắn khuẩn giang mai, để phát hiện kháng thể reagin trong huyết thanh bệnh nhân.

Với kháng nguyên cardiolipin có thể làm các phản ứng sau:

- + Phản ứng lên bông VDRL (Venereal Disease Research Laboratories).
- + Phản ứng kết hợp bổ thể BW (Bodet– Wassermann).

Vì kháng nguyên không đặc hiệu nên có thể có trường hợp (+) giả đối với một số bệnh như sốt rét, thận hư nhiễm mỡ hoặc phụ nữ có thai trên 7 tháng. Do vậy, phải làm phản ứng 2 lần nhằm kiểm tra kết quả.

- Phản ứng dùng kháng nguyên đặc hiệu có độ nhạy cao, chính xác:

- + Phản ứng TPI (Treponema pallidum Immobilisation): Phản ứng bất động xoắn khuẩn giang mai.
- + Phản ứng FTA (Fluorescence Treponema Antibody): Phản ứng miễn dịch huỳnh quang gián tiếp.
- + Phản ứng TPHA (Treponema Pallidum Haemagglutination): Phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động.

5.1.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh không đặc hiệu:
 - + 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.
- Điều trị: penicillin có tác dụng điều trị rất tốt tiêu diệt được xoắn khuẩn.

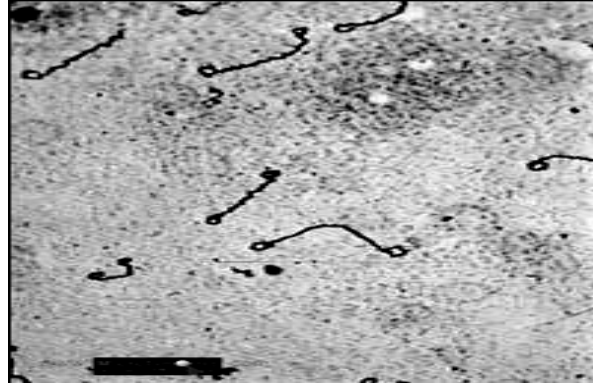
5.2. Xoắn khuẩn *Leptospira*

Bệnh do xoắn khuẩn *Leptospira* do Weil (người Đức) phát hiện năm 1886 nhưng đến năm 1915 mới tìm thấy xoắn khuẩn.

5.2.1. Đặc điểm sinh vật học

5.2.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Vi khuẩn hình sợi dài, rất mảnh, 2 đầu cong như móc câu. Soi tươi trên kính hiển vi nền đen thấy xoắn khuẩn di động mạnh. Nhuộm thẩm bạc Fontana Tribondeau, vi khuẩn bắt màu vàng nâu trên nền vàng.



Hình 8.14. *Leptospira* trên tiêu bản nhuộm

5.2.1.2. Tính chất nuôi cấy

Leptospira là xoắn khuẩn duy nhất nuôi cấy được trong điều kiện hiếu khí. 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.

5.2.1.3. Sức đề kháng

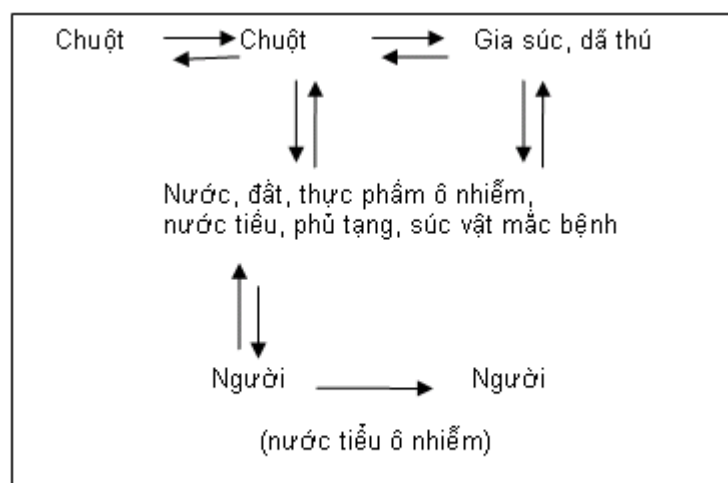
Leptospira có sức đề kháng yếu, bị tiêu diệt ở 50°C/10 phút, chết nhanh ở các môi trường acid, ánh sáng và các thuốc sát khuẩn thông thường dễ tiêu diệt được xoắn khuẩn. Tuy nhiên, xoắn khuẩn chịu được lạnh, trong nước sông được khoảng 3 tuần. Sống dai dẳng trong bùn lầy, nước đọng, thích hợp nhất là nước cống rãnh, đồng ruộng, khe suối.

5.2.2. Khả năng gây bệnh

5.2.2.1. Gây bệnh cho người

Ồ 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 sâu sát, vết thương hoặc niêm mạc do tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với nguồn lây. Ví dụ, tiếp xúc trực tiếp với gia súc bị bệnh như bác sĩ thú y, người chăn nuôi, công nhân lò mổ; hay nhiễm khuẩn gián tiếp qua nước, đất bị nhiễm khuẩn. Bệnh Leptospirosis diễn biến qua 2 thời kỳ:

– Thời kỳ 1: Thời gian ủ bệnh 1 – 2 tuần. Sau đó, sốt cao đột ngột kéo dài 3 – 8 ngày. Triệu chứng chính là đau cơ, sung huyết và xuất huyết da, niêm mạc. Thời kỳ này trong máu có nhiều vi khuẩn.



Dây chuyền dịch tễ của *Leptospira*

– Thời kỳ 2: 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.

5.2.2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Súc vật cảm nhiễm với xoắn khuẩn *Leptospira* là chuột lang.

5.2.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

5.2.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

– Bệnh phẩm:

Thời kỳ 1: Bệnh phẩm là máu lúc bệnh nhân đang sốt.

Thời kỳ 2: Bệnh phẩm là nước tiểu, dịch não tủy, dịch màng bụng.

– Soi tươi: Qua kính hiển vi nền đen thấy xoắn khuẩn di động.

– Nhuộm Fontana Tribondeau.

– Nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường cơ bản là Terskikh, EMTH thêm 10% huyết thanh thỏ.

– Tiêm truyền cho chuột lang.

5.2.3.2. Chẩn đoán gián tiếp

– Phản ứng ngưng kết tan Martin– Pettit.

– Miễn dịch huỳnh quang hoặc phản ứng ELISA.

5.2.4. Phòng bệnh và điều trị

– 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.

– Điều trị: Dùng kháng sinh diệt xoắn khuẩn như penicillin, kết hợp với điều trị triệu chứng.

6. TRỰC KHUẨN UỐN VÁN (*Clostridium tetani*)

Vi khuẩn kỵ khí là những vi khuẩn không sống được khi có mặt của oxy tự do, chúng sử dụng được các hợp chất dinh dưỡng nhờ hệ thống enzym. Có nhiều vi khuẩn kỵ khí khác nhau: cầu khuẩn, trực khuẩn, phẩy khuẩn và xoắn khuẩn. Có loài có nha bào (các *Clostridium*), có loài không có nha bào. Các vi khuẩn kỵ khí có nha bào có vai trò rất lớn trong các bệnh lý của người.

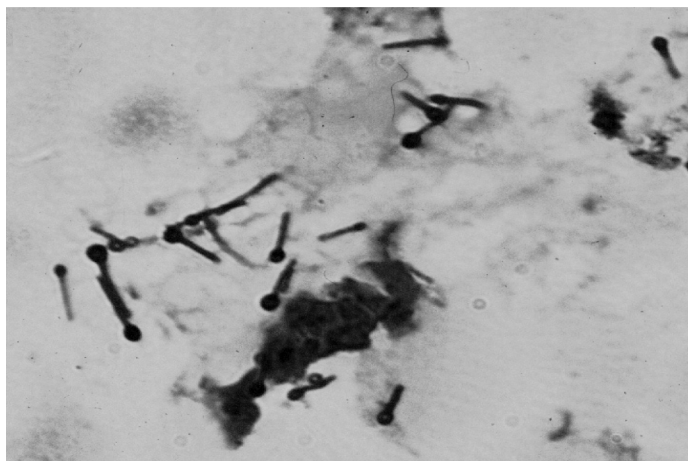
Tổ chức Y tế thế giới xếp uốn ván là bệnh từ động vật truyền cho người vì tác nhân gây bệnh thường gặp ở phân các loài gia súc lớn.

Năm 1889, Kitasato phân lập được vi khuẩn, xác định được độc tố và gây bệnh thực nghiệm thành công.

6.1. Đặc điểm sinh học

6.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn thẳng và mảnh, không có vỏ, có lông và di động, bắt màu Gram(+). Khi gặp điều kiện không thuận lợi trực khuẩn có khả năng hình thành nha bào làm vi khuẩn giống hình vệt.



Hình 8.15. Trục khuẩn uốn ván

6.1.2. Nuôi cấy

Trục khuẩn kỵ khí tuyệt đối, phát triển trên môi trường đơn giản, nhiệt độ 37°C, pH= 7. Có thể nuôi cấy trục khuẩn trong các môi trường sau: canh thang glucose, canh thang thịt băm hoặc gan cục, môi trường thạch sâu.

6.1.3. Đặc điểm hoá sinh

Trục khuẩn uốn ván làm lỏng gelatin chậm, không phân giải protein, sinh indol, lên men yếu các loại đường: galactose, lactose, saccharose, arabinose, có khả năng gây tan máu.

6.1.4. Khả năng đề kháng

Trục khuẩn uốn ván bị tiêu diệt ở 56°C sau 30 phút, nhưng ở thể nha bào thì phải 120°C sau 30 phút mới chết, phenol 5% trong 5 giờ, nha bào có thể tồn tại nhiều năm trong đất.

6.1.5. Độc tố

Độc tố của trục khuẩn uốn ván là một ngoại độc tố, bản chất là một protein có độc tính cao. Độc tố này gồm hai phần:

- Tetanolysin: Tác dụng làm tan hồng cầu của thỏ, người và ngựa. Độc tố này có vai trò rất phụ trong gây bệnh.
- Tetanospasmin là độc tố thần kinh gây nên những triệu chứng đặc trưng của bệnh uốn ván. Đây là loại độc tố có tính kháng nguyên mạnh, vì vậy có thể dùng để sản xuất vaccin.

6.2. Miễn dịch

Sự hình thành miễn dịch hoạt động và bền vững do tiêm vaccin giải độc tố uốn ván (anatoxin).

Người mẹ mang thai từ tháng thứ 6 được tiêm vaccin uốn ván, khi đáp ứng miễn dịch được hình thành, kháng thể sẽ được truyền cho thai nhi qua nhau thai giúp phòng bệnh uốn ván rốn.

6.3. Khả năng gây bệnh

6.3.1. Gây bệnh cho động vật

Trục khuẩn uốn ván thường gây bệnh cho các loài động vật có vú như: trâu, bò, ngựa, chó, mèo và một số động vật nhỏ như thỏ, chuột,...

6.3.2. Gây bệnh cho người: Bệnh uốn ván

Vi khuẩn hoặc nha bào xâm nhập vào cơ thể qua những vết thương ngoài da sâu và kín. Tại đó, vi khuẩn nhân lên và tiết độc tố.

- Bệnh uốn ván ở người là hiện tượng nhiễm độc tố.
- Thời gian nung bệnh từ 5 – 10 ngày, đôi khi lâu hơn. Triệu chứng khởi đầu là đau và căng cơ

nơi bị thương nhưng thường bị bỏ qua. Triệu chứng rõ rệt sớm nhất là cứng hàm do co cứng cơ nhai, sau đó là co cứng cơ mặt làm bệnh nhân khó há mồm và nét mặt thay đổi. Tiếp đến là co cứng các cơ gáy, lưng, ngực, bụng và các cơ chi làm cho lưng và cổ người uốn cong lên, vì vậy gọi là bệnh uốn ván. Giai đoạn cuối của bệnh, sự co thắt lan rộng ra các cơ hô hấp làm bệnh nhân nuốt và thở khó khăn, các chức năng tuần hoàn, hô hấp bị rối loạn. Những cơn co giật liên tiếp xuất hiện làm bệnh nhân vô cùng đau đớn và thường tử vong do suy hô hấp. Độc tố thần kinh thường làm thân nhiệt tăng cao, có khi đến 41°C, mạch nhanh từ 150 đến 180 lần/phút, huyết áp giảm,....

– Dịch tễ: Đa số các động vật như trâu, bò, ngựa, cừu, lợn, ngay cả chó, mèo, chuột có thể mang vi khuẩn uốn ván ký sinh trong ruột. Nếu điều kiện vệ sinh thấp kém thì vi khuẩn có khả năng lây lan ra môi trường ngoài, rồi từ đó xâm nhập vào cơ thể người qua các vết thương ngoài da.

6.4. Chẩn đoán

- Để chẩn đoán bệnh uốn ván chủ yếu dựa vào dấu hiệu lâm sàng.
- Chẩn đoán vi sinh ít làm, nếu có thể chỉ áp dụng ở những cơ sở có đầy đủ điều kiện nuôi cấy vi khuẩn kỵ khí.

6.5. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + Vệ sinh môi trường, xử lý phân gia súc.
 - + Trường hợp vết thương có khả năng nhiễm uốn ván, cần xử lý ngoại khoa như: rửa sạch, cắt lọc, rạch rộng,... và tiêm kháng huyết thanh uốn ván SAT (serum anti tetani).
 - + Tiêm vaccin uốn ván cho trẻ em và phụ nữ mang thai.
- Điều trị:
 - + Rửa sạch vết thương.
 - + Trung hoà độc tố bằng huyết thanh kháng uốn ván SAT.
 - + Chống co giật bằng các thuốc an thần, dẫn cơ, tránh các kích thích thần kinh như ánh sáng, tiếng động mạnh,...
 - + Kháng sinh diệt khuẩn.
 - + Chế độ chăm sóc đặc biệt.

7. TRỰC KHUẨN THAN (*Bacillus anthracis*)

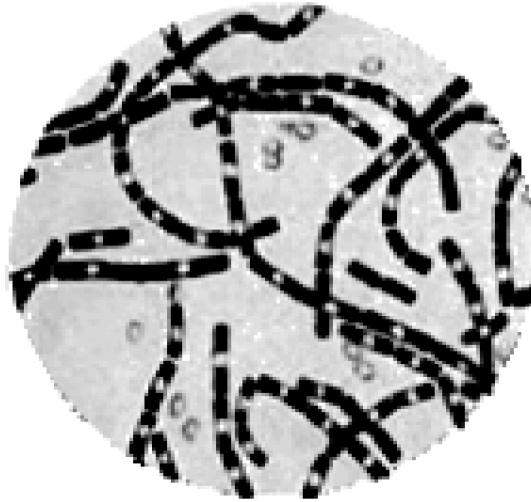
Bacillus anthracis thuộc họ *Bacillaceae* chi *Bacillus*, chi này gồm nhiều loài trong đó chỉ có *Bacillus anthracis* gây bệnh cho người.

Bacillus anthracis được Davaine và Rayer phát hiện năm 1850.

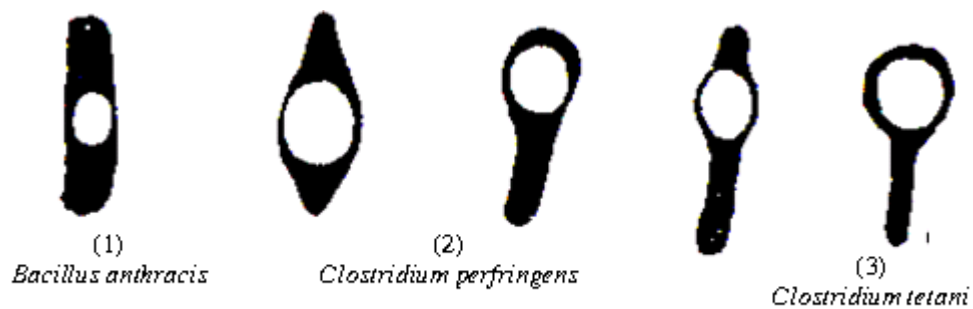
7.1. Đặc điểm sinh vật học

7.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn than có hình gậy, 2 đầu vuông, đứng riêng rẽ hoặc xếp với nhau thành chuỗi, nhuộm bắt màu Gram (+), nha bào hình trứng hoặc hình trụ, thường ở giữa và không làm biến dạng thân vi khuẩn.



Hình 8.16. Trực khuẩn than



Hình 8.17. Phân biệt nha bào trực khuẩn than với các trực khuẩn khác

7.1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn than hiếu khí, phát triển dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường, ở nhiệt độ 35°C và pH 7 – 7,4.

7.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Lên men không sinh hơi đường glucose, maltose, levulose, saccharose.
- Không lên men đường lactose, galactose, arabinose.
- Có khả năng ly giải protein, làm lỏng gelatin.

7.1.4. Độc tố

Độc tố của trực khuẩn than gồm cả nội độc tố và ngoại độc tố.

7.1.5. Cấu trúc kháng nguyên

- Kháng nguyên vỏ là polypeptid.
- Kháng nguyên thân là polyozid.
- Kháng nguyên phức hợp hoà tan có khả năng miễn dịch khi bào chế thành vaccin.

7.1.6. 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 sau 10 phút hoặc các chất giàu oxy (H₂O₂, thuốc tím). Nha bào tồn tại 20 – 30 năm ở trong đất.

7.2. Khả năng gây bệnh

7.2.1. 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 và súc vật ăn cỏ sẽ dễ mắc bệnh.

7.2.2. Gây bệnh cho người

Người bị mắc bệnh than do tiếp xúc với da hay thịt, lông động vật bị bệnh. Bệnh thường gặp 3 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 công nhân lò mổ và thuộc da. Thể này chiếm tới 90%.

- Thể phổi: Người mắc bệnh do hít phải nha bào vào 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 hạch 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 sung huyết các mô. Trực 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 vũ khí sinh học. Vấn đề này đã xảy ra ở nước Mỹ năm 2001.

7.2.3. 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.

7.3. Chẩn đoán vi sinh học

7.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: Tùy thuộc vào thể bệnh mà bệnh phẩm có thể là các nốt mụn ở da, đờm, máu.
- Nhuộm soi: Có giá trị định hướng, nhuộm Gram tìm vi khuẩn.
- Nuôi cấy:
 - + Bệnh phẩm là mụn, 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 hoá học.
 - + Bệnh phẩm là máu: Cấy máu ở tất cả bệnh nhân mắc bệnh than, phải theo dõi ít nhất 1 tuần, nếu có vi khuẩn thì xác định tính chất sinh hoá học.

7.3.2. 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.

7.3.3. Chẩn đoán gián tiếp

Tìm kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân.

7.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + 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.
- Dùng vaccin cho các đối tượng có nguy cơ.
- Điều trị:
Penicillin là thuốc có tác dụng tốt với trực khuẩn than.

8. VI KHUẨN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*

8.1. Đặc điểm sinh vật học

8.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

H. influenzae là vi khuẩn đa hình thái, nhuộm bắt màu Gram(–). Không có lông, không di động, có thể có vỏ, không sinh nha bào.



Hình 8.18. *Haemophilus influenzae* (ảnh dưới kính hiển vi quang học)

8.1.2. Tính chất nuôi cấy

Vi khuẩn hiếu khí, chỉ phát triển trên môi trường có 2 yếu tố X và V. Yếu tố X bao gồm các chất màu chứa sắt như Hemin, Hematin. Yếu tố V là NAD (nicotinamide dinucleotide) nằm trong tế bào máu. Nhiệt độ thích hợp 37°C, khí trường 5%CO₂.

8.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Lên men đường glucose.
- Catalase (+).

8.1.4. Cấu trúc kháng nguyên

H. influenzae có kháng nguyên vỏ có bản chất là polysaccharid. Dựa vào kháng nguyên vỏ chia 6 typ huyết thanh: a, b, c, d, e, f. Typ b thường gặp gây bệnh. 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.

8.1.5. Sức đề kháng

H. influenzae có sức đề kháng rất yếu.

8.2. 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, 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.

8.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

8.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: Dịch mũi họng, dịch não tủy, máu,...
- Nhuộm soi quan sát hình thể.
- Nuôi cấy bệnh phẩm vào môi trường thích hợp. Sau 18 – 24 giờ nhuộm soi khuẩn lạc và xác định các tính chất sinh hoá học.
- Tìm kháng nguyên vỏ typ b trong bệnh phẩm bằng kỹ thuật miễn dịch.

8.3.2. Kỹ thuật PCR phát hiện đoạn ADN đặc hiệu

8.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + Phòng đặc hiệu vaccin được tinh chế từ vỏ polysaccharid của *H. influenzae* typ b.
 - + Phòng không đặc hiệu: Bệnh nhân viêm màng não do *H. influenzae* phải được cách ly, dùng kháng sinh dự phòng cho những người có tiếp xúc.
- Điều trị: 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 cephalosporin như cefotaxim, ceftriaxon.

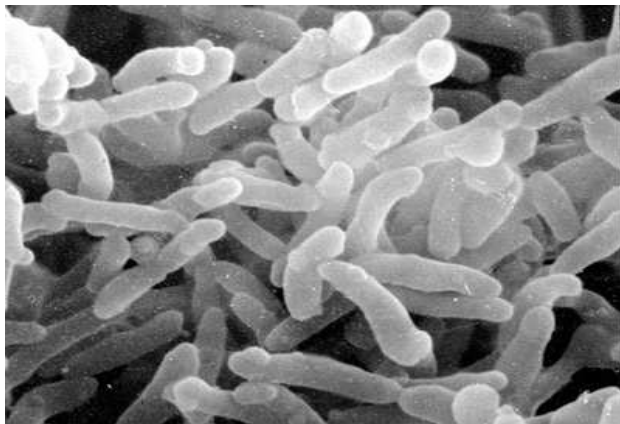
9. TRỰC KHUẨN BẠCH HẦU (*Corynebacterium diptheriae*)

Năm 1884, Löffler 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–Löffler.

9.1. Đặc điểm sinh vật học

9.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn hình thẳng, có 1 hoặc 2 đầu phình to như hình trụ, không vỏ, không sinh nha bào. Nhuộm Gram bắt màu Gram(+), nhuộm Albert vi khuẩn bắt màu xanh.



Hình 8.19. Trực khuẩn bạch hầu (ảnh dưới kính hiển vi điện tử)

9.1.2. Tính chất nuôi cấy

Trực khuẩn phát triển trên môi trường giàu chất dinh dưỡng, nhiệt độ thích hợp là 37°C. Môi trường nuôi cấy thường dùng là: môi trường huyết thanh đông (Löffler), môi trường trứng, môi trường Schroer (thạch máu có muối kali telurit).

9.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Enzym urease (–), đây là tính chất quan trọng để phân biệt với trực khuẩn giả bạch hầu.
- Catalase (+), indol (–).
- Lên men không sinh hơi đường glucose, maltose.
- Không lên men đường lactose.

Dựa vào tính chất sinh hoá học để phân biệt trực khuẩn bạch hầu và trực khuẩn giả bạch hầu có ở hòng:

Tính chất \ Vi khuẩn	Urease	Glucose	Maltose	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 chia thành 3 typ sinh học là: *Gravis*, *Mitis* và *Intermedius*, với các đặc điểm sau:

Tính chất \ Typ	Gravis	Mitis	Intermedius
Hình thể trực khuẩn	Ngắn	Dài	Trung bình
Khuẩn lạc	R	S	Trung gian
Thủy phân tinh bột	Có	Không	Không

Ba typ sinh học trên có sự khác nhau về khả năng gây bệnh: *Gravis* thường gây dịch bạch hầu lớn, còn *Mitis* gây dịch tản phát, nhưng tồn tại dai dẳng. Dịch bạch hầu ở nước ta thường do *Mitis*.

9.1.4. Cấu trúc kháng nguyên

Có 2 loại: Kháng nguyên thân O và kháng nguyên bề mặt K.

9.1.5. Độc tố

- Ngoại độc tố, bản chất là glycoprotein.
- Ngoại độc tố bạch hầu được xử lý bằng formalin 0,5% ở 37°C thì không còn khả năng gây bệnh nhưng còn tính kháng nguyên và được dùng để điều chế vaccin phòng bệnh bạch hầu rất hiệu quả.

9.1.6. Sức đề kháng

Tương đối cao, vi khuẩn có thể sống được 2 – 3 tuần trong đồ dùng dụng cụ, 5 tuần trong bụi. Bị chết ở 58°C sau 10 phút, 100°C sau 1 phút. Bị chết dưới ánh sáng mặt trời trong vài giờ.

9.2. 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, cơ thể thu được miễn dịch. Đây là một bệnh dịch nguy hiểm ở trẻ em.

9.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

- Bệnh phẩm: Màng giả bạch hầu, dịch ngoáy họng.
- Nhuộm soi: Bệnh phẩm thường được nhuộm bằng phương pháp Gram và Albert hoặc xanh methylen.
- Nuôi cấy phân lập: Bệnh phẩm được nuôi cấy vào môi trường phân lập thích hợp như môi trường trứng, môi trường huyết thanh đông, môi trường Schroer. Nhuộm soi khuẩn lạc, nếu là trực khuẩn Gram(+) thì kiểm tra các tính chất của trực khuẩn bạch hầu.
- Xác định độc tố bạch hầu:
Để khẳng định trực khuẩn bạch hầu có độc lực, cần xác định độc tố của chúng, có thể dùng 2 phản ứng sau:
 - + Phản ứng trung hoà trên chuột lang.
 - + Phản ứng Elek.

9.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + Phòng đặc hiệu: Vaccin là giải độc tố bạch hầu.
 - + Phòng không đặc hiệu: Phát hiện sớm và cách ly triệt để bệnh nhân, dập tắt kịp thời khi có dịch xảy ra.
- Điều trị:
 - + Dùng kháng độc tố bạch hầu SAD (serum anti diphterique).
 - + Dùng kháng sinh diệt khuẩn: Tốt nhất là penicillin, erythromycin.
 - + Chế độ điều dưỡng thích hợp để phòng biến chứng tim mạch.

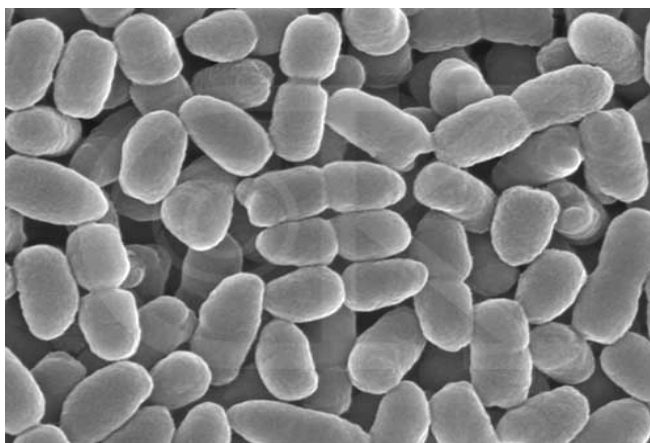
10. TRỰC KHUẨN HO GÀ (*Bordetella pertussis*)

Trực khuẩn ho gà thuộc chi *Bordetella* họ *Alcaligenaceae* do J. Bordet và O. Gengou phân lập từ một bệnh nhi bị ho gà năm 1906.

10.1. Đặc điểm sinh vật học

10.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

B. pertussis hình cầu trực khuẩn nhỏ, bắt màu Gram(–), vi khuẩn không có lông mà có các sợi ngưng kết hồng cầu (filamentous hemagglutinin – FHA). FHA giúp vi khuẩn bám vào tế bào có lông chuyên của biểu mô hô hấp.



Hình 8.20. Trực khuẩn ho gà

10.1.2. Tính chất nuôi cấy

B. pertussis hiếu khí tuyệt đối, nhiệt độ thích hợp là 37°C, rất khó nuôi cấy trên các môi trường thông thường. Mọc chậm trên môi trường Bordet–Gengou.

10.1.3. Tính chất sinh hoá học

B. pertussis chuyển hoá đường theo lối hô hấp, không bao giờ lên men.

10.1.4. Sức đề kháng

Đề kháng yếu với các yếu tố ngoại cảnh, chết nhanh khi ra khỏi cơ thể.

10.1.5. Độc lực

– Độc tố ho gà (pertussis toxin–PT) là ngoại độc tố có bản chất là protein, gây ra các triệu chứng lâm sàng của bệnh.

– Độc tố tế bào khí quản gây tổn thương các tế bào có lông chuyển biểu mô đường hô hấp.

10.1.6. Kháng nguyên

FHA và PT là những kháng nguyên mạnh và quan trọng nhất, ngoài ra vi khuẩn còn có các yếu tố kháng nguyên chịu nhiệt.

10.2. Khả năng gây bệnh

Gây bệnh ho gà là bệnh nhiễm trùng nhiễm độc hô hấp cấp tính nặng và rất dễ lây lan ở trẻ em. Người là vật chủ duy nhất của *B. pertussis*, vi khuẩn ký sinh trên niêm mạc hô hấp, bám vào các tế bào có lông chuyển bằng sợi ngưng kết hồng cầu và tiết các độc tố làm tổn thương niêm mạc dẫn đến những cơn ho dữ dội. Niêm mạc hô hấp bị tổn thương thường dẫn đến bội nhiễm vi khuẩn gây viêm phổi làm tình trạng bệnh càng trầm trọng. Trong trường hợp ho gà nặng, có thể gây hạ đường huyết và tổn thương não do thiếu oxy, gây biến chứng, ảnh hưởng đến trí tuệ của trẻ.

Trẻ sơ sinh không mắc ho gà vì còn kháng thể của mẹ. Nhưng nếu không được tiêm chủng thì lứa tuổi 1 – 5 dễ mắc bệnh nhất do lúc này miễn dịch thụ động đã hết trong khi miễn dịch chủ động chưa được thiết lập. Sau mắc bệnh có miễn dịch bền vững lâu dài.

10.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

10.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm là dịch mũi họng.
- Nhuộm soi theo kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp.
- Nuôi cấy vào môi trường thích hợp xác định tính chất sinh học đặc trưng.
- Kỹ thuật PCR tìm đoạn ADN đặc trưng.

10.3.2. Chẩn đoán gián tiếp

Tìm kháng thể kháng PT và FHA đặc hiệu trong huyết thanh.

10.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + Phát hiện sớm, cách ly bệnh nhân.
 - + Tiêm vaccin cho trẻ em trong chương trình tiêm chủng mở rộng.
- Điều trị:
 - + Kháng sinh chọn là erythromycin.
 - + Chế độ chăm sóc và dinh dưỡng thích hợp.

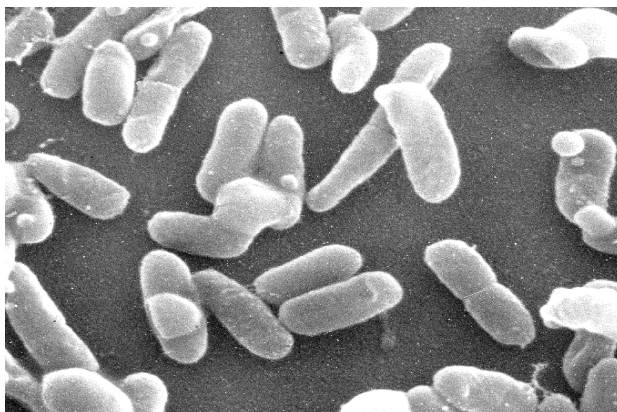
11. TRỰC KHUẨN MŨ XANH (*Pseudomonas aeruginosa*)

Trực khuẩn mũ xanh thuộc họ *Pseudomonaceae* chi *Pseudomonas* do Schroeter mô tả năm 1872. Năm 1900, Migula chuyển sang chi *Pseudomonas*.

11.1. Đặc điểm sinh vật học

11.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

Trực khuẩn thẳng hoặc hơi cong, hai đầu tròn. Có một lông ở một đầu, di động, ít khi có vỏ, không sinh nha bào. Nhuộm bắt màu Gram(-).



Hình 8.21. Trực khuẩn mủ xanh (ảnh dưới kính hiển vi điện tử)

11.1.2. 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, pH thích hợp 7,2 – 7,5.

Trên môi trường đặc có thể gặp 2 loại khuẩn lạc: 1 loại to, nhẵn, dẹt, trung tâm lõm lên, có xu hướng mọc lan; 1 loại xù xì, bờ không đều, đôi khi có loại khuẩn lạc nhày.

Trong môi trường lỏng vi khuẩn mọc vẩn ở trên, môi trường đục.

11.1.3. Sắc tố

Tính chất đặc trưng của trực khuẩn mủ xanh là sinh sắc tố và chất thơm. Có 2 loại sắc tố chính:

– Pyocyanin: Có màu xanh lá cây. Đa số trực khuẩn mủ xanh sinh sắc tố này. Sắc tố này làm cho mủ vết thương do trực khuẩn có màu xanh.

– Pyoverdin là loại sắc tố huỳnh quang. Sắc tố này không bền vững, dễ bị mất đi trong điều kiện nuôi cấy không tốt.

Sắc tố của trực khuẩn mủ xanh dưới ảnh hưởng của các nhân tố hoá học có thể thay đổi thành sắc tố nâu, đen.

Chất thơm do trực khuẩn mủ xanh sinh ra là kimetylamin.

11.1.4. Tính chất sinh hoá học

- Không lên men đường lactose.
- Oxydase (+), catalase (+).
- Indol (-); H₂S (-).

11.1.5. Cấu tạo kháng nguyên

- Kháng nguyên lông H.
- Kháng nguyên thân O.

11.1.6. Sức đề kháng

Trực khuẩn mủ xanh bị tiêu diệt ở nhiệt độ 100°C và các thuốc sát khuẩn thông thường.

11.2. Khả năng gây bệnh

Trực khuẩn mủ xanh thường sống ở trong đất, nước hoặc trên da, 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 mãn tính.

Trực khuẩn mủ xanh có ở nhiều nơi, như trong 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.

11.3. Chẩn đoán vi khuẩn học

- Bệnh phẩm: Mủ, dịch màng phổi, dịch màng bụng, dịch não tủy, nước tiểu, máu tủy theo từng thể bệnh.
- Nhuộm Gram.
- Nuôi cấy trên môi trường thích hợp. 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 hoá học.

11.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh: Ngăn ngừa nhiễm trực khuẩn mủ xanh bằng các biện pháp vệ sinh, khử trùng nhất là ở các bệnh viện và cơ sở y tế.
- Điều trị: Trực khuẩn mủ xanh đã kháng lại rất nhiều loại kháng sinh. Hiện nay, loại kháng sinh còn tác dụng là amikacin hay các cephalosporin thế hệ 3. Tốt nhất cần điều trị theo kháng sinh đồ.

12. HELICOBACTER 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*.

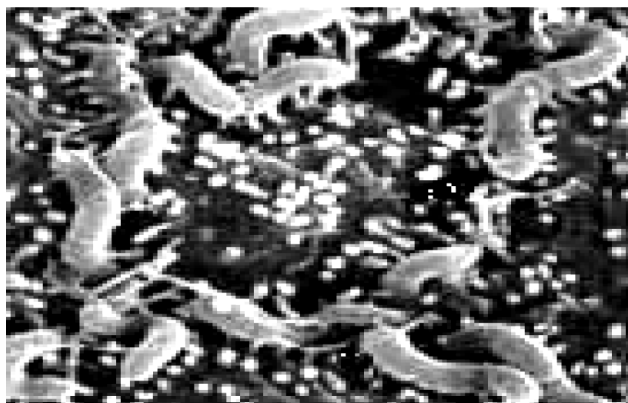
12.1. Đặc điểm sinh vật học

12.1.1. Hình thể và tính chất bắt màu

H. pylori có hình xoắn hoặc hơi cong. Di động mạnh do có chùm lông ở đầu, không có vỏ, không sinh nha bào, bắt màu Gram(-).

12.1.2. Tính chất nuôi cấy

Nuôi cấy *H. pylori* rất khó. Môi trường nuôi cấy phải giàu dinh dưỡng và một số yếu tố đặc biệt, nhiệt độ thích hợp 37°C và khí trường 7% CO₂. Trên môi trường nuôi cấy sau 48 – 72 giờ, khuẩn lạc trong hoặc xám nhạt, đôi khi tan máu đường kính khoảng 1mm.



Hình 8.22. *Helicobacter pylori*

12.1.3. Tính chất sinh hoá học

- Urease(+).
- Catalase (+), oxydase (+).
- Nitrat (-).

12.1.4. Sức đề kháng

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, vì *H. pylori* có khả năng tiết urease rất mạnh, phân giải ure trong dạ dày tạo thành amoniac bao quanh vi khuẩn, làm cho vi khuẩn chịu được môi trường acid.

12.1.5. Kháng nguyên

- Kháng nguyên lông H: Bản chất là protein.
- Kháng nguyên thân O: Bản chất là lipopolysaccharid chịu nhiệt, kháng nguyên này có tính độc với tế bào túc chủ.
- Kháng nguyên là các enzym: Một số kháng nguyên là các men có vai trò quan trọng liên quan đến khả năng gây bệnh như urease, catalase, histaminase, adhesin giúp vi khuẩn bám vào tế bào niêm mạc.

12.1.6. Độc tố: Có 2 loại

- Độc tố gây loét tá tràng.
- Độc tố gây tăng tiết dịch vị.

12.2. Phân loại

Hiện nay đã tìm thấy 15 loài trong giống *Helicobacter*, trong đó có 4 loài ký sinh ở người nhưng chỉ có *H. pylori* gây bệnh.

12.3. Khả năng gây bệnh

Ước tính 5 – 10% dân số thế giới bị bệnh đau dạ dày, tỷ lệ này ở Việt Nam là 7%. Điểm quan trọng nhất y học khám phá ra là có đến 70% số dân có nguy cơ mắc bệnh và nguyên nhân đã được xác định là do *H. pylori*.

H. pylori gây viêm loét dạ dày, tá tràng do tiết ra các enzym làm suy thoái màng nhầy bảo vệ dẫn đến viêm và loét. *H. pylori* còn tiết ra độc tố gây độc và phá hủy tế bào và độc tố gây tăng tiết dịch vị.

Tổ chức y tế thế giới đã xác định *H. pylori* cũng là một trong những tác nhân gây ung thư dạ dày. Nguy cơ ung thư dạ dày ở người nhiễm *H. pylori* sẽ tăng từ 6 – 10 lần so với người không

nhiễm. *H. pylori* có mặt trong khoảng 65 – 70% trường hợp viêm dạ dày, 70 – 80% ung thư dạ dày, hơn 90% loét dạ dày hoặc tá tràng.

Sự lây truyền bệnh qua đường tiêu hoá; ruồi là trung gian truyền bệnh quan trọng.

12.4. Chẩn đoán vi khuẩn học

12.4.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: Mảnh sinh thiết vùng viêm, ổ loét của dạ dày, tá tràng.
- Nhuộm soi: Nhuộm Gram.
- Nuôi cấy: Nghiền bệnh phẩm rồi nuôi cấy vào môi trường thích hợp, xác định tính chất sinh hoá học của vi khuẩn.
- Kỹ thuật khuếch đại gen PCR: Kỹ thuật này cho phép phát hiện được đoạn gen đặc hiệu của *H. pylori* ở cả mảnh sinh thiết dạ dày, dịch dạ dày.

12.4.2. Chẩn đoán gián tiếp

- Test urease trong bệnh phẩm: Dựa vào khả năng sinh urease rất mạnh của *H. pylori*.
- Test urease trong hơi thở: Phát hiện sự có mặt của men urease trong trường hợp viêm niêm mạc dạ dày do nhiễm *H. pylori*.
- Tìm kháng thể trong huyết thanh bệnh nhân. Phương pháp này có giá trị cao trong chẩn đoán dịch tễ học.

12.5. Phòng bệnh và điều trị

– 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.

– Điều trị:

- + Dùng kháng sinh diệt khuẩn: amoxicillin, clarithromycine.
- + Điều trị viêm loét và tăng tiết dịch vị.
- + Chế độ ăn tránh các chất kích thích như chua, cay,....

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày đặc điểm sinh vật học của tụ cầu vàng.
2. Nêu 4 loại enzym ứng dụng trong chẩn đoán VSV tụ cầu vàng.
3. Nêu 4 thể bệnh do tụ cầu vàng gây ra
4. Nêu các bước trong chẩn đoán VSV tụ cầu vàng.
5. Trình bày đặc điểm sinh vật học của liên cầu.
6. Tên enzym có tác dụng làm tan tơ huyết của liên cầu.
7. Trên môi trường thạch máu, liên cầu có những hình thức tan máu nào?
8. Nêu các bước trong chẩn đoán trực tiếp liên cầu nhóm A.
9. Nêu nguyên lý của phương pháp chẩn đoán gián tiếp liên cầu nhóm A.
10. Trình bày đặc điểm sinh học và các yếu tố độc lực của phế cầu.
11. Nêu tên kháng nguyên quan trọng để định typ phế cầu.
12. Nêu các bước trong chẩn đoán trực tiếp phế cầu.
13. Trình bày đặc điểm sinh học của não mô cầu.
14. Tên kháng nguyên quan trọng để định nhóm não mô cầu.
15. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của lậu cầu.

16. Phương pháp chẩn đoán trực tiếp lậu cầu.
17. Tính chất hoá sinh quan trọng để phân biệt lậu cầu và não mô cầu.
18. Trình bày đặc điểm sinh học của *Haemophilus influenza*.
19. Nêu phương pháp chẩn đoán trực tiếp *Haemophilus influenza*.
20. Trình bày đặc điểm sinh học của *Salmonella*.
21. Kể tên 4 loại *Salmonella* gây bệnh thương hàn.
22. Trình bày 2 thể bệnh lâm sàng do *Salmonella*.
23. Nêu các thời điểm lấy bệnh phẩm chẩn đoán bệnh thương hàn.
24. Nêu phương pháp chẩn đoán vi sinh bệnh thương hàn.
25. Trình bày đặc điểm sinh học của *Shigella*.
26. Kể tên 4 nhóm vi khuẩn *Shigella*.
27. Nêu các bước trong chẩn đoán vi sinh trực khuẩn *Shigella*.
28. Trình bày đặc điểm sinh học của *E. coli*.
29. Nêu tên 5 nhóm *E. coli* gây tiêu chảy.
30. Nêu phương pháp chẩn đoán trực tiếp *E. coli*.
31. Trình bày đặc điểm sinh học của phẩy khuẩn tả.
32. Nêu cấu tạo kháng nguyên và phân loại phẩy khuẩn tả.
33. Nêu tính chất sinh học quan trọng để phân biệt *V. cổ điển* và *V. Eltor*.
34. Nêu phương pháp chẩn đoán trực tiếp trực khuẩn tả.
35. Trình bày đặc điểm sinh học của trực khuẩn lao.
36. Nêu phương pháp chẩn đoán trực tiếp trực khuẩn lao.
37. Trình bày về phương pháp phòng và nguyên tắc điều trị bệnh lao.
38. Trình bày đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn phong.
39. Trình bày đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của xoắn khuẩn giang mai.
40. Trình bày đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của xoắn khuẩn *Leptospira*.
41. Trình bày đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn uốn ván.
42. Trình bày đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn bạch hầu.
43. Trình bày đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của trực khuẩn mủ xanh.
44. Trình bày đặc điểm sinh vật học và khả năng gây bệnh của vi khuẩn *H. pylori*.

Chương 9

VI NẤM GÂY BỆNH

MỤC TIÊU

1. Trình bày được 3 cơ chế gây bệnh của vi nấm và cho các ví dụ minh họa.
2. Trình bày được bệnh do aflatoxin (aflatoxicosis): định nghĩa, phân loại, tác hại và cách phòng tránh bệnh.
3. Trình bày được đặc điểm dịch tễ học, nấm học, lâm sàng, phương pháp chẩn đoán và liệu pháp điều trị các bệnh nấm ký sinh:
 - + Các bệnh nấm ngoại biên.
 - + Các bệnh nấm da.
 - + Các bệnh nấm dưới da.
 - + Các bệnh nấm toàn thân.

1. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây trên thế giới, các bệnh do vi nấm gây ra xuất hiện ngày một tăng. Theo nhiều chuyên gia trong lĩnh vực lâm sàng đánh giá thì mối đe dọa của vi nấm đối với sức khỏe con người nói riêng và động vật nói chung chỉ đứng sau virus và vi khuẩn. Sự phát triển các bệnh do vi nấm gây ra trong vài thập niên trở lại đây là do nhiều nguyên nhân. Trong đó một nguyên nhân quan trọng không thể không nói đến, đó là sự bùng nổ của đại dịch AIDS. Sự lây nhiễm virus HIV đã làm tổn thương hệ thống miễn dịch và là cơ hội cho các bệnh nấm xuất hiện. Tiếp đến là các nguyên nhân như việc sử dụng kháng sinh, các chất corticoid một cách tùy tiện cũng là yếu tố quan trọng làm gia tăng các bệnh do nấm. Bên cạnh đó, số người bị bệnh tiểu đường ngày một tăng (cơ địa của người mắc bệnh tiểu đường dễ bị mắc một số bệnh nấm), các ca ghép cơ quan đặc biệt là ghép thận cũng không ngừng tăng lên là những cơ hội cho nấm lây nhiễm và gây bệnh. Trong khi đó, việc đầu tư cho nghiên cứu sản xuất các thuốc kháng sinh kháng nấm chưa được chú ý cả về thời gian lẫn kinh phí. Ngoài những yếu tố trên, điều kiện khí hậu nóng ẩm, điều kiện sống, điều kiện vệ sinh phòng bệnh nói chung còn thấp như ở nước ta cũng là những yếu tố thuận lợi cho sự phát triển của các bệnh do vi nấm gây ra.

2. ĐẶC ĐIỂM VÀ PHÂN LOẠI VI NẤM

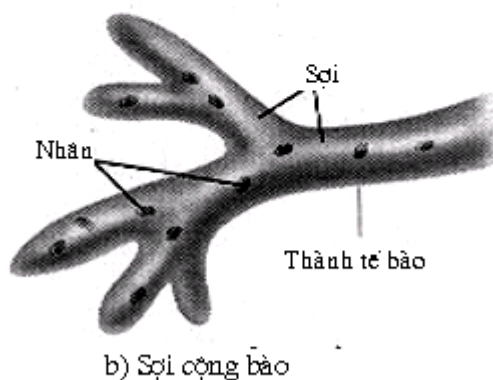
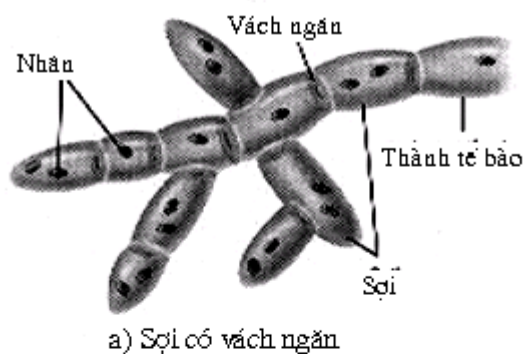
2.1. Đặc điểm của vi nấm

Vi nấm thuộc nhóm sinh vật nhân thật (Eucaryota), cơ thể nấm không có mạch, sinh sản bằng bào tử và thường phát tán vào môi trường nhờ gió. Bào tử của nấm gồm 2 loại: bào tử hữu tính và bào tử vô tính. Các loại bào tử này được sinh ra tùy thuộc vào loài và các điều kiện ngoại cảnh. Nấm giống thực vật đều có sự thay đổi thể hệ. Nấm không có khả năng di động, ngoại trừ một số rất ít thuộc Bộ Nấm roi (*Chytridiales*) có pha di động. Thể sinh dưỡng của nấm có thể là đơn bào (nấm men) hoặc dạng sợi (nấm mốc). Một số loài nấm có dạng lưỡng hình (tồn tại cả 2 dạng trên ở các điều kiện môi trường khác nhau). Thành tế bào của nấm có cấu trúc tương tự thành tế bào thực vật nhưng khác nhau về thành phần hoá học: thành tế bào nấm cấu tạo chủ yếu là chất chitin, thành tế bào thực vật cấu tạo chủ yếu là cellulose. Nấm không phải là các sinh vật tự dưỡng mà là các sinh vật dị dưỡng. Cũng là sinh vật dị dưỡng nhưng nấm khác với động vật ở chỗ, động vật nuốt thức ăn vào dạ dày rồi mới tiêu hoá còn nấm thì ngược lại, tiết ra các enzym ngoại bào phân giải các chất hữu cơ phức tạp thành các chất đơn giản rồi mới hấp thu vào cơ thể. Nấm tích trữ năng lượng dưới dạng glycogen như động vật và khác với thực vật tích trữ năng lượng dưới dạng tinh bột. Màng tế bào nấm có một sterol duy nhất, đó là

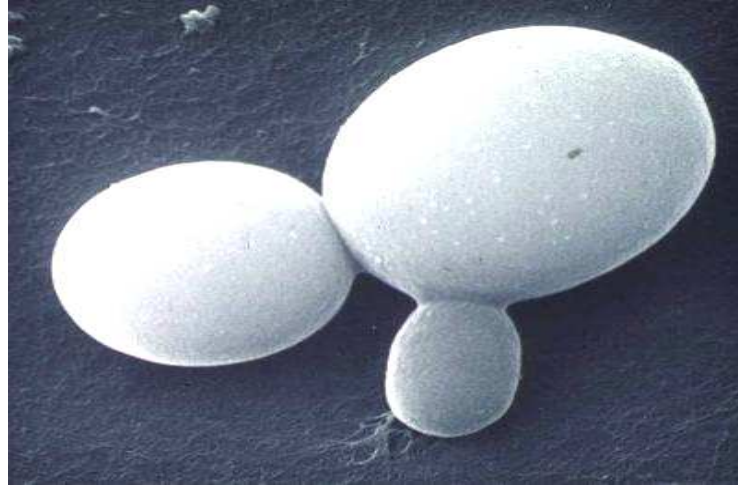
ergosterol, chất thay thế cho cholesterol có ở màng tế bào động vật có vú. Hầu hết nấm có nhân tế bào rất nhỏ và ADN ít trùng lặp. Quá trình nguyên phân nói chung được kết thúc mà không có sự phân huỷ màng nhân. Tùy thuộc vào loài và điều kiện ngoại cảnh, nấm có thể có các trạng thái dinh dưỡng: hoại sinh, ký sinh và cộng sinh.

2.1.1. Hình dạng và cấu trúc

Các loại nấm gây bệnh có 2 dạng: dạng sợi gọi là nấm mốc, dạng đơn bào gọi là nấm men. Nấm mốc phát triển thành các ống dạng sợi, nhỏ bé, thường không nhìn thấy bằng mắt thường và phân nhánh. Các đoạn sợi này được gọi là hyphae và tập trung thành hệ sợi (mycelium). Hệ sợi là cái mà chúng ta nhìn thấy khi chúng ta quan sát lớp màu trắng trên các loại quả bị mốc. Các sợi (hyphae) hoặc có vách ngăn, hoặc dạng cộng bào (sợi đa nhân nhưng không có các vách ngăn riêng từng tế bào) (hình 9.1). Đây là các đặc điểm hình thái của nấm được sử dụng trong chẩn đoán xác định nấm ở các labo xét nghiệm. Trên thạch, các sợi phát triển lan ra từ điểm cấy bằng việc phát triển các chóp sợi và sau đó phân thành các nhánh. Dạng nấm men là các tế bào đơn, hình trứng hoặc hình cầu với thành tế bào cứng và phức hợp tế bào cũng tương tự như dạng sợi. Hầu hết nấm men phân chia theo kiểu nảy chồi (hình 9.2), một số ít loài khác phân chia theo kiểu phân đôi (fission) giống vi khuẩn. Trên môi trường thạch chúng hình thành các khuẩn lạc tương tự các khuẩn lạc của vi khuẩn nhưng thường lớn hơn đáng kể. Một số tạo ra các vỏ (capsule) có cấu tạo bởi polysaccharid, một đặc tính quan trọng của loài *Cryptococcus neoformans*, một tác nhân gây bệnh viêm màng não rất thường gặp ở bệnh nhân AIDS.



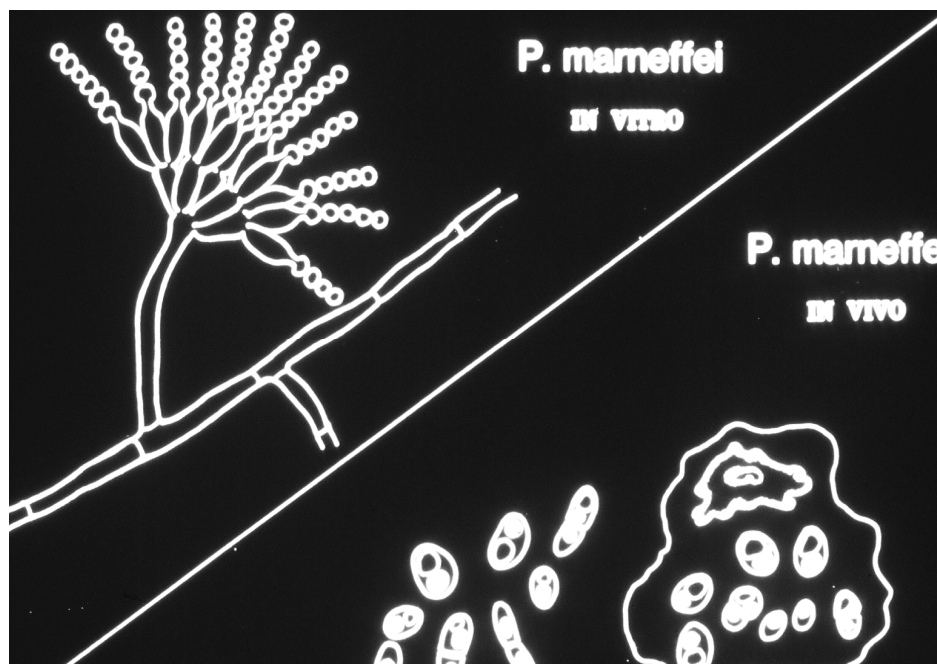
Hình 9.1. Dạng sợi nấm có vách ngăn (a) và dạng cộng bào (sợi không có vách ngăn) (b).



Hình 9.2. Sinh sản nảy chồi của nấm men

2.1.2. Tính lưỡng hình và sự phát triển

Nhiều loại nấm gây bệnh có khả năng tồn tại ở hai dạng hình thái khác nhau, đó là khả năng tồn tại hoặc dạng nấm sợi hoặc dạng nấm men tùy thuộc vào điều kiện môi trường phát triển. Ví dụ, các tác nhân của penicilliosis và histoplasmosis lần lượt là *Penicillium marneffe* và *Histoplasma capsulatum* phát triển như một nấm men ở một số điều kiện và phát triển thành dạng sợi ở một số điều kiện khác (hình 9.3).



Hình 9.3. Hiện tượng lưỡng hình của *Penicillium marneffe*

Hiện tượng này được gọi là tính lưỡng hình (dimorphism). Ở điều kiện phòng thí nghiệm, sự chuyển đổi giữa hai pha này có thể được tạo ra một cách thuận nghịch bởi sự thay đổi nhiệt độ. Pha nấm men điển hình hơn ở nhiệt độ cơ thể người. Sự chuyển đổi nấm men – nấm sợi hoặc nấm sợi –

nấm men thường xuyên xuất hiện khi một loài nấm sống tự do ở ngoài môi trường trở thành một sinh vật ký sinh. Hầu hết các loài nấm gây ra các bệnh toàn thân như các tác nhân của *histoplasmosis* và *blastomycosis*, sẽ có dạng nấm men khi ký sinh ở người, và có dạng sợi khi phát triển ở ngoài môi trường (chủ yếu là trong đất). Trong một số ít trường hợp không bình thường như *Candida* quy luật này bị đảo ngược, dạng sợi (đúng hơn là giả sợi) thường tìm thấy trong các mô của vật chủ (hình 9.4). Không phải tất cả các loại nấm gây bệnh đều tồn tại dưới dạng lưỡng hình và trải qua sự biến đổi hình thái khi chúng xâm nhiễm vào cơ thể: chi *Aspergillus* là một trong số nấm mốc phổ biến nhất ở ngoài môi trường và luôn tồn tại ở dạng nấm sợi. Trái lại loài *Cryptococcus neoformans* thì luôn tồn tại ở dạng nấm men. Một số loại nấm men nhất định, đặc biệt là các loài của chi *Candida* đã xuất hiện một dạng nảy chồi biến đổi, trong đó, các tế bào con mới được tạo thành do nảy chồi vẫn dính vào các tế bào mẹ và trở thành chuỗi dài giống như sợi. Sự kết hợp này được gọi là các sợi giả hay giống sợi (pseudohyphae), hoặc tạo thành là hệ sợi giả (pseudomycelium). Hầu hết các vấn đề về sinh học phân tử và di truyền của các loại nấm đã được nghiên cứu ứng dụng, đặc biệt là nấm men bia hoặc nấm men bánh mì (baker's or brewer's yeast) *Saccharomyces cerevisiae* và ở tầm hẹp hơn là các loại nấm sợi như *Aspergillus nidulans* và *Neurospora crassa*. Ít được biết hơn là các loại nấm gây bệnh mặc dầu nhiều công trình nghiên cứu đang được tiến hành về các khía cạnh như khả năng gây bệnh, mức độ nguy hiểm của bệnh do chúng gây ra và các dạng hình thái chuyển đổi của chúng. Ở điều kiện phòng thí nghiệm, hầu hết nấm phát triển trên các môi trường tương tự như các môi trường dùng nuôi cấy vi khuẩn, nhưng thường ở pH thấp hơn. Đa số nấm là các sinh vật hiếu khí, nhưng nấm men bánh mì có thể phát triển trong các giai đoạn ngắn không có oxy. Nói chung, nấm ưa nhiệt độ từ 25 – 30°C, mặc dầu vậy, một số loài có khả năng gây ra các bệnh nấm sâu, phát triển tốt ở 37°C hoặc lớn hơn. Một tác nhân gây bệnh ưa nhiệt điển hình là loài *A. fumigatus* có khả năng phát triển tốt ở nhiệt độ cao tới 50°C.



Hình 9.4. Hình thái giả sợi của *Candida albicans*

2.2. Phân loại nấm

Dựa vào phương thức sinh sản bào tử hữu tính của nấm hiện nay người ta chia giới nấm thành 4 ngành và một nhóm sau đây:

2.2.1. Ngành nấm roi (*Chytridiomycota*)

Hầu hết là nấm thuỷ sinh và sống dị dưỡng, một số có thể ký sinh gây các bệnh ở thực vật. Các

bào tử hữu tính và cả bào tử vô tính đều có roi và có khả năng di động.

2.2.2. Ngành nấm tiếp hợp (*Zygomycota*)

Là ngành rất phổ biến và thường được gọi là mốc bánh mỳ. Hầu hết sống hoại sinh, nhưng cũng có khá nhiều loài sống ký sinh gây bệnh ở người và thực vật. Ngoài ra trong ngành này có bộ *Glomales*, sống cộng sinh khá phổ biến với khoảng 70% thực vật trên thế giới. Các bào tử hữu tính là dạng bào tử nghỉ, có thành dày, và được gọi là bào tử tiếp hợp (zygospore). Các bào tử vô tính được sinh ra trong một nang gọi là nang bào tử (sporangium).

2.2.3. Ngành nấm túi (*Ascomycota*)

Ngành này bao gồm các loại nấm sợi và đa số nấm men. Hầu hết các tác nhân gây bệnh ở thực vật đều thuộc ngành này. Các bào tử hữu tính được sinh ra trong một túi gọi là ascus. Các bào tử vô tính được sinh ra bên ngoài (bào tử trần) được gọi là conidi.

2.2.4. Ngành nấm đảm (*Basidiomycota*)

Các bào tử hữu tính của ngành này được sinh ra bên ngoài, trên một cấu trúc hình chùy được gọi là đảm (basidium). Bào tử vô tính thường không có.

2.2.5. Nhóm nấm bất toàn (*Fungi Imperfecti* hay nhóm *deuteromycetes*)

Gồm các loài nấm chưa biết, hoặc không có trạng thái sinh sản hữu tính. Trạng thái vô tính chính là sự hình thành conidi. Bất kỳ một loài nấm nào chưa biết, hay không có trạng thái hữu tính hay quá trình giảm phân trong chu kỳ sống của chúng, để tiện lợi, người ta đều xếp chúng vào nhóm này. Hầu hết các loài của nhóm này có mối quan hệ thân thuộc với ngành nấm túi và đã có khoảng 1.680 chi với 17.000 ngàn loài đã được mô tả và xếp vào nhóm này. Đa số các loài của nhóm này sống trên cạn, hoại sinh hoặc ký sinh ở thực vật. Một số ít ký sinh gây bệnh ở động vật, trong đó có con người.

3. CÁC CƠ CHẾ GÂY BỆNH CỦA VI NẤM

Mặc dầu số lượng chi và loài đã được mô tả của giới nấm là rất lớn (trong từ điển nấm của Hawksworth và cộng sự xuất bản 1983, đã mô tả 6.000 chi với 65.000 loài) nhưng một điều may mắn là chỉ có khoảng 50 loài là có khả năng gây bệnh ở người. Nấm có thể gây bệnh thông qua 3 cơ chế chủ yếu sau đây:

3.1. Gây bệnh thông qua đáp ứng miễn dịch

Một số nấm gây ra các đáp ứng miễn dịch và các đáp ứng này có thể dẫn đến các phản ứng dị ứng (hiện tượng quá mẫn) khi xuất hiện các kháng nguyên nấm đặc hiệu. Ví dụ, các loài của chi *Aspergillus* sống hoại sinh rất phổ biến trong tự nhiên là các tác nhân gây dị ứng thường gặp, có thể gây ra các cơn co thắt phế quản (asthma) và các phản ứng quá mẫn khác.

3.2. Gây bệnh thông qua độc tố (*mycotoxin*)

Các độc tố nấm thường được tạo ra trên các chất hữu cơ chết khi nấm lây nhiễm và phát triển. Mycotoxin (chủ yếu là exotoxin) là các sản phẩm chuyển hoá thứ cấp của nấm, đây là một nhóm lớn các hợp chất đa dạng về cấu trúc. Nhiều chất trong số này rất độc với người và động vật khi ăn phải, hít phải và kể cả khi tiếp xúc với da. Chúng có thể gây ra hàng loạt các tác động xấu đối với sức khỏe con người. Tùy thuộc vào lượng độc tố và thời gian tiếp xúc, chúng có thể gây ra các bệnh cấp tính hay mãn tính và có thể dẫn đến quái thai và ung thư. Ví dụ điển hình nhất của độc tố nấm là aflatoxin, tác nhân gây bệnh nguy hiểm (aflatoxicosis) ở động vật nói chung và con người nói riêng, và các loài nấm chủ yếu sinh độc tố này thường gặp trên các cơ chất thực phẩm bảo quản không hợp lý, nhất là các loại hạt.

3.3. Gây bệnh thông qua nhiễm nấm ký sinh (mycosis)

Nhiều loại nấm có thể gây ra các bệnh ở người thông qua hình thức ký sinh. Sự phát triển của một loài nấm bên trên hay bên trong cơ thể được gọi là một bệnh nấm (mycosis). Tuy trường hợp, các bệnh nấm có thể gây ra các tác hại cho ký chủ ở các mức độ khác nhau từ vô hại (lành tính) đến các bệnh nấm gây khó chịu và các bệnh nặng có thể đe dọa tới tính mạng của người bệnh.

4. BỆNH DO AFLATOXIN (aflatoxicosis)

4.1. Định nghĩa

Aflatoxicosis là bệnh gây ra do con người và động vật ăn phải thực phẩm bị nhiễm aflatoxin, một nhóm chất chủ yếu do 2 loài nấm *Aspergillus flavus* (hình 9.5, hình 9.6) và *A. parasiticus* sinh ra.

4.2. Phân loại và tác hại của bệnh

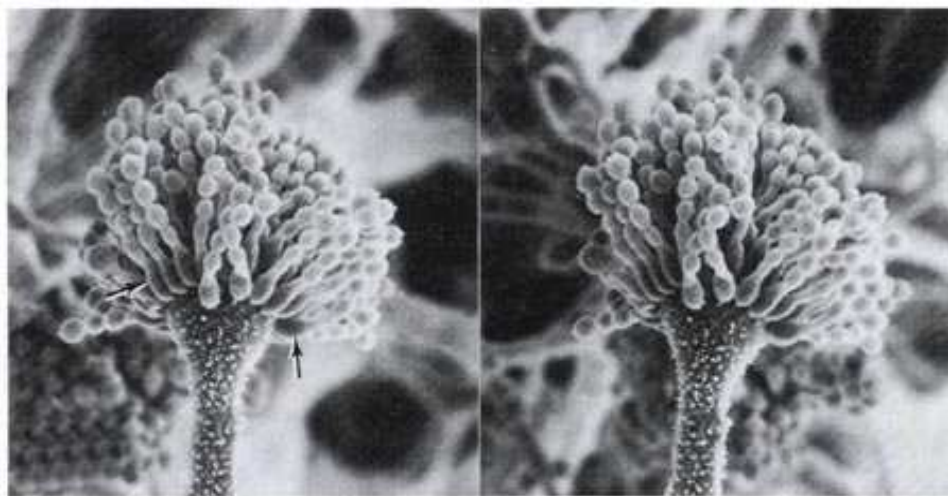
Tùy thuộc vào hàm lượng độc tố và thời gian tiêu thụ thực phẩm mà con người có thể bị các bệnh ngộ độc cấp tính hay mãn tính. Bằng chứng về bệnh do aflatoxin cấp tính ở người đã được thông báo ở nhiều vùng trên thế giới, chủ yếu là ở các nước thế giới thứ ba như Đài Loan, Uganda, Ấn Độ, Thái Lan,... Các hội chứng đặc trưng của bệnh là: nôn mửa, đau bụng, phù phổi, co giật, hôn mê và chết do phù não và nhiễm mỡ gan, thận và tim. Các yếu tố làm tăng khả năng xuất hiện các bệnh do aflatoxin cấp tính ở người bao gồm thành phần dinh dưỡng của thực phẩm và các điều kiện môi trường thuận lợi cho sự phát triển của nấm mốc trên thực phẩm. Ngoài ra, sự quản lý lỏng lẻo và yếu kém như thiếu hệ thống theo dõi, kiểm tra và xử lý các loại thực phẩm và nông sản bị nhiễm aflatoxin cũng góp phần quan trọng trong việc gây ra các bệnh do aflatoxin. Các aflatoxin, đặc biệt là aflatoxin B₁ là các chất gây ung thư mạnh trên một số động vật nên đã thu hút được sự quan tâm của các nhà bệnh lý học đối với các tác động của chúng ở hàm lượng thấp trong thời gian dài đối với con người (ngộ độc mãn tính). Năm 1988, Tổ chức nghiên cứu ung thư quốc tế (International Agency for Research on Cancer) đã xếp aflatoxin B₁ vào danh mục các chất gây ung thư ở người. Cơ sở của quyết định này dựa trên các kết quả nghiên cứu dịch tễ học ở 2 Châu lục Á – Âu, đã đưa ra được mối liên hệ giữa chế độ ăn nhiễm aflatoxin và ung thư tế bào gan ở người. Ngoài ra, sự xuất hiện của các bệnh liên quan tới aflatoxin còn phụ thuộc vào tuổi, giới tính và tình trạng dinh dưỡng cũng như sự xuất hiện đồng thời của các tác nhân nguyên nhân khác như viêm gan do virus hoặc các tổn thương do các loại ký sinh trùng gây ra.

4.3. Phòng bệnh

Để phòng ngừa căn bệnh nguy hiểm này, cần bảo quản tốt lương thực, thực phẩm, không sử dụng các loại lương thực, thực phẩm và thức ăn đã bị mốc. Nếu tận dụng làm thức ăn cho động vật nuôi, cần phải được kiểm tra xử lý trước khi đưa vào sử dụng. Nếu các động vật nuôi ăn phải các thức ăn nhiễm các loại độc tố này thì ngoài các tác hại như giảm cân, giảm sản lượng trứng, sữa,... các sản phẩm chuyển hoá thứ cấp (điển hình là aflatoxin M₁) của các độc tố ban đầu (điển hình là aflatoxin B₁) có trong sữa, trứng, thịt vẫn có độc tính cao gây nguy hiểm cho sức khỏe người tiêu dùng. Ngoài ra, phải có một hệ thống quản lý, giám sát chặt chẽ chất lượng các loại lương thực, thực phẩm và thức ăn chăn nuôi đang lưu hành trên thị trường cũng như bảo quản ở các kho. Công việc này phải được tiến hành một cách thường xuyên dựa trên các tiêu chuẩn cụ thể về giới hạn tối đa cho phép của các độc tố nấm trong các loại thực phẩm và thức ăn cho vật nuôi, kể cả các loại thức ăn cho tôm, cá. Có như vậy, chúng ta mới có hy vọng giảm bớt các nguy cơ bệnh tật do các loại độc tố nấm mốc gây ra cho con người.



Hình 9.5. Khuẩn lạc trên môi trường Czapek của loài *A. flavus*



Hình 9.6. Cấu trúc sinh conidi của loài *A. flavus*

5. CÁC BỆNH NẤM KÝ SINH (MYCOSES)

5.1. Một số vấn đề quan trọng của các bệnh nấm ký sinh

5.1.1. Phân bố

Với một số nhỏ các trường hợp ngoại lệ quan trọng, đa số các loại nấm liên quan tới các bệnh ở người đều sống tự do ngoài môi trường. Hầu hết các bệnh nấm mắc phải đều do kết quả của tiếp xúc tình cờ như hít phải hoặc lây nhiễm do cấy ghép mô. Ví dụ, *H. capsulatum* tìm thấy trong đất bị lùn phân dơi, phân chim và loài *C. neoformans* có mặt phổ biến ở các chuồng chim bồ câu và các vùng đất bị nhiễm phân chim. Nhiều loại nấm có tính thích nghi theo khu vực địa lý riêng biệt, ví dụ như loài *Coccidioides immitis* tìm thấy ở các vùng khí hậu sinh học thuộc Tây Nam nước Mỹ và các vùng địa lý tương tự ở Trung và Nam Mỹ. Vùng này có khí hậu khô hạn và nửa khô hạn, mùa hè nóng, nước ít đóng băng vào mùa đông và đất bị nhiễm kiềm. Loài *C. immitis* chỉ xuất hiện ở vùng Thế giới Mới (khu vực Bắc, Trung và Nam Mỹ). Chính vì vậy, paracoccidioidomycosis do loài

Paracoccidioides brasiliensis bị giới hạn ở vùng Nam và Trung Mỹ. *Blastomyces dermatitidis*, một loài được cho là chỉ có ở phía Bắc lục địa Châu Mỹ, đã gây ra những ổ dịch địa phương ở Châu Phi. Loài *Sporothrix schenckii*, một tác nhân gây các bệnh nấm dưới da đã phân lập được rất phổ biến ở hoa hồng, cây hoàng liên gai và các thảm thực vật bị sâu mục. Qua nghiên cứu sự phân bố cho thấy, loài *C. albicans* đã xuất hiện ở miệng, hệ thống dạ dày – ruột và các vùng niêm mạc khác nhau như là một phần của hệ VSV bình thường của cơ thể. Loài *Malassezia furfur* (*Pytyrosporum ovale*) là nấm men đã tìm thấy trên da của người bình thường, đặc biệt ở vùng thân, mặt và da đầu, những nơi giàu tuyến bã nhờn tạo nguồn lipid cho các nấm này sử dụng. Cuối cùng là nhóm dermatophytes gây các bệnh ringworm và athlete's foot, đôi khi cũng được tìm thấy trên da ở vùng thân và đầu của một số người không có các triệu chứng của bệnh. Người ta cho rằng, đây chỉ là sự xuất hiện nhất thời của quần thể hoặc một trạng thái mang tải mầm bệnh.

5.1.2. Xâm nhiễm

Mức độ miễn dịch thiên phú chống lại các loại nấm gây bệnh là cao ở tất cả mọi người. Bằng chứng thực tế là các trường hợp nhiễm nấm thường nhẹ và tự có giới hạn. Bề mặt da và niêm mạc nguyên vẹn là các hàng rào bảo vệ đầu tiên đối với sự xâm nhiễm của nấm. Điều kiện khô, sạch, sự thay thế các tế bào biểu mô, các acid béo và pH thấp của da được cho là các yếu tố quan trọng trong khả năng đề kháng của cơ thể. Ngoài ra, hệ vi khuẩn của da và niêm mạc cũng cạnh tranh với nấm và ngăn chặn sự phát triển lan rộng của nấm. Tất cả những tác động làm thay đổi sự cân bằng của hệ VSV bình thường của cơ thể như sử dụng corticoid, kháng sinh phổ rộng dài ngày hoặc các thay đổi về mặt dinh dưỡng sẽ làm cho các loài nấm như *C. albicans* phát triển mạnh hơn bình thường và làm tăng khả năng gây bệnh. Sự tổn thương của các hàng rào bảo vệ như chấn thương, ghép cơ quan sẽ tạo điều kiện cho nấm xâm nhập vào các vùng mô lành của cơ thể. Cũng như trong tất cả các trường hợp lây nhiễm, mức độ ảnh hưởng đối với cơ thể phụ thuộc vào độc tính của sinh vật xâm nhiễm, phạm vi xâm nhiễm và sự toàn vẹn trong các cơ chế bảo vệ của cơ thể.

5.1.3. Chẩn đoán

Lây nhiễm nấm được chẩn đoán trong các phòng thí nghiệm bằng các tiêu bản vi học trực tiếp (tiêu bản sinh thiết hoặc tiêu bản từ các dịch cơ thể được nhuộm, soi bằng kính hiển vi), nuôi cấy và chẩn đoán huyết thanh học. Các đặc điểm hình thái của VSV sẽ trợ giúp cho việc nhận diện tất cả các loại nấm gây bệnh cả ở trong các mô lẫn trên môi trường nuôi cấy. Các yếu tố này là cực kỳ quan trọng trong chẩn đoán các trường hợp nhiễm nấm toàn thân nặng. Một số các đặc tính riêng biệt như các nang bào tử của *Coccidioides immitis* trong mô, các tế bào nấm men nảy chồi lớn điển hình của *Blastomyces dermatitidis* trong các ổ mủ, các sợi nấm cộng bào của các loại nấm gây mucormycosis và các tế bào nấm men *C. neoformans* được bao bọc bởi một lớp vỏ (capsule) xuất hiện trong dịch não tủy (cerebrospinal fluid) và mô não, giúp chẩn đoán nhanh, chính xác trong các trường hợp nhiễm nấm sâu (toàn thân). Đối với các tác nhân gây bệnh nấm cơ hội như *Mucor*, *Candida* và *Aspergillus*, việc xét nghiệm vi học các mẫu bệnh phẩm lâm sàng là đặc biệt hữu ích, bởi chỉ có tiêu bản vi học nuôi cấy có thể không đủ độ tin cậy, do các sinh vật này thường tồn tại ở ngoài môi trường ở mức độ cao và cũng có thể là một phần của hệ VSV bình thường của cơ thể. Các bằng chứng về mô bệnh học của sự lây nhiễm luôn là yếu tố có giá trị nhất trong chẩn đoán, mặc dầu kết quả của bước này âm tính cũng không loại trừ có sự lây nhiễm nấm. Các nấm gây bệnh cũng có thể tìm thấy từ các mô bị nhiễm bằng cách nuôi cấy. Khi sinh vật phân lập được là tác nhân gây bệnh nguyên phát như *H. capsulatum* thì việc chẩn đoán là chính xác, không thể nhầm lẫn. Việc phân lập các sinh vật cơ hội như *Candida* từ các khu vực bề mặt cơ thể có ý nghĩa lâm sàng ít bởi kết quả này có thể là sự xâm nhiễm của nấm, nhưng quá trình nuôi cấy các sinh vật này từ máu mới là kết quả luôn có ý nghĩa quyết định. Nuôi cấy các mẫu bệnh phẩm lâm sàng không phải lúc nào cũng có kết quả về sự phát triển của VSV. Ví dụ, các trường hợp nhiễm *Aspergillus* lan toả cho các kết quả dương tính trong nuôi cấy máu thấp hơn 10% các ca xét nghiệm. Chính các nhà nghiên cứu cũng không có câu trả lời chắc chắn mà chỉ giải thích rằng có lẽ chỉ một phần nhỏ của hệ sợi có khả năng phát triển hoạt tính và tạo ra một chủng nuôi cấy dương tính, hoặc phải cấy một lượng lớn bệnh phẩm nhiễm loại nấm này mới có khả năng phát triển ở điều kiện phòng thí nghiệm. Do nấm phát triển chậm và thường xuyên có sự chậm trễ đáng kể giữa thời gian có bệnh phẩm và kết quả nuôi cấy dương tính, việc dựa trên các kết quả nuôi cấy có thể gây ra một sự chậm trễ đáng kể trong việc bắt đầu liệu pháp điều trị. Mặc dầu có những hạn chế như vậy nhưng việc nuôi cấy vẫn phải luôn được

tiến hành bởi khi chúng ta thực hiện công việc này sẽ giúp cho việc chẩn đoán và điều trị tốt hơn. Dùng kháng thể đặc hiệu để phát hiện các kháng nguyên nấm trong một số trường hợp cũng rất hữu ích cho chẩn đoán, đặc biệt là các bệnh nấm sâu. Nhiều các test da và huyết thanh hiện đang được sử dụng, nhưng các kết quả của các phép thử này cũng chỉ là bằng chứng có cơ sở đối với sự xâm nhiễm. Kết luận cuối cùng cũng phải được làm sáng tỏ dưới ánh sáng của các kết quả lâm sàng. Đây là một vấn đề khó khăn trong việc làm sáng tỏ tầm quan trọng của các test da dương tính đối với loại

H. capsulatum, tác nhân gây bệnh nấm toàn thân nguyên phát, gây ra các ổ dịch địa phương. Hầu hết mọi người đang sống ở các vùng này đều tiếp xúc với loài nấm này và tạo ra một test da dương tính, một chỉ thị của tăng độ nhạy cảm kiểu muộn. Các test huyết thanh có nhược điểm lớn hơn trong trợ giúp chẩn đoán bởi các kháng nguyên sẵn có không đủ đặc hiệu. Các test dương tính giả có thể là do sự xâm nhiễm không có triệu chứng, các trường hợp lây nhiễm hạ lâm sàng lần trước, hoặc đáp ứng do ký ức có được từ các test da trước. Các đáp ứng âm tính giả hoặc muộn, đặc biệt là ở bệnh nhân bị ức chế miễn dịch, có thể cũng xảy ra. Gần đây, các bước phát hiện các kháng nguyên nấm có trong các dịch cơ thể đã phát triển. Một thành công nhất là việc phát hiện các polysaccharid vỏ (capsule) hoà tan của *C. neoformans* trong dịch não tủy. Đây là phản ứng có tính đặc hiệu cao và nhạy. Các test tương tự đối với các loại nấm khác là chưa có, nhưng hiện đang được nghiên cứu triển khai để đưa vào ứng dụng.

5.1.4. Điều trị

Một điều cực kỳ quan trọng cần được nhận thức là không phải tất cả các trường hợp nhiễm nấm đều phải điều trị. Như đã nói ở phần trên, con người có một khả năng đề kháng cao thiên phú đối với hầu hết các tác nhân nấm gây bệnh. Hầu hết các trường hợp nhiễm *H. capsulatum* hoặc *C. immitis* đều là các trường hợp hạ lâm sàng, tự hạn chế và không phát triển thành bệnh. Một số trường hợp nhiễm nấm *Candida* có đáp ứng tốt với các biện pháp trợ giúp như cải thiện tình trạng dinh dưỡng của cơ thể người bệnh. Các can thiệp lâm sàng như tiêm truyền, các ống thông và việc sử dụng kháng sinh phổ rộng dài ngày gây nhiễm nấm sẽ dễ dàng được kiểm soát khi các yếu tố liên quan này được phát hiện và điều chỉnh. Hầu hết các kháng sinh kháng nấm khi sử dụng nói chung đều hướng tới mục tiêu là loại trừ các loại nấm gây bệnh hơn là các tế bào vật chủ, nhưng thực tế mục đích này không đạt được hiệu quả nhiều. Độc tính của thuốc là một vấn đề lớn trong điều trị các bệnh nấm. Ngoài ra, nhiều hợp chất kháng nấm có hiệu quả thấp do những hạn chế về độ tan, độ bền vững và sự hấp thu. So với các kháng sinh kháng khuẩn thì số lượng kháng sinh kháng nấm có hiệu quả là rất nhỏ, trong khi đó, tần số nhiễm nấm ngày một tăng nên việc nghiên cứu các tác nhân có hiệu quả bổ sung đang được mở rộng.

Hầu hết các kháng sinh kháng nấm hiện có được xếp vào 2 loại:

- Tác động lên các màng tế bào nấm.
- Thấm vào tế bào và làm gián đoạn, cản trở các quá trình của tế bào.

Bảng 9.1 dưới đây trình bày một số nhóm và các kháng sinh kháng nấm đang được sử dụng trong điều trị.

Bảng 9.1. Một số kháng sinh kháng nấm đang sử dụng trong điều trị

Nhóm	Tên kháng sinh	Cơ chế tác dụng	Sử dụng điều trị
Polyene	Amphotericin B	Liên kết với các sterol gây ra các rối loạn trong màng tế bào.	Bệnh nấm toàn thân, bệnh nấm cục bộ.
Azole	Nystatin	Ức chế sinh tổng hợp ergosterol.	Bệnh cục bộ, bệnh toàn thân.
	Clotrimazole		
	Miconazole		
	Ketoconazole		
	Fluconazole		
	Itraconazole		
Pyrimidine	5-fluorocytosine (5FC)	Ức chế tổng hợp ADN và ARN.	Bệnh toàn thân.
Grisans	Griseofulvin	Ức chế sự hình thành sợi vô sắc.	Bệnh cục bộ.

5.2. Phân loại

Tuỳ theo vị trí lây nhiễm chủ yếu của nấm trên cơ thể, người ta chia các bệnh nấm ký sinh thành các nhóm sau:

5.2.1. Các bệnh nấm ngoại biên (*superficial mycoses*)

Là các trường hợp nhiễm nấm được giới hạn ở lớp ngoài cùng của da và tóc. Các bệnh này nói chung là nhẹ với các phản ứng viêm tối thiểu hoặc không có phản ứng viêm, được chẩn đoán dễ dàng và có đáp ứng tốt với hoá liệu pháp. Nhóm này bao gồm 4 bệnh, hai bệnh liên quan tới tóc ở da đầu (*black and white piedra*) và 2 bệnh liên quan tới vùng da không tóc (*tinea nigra* và *tinea versicolor*). Nhiều người trong số chúng ta có nấm ở trên da và tóc nhưng không có tín hiệu của bệnh. Đôi khi, các loại nấm trong hệ sinh vật bình thường của chúng ta gây ra sự nhiễm nấm ngoại biên và sự nhiễm này không lan sâu hơn lớp sừng (*stratum corneum*) của da, bệnh thường nhẹ và không gây ra các đáp ứng viêm và thường bị bỏ qua, không để ý đến. Các dạng bệnh này thường thấy ở các vùng khí hậu nóng, ẩm như ở nước ta. Nhưng một bệnh khác là *tinea versicolor* (*pityriasis versicolor*) lại thường gặp ở các vùng ôn đới hơn là ở vùng có khí hậu nhiệt đới. Các bệnh nấm ngoại biên thường dễ điều trị bằng các tác nhân tiêu huỷ keratin tại chỗ. Dưới đây trình bày chi tiết về một bệnh khá phổ biến thuộc nhóm này, đó là bệnh lang ben (*tinea versicolor*).

Bệnh lang ben (*tinea versicolor* hay *pityriasis versicolor*)

Bệnh lang ben là bệnh do nhiễm nấm ở lớp ngoài cùng của da, gây ra các mảng da màu trắng hoặc không màu, có vảy.

– Tác nhân gây bệnh: Do một loại nấm men *Malassezia furfur* gây ra. Bệnh tương đối phổ biến đặc biệt là thanh, thiếu niên.

* Triệu chứng: Bệnh ít khi gây đau hoặc ngứa nhưng có khả năng ngăn cho da khỏi bị rám nắng nên tạo các mảng da có màu sáng hơn so với vùng da xung quanh. Những người có màu da đen một cách tự nhiên có thể thấy các vệt da bị nhiễm nấm sáng hơn. Những người có màu da trắng một cách tự nhiên có thể quan sát thấy các đốm da bị nhiễm nấm có màu tối hoặc sáng hơn. Màu của vùng da bị nhiễm nấm phụ thuộc vào sự tác động của nấm men lây nhiễm đối với các tế bào sinh melanin ở biểu bì. Các mảng da lây nhiễm nấm thường xuất hiện ở vùng ngực hoặc lưng và có thể bong vảy nhẹ. Theo thời gian, dần dần các vệt nhỏ có thể hợp lại thành các mảng lớn.

– Chẩn đoán và điều trị: Các bác sĩ có thể chẩn đoán bệnh lang ben qua vẻ bề ngoài của vùng da bị nhiễm nấm. Có thể sử dụng ánh sáng cực tím để phát hiện sự lây nhiễm một cách rõ nét. Hoặc có thể kiểm tra bằng kính hiển vi các mảnh biểu bì được cạo từ vùng da bị nghi có sự lây nhiễm nấm để xác nhận sự chẩn đoán. Thường sử dụng các loại thuốc mỡ ketoconazole bôi tại chỗ, dung dịch phun terbinafine, dầu gội đầu selenium sulfid. Dầu gội đầu ketoconazole gội trong vòng 5 phút sau đó gội sạch bằng nước, dùng hằng ngày và liên tục trong 3 ngày. Các thuốc dùng qua đường uống như itraconazole, ketoconazole hoặc fluconazole thường được áp dụng để điều trị các trường hợp kháng và lan rộng. Tuy nhiên, do các thuốc này có thể gây ra các tác dụng không mong muốn nên thường có xu hướng thiên về các thuốc sử dụng tại chỗ.

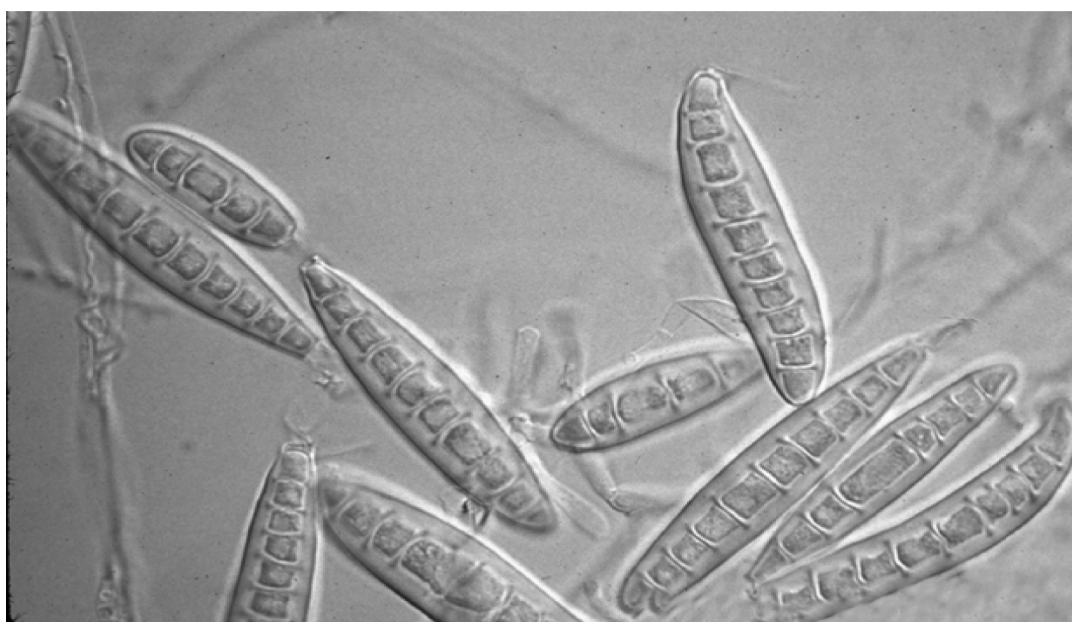
Da có thể không trở lại màu sắc bình thường sau khi đã điều trị khỏi bệnh nhiều tháng. Bệnh lang ben thường hay bị tái nhiễm. Do vậy, nhiều bác sĩ khuyên nên sử dụng dầu gội đầu selenium sulfid 2,5%, hoặc dầu gội đầu ketoconazole hằng tháng để đề phòng các trường hợp tái phát.

5.2.2. Các bệnh nấm da (*cutaneous mycoses, dermatomycoses*)

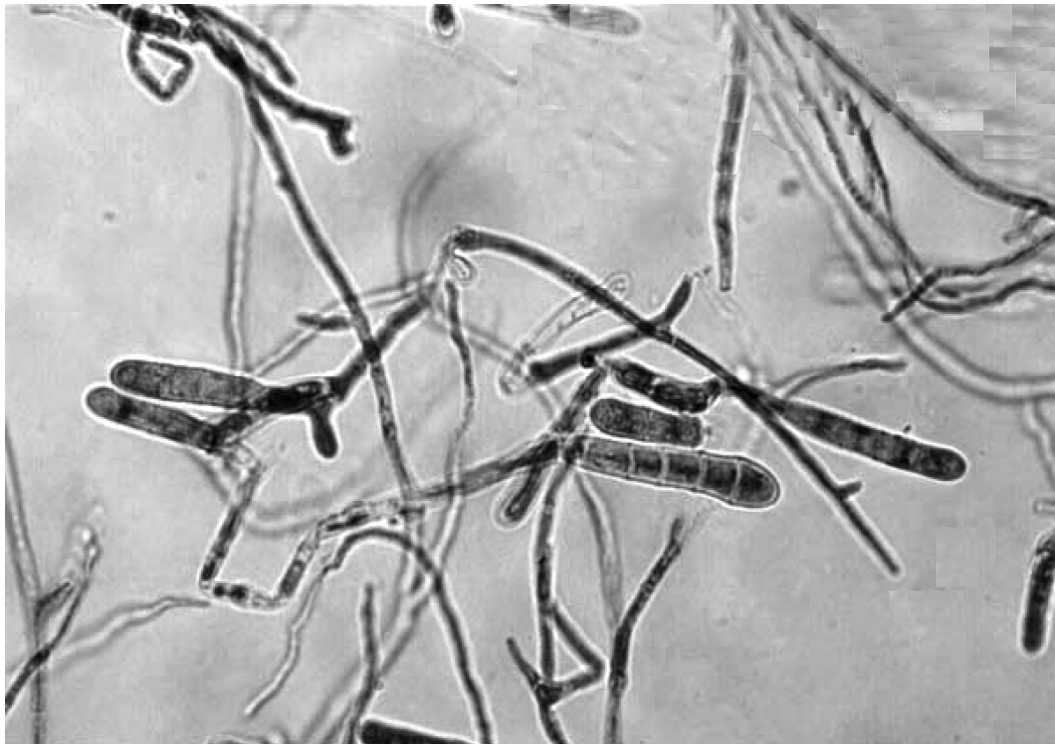
Sâu hơn một chút trong vùng biểu bì sẽ bắt gặp các bệnh nấm da như athlete's foot hay ringworm. Các bệnh này xuất hiện do một nhóm nấm được gọi là dermatophytes gây ra. Các bệnh do nhóm nấm này gây ra có thể cấp tính hay mãn tính, phụ thuộc vào tác nhân gây bệnh và tình trạng miễn dịch của bệnh nhân. Nói chung, các bệnh này khó điều trị hơn so với các bệnh nấm ngoại biên. Các tác nhân gây bệnh là các loài thuộc 3 chi: *Trichophyton*, *Microsporum* và *Epidermophyton* (hình 9.7, 9.8 và 9.9).



Hình 9.7. Hình thái vi học của loài *Microsporium nanum*



Hình 9.8. Hình thái vi học của loài *Trichophyton ajelloi*



Hình 9.9. Hình thái vi học của loài *Epidermophyton floccosum*

Các trường hợp bệnh lâm sàng được gọi là tinea và chúng được mô tả tương ứng với vị trí mà cơ thể bị nhiễm. Ví dụ như bệnh tinea capitis liên quan tới đầu, tinea pedis liên quan tới chân, tinea corporis liên quan tới vùng da phẳng ở thân,...

Một số loài có mặt khắp nơi trên thế giới, một số khác bị giới hạn ở một số khu vực địa lý nhất định ở một số vùng của thế giới. Sự phân bố này hiện nay đã bị đảo lộn do nhu cầu giao lưu ngày một tăng của con người trên toàn thế giới.

5.2.2.1. Phân bố

Nhiều loài khác nhau của hệ nấm da có các ổ sinh thái khác nhau: các loài phân lập được thường xuyên từ đất được gọi là geophilic (ưa đất) một số các loài khác hay gặp ở động vật được gọi là zoophilic (ưa động vật); nhóm thứ 3 là các loài anthropophilic (ưa người), thường tìm thấy ở người. Đây là yếu tố rất quan trọng trong việc nhận biết các loài, xác định nguồn lây nhiễm có thể liên quan. Các loại nấm ưa người có xu hướng gây các bệnh mãn tính ở người và thường khó điều trị. Các loại nấm ưa động vật và đất có xu hướng gây các tổn thương viêm ở người nhưng thường khỏi bệnh một cách tự nhiên mà không cần điều trị. Các loài thuộc nhóm dermatophytes không phải là các thành viên của hệ VSV da bình thường. Mặc dầu vậy chúng vẫn thỉnh thoảng được tìm thấy trong các kẽ ngón chân của một số người. Các loại nấm này hầu như luôn gây ra các bệnh lý nhỏ mỗi khi chúng thiết lập được sự lây nhiễm. Bệnh gây ra bởi các loại nấm này gọi là ringworm hoặc tinea. Tên tinea bắt nguồn từ tiếng Latin đề cập tới các tổn thương có dạng hình tròn do nấm gây ra ở da. Các tổn thương này là đặc trưng của các trường hợp nhiễm nấm dermatophytes. Tên tinea này được dùng kết hợp với tên các phần cơ thể bị nhiễm nấm như tinea capitis (ở đầu), tinea pedis (nấm ở chân), tinea corporis (nấm ở thân), tinea cruris (bệnh nấm ở các nếp gấp của chân, tay như bẹn, nách, nếp gấp ở vú,...). Những người không chuyên môn thường gọi tên các bệnh này dưới dạng các tên khác như athlete's foot, jock itch, jungle rot,...

5.2.2.2. Xâm nhiễm

Các nghiên cứu thực nghiệm về các trường hợp lây nhiễm nấm dermatophytes đã hỗ trợ rất nhiều

trong việc nghiên cứu các biểu hiện lâm sàng của bệnh. Người ta đã cho những người tình nguyện ngâm chân vào trong nước có chứa các bào tử nấm gây bệnh khác nhau. Kết quả họ đều không bị mắc bệnh ngoại trừ trường hợp chân của họ bị tổn thương trước khi ngâm. Các điều kiện ẩm, kín duy trì kéo dài cũng là những yếu tố thuận lợi cho sự xuất hiện bệnh. Đó là các trường hợp như đi các đôi giày không lộ, hoặc khi phủ trên da bằng những miếng băng kín.

Khi bệnh tiến triển xuất hiện một phản ứng viêm ở lớp biểu bì phía dưới và lớp bì. Sự bong vảy thường xuyên xuất hiện là dấu hiệu của sự thay biểu bì tăng lên. Móng chân, tay, nang lông và thân tóc có thể bị lây nhiễm. Các loại nấm này đặc biệt thích những mô đã bị keratin hoá, chúng không xâm lấn sâu vào những tế bào sống cũng như các vùng của chân tóc chưa bị keratin hoá hoàn toàn. Mặc dầu vậy, keratinase vẫn được tìm thấy ở một số loài của nhóm dermatophytes. Vai trò của nó trong các bệnh do nhóm nấm này gây ra vẫn chưa được biết.

5.2.2.3. Triệu chứng

Các đặc điểm lâm sàng của bệnh này liên quan tới sự viêm của biểu bì, bì, nang lông và tóc. Yếu tố thúc đẩy tạo hiện tượng viêm này là phản ứng miễn dịch trung hoà các kháng nguyên nấm lan truyền từ vùng biểu bì bị nhiễm nấm. Quá trình này có thể được gọi là viêm da do tiếp xúc sinh học. Tên gọi “kerion” được dùng để mô tả dạng bệnh nhiễm nấm ở vùng da đầu và râu với các phản ứng viêm nặng có các mụn mủ. Mủ là kết quả của các trường hợp nhiễm khuẩn thứ cấp (bội nhiễm vi khuẩn). Nhiễm nấm toàn thân do dermatophytes rất hiếm khi xảy ra, và đặc điểm này không phụ thuộc vào việc vật chủ bị tổn thương như thế nào. Lý do chính cho sự giới hạn này của bệnh có thể là sự phát triển kém của nhóm nấm này ở nhiệt độ cơ thể người.

Tập quán văn hoá và môi trường kết hợp với các kiểu quần áo, giày dép cũng làm tăng thêm tỷ lệ của bệnh nấm da do dermatophytes. Các nghiên cứu được tiến hành trên các quần thể dân cư và các gia đình có tập tục riêng cho thấy, các điều kiện sống với mật độ dân cư đông đúc, gần nhau là các yếu tố quan trọng trong sự lan truyền của bệnh. Các yếu tố miễn dịch cũng gây ảnh hưởng tới tỷ lệ của bệnh và các kết quả nghiên cứu cho thấy miễn dịch qua trung gian tế bào có vai trò quan trọng đối với sự lây lan của bệnh.

Các điều tra không đầy đủ từ các nghiên cứu dịch tễ học và các báo cáo của các ca bệnh cho thấy nhóm nấm này là một trong số các loại nấm phổ biến nhất gây ra các bệnh ở người. Các bệnh nấm da do nhóm này gây ra là trong số các bệnh da phổ biến nhất ở trẻ em dưới 12 tuổi và là bệnh da phổ biến thứ 2 ở tuổi lớn hơn. Các nhóm tuổi khác nhau bị nhiễm các bệnh nấm này ở các vùng khác nhau của cơ thể. Các đối tượng thuộc khoa nhi, bệnh nấm vùng da đầu là phổ biến nhất và bệnh chiếm tỷ lệ cao nhất ở độ tuổi từ 5 – 10. Sau tuổi dậy thì, các bệnh này ít phổ biến. Lý do của sự thay đổi này vẫn chưa được biết chính xác, nhưng có thể do sự thay đổi trong thành phần của bã nhờn, sự thay đổi đó bắt đầu xuất hiện ở tuổi dậy thì, đặc biệt ở tổng số các acid béo bão hoà. Các acid này có hoạt tính kháng nấm tự nhiên. Mặt khác bệnh athlete's foot hiếm khi xuất hiện ở tuổi thơ ấu, nhưng dần dần bệnh càng lây nhiễm phổ biến và còn lại suốt cả cuộc đời. Điều này có thể là do người lớn thường mang giày nên đã có một tỷ lệ cao của bệnh nấm kẽ chân (athlete's foot) do nhóm nấm dermatophytes gây ra.

Ở Mỹ người ta thấy có một tỷ lệ thiếu cân xứng của bệnh nấm da đầu (ringworm of the scalp) ở trẻ em da đen nhưng các nhà nghiên cứu vẫn chưa tìm được nguyên nhân. Những người bản xứ Ấn Độ có tỷ lệ mắc các bệnh nấm này cao hơn so với người Châu Âu đến định cư. Các nghiên cứu từ cuộc chiến tranh Việt Nam cho thấy rằng, bệnh athlete's foot ở các quân nhân Mỹ chủ yếu là do loài *Trichophyton mentagrophytes* gây ra. Trái lại, người Việt Nam chúng ta lại nhạy cảm hơn với loài *Trichophyton rubrum*.

Tỷ lệ bệnh nấm do dermatophytes gây ra ở nam cao hơn nữ: các bệnh nấm ở vùng da đầu do nhóm nấm này gây ra có tỷ lệ giữa nam và nữ là 3 : 1, của bệnh nấm bàn chân, kẽ chân là 6 : 1. Các bệnh ở vùng bẹn và sinh dục cũng phổ biến hơn ở nam giới và hiếm gặp ở nữ. Nhiễm nấm móng tay phổ biến hơn ở nữ giới, nhưng nhiễm nấm móng chân lại thường xuyên liên quan tới nam giới.

5.2.2.4. Chẩn đoán

Kiểm tra vi sinh học các mảnh vụn được cạo ra từ bề mặt da các vùng bị nhiễm nấm để tìm nấm. Các khuẩn lạc của dermatophyte có các đặc tính hình thái phức tạp. Các đặc tính này giúp phân biệt các chi và loài. Dưới kính hiển vi chúng khác nhau ở đặc điểm hình thái của các đại bào tử đa bào đặc trưng (macroconidi).

5.2.2.5. Điều trị

Các bệnh nấm do dermatophytes được điều trị tại chỗ và toàn thân. Điều trị toàn thân là cần thiết khi tóc và móng bị nhiễm nấm bởi các thuốc được điều trị tại chỗ không xâm nhập được vào các ổ ở mô nơi nấm tồn tại và phát triển. Các dạng thuốc điều trị tại chỗ khác nhau như kem, thuốc mỡ, thuốc rửa và phần nước (là chế phẩm lỏng dùng đắp trên da hay niêm mạc, thường chứa các chất làm se, ăn mòn và giảm đau) được điều trị thường xuyên trong vòng 3 tuần hoặc hơn sẽ làm mất hết các vùng da nhiễm bệnh ringworm tại chỗ. Các cuộc thử nghiệm có giám sát đã không chọn được một chất tốt nhất trong số các thuốc chống nấm đã được sử dụng. Hai tác nhân chống lại bệnh ringworm được dùng điều trị toàn thân bằng đường uống, đó là griseofulvin và ketoconazole.

5.2.3. Các bệnh nấm dưới da (subcutaneous mycoses)

Các bệnh nấm dưới da là một nhóm bệnh riêng biệt liên quan tới bì (dermis) và các mô dưới da, hoặc các cấu trúc mô kế tiếp. Tác nhân gây bệnh là các loại nấm phân lập được phổ biến ở ngoài môi trường và chỉ gây ra bệnh khi có điều kiện thuận lợi như: bị côn trùng đốt, trầy xước da do các nguyên nhân khác nhau như gai hoặc các mảnh vỡ,... Nhóm người có nguy cơ cao đối với các bệnh này là người buôn bán hoa, nông dân, người hay tiếp xúc với cỏ,... Nhiều trường hợp bị bội nhiễm nấm khi mắc các bệnh do vi khuẩn. Các bệnh này ít gặp và chỉ giới hạn ở các vùng nhiệt đới. Bệnh phát triển chậm và thường có xu hướng kéo dài. Một ví dụ điển hình của nhóm bệnh này là bệnh do nấm *Sporothrix schenckii* gây ra. Đây là một loại nấm lưỡng hình có thể chuyển thành dạng nấm men khi nuôi cấy ở 37°C trên các môi trường nuôi cấy giàu dinh dưỡng ở phòng thí nghiệm hoặc khi ký sinh ở người. Bệnh này trước đây phổ biến ở Châu Âu nhưng hiện nay ít gặp. Hiện nay bệnh xuất hiện chủ yếu ở Châu Mỹ, Nam Phi và Úc. Triệu chứng bệnh thường gặp giai đoạn đầu là một tổn thương loét và có thể phát triển dẫn đến viêm các mạch bạch huyết. Các bệnh nấm dưới da nói chung không đáp ứng tốt với hoá liệu pháp. Trong nhiều trường hợp thường phải cắt bỏ tổn thương hoặc phẫu thuật để kiểm soát sự lây lan. Riêng bệnh do *Sporothrix schenckii* (sporotrichosis) là một ngoại lệ, bệnh đáp ứng tốt với KI hoặc ketoconazole qua đường uống.

5.2.4. Các bệnh nấm toàn thân

Các bệnh nấm toàn thân (systemic mycoses) là các lây nhiễm nấm sâu vào các cơ quan bên trong cơ thể. Các bệnh nấm này có thể do các tác nhân gây bệnh nguyên phát như *H. capsulatum* hoặc *Coccidioides immitis*, chúng tấn công những người khỏe mạnh. Hoặc do các loại nấm cơ hội như *Candida albicans*, chúng chỉ gây bệnh khi có các điều kiện thuận lợi và nói chung khi vật chủ bị suy nhược, suy giảm hệ thống miễn dịch, các loại nấm này sẽ tăng cường xâm nhiễm và gây bệnh. Trong các bệnh nấm toàn thân, nguyên phát, hầu hết các đối tượng khỏe mạnh, có các dấu hiệu bệnh nhẹ hoặc các biểu hiện hạ lâm sàng. Ngược lại, các trường hợp nhiễm nấm cơ hội ở các bệnh nhân bị suy nhược thì hầu như đều bị mắc các bệnh nặng.

5.2.4.1. Các bệnh nấm toàn thân nguyên phát

– Một dạng của các bệnh nấm toàn thân do các tác nhân gây bệnh ban đầu gây ra – *Histoplasma capsulatum*:

- + Là một sinh vật có trong đất, sự phát triển của nó tăng lên khi có các loại phân dơi, phân chim.
- + Gây histoplasmosis ở khu vực trung tâm miền Tây nước Mỹ, được gọi là “histobelt”.
- + Chuyển thành dạng nấm men khi tồn tại ở nhiệt độ trong cơ thể.
- + Xâm nhập đại thực bào và kháng lại sự thực bào nếu phạm vi xâm nhiễm rộng hoặc các đại thực bào không hoạt động.
- + Bệnh do *Histoplasma* tương tự bệnh lao (tuberculosis). Các sinh vật có thể duy trì sự sống độc lập trong phạm vi các tổn thương bị vô hoá, và vì thế có khả năng tái nhiễm.
- + *Histoplasmosis* tiến triển ở các bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch.

- Các bệnh nấm toàn thân gây bởi các tác nhân ban đầu khác:
- + Blastomycosis ở đường hô hấp do *Blastomyces dermatitidis*.
- + Coccidioidomycosis do *Coccidioides immitis*.
- + Paracoccidioidomycosis do *Paracoccidioides brasiliensis*.

5.2.4.2. Các bệnh nấm toàn thân cơ hội

a) Một số đặc điểm của các loại nấm gây bệnh cơ hội

Bình thường các loại nấm cơ hội không gây bệnh, chỉ lây nhiễm và gây bệnh ở người có hệ thống bảo vệ bị tổn thương, đặc biệt là các đối tượng bị giảm số lượng các bạch cầu đa nhân trung tính, làm tăng độ miễn cảm với các bệnh nhiễm trùng.

b) Các loài nấm gây bệnh cơ hội chủ yếu

- *Candida albicans* là một loài có trong hệ VSV bình thường của cơ thể.
- *Aspergillus fumigatus* và các loài lân cận: Các tác nhân gây bệnh có phổ biến ở ngoài môi trường, gây bệnh lan toả ở các bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch nặng.
- *Cryptococcus neoformans*, một tác nhân gây bệnh viêm màng não phổ biến ở bệnh nhân AIDS.
- Một số loài khác thuộc chi *Penicillium* (*Penicillium marneffei*) và nhóm *Zygomycetes* như *Mucor*, *Absidia* và *Rhizopus*.

c) Khả năng gây bệnh

Các bệnh nhân có nguy cơ cao nhiễm nấm cơ hội bao gồm các đối tượng có các khối u ác tính, cấy ghép cơ quan hoặc tủy xương, bỏng, tổn thương và bị các bệnh cần sử dụng các ống thông tĩnh và động mạch dài ngày. Bệnh nhân trải qua các ca phẫu thuật, sử dụng liệu pháp kháng sinh phổ rộng và hệ VSV bình thường của họ có dấu hiệu suy giảm. Trong các trường hợp như vậy, các loại nấm như *Candida albicans* sẽ phát triển không kiểm soát được và có thể thay thế vị trí của các vi khuẩn khác trong hệ VSV bình thường và chuyển thành dạng gây bệnh.

Qua kinh nghiệm lâm sàng, sự giảm số lượng bạch cầu chức năng đa nhân trung tính là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng tới đáp ứng lây nhiễm nấm cơ hội. Những trường hợp này là khó điều trị ở người bình thường, hầu như không có khả năng cứu chữa ở người có ít bạch cầu chức năng. Trẻ em ốm yếu, đẻ non và người già cũng rất khó cứu chữa khi mắc các bệnh nấm này. Các loại nấm gây ra các bệnh cơ hội hầu như có mặt ở khắp nơi. Chúng có thể là một phần nằm trong hệ VSV bình thường của chúng ta, hoặc bị cơ thể chúng ta hít phải hay ăn vào từ ngoài môi trường. Bảng 9.2 dưới đây tóm tắt đặc điểm của các bệnh nấm cơ hội thường gặp.

Bảng 9.2. Các bệnh nấm do các loại nấm cơ hội thường gặp gây ra

Bệnh	Tên nấm	Yếu tố ảnh hưởng	Cơ quan bị nhiễm	Liệu pháp
Cryptococcosis	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Ức chế miễn dịch.	Phổi, hạch của hệ thống thần kinh TW.	Amphotericine B+5-FC, fluconazole
Candidiasis	<i>Candida albicans</i>	Ức chế miễn dịch, kháng sinh phổ rộng, cấy ghép cơ quan.	Niêm mạc nhày, dạ dày ruột, máu, thận và các cơ quan khác.	Amphotericine B+5-FC, fluconazole
Apergillosis	<i>Aspergillus fumigatus</i> và các loài khác	Ức chế miễn dịch.	Phổi và các cơ quan khác.	Amphotericine B.
Zygomycosis	Một số chi và loài của nhóm <i>Zygomycetes</i>	Đái tháo đường, bỏng, ức chế miễn dịch.	Các mạch máu, mắt, hệ thống thần kinh TW, mũi, các xoang, phổi.	Amphotericine B.
Các bệnh khác	Các chi và loài khác.	Ức chế miễn dịch, tổn thương,...	Phổi, hệ thống thần kinh TW, mô mềm, khớp, mắt, lây nhiễm lan toả.	Amphotericine B, miconazole.

Một số bệnh nấm cơ hội thường gặp:

5.3. Các bệnh nấm toàn thân cơ hội thường gặp

5.3.1. Bệnh do *Cryptococcus*

5.3.1.1. Một số nét về chi *Cryptococcus*

Có khoảng 37 loài trong đó loài *C. neoformans* gây bệnh ở người, mọc và phát triển ở 37°C. Các loài khác: *C. anbidus*, *C. laurentii*, *C. terreus*, *C. uniguttulatus* phân lập được ở môi trường ngoài (không khí, nước và đất), sống hoại sinh ở người (da, phế quản), phát triển chậm ở 37°C.

5.3.1.2. Loài *C. neoformans*

- 1894, Sanfelice phân lập lần đầu tiên từ nước đào với tên gọi *Saccharomyces neoformans*.
- 1894, Phân lập lần đầu tiên ở người từ một vết loét chân với tên cũng thuộc chi *Saccharomyces*.
- + 1901, Wullemmain đã xếp loài này vào chi *Cryptococcus*.
- + 1914, xuất hiện ca đầu tiên bị bệnh viêm màng não do *Cryptococcus*. Đề cập tới 2 thứ: *C. neoformans* var. *neoformans* và *C. neoformans* var. *gattii*.

5.3.1.3. Dịch tễ học

Thứ *C. neoformans* var. *neoformans* có mặt ở khắp nơi, phân bố rộng rãi ngoài môi trường. Nguồn bệnh chính là phân chim, trong đó đặc biệt là chim bồ câu. Nấm có thể sống được 2 năm trong đất. Thứ *C. neoformans* var. *gattii*: 1990 phân lập lần đầu tiên ở Úc từ cây bạch đàn. Phân bố ở những vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Châu Úc, Châu Á và California – Mỹ). Hiếm thấy trường hợp bệnh gây ra do thứ này ở những người làm việc trong rừng bạch đàn.

5.3.1.4. Phương thức lây nhiễm

Do hít phải tế bào nấm là chủ yếu, bệnh cũng có thể xảy ra do chấn thương.

5.3.1.5. Khả năng gây bệnh

Là bệnh nấm cơ hội, thường gặp ở những người bị suy giảm miễn dịch, Bệnh nhân bị HIV là chủ yếu (khi tế bào CD4 < 200/mm³, là những tế bào trợ giúp T, chúng là mục tiêu đối với sự lây nhiễm HIV). Người sử dụng liệu pháp corticoid, bệnh tự miễn. Cây ghép cơ quan (đặc biệt là thận thường dễ mắc), bị u lympho, Hodgkin, u tủy.

Nấm này thường gây bệnh ở phổi, não, da, xương, mắt, tuyến tiền liệt.

– Bệnh do *C. neoformans* ở phổi:

Lần đầu nhiễm thường không có triệu chứng hoặc sốt nhẹ, ho, khó thở, đau họng. Nếu suy giảm miễn dịch bệnh sẽ phát tán rất nhanh.

– Bệnh do *Cryptococcus* ở não và màng não:

Bệnh phát triển từ từ, xuất hiện hội chứng màng não; dấu hiệu điển hình là đau đầu, sốt, buồn nôn, nôn, cứng gáy và sợ ánh sáng. Rối loạn tính cách, trí nhớ, buồn ngủ, hôn mê và co giật. U do nấm (ít gặp): khối cứng, cố định.

– Bệnh do *Cryptococcus* ở da:

Xuất hiện hạch nhú, ban đỏ, cứng lõm, apxe, dạng không điển hình giống một molluscum hoặc herpes, bệnh chủ yếu ở mặt và chân.

* Bệnh ở những vị trí khác:

+ Xương: Gây apxe lạnh (đau).

+ Ổ mắt: Viêm lưới võng mạc, viêm màng sừng.

+ Ổ gan: Gây viêm gan.

+ Một số vị trí khác như tim, thận, tuyến tiền liệt, xoang, thực quản,...

5.3.1.6. Tiên lượng

Phụ thuộc vào chẩn đoán sớm hay muộn, nếu chẩn đoán sớm, điều trị kịp thời, bệnh sẽ khỏi.

5.3.1.7. Chẩn đoán

+ Bệnh phẩm: Dịch não tủy, nước tiểu, sinh thiết, cấy máu.

+ Soi trực tiếp: Dạng tế bào nấm men hình tròn, đường kính 3 – 12μm, nảy chồi nhiều phía. Khi nhuộm với mực tàu pha loãng, đỏ carmin, nhuộm bằng Giemsa nhìn thấy rõ nang (capsule).

+ Cấy nấm: Ở 37°C nấm mọc sau 2 – 5 ngày (đôi khi lâu hơn) nhạy cảm với actidione.

– Xác định bằng mắt thường: Khuẩn lạc có màu kem, sáng, nhày và trơn. Lúc đầu có màu trắng sau chuyển sang màu đất.

– Xác định VSH: Dạng nấm men hình cầu, có nang (capsule) cấy trên môi trường Plate Count Broth không có sợi. Nhạy cảm với actidione. Phản ứng ure dương tính ở 37°C. Không lên men đường, khử yếu các muối tetrazolium, đồng hoá inositol.

– Chẩn đoán theo loài: Phản ứng ure dương tính (trước 4h) phản ứng phenol – oxydase.

5.3.1.8. Mô học

Vỏ capsule (bản chất polysaccharid) chỉ được nhuộm màu đỏ bằng muci-carmin, nếu không nhuộm đỏ carmin thì chỉ xuất hiện các vòng sáng.

5.3.1.9. Điều trị

– Trường hợp nặng:

Amphotericin B: Tiêm tĩnh mạch với liều 0,7 – 1mg/kg/24h, kết hợp với 5-fluorocytosine bằng đường uống hoặc tiêm tĩnh mạch ở liều 150mg/kg/24h (nếu bệnh nhân dương tính với HIV, dùng liều 100mg/kg/24h và điều trị từ 15 ngày cho đến 6 tuần). Sau đó, tiếp tục điều trị bằng fluconazole bằng đường uống hoặc tiêm tĩnh mạch với liều 400mg/24h (có thể tới 800mg/24h) trong thời gian 8 tuần.

– Trường hợp nhẹ:

Fluorocytosine 400mg/24h kết hợp với 5-fluorocytosine 150mg/kg/24h hoặc itraconazole 600mg/24h trong thời gian 7 ngày, sau đó dùng 400mg/24h. Thường kết hợp với 5-fluorocytosine.

– Dung nạp và độc tính của thuốc:

- + Amphotericin B: Dung nạp kém, nhức đầu, rét run, viêm tĩnh mạch huyết khối.
- + Fluconazole: Dung nạp tốt, độc tính với gan và hệ tiêu hoá.
- Các trường hợp phối hợp thuốc không nên sử dụng:
- + Amphotericin B:
- * Thuốc độc với thận: nhóm aminozide, cyclosporine.
- * Thuốc tác động lên kali huyết: corticoid, digitan, diure, các thuốc chống hen, thuốc làm tăng tái hấp thu.
- + Fluorocytosine: Tránh phối hợp với thuốc chống giảm bạch cầu.
- + Fluconazole: Sulfamid, thuốc chống đông đường uống, cyclosporine.
- Điều trị dự phòng: Tiếp tục điều trị trong tình trạng suy giảm miễn dịch kéo dài: fluconazole 200mg/24h.

5.3.2. Bệnh do *Aspergillus* (aspergilloses)

5.3.2.1. Căn nguyên

Bệnh do các loài thuộc chi *Aspergillus* gây ra. Đặc biệt là các loài *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*. Chủ yếu là do hít phải bào tử của các loại nấm này. Ngoài ra, có thể nhiễm bệnh do dụng cụ phẫu thuật, do tiếp xúc trực tiếp với các loài nấm này. Chi *Aspergillus* có khoảng trên 200 loài, có mặt ở khắp nơi, sống hoại sinh trên các cơ chất chết trong tự nhiên, trong đất. Sự phát triển hoại sinh của chúng đã tạo ra hàng triệu bào tử phát tán trong không khí, trong bụi nhà, máy điều hoà nhiệt độ, máy hút ẩm, các loại giấy, bìa carton,... Ngoài việc gây bệnh bằng 2 cơ chế: gây dị ứng và gây ngộ độc bằng độc tố, các loài của nhóm này còn gây các bệnh nguy hiểm bằng khả năng xâm nhiễm các cơ quan của cơ thể.

5.3.2.2. Các yếu tố thuận lợi cho sự xâm nhiễm của nấm

Đây là các loại nấm cơ hội, chúng chỉ phát triển trên người khi gặp các điều kiện thuận lợi sau:

- Các yếu tố chung:
- + Giảm bạch cầu hạt.
- + Suy giảm miễn dịch.
- + Sử dụng liệu pháp corticoid.
- Yếu tố tại chỗ: Tồn thương phế quản.
- Yếu tố môi trường: Tồn tại mật độ bào tử trong không khí và con người hít phải vào phổi.

5.3.2.3. Các bệnh do *Aspergillus* gây ra

- Các bệnh đường hô hấp: Chủ yếu do hít phải bào tử.

U nấm do *Aspergillus* xuất phát từ các hang lao, apxe, dẫn nỡ phổi, hoại tử, ung thư.

– Dính màng phổi do nấm xâm nhiễm (chủ yếu ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch trầm trọng) mà biểu hiện rõ nhất là giảm bạch cầu đa nhân trung tính. Bệnh nhân sốt, khó thở, ho, đau họng và bệnh phát tán nhanh lên não, tim, da,...

- Viêm xoang do *Aspergillus*:

* Các bệnh ở các bộ phận sâu trong cơ thể: Thường do phẫu thuật như viêm màng bụng, viêm xương, tủy. Nhiễm nấm vào não thường do phẫu thuật thần kinh, viêm màng trong tim do phẫu thuật tim,...

- * Các bệnh ở các bộ phận bên ngoài cơ thể:

- Bệnh nấm tai: Bội nhiễm viêm tai ngoài do dùng kháng sinh hoặc corticoid.
- Viêm móng: Lan sâu dưới móng.
- Nhiễm nấm ở da: Ở những người bị bỏng.
- Nhiễm nấm ở mắt: Viêm màng sừng, giác mạc do tổn thương ở mắt.

5.3.2.4. Tiên lượng

Diễn biến xấu trong các trường hợp suy giảm miễn dịch trầm trọng, tỷ lệ tử vong trong các dạng bệnh: 90% trong ghép xương; 60 – 80% ghép cơ quan khác.

5.3.2.5. Chẩn đoán

Có thể bằng các phương pháp: Xác định nấm, X-quang và huyết thanh học.

– Lấy bệnh phẩm: Ổ phổi: lấy đờm, dịch phế quản ở các vị trí khác như dịch xoang, dịch ống tai ngoài, sinh thiết.

– Soi trực tiếp: Sợi nấm có kích thước bình thường sau 7 ngày, đường kính sợi 2 – 3 μ m, phân nhánh tạo góc nhọn so với sợi ban đầu, các khối conidi hình cầu hoặc toả tròn. Thường trong soi trực tiếp bệnh phẩm phải vừa có bào tử, vừa có sợi nấm mới có giá trị trong chẩn đoán.

– Nuôi cấy: Môi trường Sabouraud (SDA) ở 37°C và 27°C.

A. fumigatus có thể phát triển tốt ở nhiệt độ cao tới 57°C.

A. flavus có thể phát triển tốt ở nhiệt độ cao tới 42°C.

Nấm mọc sau 1 đến 3 ngày, nhạy cảm với actidione.

+ Xác định đại thể: Khuẩn lạc mới mọc có màu trắng, sau đó chuyển màu do sự xuất hiện của bào tử, có thể có màu nâu, đen, xanh lá cây hay màu vàng. Môi trường chuẩn dùng để nuôi cấy xác định là Czapek.

+ Xác định vi thể: Các khối conidi hình cột hoặc hình tia.

* Conidiophore: Trơn hoặc xù xì (có gai), có màu.

* Bọng (vesicle): Hình cầu hoặc gần cầu.

* Thê bình (phialid): Hình chai, 1 lớp hoặc 2 lớp (không có hoặc có cuống thê bình).

* Conidi hình cầu, trơn hoặc sần sùi.

5.3.2.6. Điều trị

– Amphotericin B: Tiêm tĩnh mạch 1mg/kg thể trọng/24h, là thuốc có phổ hoạt tính rộng, dung nạp tức thời, gây cảm giác ớn lạnh, khó chịu, sốt, viêm tĩnh mạch huyết khối, đau tĩnh mạch, độc với máu và thận. Cần theo dõi công thức máu và chức năng gan, thận.

– Itraconazole: Uống: 200 – 400mg/24h. Phổ hoạt tính rộng với cả nấm men, nấm sợi và nấm lưỡng hình. Dung nạp tốt, gây khó chịu ở đường tiêu hoá (1 – 4%), nổi ban, ngứa.

– Voriconazole: Phổ hoạt tính rộng với cả nấm men, nấm sợi và nấm lưỡng hình. Dung nạp tốt, các trường hợp rối loạn rối rệt chiếm 30%. Gây rối loạn các test về gan (10%), ban đỏ mề đay (5%).

+ Đường dùng: Uống hoặc tiêm tĩnh mạch. Uống 400mg/24h chia 2 lần. Tiêm tĩnh mạch 6mg/kg thể trọng chia 2 lần/24h với ngày đầu, sau đó 4mg/kg thể trọng chia 2 lần/24h.

– Caspofungine: Tiêm tĩnh mạch 70mg/24h với ngày đầu, sau đó 50mg cho 24h. Là thuốc kháng nấm phổ rộng với cả nấm men, nấm sợi và nấm lưỡng hình.

+ Dự phòng: Tránh hít phải bào tử, đặc biệt với người có hội chứng AIDS, ăn uống sạch, ở sạch, kiểm soát nấm tốt trong môi trường không khí và thực phẩm, không trồng các cây hoa trong phòng.

5.3.3. Bệnh do histoplasma (histoplasmosis)

5.3.3.1. Căn nguyên

Do các loài nấm thuộc chi *Histoplasma* gây ra. Trong đó, đáng chú ý là loài *H. capsulatum* với hai thứ quan trọng là *H. capsulatum* var. *capsulatum* và *H. capsulatum* var. *duboisii*.

5.3.3.2. Dịch tễ học

Thứ *H. capsulatum* var. *capsulatum* phân bố khắp nơi trên thế giới, lúc xuất hiện ở nước này lúc xuất hiện ở nước khác. Các vùng dịch chủ yếu là: Châu Mỹ đặc biệt là Hoa Kỳ ở thung lũng 2 con sông Ohio và Mississippi; Mehico; Trung Mỹ; vùng Caribe; Brazil; Argentina,... Các vùng rừng sâu thuộc Châu Á: Ấn Độ, Sri Lanka, Philippines, Nhật Bản, Thái Lan, Việt Nam,...

Châu Phi: Nam Phi.

Châu Đại Dương: Newzealand.

Châu Âu.

5.3.3.3. Phương thức lây nhiễm

Chủ yếu là do hít phải bào tử.

+ Nấm thường xuất hiện trong đất có nhiều nitơ.

+ Trong phân động vật như phân chim, phân dơi, hiếm khi lây qua đường tiêu hoá hoặc qua da trầy xước, không lây từ người sang người.

5.3.3.4. Khả năng gây bệnh

* Với người có hệ thống miễn dịch tốt: Nếu bị lây nhiễm ít sẽ không có triệu chứng bệnh (90%). Nếu nhiễm nhiều như ở dạng phổi thường lành tính. Thời gian ủ bệnh 5 – 20 ngày. Với các hội chứng giả cúm, sốt, ho khan, đôi khi khó thở, ho ra máu, đau họng, đau cơ, tiếp theo là sự vô hoá phổi.

* Với người bị suy giảm miễn dịch: Rất dễ bị lây lan toàn thân, đôi khi tồn tại lâu sau khi nhiễm với các triệu chứng sốt, suy nhược nghiêm trọng, gầy đi, gan to, lách to, xuất hiện hạch, loét miệng, hầu. Da bị thương tổn, xuất hiện các nốt sần, nổi hạch, phát ban. Các bệnh nội tạng thường ở đường tiêu hoá gan, thận, tim,...

– Cơ địa những người dễ bị mắc bệnh:

+ Ở người có HIV dương tính: Thường bị mắc khi số lượng tế bào CD4 khoảng 200/mm³.

+ Ở những người không bị HIV thường mắc khi bị: Ung thư, tiểu đường, nghiện rượu, điều trị corticoid dài ngày.

* Về các yếu tố sinh học: Thiếu máu, giảm tiểu cầu, tăng men gan.

5.3.3.5. Chẩn đoán

– *H. capsulatum* var. *capsulatum* là loại nấm lưỡng hình. Khi cấy ở 25°C có dạng sợi (trường hợp hoại sinh), dạng nấm men khi cấy ở 37°C (trường hợp ký sinh).

– Lấy mẫu: Ở phổi lấy đờm. Lấy máu, tuỷ xương, sinh thiết (da, hạch, gan).

– Soi trực tiếp: Có dạng nấm men: hình cầu, hình trứng kích thước 1–3 × 2,5 µm, thường nảy chồi một phía. Khi nhuộm bằng giemsa (MGG) hoặc xanh metylen xuất hiện vùng sáng xung quanh tế bào (capsule).

– Nuôi cấy xác định: Mẫu lấy phải tiến hành thử ngay không để lây nhiễm vi khuẩn, vi nấm.

– Xác định đại thể (bằng mắt thường):

* Trên môi trường Sabouraud (SDA) 25 – 27°C: khuẩn lạc lúc đầu hoàn toàn có dạng sợi, sau đó chuyển sang dạng bột (do xuất hiện nhiều bào tử). Từ màu trắng chuyển sang màu be rồi nâu nhạt. Mặt trái khuẩn lạc không màu (đôi khi có màu vàng cam).

Lưu ý: Phân biệt với những khuẩn lạc mọc do nhiễm từ không khí.

* Trên môi trường thạch – tim – nấm thêm 5% máu ở 37°C: khuẩn lạc dạng nấm men, có màng và các nếp gấp xù xì. Từ màu trắng chuyển sang màu be rồi nâu nhạt.

+ Xác định vi thể:

* Trên môi trường Sabouraud ở 25 – 27°C: Sợi nấm sau 7 ngày mảnh, trong suốt, có đường kính 2 – 3µm. Microconidi tròn hoặc hơi sần sùi, hình tròn hoặc quả lê, đường kính 2 – 3µm thường được mang bởi một cuống. Macroconidi: tròn, thành dày, có nướm, kích thước 8 – 16µm, được mang bởi một cuống dính bào tử dài (cấy dài ngày).

* Trên môi trường thạch – tim – nấm có 5% máu ở 37°C: các bào tử nảy chồi nhỏ, đường kính 2 – 5µm, hình tròn hoặc hình trứng nảy chồi ở góc hẹp.

5.3.3.6. Điều trị

Với các dạng viêm phổi cấp và dạng phát tán ở những người suy giảm miễn dịch, việc điều trị gồm hai giai đoạn: điều trị tấn công và điều trị duy trì.

+ Amphotericine B (tiêm tĩnh mạch): 1mg/kg thể trọng/24h.

+ Itraconazole (uống):

400mg/24h (với người bị suy giảm miễn dịch).

200mg/24h (với người có hệ miễn dịch bình thường).

+ Ketoconazole (uống) 400 – 600mg/24h (có thể tăng tới 800mg/24h) trong 3 tháng. Sau đó dùng liều 400mg/24h trong suốt 6 – 12 tháng.

Kết hợp với fluconazole (uống hoặc tiêm tĩnh mạch) 400mg/24h.

Lưu ý: Thuốc độc với máu, gan và thận, cần kiểm tra công thức máu, chức năng gan, thận.

5.3.3.7. Dự phòng

+ Phòng tránh hít phải bào tử (đặc biệt ở các địa điểm như hang, động, chuồng trại, gà, vịt,...)

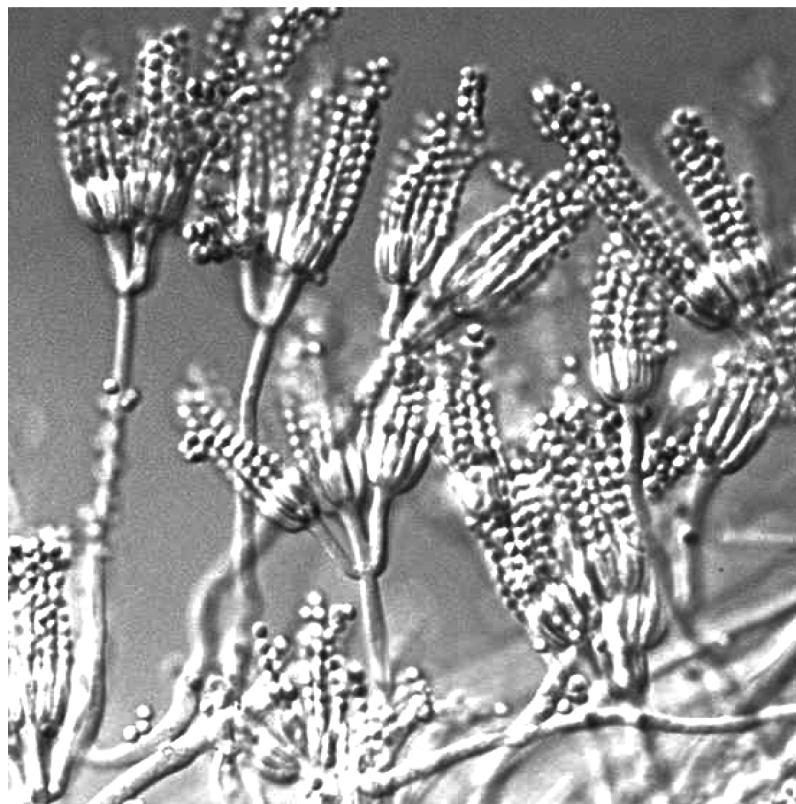
+ Dùng: Itraconazole 200mg/24h.

Đối với thứ *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* chủ yếu xuất hiện ở Châu Phi, ở Việt Nam chưa bắt gặp trường hợp nào.

5.3.4. *Penicilliosis* và loài *Penicillium marneffe*

5.3.4.1. Tác nhân gây bệnh

Bệnh do các loài thuộc chi *Penicillium* (hình 9.10) gây ra. Chi này có khoảng 200 loài, trong đó, chỉ có loài *P. marneffe* là gây bệnh trên người. Chủ yếu là các đối tượng bị suy giảm miễn dịch có nguồn gốc ở Đông Nam Á hoặc từng sống và hoạt động ở Đông Nam Á. Loài này mọc tốt ở 37°C, các loài khác sống hoại sinh trên các cơ chất chết, mọc kém hoặc không mọc ở 37°C và rất phổ biến ở ngoại cảnh.



Hình 9.10. Hình thái vi sinh học chi *Penicillium*

5.3.4.2. Dịch tễ học

Vật chủ thường gặp là chuột, thường phân lập được từ các mẫu đất ở các hang của các loài gặm

nhấm ở Đông Nam Á nên các vùng dịch địa phương chủ yếu ở Đông Nam Á, nơi có nhiều người mắc hội chứng AIDS như Bắc Thái Lan, Nam Trung Quốc, Việt Nam, Campuchia, Malaixia, Hồng Kông, Đài Loan,...

5.3.4.3. Phương thức lây nhiễm

- Qua đường hàng không, du lịch,...
- Qua da do chấn thương, tai nạn phòng thí nghiệm,...

5.3.4.4. Khả năng gây bệnh

Nấm phát tán trong toàn bộ hệ lưới nội mô với triệu chứng lâm sàng đa dạng, mức độ lây lan nhanh và mức độ nguy kịch phụ thuộc vào hiện trạng miễn dịch của cơ thể người bệnh.

- Với người nhiễm HIV bị nhiễm *P. marneffei* sẽ xuất hiện bệnh khi tế bào D4<50/ml máu.
- Với người có HIV âm tính: Do sử dụng liệu pháp corticoid dài ngày, bị bệnh tự miễn.

Thời kỳ ủ bệnh: Có thể tới 11 năm.

5.3.4.5. Triệu chứng

Giai đoạn đầu sốt, ho dai dẳng, sút cân, xuất hiện hạch, phì đại lách.

Giai đoạn kế tiếp là tổn thương da, dưới da, các nốt nhú hoặc các mụn to, các hạch dạng trứng cá ở mặt, toàn thân, các đầu của ngón tay và chân. Gây loét hệ tiêu hoá ở nội tạng gây viêm màng ngoài tim, viêm màng bụng, viêm màng phổi.

5.3.4.6. Tiên lượng

Nếu không điều trị sẽ tử vong; điều trị sớm 80% trường hợp được cứu sống.

Bệnh phát triển nhanh và trầm trọng hơn ở những bệnh nhân bị SIDA.

5.3.4.7. Chẩn đoán

– Chẩn đoán phân biệt: Lưu ý tránh nhầm lẫn với các bệnh nấm nội tạng do *Histoplasma*, bệnh nấm da do *Cryptococcus* gây ra.

– Chẩn đoán tìm nấm:

+ Lấy mẫu bệnh phẩm: Da, tim, dịch não tủy, tủy xương, sinh thiết tổ chức, cấy máu.

+ Soi trực tiếp: Trước hết lưu ý *P. marneffei* là loại nấm lưỡng hình: có dạng sợi khi cấy ở 25°C (dạng hoại sinh), dạng nấm men khi cấy ở 37°C (dạng ký sinh gây bệnh). Nhuộm màu bằng MGG (May–Grunwald–Giemsa), tế bào dạng nấm men có dạng hình tròn hoặc hình trụ, kích thước 3 × 2 – 5µm, có vách ngăn ở giữa và không có chồi.

+ Nuôi cấy nấm: Nuôi cấy ở 25°C và 37°C. Nấm mọc sau 2 – 5 ngày trên tất cả các môi trường thông dụng, nhạy cảm với actidione (cycloheximide, một loại thuốc kháng nấm do một loài xạ khuẩn là *Streptomyces griseus* sinh ra).

– Xác định đại thể: Môi trường Sabouraud hoặc SDA ở 25 – 27°C: Khuẩn lạc nấm có dạng sợi, lúc đầu có màu vàng, sau đó là nâu, xanh chuyển sang nhạt và cuối cùng chuyển màu đỏ tươi. Màu đỏ lan toả khắp môi trường nuôi cấy.

+ Xác định vi thể: Môi trường Sabouraud hoặc SDA ở 25 – 27°C, conidiophore trơn nhẵn và phân nhánh, cuống thể bình (metula) có từ 3 – 5 và chiều dài không đều nhau. Thể bình ngắn, rộng, thẳng đứng, số lượng từ 4 – 6. Conidi trơn, hình ô van và tạo thành chuỗi ngắn. Môi trường Sabouraud hoặc SDA ở 37°C, chuyển từ dạng nấm sợi sang dạng nấm men trong 2 tuần. Khuẩn lạc chuyển sang màu trắng đục, trơn bóng. Tế bào hình cầu hoặc ô van, đường kính 3 – 7µm (nhân lên bằng cách phân chia).

5.3.4.8. Điều trị

– Điều trị tấn công trong 2 – 4 tuần:

+ Cách 1: Tiêm tĩnh mạch amphotericin B (0,6mg/kg thể trọng/24h) kết hợp với 5-fluorocytosine 100mg/kg thể trọng/24h, có thể sử dụng voriconazole.

+ Cách 2: Điều trị duy trì 2 – 6 tháng:

- * Itraconazole 400mg/24h.
- * Ketoconazole 400mg/24h.
- * Fluconazole 400mg/24h.
- Điều trị dự phòng thứ cấp:

Do bệnh thường tái phát ở những người bị AIDS (25%) nên sau đợt điều trị tấn công, thường phải dùng liều dự phòng itraconazole 200mg/24h suốt đời.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Hiện tượng lưỡng hình gặp ở các loài nấm nào sau đây?
 - A. *Sporothrix schenckii*.
 - B. *Aspergillus parasiticus*.
 - C. *Histoplasma capsulatum*.
 - D. *Penicillium marneffe*
2. Aflatoxin được sinh ra bởi
 - A. *Penicillium notatum*.
 - B. *Cryptococcus neoformans*.
 - C. *Aspergillus flavus*.
 - D. *Fusarium moniliforme*.
3. Nhóm nấm bất toàn bao gồm những loài nấm chưa tìm thấy trạng thái sinh sản hữu tính.
 - A. Đúng.
 - B. Sai.
4. Đặc điểm nào sau đây **không** đúng trong bệnh lang ben?
 - A. Vi nấm gây bệnh ưa chất béo.
 - B. Vi nấm gây bệnh ưa keratin.
 - C. Hay đổ mồ hôi là yếu tố thuận lợi cho bệnh.
 - D. Các mảng da bệnh thường sưng tấy lên.
 - E. Đèn Wood là phương tiện chẩn đoán và theo dõi bệnh tốt nhất.
5. Về ái tính với ký chủ, người ta chia vi nấm gây bệnh ở da ra 3 nhóm
 - A.
 - B.
 - C.
6. U nấm do *Aspergillus* hay gặp ở người có hang lao hay dẫn phế quản.
 - A. Đúng.
 - B. Sai.
7. Khi muốn tìm *Histoplasma capsulatum*, người ta phải xử lý bệnh phẩm trong vòng....., lý do là.....
8. Người ta có thể gặp bệnh do vi nấm *Aspergillus* dưới dạng
 - A. bệnh dị ứng.
 - B. bệnh lan toả.
 - C. viêm ống tai ngoài.
 - D. bệnh ở phổi.
 - E. tất cả các thể trên.
9. Vi nấm *Cryptococcus neoformans* có rất ít trong ruột chim bồ câu, chỉ thực sự phát triển mạnh khi theo phân ra ngoại cảnh.
 - A. Đúng.
 - B. Sai.
10. Dạng nấm men của *Penicillium marneffe* sinh sản chủ yếu bằng cách

- A. nảy 1 chồi.
B. nảy 2 chồi.
C. nảy nhiều chồi.
D. phân đôi bằng vách ngăn.

11. Động vật mang nấm *Penicillium marneffe* là
A. Chó. C. Gà. E. Chuột túi.
B. Mèo. D. Chuột tre.

PHẦN BỐN

VIRUS GÂY BỆNH

Chương 10

ĐẠI CƯƠNG VỀ VIRUS

MỤC TIÊU

- Trình bày được hình thái và cấu tạo một số loài virus thường gặp.
- Trình bày được đặc điểm 3 loại cấu trúc chính của virus.
- Trình bày được tổng quát 5 giai đoạn nhân lên của virus trong tế bào chủ.
- Trình bày được hậu quả của quá trình nhân lên của virus trong tế bào vật chủ.

1. ĐẠI CƯƠNG

Trước Công nguyên, dấu hiệu về bệnh bại liệt, bệnh dại, bệnh đậu mùa đã được phát hiện. Tuy nhiên thời đó nhân loại còn chưa biết được các nguyên nhân gây ra những căn bệnh nguy hiểm ấy.

Sau thời gian rất dài, mãi đến năm 1884, Louis Pasteur đã chứng minh mầm gây bệnh dại có thể lây truyền và có thể nuôi cấy bằng cách tiêm truyền qua động vật thực nghiệm, và năm 1885, ông đã điều chế được vaccin phòng dại.

Năm 1898, M.W. Beijerinck gọi mầm bệnh khảm thuốc lá là “chất dịch có hoạt tính truyền nhiễm”, và gọi bằng tiếng Latinh là Virus (mầm độc). Thuật ngữ virus được sử dụng từ đây.

Năm 1935, W.M. Stanley lần đầu tiên phân tách và kết tinh được virus khảm thuốc lá (TMV = Tobacco mosaic virus).

Năm 1970, D. Baltimore và H.M. Temin (chung giải Nobel, 1975) phát hiện ra enzym phiên mã ngược (Reverse Transcriptase) trong các virus chỉ có một sợi đơn ARN, mở ra tương lai mới mẻ cho kỹ thuật di truyền trong sinh học phân tử.

Do sự phát triển trong nghiên cứu về virus mà từ trước đến nay đã có nhiều định nghĩa khác nhau về virus, dưới đây là khái niệm tương đối rõ về virus:

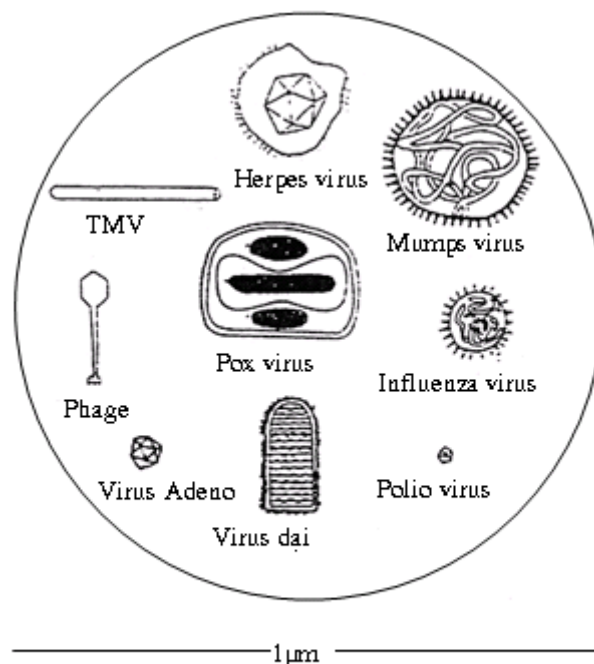
Khái niệm: *Virus là nhóm VSV chưa có cấu trúc tế bào, vô cùng bé nhỏ, không quan sát được bằng kính hiển vi thường, chỉ chứa một loại acid nucleic, ký sinh bắt buộc trong các tế bào sống – điều khiển hệ thống trao đổi chất của tế bào chủ mà sao chép acid nucleic, protein,... rồi tiến hành lắp ghép trưởng thành, sinh sản. Trong điều kiện ngoài cơ thể, virus có thể tồn tại lâu dài dưới dạng đại phân tử hoá học không sống và có thể truyền nhiễm.*

Như vậy virus có 3 đặc điểm sau:

- Virus có kết cấu đại phân tử sinh học chưa có cấu tạo tế bào, không có hiện tượng sinh trưởng cá thể.
- Tồn tại sự chuyển biến tương hỗ giữa dạng VSV ký sinh chuyên biệt trong tế bào sống và dạng phi sinh vật bên ngoài tế bào.
- Mỗi loại virus chỉ chứa một loại acid nucleic, hoặc chỉ ADN hoặc chỉ ARN.

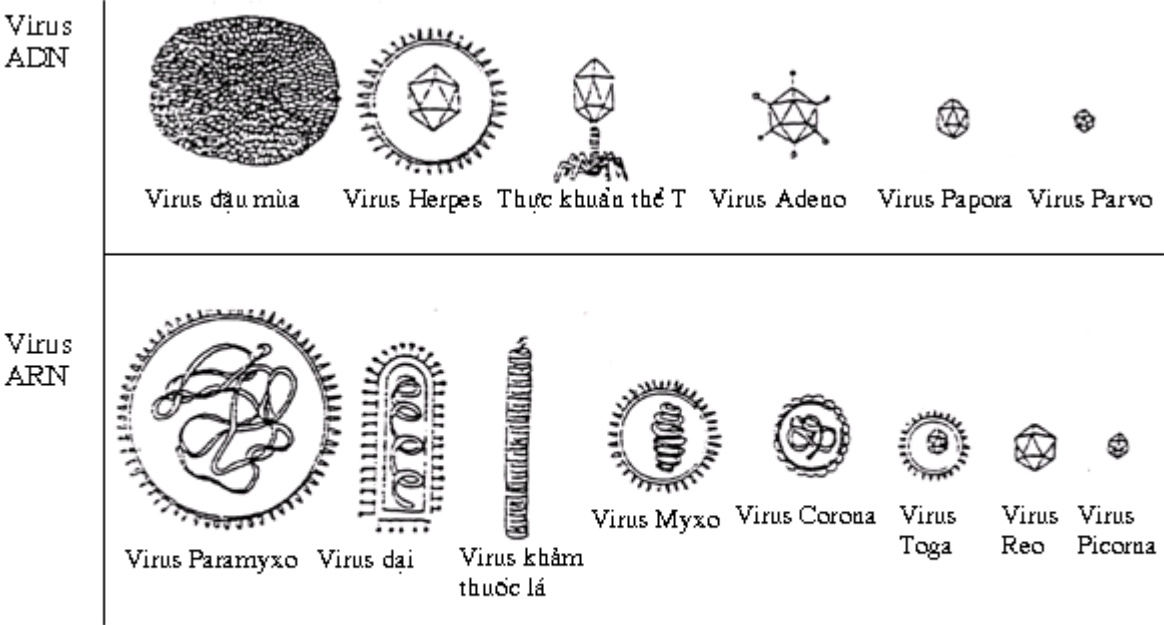
2. HÌNH THÁI VÀ CẤU TRÚC CỦA VIRUS

2.1. Kích thước và hình thái của virus



Hình 10.1. Kích thước của một số loại virus

Kích thước của virus rất nhỏ bé, có thể lọt qua các nền lọc vi khuẩn, chính vì thế mà không thể quan sát được qua kính hiển vi quang học. Kích thước virus thường được đo bằng nanômet ($1\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$). Sử dụng kính hiển vi điện tử và các kỹ thuật phụ trợ có thể quan sát, đo đạc, nghiên cứu tỷ mỉ hình thái của từng loại virus (hình 10.1). Về hình thái học virus có hình dạng khá phong phú: dạng hình que, hình khối đa diện và tổ hợp phức hợp của các dạng đó (hình 10.2).

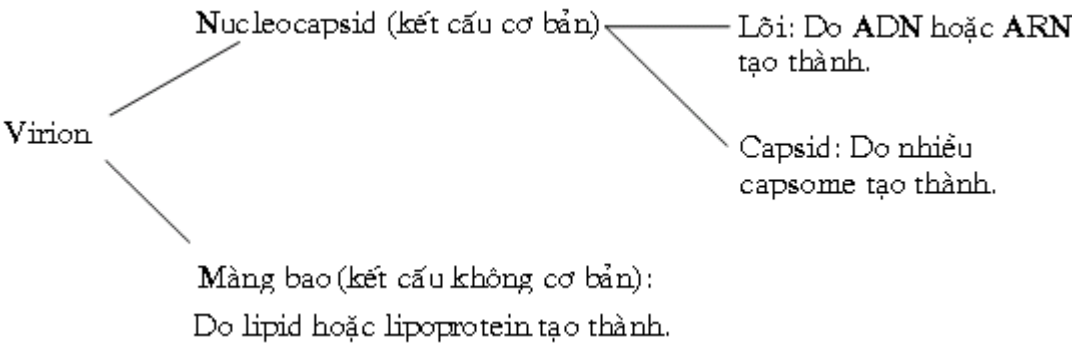


Hình 10.2. Hình dạng một số loại virus

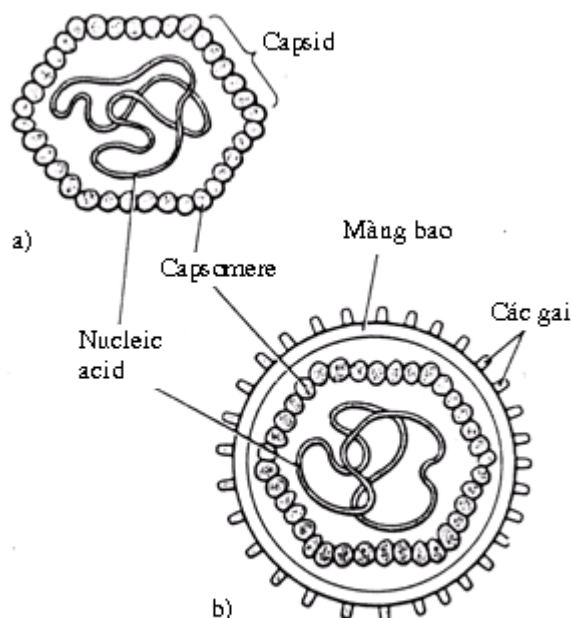
2.2. Cấu trúc của virus

Như đã nêu, virus chưa có cấu tạo tế bào, mỗi virus không thể được gọi là một tế bào mà chỉ được gọi là hạt virus hay virion (virus particle). Virion là một virus trưởng thành, có kết cấu hoàn chỉnh với thành phần chủ yếu là acid nucleic (ADN hoặc ARN) được bao quanh bởi lớp vỏ protein.

Acid nucleic – hạt nhân – nằm ở giữa hạt virus, là hệ gen của virus, còn protein bọc bên ngoài tạo thành vỏ gọi là capsid. Capsid được tạo thành bởi các tiểu phần capsid còn được gọi là capsome, mang các thành phần kháng nguyên (KN) đặc thù và có tác dụng bảo vệ lõi acid nucleic. Lõi và vỏ hợp lại tạo thành nucleocapsid, là cấu trúc cơ bản của virus.



Một số virus có cấu trúc phức tạp hơn: Bên ngoài capsid còn có màng bao lipid hay lipoprotein, có thể còn có các mấu gai (spikes) bám xung quanh. Màng bao thực chất là màng tế bào chất của tế bào chủ, nhưng được virus cấu tạo lại và mang tính KN đặc trưng của virus. Màng bao có thể bị các dung môi hoà tan lipid phá huỷ (ete, aceton,...) (hình 10.3).



Hình 10.3. Hai loại cấu trúc vỏ virus

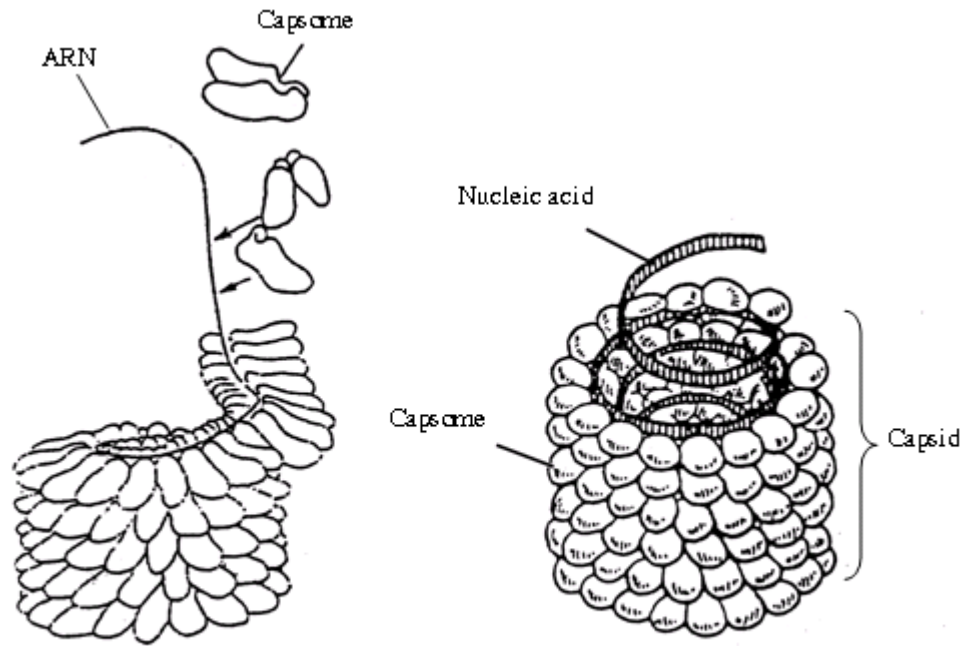
a) Không có màng bao; b) Có màng bao

Các kết quả nghiên cứu sử dụng kỹ thuật nhiễu xạ röntgen, kính hiển vi điện tử cho thấy các virion có 3 dạng cấu trúc chính là cấu trúc xoắn, cấu trúc đối xứng khối, và cấu trúc hỗn hợp với các đặc trưng rất đặc thù.

2.2.1. Virus cấu trúc xoắn

Các virus khảm thuốc lá (TMV–Tobacco mosaic virus), đại,... là các virus có cấu trúc xoắn: acid nucleic và protein sắp xếp dạng xoắn lò xo hình que hay sợi. Tùy loại virus mà chiều dài, đường kính và chu kỳ lặp của nucleocapsid khác nhau.

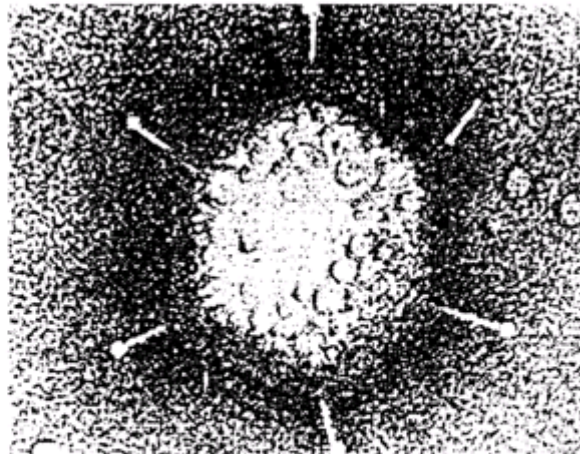
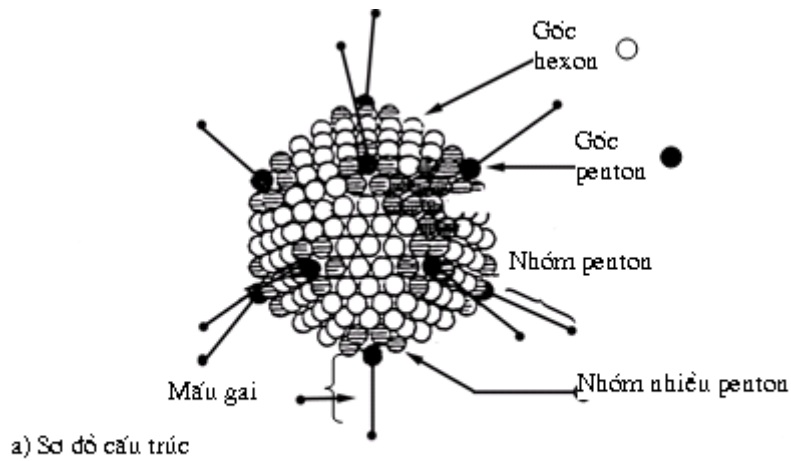
Virus khảm thuốc lá là virus có cấu trúc xoắn đặc trưng, dạng hình que thẳng, chiều dài 300nm, đường kính ngoài 15nm, đường kính lõi rỗng 4nm. TMV có chứa 5% ARN mạch đơn (ss ARN) và 95% protein. Capsid được cấu tạo bởi 2130 capsome hình chiếc giày. Mỗi capsome được cấu thành từ 158 gốc acid amin, có phân tử lượng là 17.500 Da. Các capsome bám vào sợi ARN xoắn lò xo, có 130 vòng xoắn, với bước nâng vòng xoắn là 2,3nm, và trung bình có 16,33 capsome gắn vào. Cứ một capsome gắn với 3 nucleotid của ARN, nên mỗi vòng xoắn của ARN có 49 nucleotid. Sợi ssARN chứa 6.390 base nucleotid, có phân tử lượng là 2×10^6 D (hình 10.4).



Hình 10.4. Virus TMV dạng xoắn

2.2.2. Virus đối xứng khối

Cấu trúc đối xứng khối đặc trưng cho các loại virus như *Adenovirus*, *Reovirus*, *Herpes virus*, *Picornavirus*,... với typ đối xứng 2 mặt, 3 mặt, 5 mặt. Khi khảo sát cấu trúc *Adenovirus* (hình 10.5), nếu quan sát thoáng qua thấy gần giống hình cầu, nhưng khi quan sát kỹ hơn nhận thấy đây là virus không có màng bao, đường kính khoảng 70 – 80nm, có cấu trúc đối xứng khối, đa diện 20 tam giác đều, 30 cạnh, 12 đỉnh, mỗi đỉnh là nơi gặp nhau của 5 mặt. Capsid được cấu thành bởi 252 capsome với phân tử lượng capsome là 70.000 Da.



Hình 10.5. Adenovirus (đối xứng 20 mặt)

2.2.3. Virus cấu trúc phức hợp

Virus cấu trúc phức hợp rất phổ biến trong trường hợp các phage, trong đó có phage T của *E. coli*. Loại phage này gồm có các kiểu T2, T4 và T6 phân bố rất rộng rãi trong tự nhiên. Đây là các mô hình đã được nghiên cứu sâu, nhất là đối với phage T4.

Phage T4 được cấu tạo bởi 3 bộ phận: đầu, cổ và đuôi.

2.2.3.1. Đầu

Dài 95nm, đường kính 65nm, có 20 mặt. Capsid được cấu tạo bởi 8 loại capsome, đường kính 8nm, tổng cộng có 212 capsome. Lượng protein chiếm 71 – 86% trong phage. Bên trong đầu có ADN sợi đúp (ds ADN), đầu được nối với đuôi qua cổ.

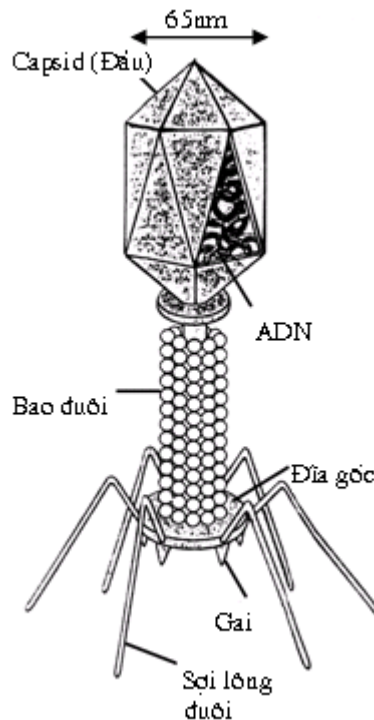
2.2.3.2. Cổ

Là đĩa lục giác, đường kính 37,5nm. Từ đĩa cổ mọc ra 6 tua cổ.

2.2.3.3. Đuôi

Gồm có bao đuôi, ống đuôi, đĩa gốc, 6 mấu ghim và 6 sợi đuôi. Bao đuôi dài 95nm, có 24 vòng xoắn, cấu tạo bởi 144 capsome (mỗi capsome có phân tử lượng là 55.000Da), đầu bao đuôi gắn với vòng cổ. Lồng trong bao đuôi là ống đuôi với chiều dài và vòng xoắn tương tự, đường kính 8nm, rỗng giữa có đường kính 2,5 – 3,5nm, là ống dẫn ADN từ trong đầu phage xâm nhiễm vào tế bào mẫn cảm. Đĩa gốc gắn với đầu cuối ống đuôi cũng là đĩa lục giác rỗng ở giữa có đường kính 30,5nm, trên đó mọc ra 6 sợi đuôi và 6 mấu ghim.

Mấu ghim dài 24nm có chức năng hấp phụ. Sợi đuôi dài 140nm có thể gấp lại ở chính giữa, đường kính 2nm. Sợi đuôi được cấu tạo bởi 2 loại protein khá lớn và 4 loại protein khá nhỏ, có tác dụng hấp phụ vào vùng mẫn cảm của tế bào chủ (hình 10.6).



Hình 10.6. Cấu tạo của phage

Khi sợi đuôi hấp phụ vào vùng mẫn cảm, đĩa gốc bị kích thích làm co rút bao đuôi và làm cho ống đuôi đâm mấu ghim vào tế bào chủ. Các capsome của bao đuôi phát sinh chuyển động chuyển vị phức hợp làm co chiều dài đuôi lại 50%, giống sự co rút của các protein sợi cơ.

2.3. Acid nucleic của virus

Acid nucleic lưu giữ thông tin di truyền đặc thù của mọi virus, nên rất đa dạng và là cơ sở tin cậy để phân loại virus. Các loại acid nucleic của virus có thể được phân biệt dựa trên các đặc tính sau:

- ADN hay ARN?
- Chuỗi đơn (ss–single strand) hay chuỗi kép (ds–double strand)?
- Dạng mạch thẳng hay dạng vòng?
- Hệ gen chứa 1 thành phần, hay 2, 3 hoặc nhiều thành phần?

Những virus mang ADN thì chủ yếu là mạch kép, còn các virus mang ARN chủ yếu là mạch đơn. Phân loại một số virus đến họ trên cơ sở acid nucleic với các tiêu chí đã nêu như sau:

2.3.1. Các virus chứa ADN

a) Chuỗi đơn (ss ADN)

- Mạch thẳng:

Họ *Parvoviridae* (gây bệnh sốt ban đỏ ở trẻ em) chưa được nghiên cứu nhiều.

- Mạch vòng:

Thực khuẩn thể  X 174, M13, fd, f1 của *E. coli*.

b) Chuỗi kép (ds ADN)

- Mạch thẳng:

+ Họ *Adenoviridae* (gây nhiều hội chứng lâm sàng khác nhau): Adeno virus typ 1, 8, 14, 21,...

+ Họ *Herpesviridae* (gây bệnh mụn rộp herpes ở người, gây bệnh đậu gà), có vỏ bao quanh capsid: *Herpes simplex* typ 1, *Herpes simplex* typ 2, *Varicella zoster* virus, *Cytomengalovirus*

(CMV), *Epstein-Barr-virus* (EBV) – liên quan đến các khối u trên người.

+ Họ *Hepadnaviridae* (virus ADN gây viêm gan), có vỏ bao ngoài: *Herpatitis B virus* (HBV), *Herpatitis delta virus* (HDV).

+ Họ *Poxviridae* (gây bệnh đậu mùa, bệnh đậu bò,...), có vỏ bao ngoài: *Pockenvirus*, *Vacciniavirus*, *Affenpockenvirus*.

+ Phage T, P1, P2, Mu của *E. coli*, phage PBSX, SPO1 của *B. subtilis*, phage P22 của *Salmonella*,...

– Mạch vòng:

Họ *Papovaviridae* (gây khối u trên người và động vật): *Papilloma*, *Polioma*, *Vacuolating virus*.

2.3.2. Các virus chứa ARN

a) Chuỗi đơn

– Họ *Arenaviridae*, hình cầu hoặc đa hình, có vỏ bao ngoài, gây sốt xuất huyết và viêm màng não vô trùng (*Lymphocytosis choriomeningitis virus* –LMV), cũng có loài gây sốt Lassa.

– Họ *Bunyaviridae* (có 150 typ huyết thanh), capsid cấu trúc xoắn, có vỏ bao ngoài, bao gồm Hantan virus gây bệnh sốt xuất huyết không do côn trùng đốt và gây bệnh thận.

– Họ *Coronaviridae*, cấu trúc xoắn, có vỏ bao, có khả năng gây viêm đường hô hấp cấp, trong đó có SARS.

– Họ *Filoviridae*, đa hình thái, có vỏ bao. Chi đại diện là *Filovirus* chứa *Marburgvirus* và *Ebolavirus* gây bệnh.

– Họ *Flaviviridae*, gây bệnh lây lan qua côn trùng tiết túc, có vỏ bao ngoài. Các virus gây bệnh chính bao gồm: virus Dengue, virus viêm não (encephalitis) Nhật Bản B, virus sốt vàng, FSME virus (viêm não mùa xuân), virus viêm gan C.

– Họ *Orthomyxoviridae* (gây bệnh cúm), ARN sợi (–), có vỏ bao envelop, có các virus gây bệnh cúm A, B, C cho người và động vật.

– Họ *Paramyxoviridae*, capsid cấu trúc xoắn, có vỏ bao, có các virus gây bệnh á cúm, sởi, quai bị, hợp bào hô hấp (RSV = Respiratory Syncytial virus), bệnh Newcastle, Rendepest.

– Họ *Picornaviridae*, là nhóm virus nhỏ, gây bệnh chủ yếu ở đường tiêu hoá. Các virus chính: *Poliovirus*, *Coxsackievirus*, *echo virus*, *Hepatitis A virus*, *Rhinovirus*, ngoài ra còn có hàng trăm virus khác.

– Họ *Rhabdoviridae*, cấu trúc xoắn, có vỏ bao ngoài, chủ yếu gây bệnh dại.

– Họ *Retroviridae*, hình cầu, có vỏ bao ngoài, có enzym phiên mã ngược. Có nhiều virus gây bệnh, đặc biệt có virus gây ung thư, và gây bệnh AIDS.

– Họ *Togaviridae*, có vỏ bao ngoài: Thành viên gây bệnh chính là *Rubella virus*.

– Các loại phage chứa ARN như thực khuẩn thể MS2, Aô, f2, R17 của *E. coli*,...

b) Chuỗi kép (ds ARN)

Mạch thẳng:

+ Họ *Reoviridae*: Gây bệnh ỉa chảy đối với trẻ em đang bú, và nhiễm khuẩn hô hấp do *Rotavirus*.

3. SỰ NHÂN LÊN CỦA VIRUS

Khi nhiễm sinh vào tế bào sống cảm thụ, qua điều khiển bộ máy trao đổi chất cũng như hoạt động trao đổi chất của tế bào mà virus tổng hợp được các thành phần cấu trúc và tạo ra được các hạt virus mới, “phát triển” nhân lên. Các hạt virus trưởng thành thoát ra khỏi tế bào chủ bắt đầu chu kỳ nhân lên mới. Sự nhân lên của virus mang tính bùng phát chu kỳ, khác hẳn thời kỳ sinh trưởng, phát triển 4 pha của vi khuẩn. Thời gian chu kỳ nhân lên của các virus khác nhau là khác nhau. Ví dụ: *Picornavirus* cần 6 đến 8 giờ, còn *Herpesvirus* cần hơn 40 giờ. Số lượng các virus "con" (thế hệ sau) được tạo ra cũng không giống nhau: *Picornavirus* tạo ra khoảng 100.000 hạt virus mới trong mỗi tế bào chủ, trong khi đó *Poxvirus* chỉ tạo ra khoảng 1.000 hạt virus mới.

Quan điểm chung của các nhà khoa học là quá trình nhân lên của virus gồm 5 giai đoạn: Hấp phụ – Xâm nhập – Tổng hợp – Lắp ráp – Giải phóng.

3.1. Sự hấp phụ của virus lên bề mặt tế bào chủ

Các chuyển động tự nhiên tạo ra va chạm ngẫu nhiên giúp virus bám vào thụ thể (receptor) đặc hiệu trên tế bào cảm thụ. Ví dụ: *Poliovirus* chỉ hấp phụ được lên màng tế bào người và linh trưởng, mà không hấp phụ lên tế bào động vật khác vì không có thụ thể. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự hấp phụ của virus: số lượng virus, sự hiện diện của một số cation (Ca^{2+} , Mg^{2+}) có tác dụng xúc tiến hấp phụ, ngược lại Al^{3+} , Fe^{3+} lại làm giảm hoạt tính hấp phụ của virus. Nhiệt độ không ảnh hưởng đến hấp phụ của virus.

3.2. Xâm nhập của virus

Ngay sau khi hấp phụ, acid nucleic virus lập tức xâm nhập tế bào. Quá trình xâm nhập này xảy ra theo một trong 3 cách sau:

Xâm nhập nhờ cơ chế “cởi áo”: Màng của virus dung hợp với màng sinh chất của tế bào (về bản chất các màng này là giống nhau), ví dụ *Paramyxovirus* và *Retrovirus*, phần nucleocapsid bị đẩy vào trong tế bào chất. Capsid của virus bị enzym decapsidase của tế bào phân huỷ, giải phóng acid nucleic.

Xâm nhập nhờ cơ chế thực bào hoặc nhập bào: Sau khi virus hấp phụ lên bề mặt tế bào, màng tế bào lõm vào tạo thành không bào đưa virus vào tế bào chất. Tại đây màng không bào bị dung giải, nucleocapsid được giải phóng.

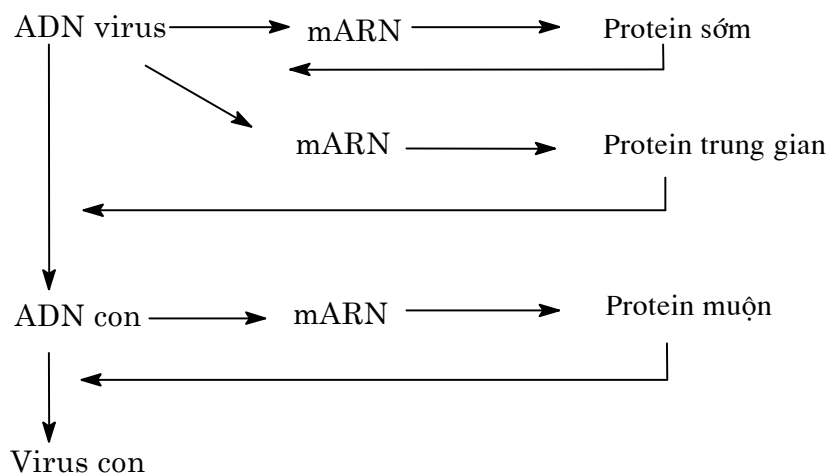
Bơm acid nucleic vào tế bào chủ: Các phage sau khi hấp phụ, sợi đuôi co lại làm cho mấu đuôi ở đĩa gốc cắm vào thành tế bào; các lysozym ở đầu ống đuôi làm tan một lỗ ở thành tế bào, tạo ra kích thích làm cho capsome của bao đuôi co lại, ống đuôi đâm qua thành và màng tế bào chất, và acid nucleic của phage được bơm vào tế bào chất.

3.3. Tổng hợp các thành phần của virus

Trước tiên acid nucleic của virus cung cấp thông tin di truyền cho tế bào chủ và bắt tế bào chủ tổng hợp ra các thành phần của virus. Quá trình tổng hợp có thể được thực hiện trong nhân (*Adenovirus*) hoặc trong tế bào chất (*Poxvirus*) của tế bào chủ. Giai đoạn này là giai đoạn ẩn (tiềm tàng) của virus, có thể kéo dài vài giờ đến vài ngày.

3.3.1. Virus mang ADN

Đại diện là các *Adenovirus*, *Papovavirus* và *Herpesvirus*. ADN của các virus này được sao chép nhân lên ở trong nhân của tế bào chủ để sinh ra mARN. Chương trình sao chép cần ít nhất 2 chu kỳ đối với *Papovavirus* và 3 chu kỳ với *Herpesvirus* và *Adenovirus*. Trong mỗi trường hợp, các polypeptid của các virion được tạo ra từ mARN (hình 10.7).



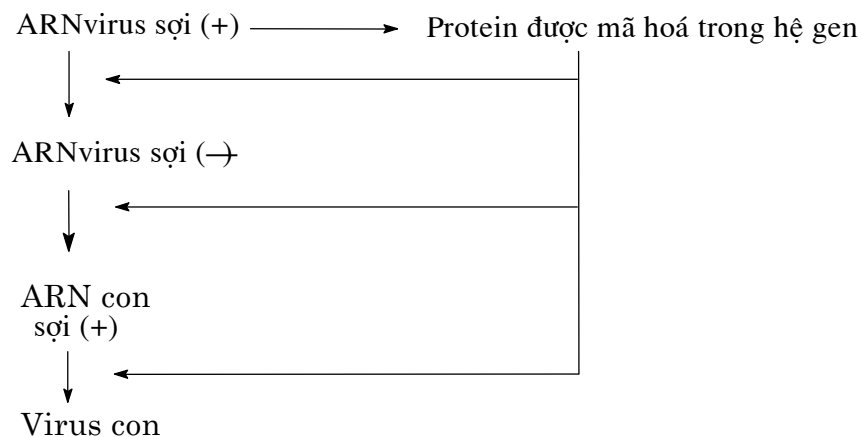
Hình 10.7. Sơ đồ nhân lên của *Adenovirus* và *Herpesvirus*

Trong cả hai trường hợp, genom của virus được sao chép trong 3 chu kỳ bởi ADN polymerase. Trước tiên, các ADN mới được tạo ra (nhờ ADN pol tế bào chủ) được phiên mã thành mARN (mARN E1, mARN a) mà được dịch mã thành protein điều hoà (protein rất sớm). Protein này hỗ trợ phiên mã ADN mới thành mARN E2 (hay mARN b) mà được dịch mã thành ADN polymerase (protein sớm sau) mới tổng hợp. ADN polymerase này sao chép genom virus thành rất nhiều genom virus con mà một phần trong số đó được phiên mã thành mARN L1 (mARN g) mà được dịch mã thành protein cấu trúc. Protein cấu trúc lắp ghép với genom virus con tạo thành virion hoàn chỉnh. Ở *Papovavirus*, 2 chu kỳ đầu được gộp làm một.

3.3.2. Virus mang ARN

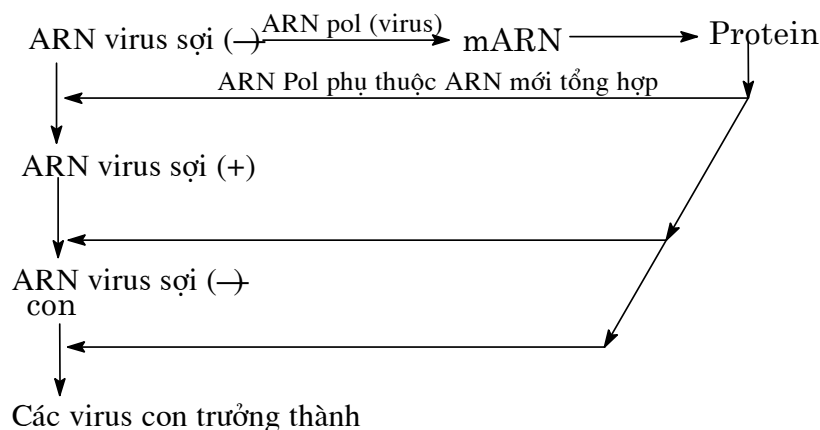
Các virus mang ARN được chia làm 3 nhóm:

3.3.2.1. Nhóm 1: Đại diện là *Picornavirus*. Hệ gen nhóm này có 2 chức năng, vừa là mARN gọi là sợi dương (+) (nếu phân tử ARN có trình tự nucleotid trùng với trình tự của mARN thì được quy ước là sợi (+), còn ngược lại là sợi (-)) và cũng là khuôn để tổng hợp sợi bổ sung gọi là sợi (-). Sau khi xâm nhập vào tế bào ARN virus gắn vào ribosom và được dịch mã. Sản phẩm là polyprotein và sau đó được tách thành các polypeptid. Với chức năng thứ hai, ARN của virus được dùng làm khuôn để tổng hợp nên sợi âm với sự tham gia của ARN polymerase được tạo ra nhờ việc tách polyprotein nói trên. Sau đó sợi âm lại được dùng làm khuôn để tổng hợp sợi dương mới. Sợi dương này được lắp ghép lại để tạo ra virus con (hình 10.8).



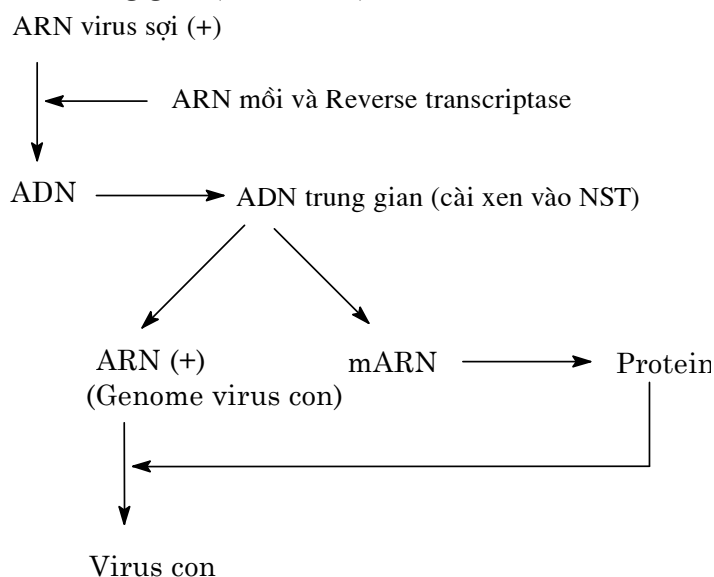
Hình 10.8. Sơ đồ nhân lên của *Picornavirus*

3.3.2.2. Nhóm 2: Gồm các virus mà ARN đóng vai trò là sợi (-), đại diện là *Myxoviridae*, *Paramyxoviridae*. Đặc điểm của nhóm này là ss ARN chỉ có một chức năng là làm khuôn cho quá trình sao chép, vì vậy, chúng phải được sao chép để tạo ra mARN mà tế bào lại thiếu các enzym thích hợp. Toàn bộ sợi âm của virus cùng với enzym sao chép có trong virion. Quá trình sao chép trải qua 2 giai đoạn. Giai đoạn đầu tiên tạo ra mARN mà mỗi ARN này chỉ mã hoá một chuỗi polypeptid, đến giai đoạn thứ hai sẽ hình thành chuỗi đầy đủ và sợi dương, sợi này được dùng làm khuôn để tổng hợp sợi âm con (hình 10.9).



Hình 10.9. Sơ đồ nhân lên của *Orthomyxovirus*

3.3.2.3. Nhóm 3: Đại diện là nhóm *Retrovirus*, đặc tính của nhóm này là nhiễm sắc thể ARN virus sao chép ngược thành ADN trung gian (hình 10.10).



Hình 10.10. Sơ đồ nhân lên của *Retrovirus*

3.4. Giai đoạn lắp ráp

Khi các phân tử protein capsid và acid nucleic được tổng hợp với một lượng vừa đủ (khoảng 2 – 3 giờ sau khi xâm nhiễm) thì giai đoạn lắp ráp bắt đầu. Các protein của capsid bao bọc một phần tử acid nucleic để tạo thành một hạt virus hoàn chỉnh. Quá trình này có thể là tự phát, không cần năng lượng, nhưng có thể bị ngăn cản bởi một số chất có khả năng gắn vào acid nucleic của virus hoặc làm hỏng cấu trúc protein. Kết quả là quá trình lắp ráp có thể tạo thành hạt virus không hoàn chỉnh: chỉ có capsid mà không có lõi acid nucleic. Những hạt virus này không có khả năng gây nhiễm, tuy nhiên, có mang tính kháng nguyên đặc hiệu. *Picornavirus*, *Poxvirus* và *Reovirus* lắp ráp trong bào tương, còn *Adenovirus*, *Herpesvirus* và *Papovavirus* lắp ráp trong nhân tế bào chủ.

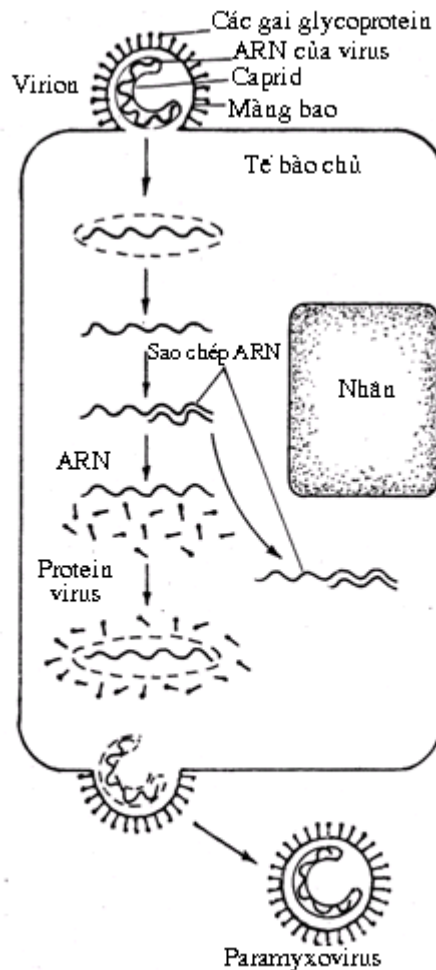
3.5. Giai đoạn giải phóng

Các hạt virus con được giải phóng khỏi tế bào sau vài giờ đến sau vài ngày theo hai cách.

Nảy chồi: Một số virus có màng bao được giải phóng bằng cách nảy chồi qua các vị trí đặc biệt của màng tế bào chủ do virus độc mã. Như vậy, virus sẽ nhận lấy một phần màng tế bào chủ với cơ cấu protein đặc trưng riêng mà virus gài vào đây. Sự nảy chồi có thể xảy ra dọc màng tế bào chất: màng nhô ra phía ngoài cùng với nucleocapsid như nảy chồi, và các enzym đặc biệt trên bề mặt cắt

cho chồi rời ra. Ví dụ, màng ngoài của virus *Paramyxoviridae* có gai glycoprotein (hình 10.11).

Phá huỷ màng tế bào chủ: Hàng loạt virus được giải phóng trong một thời gian ngắn bằng cách phá vỡ màng tế bào chủ (phage và một số loại virus khác) qua ly giải và từ đó thoát ra ngoài.



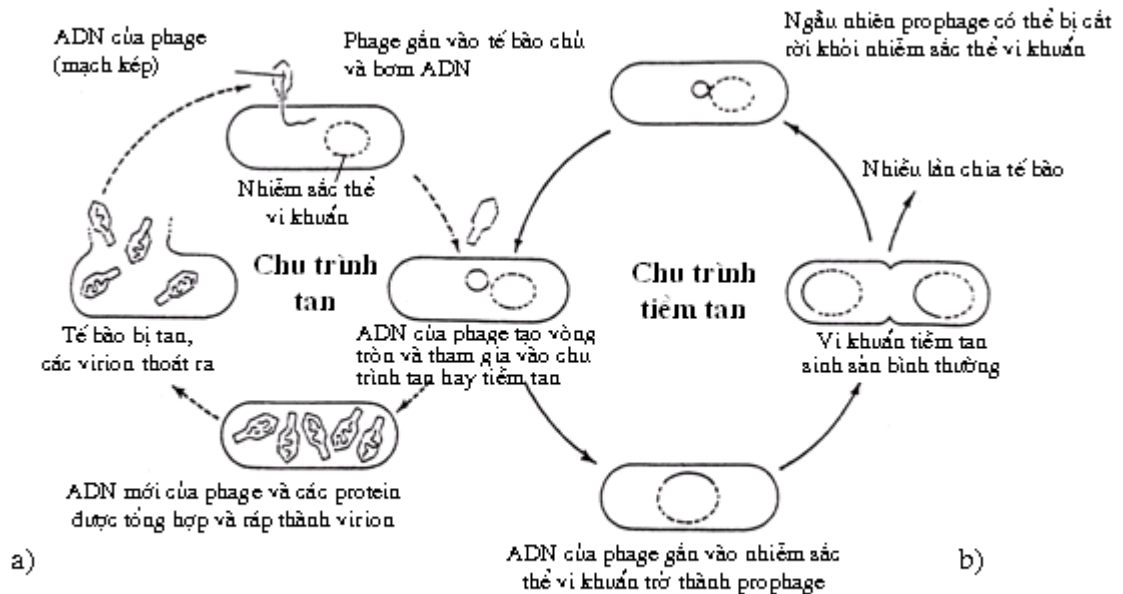
Hình 10.11. Sinh sản của *Paramyxoviridae*

4. SỰ NHÂN LÊN CỦA PHAGE

Có 2 loại phage chính là *phage độc* và *phage ôn hoà* (tiềm tàng).

Phage độc: là những phage phá huỷ, gây ly giải tế bào chủ. Sau khi xâm nhập tế bào vi khuẩn, chúng nhân lên và phá vỡ tế bào chủ giải phóng các phage mới ra ngoài. Đây là quá trình ly giải (lysis).

Phage ôn hoà còn gọi là phage tiềm tàng hay prophage. Khi phage ôn hoà xâm nhập vào tế bào vi khuẩn, acid nucleic của virus gắn vào ADN của vi khuẩn, và tồn tại, phân chia nhân lên cùng hệ gen của vi khuẩn qua nhiều thế hệ mà không ly giải tế bào. Đó là quá trình tiềm tan (lysogeny). Khi gặp điều kiện thích hợp, acid nucleic của phage được hoạt hóa, chỉ huy quá trình nhân lên và tạo ra các phage mới làm tổn hại tế bào. Quá trình này chỉ diễn ra với các phage mang ds ADN. Trong điều kiện thích hợp, phage ôn hoà có thể trở thành phage độc và gây ly giải tế bào chủ. Những tế bào mang phage tiềm tan gọi là tế bào tiềm tan hay tế bào sinh dung giải. Quá trình nhân lên của phage cũng tuân theo quy luật chung của virus (hình 10.12).



Hình 10.12. Sơ đồ nhân lên và giải phóng phage

a) Chu trình tan; b) Chu trình tiềm tan.

5. HẬU QUẢ CỦA QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN CỦA VIRUS

Sự ký sinh, nhân lên của virus trong tế bào gây nên những hậu quả nghiêm trọng tiếp theo đối với tế bào chủ cũng như vật chủ:

- **Phá huỷ tế bào (Cytopathic Effect, CPE):** Trong phòng thí nghiệm, để đánh giá mức độ phá huỷ tế bào của virus ta xác định liều huỷ hoại 50% số tế bào (CPD 50 – Cytopathic Dose 50%) và đơn vị tạo plaque (vùng tan tế bào) (plaque forming unit– PFU).

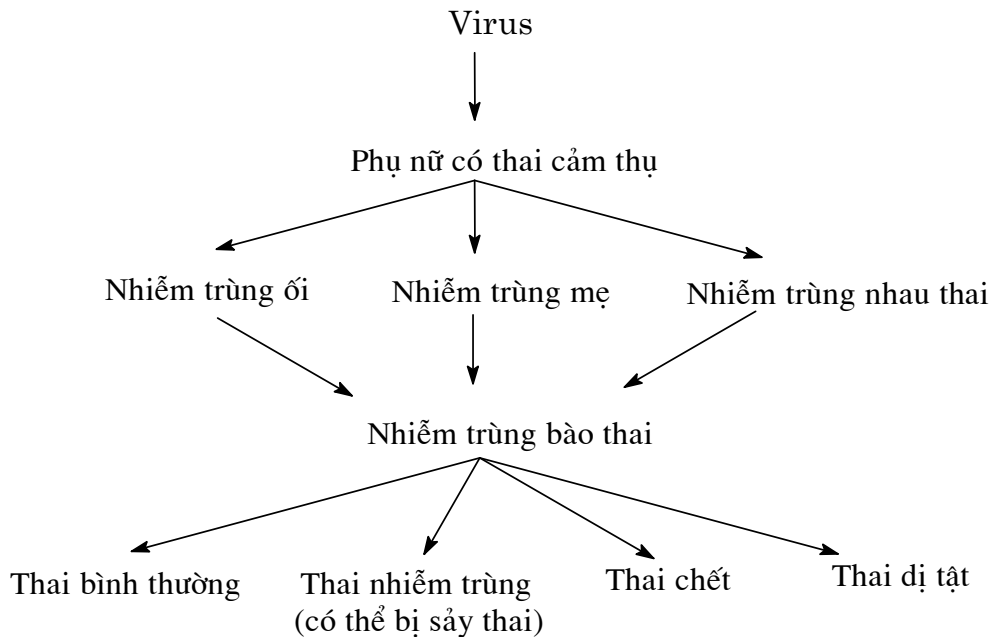
- **Làm sai lệch nhiễm sắc thể của tế bào:** Nhiễm sắc thể của tế bào chủ có thể bị gãy, phân mảnh hoặc sắp xếp lại. Có thể xuất hiện những nhiễm sắc thể bất thường và thay đổi số lượng nhiễm sắc thể của tế bào.

- **Sinh khối u:** Các nhà nghiên cứu đã gây ung thư thực nghiệm ở động vật do virus, còn ở người, một số cơ chế gây ung thư đã được xác định hoàn toàn. Cơ chế gây khối u có thể do virus gây thay đổi kháng nguyên bề mặt của tế bào, làm mất khả năng ức chế do tiếp xúc khi tế bào sinh sản.

- **Sinh thai nhi bất thường:** Trong 3 tháng đầu của thời kỳ thai nghén, nếu phụ nữ mang thai bị nhiễm virus có thể gây những hậu quả bất thường cho thai nhi (hình 10.13).

- **Tạo ra hạt virus không hoàn chỉnh (defective interfering particle–DIP):** Đó là những hạt virus không có acid nucleic, chỉ có vỏ protein. DIP không nhân lên được trong tế bào, mà chỉ mang kháng nguyên vỏ của virus hoàn chỉnh.

- **Tạo ra các tiểu thể:** Các tiểu thể nội bào được tạo ra từ các thành phần của hạt virus, nhưng lớn hơn hạt virus, có thể ở trong nhân hoặc trong bào tương của tế bào.



Hình 10.13. Ảnh hưởng của virus đối với phụ nữ có thai

- Chuyển thể tế bào (Transformation): Genom của virus tích hợp vào genom tế bào làm cho tế bào thể hiện tính trạng mới. Ví dụ, phage E15 tích hợp vào nhiễm sắc thể của *Salmonella*.
- Sản xuất interferon: Virus đóng vai trò chất cảm ứng kích thích tế bào sinh interferon. Chất này đóng vai trò chất cảm ứng kích thích tế bào sinh ra protein kháng virus.
- Biến tế bào thành tế bào tiềm tan (tế bào có tiềm năng sinh ly giải): Genom của virus (phage) tích hợp vào nhiễm sắc thể của tế bào (vi khuẩn) tồn tại và nhân lên cùng genom tế bào. Khi có điều kiện thích hợp, genom của virus sẽ được hoạt hoá, virus nhân lên và phá huỷ tế bào. Những tế bào có genom virus tích hợp trong nhiễm sắc thể được gọi là các tế bào tiềm tan.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày 3 loại cấu trúc chính của virus.
2. Trình bày phân loại virus dựa trên acid nucleic virus.
3. Trình bày 5 giai đoạn nhân lên của virus.
4. Trình bày quá trình tổng hợp các thành phần của virus mang ADN.
5. Trình bày các quá trình nhân lên của virus mang ARN.
6. So sánh quá trình nhân lên của virus mang ARN sợi (–) và ARN sợi (+).
7. Trình bày quá trình nhân lên và giải phóng của phage.
8. Trình bày hậu quả của quá trình nhân lên của virus trong tế bào và vật chủ.

Chương 11

CÁC VIRUS GÂY BỆNH THƯỜNG GẶP

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của các virus.
2. Nêu phương pháp chẩn đoán vi sinh của các virus.
3. Nêu phương pháp phòng và điều trị bệnh do virus.

1. MYXOVIRUS

Myxovirus được chia làm hai nhóm chính: *Orthomyxovirus* và *Paramyxovirus*.

Orthomyxovirus gồm các thành viên là: Cúm A, B, C; *Paramyxovirus* gồm các thành viên là: quai bị, sởi, á cúm, virus hợp bào đường hô hấp và một số virus gây bệnh cho động vật.

1.1. Virus cúm (*Influenza virus*)

Virus cúm là thành viên chính của nhóm *Orthomyxovirus* và là căn nguyên của bệnh cúm là bệnh nhiễm trùng đường hô hấp cấp tính dễ thành dịch. *Orthomyxovirus* gồm có 3 typ miễn dịch: cúm A, B, C.

1.1.1. Đặc điểm sinh học

1.1.1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus cúm có hình cầu, đường kính 80 – 120nm. Vỏ bao ngoài của virus là lớp lipid kép, trên bề mặt có các gai glycoprotein.

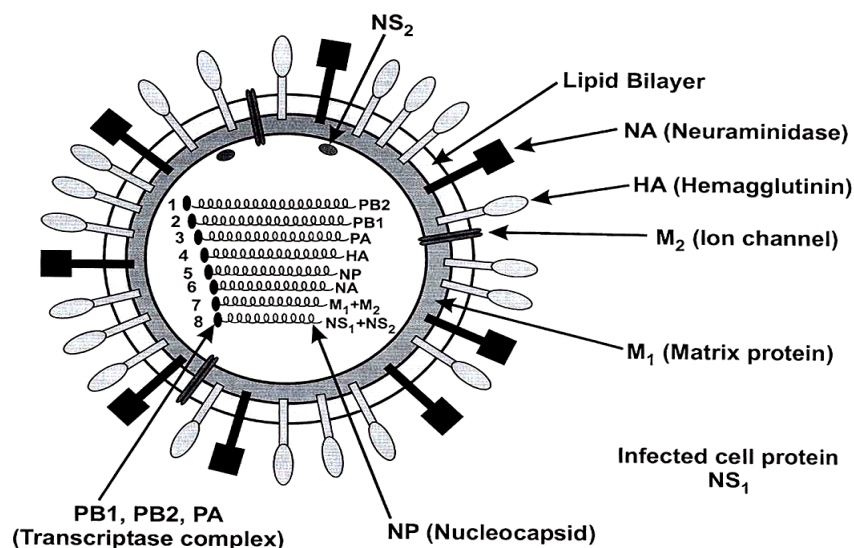
Vật liệu di truyền là ARN chuỗi đơn (gồm có 8 đoạn với cúm A, B và 7 đoạn với cúm C). Protein capsid cùng với ARN tạo nên nucleocapsid đối xứng xoắn.

1.1.1.2. Sức đề kháng

Virus cúm dễ bị tiêu diệt bởi các yếu tố vật lý, hoá học như: tia cực tím ánh sáng mặt trời và các dung môi hoà tan lipid (ete, formalin).

1.1.1.3. 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 là: tế bào BHK, vero.



Hình 11.1. *Influenza virus*

1.1.1.4. 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, 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 chủ để làm thành vỏ envelope của hạt virus.

1.1.1.5. Kháng nguyên

– Kháng nguyên kết hợp bề mặt và kháng nguyên hoà tan bản chất là nucleoprotein, đây là kháng nguyên đặc hiệu typ.

– Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu, gồm có:

+ Kháng nguyên H (Hemagglutinin): Đặc trưng cho typ virus. Hiện nay có 16 cấu trúc kháng nguyên H từ H1 đến H16.

+ Kháng nguyên N (Neuraminidase): đặc trưng cho thứ typ, gồm có 9 cấu trúc kháng nguyên từ N1 đến N9.

Kháng nguyên H có vai trò quan trọng trong khả năng gây nhiễm của virus, còn kháng nguyên N giúp cho virus lan tràn trong cơ thể và thúc đẩy sự phóng thích các hạt virus ra khỏi tế bào chủ. Cấu trúc H và N thường dễ thay đổi để trở thành typ và thứ typ mới.

1.1.1.6. Cách gọi tên

Trước hết gọi tên typ virus, sau đó là động vật cảm thụ, địa danh phân lập, số bệnh phẩm phân lập, năm phân lập, và cấu trúc H và N.

Ví dụ: A/ Bangkok/3/79/H3N2.

B/ Singapor/7/79/H1N2.

1.1.2. Khả năng gây bệnh

Bệnh cúm là một bệnh nhiễm trùng cấp tính, gây dịch.

Virus xâm nhập vào cơ thể bằng đường hô hấp, sau thời gian ủ bệnh từ 1 đến 3 ngày thì xuất hiện các dấu hiệu khởi phát như: sốt cao 39 – 40°C, nhức đầu, đau mình mẩy, mệt mỏi, gai rét và hắt hơi, chảy nước mắt, nước mũi. Sang giai đoạn toàn phát, bệnh nhân tiếp tục sốt cao 39 – 40°C, mệt mỏi, đau đầu dữ dội, thường đau ở trán và hốc mắt, mắt sung huyết đỏ ngầu và có thể thấy nốt xuất huyết trên da. Ở một số bệnh nhân có bội nhiễm phổi, bệnh nặng lên rất nhiều.

Diễn biến của bệnh trong vòng 7 ngày thì bệnh nhân khỏi (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 giảm sức lao động.

1.1.3. Dịch tễ học

Các đợt cúm thường xuất hiện vào mùa đông xuân. Sự lan tràn và độ trầm trọng của đợt bệnh thay đổi rất nhiều. Các vụ dịch toàn thể hay đại dịch xuất hiện thường là quãng 10 đến 15 năm một lần. Trong đó, dịch cúm lan tràn và nghiêm trọng nhất là do virus cúm A gây nên. Trong các năm 1889 – 1890, 1918 – 1919, 1957, 1968 đã có những đại dịch do cúm A.

Virus cúm B và virus cúm C thường gây các vụ dịch nhỏ, ít lan rộng.

1.1.4. Chẩn đoán vi sinh học

1.1.4.1. Phân lập và xác định virus

– Bệnh phẩm là dịch mũi họng lấy vào các ngày đầu của bệnh.

– Nuôi cấy và phân lập trên các dòng tế bào nhạy cảm.

– 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 với hồng cầu với kháng thể mẫu.

1.1.4.2. Chẩn đoán huyết thanh

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, ngăn 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.

1.1.5. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh:

+ 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.

+ Phòng bệnh đặc hiệu: Hiện nay thường dùng vaccin bất hoạt cho những người chưa có miễn dịch, nhưng kháng thể hình thành chỉ kháng lại virus vaccin mà không có miễn dịch chéo với thứ typ mới.

– Điều trị: Chủ yếu là điều trị triệu chứng, chăm sóc điều dưỡng và chống bội nhiễm. Các thuốc kháng virus cũng được dùng là Amantadine và Rimantadin đối với cúm A.

1.2. Virus quai bị (*Mump virus*)

Virus quai bị là thành viên của nhóm *Paramyxovirus* được Johnson và Goodpasture phân lập từ nước bọt năm 1934.

1.2.1. Đặc điểm sinh học

1.2.1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus có hình cầu và đường kính khoảng 120 – 200nm. Vỏ envelope có cấu trúc lipid kép. Bề mặt của virus chứa các gai là hemagglutinin (H), neuraminidase (N) và hemolysin (F–glycoprotein).

Vật liệu di truyền là ARN sợi đơn.

1.2.1.2. Sức đề kháng

Virus quai bị 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.

1.2.1.3. Nuôi cấy

Virus được nuôi cấy trên tế bào thai gà và tế bào thường trực vero.

1.2.1.4. 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. 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 làm vỏ bọc.

1.2.1.5. Kháng nguyên

– Kháng nguyên kết hợp bổ thể và kháng nguyên hoà tan là thành phần protein của nucleocapitid.

– Kháng nguyên ngưng kết hồng cầu: Hemagglutinin và Neuraminidase. Kháng nguyên này bị ức chế bởi huyết thanh đặc hiệu kháng quai bị.

1.2.2. Khả năng gây bệnh

Bệnh quai bị là một bệnh truyền nhiễm cấp tính, gây dịch.

Virus xâm nhập vào cơ thể qua đường hô hấp, thời kỳ ủ bệnh 12 – 25 ngày, virus nhân lên ở niêm mạc miệng, kết mạc mắt, từ đó vào máu và đi đến các cơ quan khác như màng não, tinh hoàn, buồng trứng, tuyến,...

Các biểu hiện của bệnh như sau:

– Viêm tuyến nước bọt mang tai: là biểu hiện lâm sàng thường gặp nhất, bệnh nhân thấy đau vùng mang tai, khó há miệng, sốt, kém ăn, nhức đầu, đau nhức cơ khớp. 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 tuổi thanh, thiếu niên, chiếm 20 – 30% trường hợp, xuất hiện sau sung tuyến nước bọt 7 –10 ngày. Bệnh nhân thấy sốt cao và rét run và thấy sưng đau ở tinh hoàn.
 - Viêm buồng trứng: Gặp khoảng 7% sau tuổi dậy thì. Bệnh nhân thường thấy sốt và đau 1 bên hoặc 2 bên hố chậu.
 - Viêm màng não gặp ở 10 – 35% các trường hợp, nhất là ở trẻ nhỏ.
 - Ngoài ra, virus quai bị còn gây viêm tụy cấp, viêm não, viêm cơ tim... nhưng các thể này ít gặp.
- Miễn dịch sau bệnh khá bền vững, tỷ lệ tái nhiễm gặp dưới 3%.

1.2.3. Dịch tễ học

Người là tác chủ tự nhiên độc nhất của virus quai bị. Bệnh có ở trên toàn thế giới. Bệnh thường xuất hiện trong mùa đông xuân, đặc biệt là tháng 4 hoặc tháng 5 và lây truyền qua đường hô hấp, rất dễ phát triển thành dịch ở các địa phương hoặc cộng đồng. Quai bị hiếm gặp ở trẻ em dưới 2 tuổi và người già nhưng hay gặp ở trẻ từ 3 – 14 tuổi, thanh niên từ 17 – 20 tuổi, nam nhiều hơn nữ. Khoảng 30 – 40% trường hợp nhiễm quai bị mà không có triệu chứng và đây là nguồn lây khó tránh nhất.

1.2.4. Chẩn đoán vi sinh học

1.2.4.1. Phân lập và xác định virus

- Bệnh phẩm lấy từ nước bọt, nước tiểu hoặc dịch não tủy.
- Phân lập trong bào thai gà hoặc các tế bào nuôi: Tế bào sơ non bào thai gà, tế bào thường trực vero. Ngoài ra, có thể dùng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp phát hiện kháng nguyên virus trong bệnh phẩm.

1.2.4.2. Chẩn đoán huyết thanh

Phát hiện kháng thể chống quai bị trong huyết thanh bằng phản ứng kết hợp bổ thể, ức chế ngưng kết hồng cầu. Nhưng tốt nhất vẫn là ELISA.

1.2.5. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
- + Phòng bệnh không đặc hiệu: Cách ly và tránh tiếp xúc với bệnh nhân.
- + Phòng bệnh đặc hiệu: Cùng vaccin rất có hiệu quả, thường tiêm chủng cho trẻ sau 1 tuổi, khi mà kháng thể do mẹ truyền đã hết hiệu lực.
- 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.

1.3. Virus sởi (*Measle virus*)

Năm 1757, Francis Home chứng minh virus sởi là tác nhân gây bệnh sởi.

Năm 1954, Enders và Peebles phân lập được virus.

Virus sởi thuộc họ *Paramyxovirus*, giống *Morbillivirus*, loài *measle*.

1.3.1. Đặc điểm sinh học

1.3.1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus hình cầu đường kính 120 – 250nm; vỏ bao ngoài là lớp lipid kép, trên bề mặt có các gai glycoprotein mang tính kháng nguyên; vỏ capsid đối xứng xoắn; vật liệu di truyền là ARN sợi đơn.

1.3.1.2. Sức đề kháng

Virus dễ bị tiêu diệt bởi các nhân lý hoá như: ở 56°C sau 30 phút, tia cực tím và các dung môi hoà tan lipid (ete, formol).

1.3.1.3. Kháng nguyên

Virus sởi chỉ có 1 typ kháng nguyên duy nhất và ổn định, do vậy, nhiễm sởi tự nhiên có miễn

dịch suốt đời.

1.3.1.4. Nuôi cấy

Virus sởi có thể được nuôi cấy trên tế bào một lớp của người hoặc khi, các dòng tế bào thường trực như vero, Hep-2.

1.3.2. Khả năng gây bệnh

Virus sởi chỉ gây bệnh cho người.

– Virus sởi xâm nhập vào cơ thể qua đường mũi họng và đường mắt. Thời gian ủ bệnh từ 10 – 12 ngày.

Thời kỳ toàn phát với các dấu hiệu viêm long ở mắt: Chảy nhiều nước mắt, mi mắt sưng, kết mạc mắt đỏ và viêm long đường hô hấp trên: Chảy nước mũi, hắt hơi, ho, kèm theo sốt cao, mệt mỏi. Sau đó xuất hiện nốt Koplik trong niêm mạc miệng. Đây là giai đoạn dễ lây nhất.

– Bệnh sởi điển hình thể hiện bằng phát ban đỏ theo thứ tự từ trên xuống dưới, sau 5 – 7 ngày, ban bay dần theo thứ tự khi mọc, để lại những vết đen trên da, gọi là vằn da hổ.

Sau mắc sởi, bệnh nhân có miễn dịch bền vững suốt đời.

– Bệnh sởi gây nhiều tai biến:

+ Viêm phổi: Do bội nhiễm vi khuẩn, rất nguy hiểm với trẻ nhỏ.

+ Viêm tai giữa.

+ Viêm não cấp: Tỷ lệ mắc 0,005 – 0,1% trong các trường hợp bị sởi.

+ Viêm xơ chai não bán cấp: Là bệnh mãn tính do nhiễm virus chậm ở não, có thể xuất hiện sau sởi từ 7 – 10 năm.

Ngoài ra, khi mắc sởi, sức đề kháng của trẻ em bị suy giảm tạm thời nên có thể mắc nhiều bệnh nhiễm trùng cơ hội như: tiêu chảy, viêm giác mạc dễ dẫn tới mù loà,...

1.3.3. Dịch tễ học bệnh sởi

– Bệnh lây theo đường hô hấp rất dễ thành dịch, thường gặp vào mùa đông xuân.

– Đối tượng cảm nhiễm là những người chưa có miễn dịch bệnh ở mọi lứa tuổi, nhưng gặp nhiều ở trẻ em tuổi mẫu giáo và tiểu học.

1.3.4. Chẩn đoán vi sinh học

1.3.4.1. Phân lập virus và xác định virus

– Bệnh phẩm: Dịch mũi họng hoặc kết mạc.

– Phân lập trên dòng tế bào nhạy cảm B95-a.

1.3.4.2. Phát hiện kháng nguyên virus

Bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang.

1.3.4.3. Chẩn đoán huyết thanh

– Bệnh phẩm: huyết thanh bệnh nhân

– Phát hiện kháng thể bằng kỹ thuật ELISA, kết hợp bổ thể, trung hoà,...

1.3.5. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng không đặc hiệu: Phát hiện sớm, cách ly bệnh nhân, xử lý chất thải.

– Phòng đặc hiệu: Vaccin sởi sống giảm độc được tiêm cho trẻ em từ 9 – 11 tháng trong chương trình tiêm chủng mở rộng.

– Điều trị: Chưa có thuốc đặc hiệu, việc điều trị nhằm giải quyết những triệu chứng bất lợi, chống bội nhiễm, nâng cao thể trạng giúp bệnh nhân tự hồi phục.

1.4. Virus hợp bào hô hấp (*Respiratory Syncytial Virus– RSV*)

RSV thuộc họ *Paramyxovirus*, được phân lập năm 1956, là căn nguyên chính gây viêm nhiễm hô hấp cấp ở trẻ nhỏ.

1.4.1. Đặc điểm sinh học

Virus hình cầu, đường kính 150 – 300nm, ngoài cùng là lớp vỏ envelope có gai bám bản chất là glycoprotein, tiếp đến nucleocapsid, vật liệu di truyền là ARN sợi đơn.

1.4.2. Khả năng gây bệnh

- Thời kỳ ủ bắt đầu cảm nhiễm virus là từ 6 tuần – 6 tháng tuổi.
- Dấu hiệu ban đầu là viêm đường hô hấp trên: sốt, ho, sổ mũi,...
- Khoảng 25 – 40% trường hợp chuyển sang viêm đường hô hấp dưới với biểu hiện triệu chứng: viêm phế quản, viêm tiểu phế quản, phế quản phế viêm. Thường dẫn đến bội nhiễm vi khuẩn.
- Sau nhiễm virus có kháng thể miễn dịch nhưng tồn tại không lâu, do đó trẻ thường bị tái nhiễm.
- Trẻ lớn và người lớn khi nhiễm virus thường có bệnh cảnh của cảm lạnh, triệu chứng không rõ ràng, rất khó chẩn đoán lâm sàng.
- Dịch tễ: RSV lây lan bằng đường hô hấp, sau đó nhân lên tại niêm mạc đường hô hấp. Bệnh thường gặp vào mùa đông xuân, có thể thành dịch.

1.4.3. Chẩn đoán vi sinh học

1.4.3.1. Phân lập virus và xác định virus

- Bệnh phẩm: Dịch mũi họng.
- Nuôi cấy trên dòng tế bào cảm thụ thích hợp.
- Xác định virus bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang.

1.4.3.2. Chẩn đoán huyết thanh

- Bệnh phẩm: Huyết thanh bệnh nhân.
- Tìm kháng thể kháng virus bằng các kỹ thuật miễn dịch.

1.4.4. Phòng bệnh và điều trị

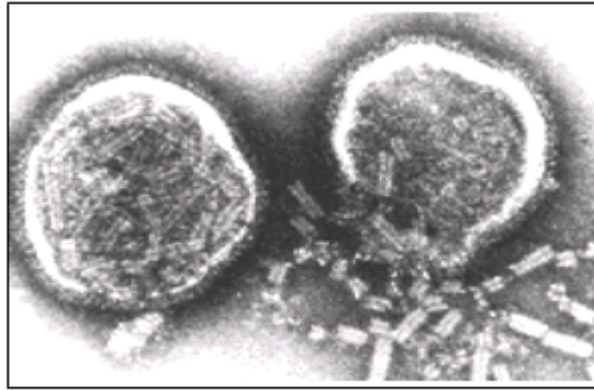
- Chưa có vaccin đặc hiệu.
- Phòng bệnh bằng các biện pháp không đặc hiệu như vệ sinh mũi họng, phát hiện và cách ly bệnh nhân.
- Điều trị: Chưa có thuốc đặc hiệu, điều trị triệu chứng, chống bội nhiễm, nâng cao thể trạng.

1.5. Virus á cúm (*Parainfluenzae virus*)

1.5.1. Đặc điểm sinh học

– Á cúm là virus đa hình thái, kích thước từ 150 – 200nm, vỏ bao ngoài có cấu trúc hemagglutinin và neuraminidase giúp cho chức năng bám của virus vào tế bào cảm thụ, có khả năng gây ngưng kết hồng cầu động vật, đồng thời là những kháng nguyên đặc hiệu kích thích cơ thể sinh kháng thể kháng virus, việc phát hiện kháng thể này trong huyết thanh có giá trị chẩn đoán. Vật liệu di truyền của virus là ARN một sợi.

– Virus á cúm có 4 typ huyết thanh 1, 2, 3, 4. Trong đó, á cúm typ 1 còn gọi là cúm D hay cúm Sendai.



Hình 11.2. Ảnh hiển vi điện tử của virus á cúm

1.5.2. Khả năng gây bệnh

– Bệnh thường gặp ở trẻ em với biểu hiện; sốt, nhiễm trùng đường hô hấp, đôi khi bệnh cảnh giống ho gà, còn gọi là giả ho gà. Biến chứng thường gặp là bội nhiễm vi khuẩn: phế cầu, liên cầu, *Haemophilus influenzae*, viêm tai giữa. Khi bị bội nhiễm, tình trạng thường nặng lên có thể dẫn đến tử vong.

– Bệnh lây trực tiếp qua đường hô hấp, có thể thành dịch trong cộng đồng.

1.5.3. Chẩn đoán vi sinh học

1.5.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Bệnh phẩm: Dịch mũi họng.
- Nuôi cấy trên dòng tế bào cảm thụ thích hợp.
- Xác định virus bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang.

1.5.3.2. Chẩn đoán huyết thanh

- Bệnh phẩm: Huyết thanh bệnh nhân.
- Tìm kháng thể kháng virus bằng các kỹ thuật miễn dịch.

1.5.4. Phòng bệnh và điều trị

- Chưa có vaccin đặc hiệu.
- Phòng bệnh bằng các biện pháp không đặc hiệu như vệ sinh mũi họng, phát hiện và cách ly bệnh nhân, xử lý chất thải.
- Điều trị triệu chứng, chống bội nhiễm, nâng cao thể trạng.

2. ARBOVIRUS

Arbovirus là những virus có thể nhân lên được trong các tổ chức của các động vật có xương sống (người, động vật có vú, chim), cũng như một số động vật không xương sống (ve, muỗi, dãn).

Các virus này muốn truyền bệnh từ động vật có xương sống này tới động vật có xương sống khác phải thông qua môi giới trung gian là côn trùng tiết túc.

2.1. Virus viêm não Nhật Bản (*Japanese Encephalitis Virus*)

Được gọi là virus viêm não Nhật Bản bởi virus này được Hayshi phát hiện năm 1934 tại Nhật Bản. Ngoài ra, do virus thuộc nhóm B (*Flavivirus*) của *Arbovirus* cho nên được gọi là virus viêm não Nhật Bản B.

2.1.1. Đặc điểm sinh học

2.1.1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus có hình cầu, đường kính khoảng 40 – 50nm, vỏ bao ngoài là màng lipid kép, capsid đối xứng

hình khối, vật liệu di truyền là ARN. Trên bề mặt hạt virus có những gai glycoprotein mang tính kháng nguyên.

2.1.1.2. Sức đề kháng

Virus bị tiêu diệt bởi các dung môi hoà tan lipid (ete, xà phòng, formalin), tia cực tím, ở 56°C sau 30 phút.

2.1.1.3. Nuôi cấy

Phát triển tốt trên tế bào muỗi C6/36. Cũng có thể nuôi cấy vào não chuột nhắt trắng 1 – 3 ngày tuổi hoặc cấy vào lòng đỏ trứng gà ấp 8 – 9 ngày.

2.1.1.4. Kháng nguyên

Virus viêm não Nhật Bản có kháng nguyên trung hoà, kháng nguyên ngưng kết hồng cầu và kháng nguyên kết hợp bổ thể.

2.1.2. Khả năng gây bệnh

Bệnh viêm não Nhật Bản do muỗi đốt truyền virus, chủ yếu gặp ở trẻ em dưới 15 tuổi, biểu hiện lâm sàng thường gặp 2 thể sau:

- Thể nhẹ: Bệnh nhân chỉ đau đầu, sốt nhẹ, mệt mỏi trong 2 – 3 ngày.

- Thể nặng: Do có tổn thương não, nên từ các triệu chứng nhẹ đột ngột xuất hiện các triệu chứng viêm não cấp nặng như: đau đầu dữ dội, sốt cao, co giật, rối loạn cảm giác, rối loạn vận động, rối loạn ý thức ở nhiều mức độ. Tỷ lệ tử vong khoảng 10 – 12%, các bệnh nhân thoát khỏi thời kỳ nặng thường có các di chứng về thần kinh và tâm thần.

2.1.3. Dịch tễ học

Bệnh viêm não Nhật Bản lưu hành rộng ở Châu Á, 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 điếu) và đặc biệt ở một số loài gia súc nuôi như lợn, bò, chó, ngựa. Vector truyền bệnh là muỗi *Culex* và *Aedes*, trong đó, muỗi *Culex tritaeniorhynchus* là vector chính.

2.1.4. Chẩn đoán vi sinh học

2.1.4.1. Phân lập và xác định virus

- Bệnh phẩm: Máu và dịch não tủy của 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 vector truyền bệnh (muỗi *Culex tritaeniorhynchus*).

- Thường dùng 2 kỹ thuật sau để phân lập virus:

- + Kỹ thuật phân lập trên chuột nhắt trắng 1 – 3 ngày tuổi.

- + Kỹ thuật phân lập trên tế bào muỗi C6/36.

- Xác định virus này bằng 3 kỹ thuật:

- + Kỹ thuật ngưng kết hồng cầu.

- + Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang.

- + Kỹ thuật ELISA.

2.1.4.2. Chẩn đoán huyết thanh

- Bệnh phẩm: mẫu huyết thanh kép của bệnh nhân.

- Kỹ thuật thường dùng hiện nay là kỹ thuật ngưng kết hồng cầu, ELISA để tìm động lực kháng thể.

2.1.5. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:

- + Phòng bệnh không đặc hiệu: Diệt muỗi truyền bệnh, tránh bị muỗi đốt.

- + Phòng bệnh đặc hiệu: Tiêm phòng vaccin cho trẻ em dưới 15 tuổi, nhất là ở những vùng có

dịch lưu hành.

– 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.

2.2. Virus Dengue

Virus Dengue được Sabin phát hiện năm 1944 và được xếp vào nhóm B (*Flavivirus*) của *Arbovirus*.

2.2.1. Đặc điểm sinh học

2.2.1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus Dengue có hình cầu với đường kính khoảng 35 – 50nm. Cấu trúc của virus gồm có: Vỏ envelope bản chất là lipoprotein, vỏ capsid đối xứng hình khối, vật liệu di truyền là ARN một sợi dương.

2.2.1.2. Sức đề kháng

Virus bị tiêu diệt bởi các dung môi hoà tan lipid (ete, formalin), tia cực tím, ở 600 sau 30 phút.

2.2.1.3. Nuôi cấy

Nuôi cấy virus trên các tế bào nuôi như: tế bào Hela, tế bào muỗi C6/36. Ngoài ra, có thể cấy truyền vào não chuột nhắt trắng mới đẻ 1 – 2 ngày tuổi hoặc cấy vào cơ thể muỗi *Aedes aegypti* hoặc muỗi *Toxorhynchites*.

2.2.1.4. Kháng nguyên

Virus Dengue có 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, ký hiệu là: D₁, D₂, D₃, D₄.

2.2.2. Khả năng gây bệnh

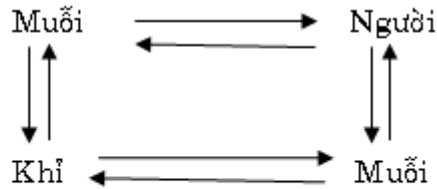
Bệnh sốt xuất huyết Dengue là bệnh truyền nhiễm gây dịch do muỗi truyền. Nhiễm virus có thể gây ra các bệnh cảnh sau:

– Sốt Dengue: Nặng bệnh 3 – 15 ngày; thời kỳ khởi phát, bệnh nhân sốt cao 39 – 40°C, rét run, đau đầu, đau mỏi cơ, khớp, sưng huyết ở củng mạc mắt, đau nhức nhãn cầu, phát ban ngoài da kiểu sởi, đôi khi thấy có chấm xuất huyết dưới da, số lượng tiểu cầu bình thường. Sốt trong vòng 3 – 7 ngày, tiên lượng tốt không xảy ra sốc.

– Sốt xuất huyết Dengue: Ngoài các triệu chứng như trên, bệnh nhân còn có các dấu hiệu của hội chứng xuất huyết dưới da, niêm mạc, xuất huyết tiêu hoá, số lượng tiểu cầu giảm. Khi bị sốt xuất huyết Dengue rất dễ dẫn đến sốc do giảm tuần hoàn (do tăng tính thấm thành mạch) với các dấu hiệu: mặt lả, tinh thần vật vờ, mạch nhanh nhỏ, chi lạnh, huyết áp tụt, nổi vân tím trên da. Nếu không điều trị kịp thời, bệnh nhân có thể tử vong.

2.2.3. Dịch tễ học

Ổ chứa virus là người, khỉ và muỗi, đường lây truyền virus là do muỗi đốt. Vì vậy, bệnh sốt xuất huyết Dengue có mặt ở nơi 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 khí hậu nóng ẩm, cho nên bệnh sốt xuất huyết Dengue có thể gặp quanh năm, đặc biệt là vào mùa mưa.



Sơ đồ 11.1. Quá trình lây nhiễm của virus Dengue

2.2.4. Chẩn đoán vi sinh học

2.2.4.1. Phân lập và xác định virus

– Bệnh phẩm:

+ Máu bệnh nhân lúc đang sốt.

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%.

+ Vector: Muỗi *Aedes aegypti*.

Bệnh phẩm lấy xong phải được bảo quản lạnh, riêng muỗi phải giữ cho sống và gửi ngay đến phòng thí nghiệm.

– Phân lập virus: Hiện nay thường dùng một trong ba phương pháp sau:

+ Phân lập trên chuột bạch.

+ Phân lập trên muỗi sống.

+ Phân lập trên tế bào một lớp C6/36.

– Xác định virus:

Sau khi phân lập, xác định virus bằng một trong các phương pháp sau:

+ Phản ứng kết hợp bổ thể.

+ Phản ứng trung hoà.

+ Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trực tiếp.

+ Kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction).

2.2.4.2. Chẩn đoán huyết thanh

– Bệnh phẩm: Máu bệnh nhân lúc vào viện và lần thứ hai cách đó 7 ngày.

– Các kỹ thuật thường dùng hiện nay:

+ Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu.

+ Phản ứng kết hợp bổ thể.

+ Phản ứng trung hoà.

Dựa vào các phản ứng huyết thanh, chúng ta tìm được hiệu giá kháng thể lần 1 và hiệu giá kháng thể lần 2. Từ đó, nếu hiệu giá kháng thể lần 2 lớn hơn lần 1 bốn lần thì có chẩn đoán dương tính.

2.2.5. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh: 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 vector truyền bệnh.

+ Hạn chế và tránh muỗi đốt.

– Điều trị: Hiện nay chưa có thuốc đặc hiệu kháng virus. Chủ yếu là điều trị triệu chứng và biến chứng kết hợp với nâng cao thể trạng.

3. VIRUS BẠI LIỆT (POLIOVIRUS)

Virus bại liệt được tìm ra năm 1904, đây là một *Enterovirus* (virus đường ruột) thuộc họ *Picornaviridae*.

Enterovirus gồm: *Poliovirus*, *Coxsackievirus*, *ECHO virus*, *virus viêm gan A*.

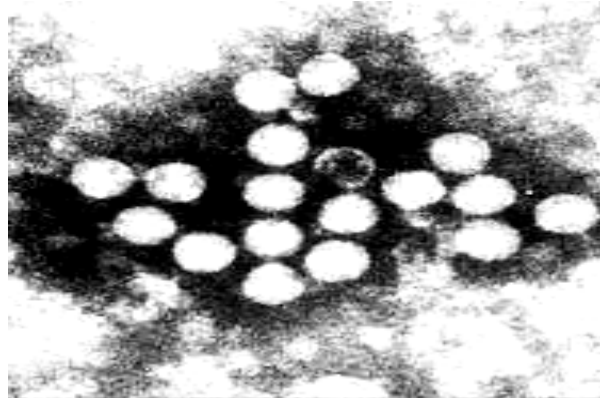
3.1. Đặc điểm sinh học

3.1.1. Hình thể và cấu trúc

Virus bại liệt hình cầu, đường kính khoảng 27 – 30nm, capsid được cấu tạo bởi 32 capsome đối xứng hình khối. Vật liệu di truyền là ARN một sợi.

3.1.2. Sức đề kháng

Virus bại liệt có sức đề kháng cao, trong nước có thể sống được khoảng 4 tháng, trong phân sống được trên 6 tháng, không bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipid. Tuy nhiên, virus lại dễ bị tiêu diệt ở nhiệt độ 56°C/30 phút, tia cực tím và các chất sát khuẩn như oxy già, dung dịch iod.



Hình 11.3. Ảnh kính hiển vi điện tử của virus bại liệt

3.1.3. Nuôi cấy

Hai dòng tế bào thường trực được sử dụng để phân lập virus bại liệt:

- Tế bào L20B (dòng tế bào chuột có thụ thể đặc hiệu với virus bại liệt).
- Tế bào RD (tế bào ung thư cơ vân).

3.1.4. Kháng nguyên

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.

3.2. Khả năng gây bệnh

Bệnh bại liệt (Poliomyelitis) là bệnh nhiễm trùng cấp tính lây theo đường tiêu hoá, có thể thành dịch.

Thời kỳ ủ bệnh từ 4 – 35 ngày. Biểu hiện lâm sàng của bệnh rất đa dạng, thể liệt mềm cấp chỉ khoảng 1%, thể viêm não vô khuẩn khoảng 1%, còn khoảng 90% là thể ẩn. Biểu hiện của hội chứng liệt mềm cấp là: giảm hoặc mất vận động chi, cơ bị liệt mềm, nhẽo, giảm trương lực, tiến triển cấp tính trong 3 – 4 ngày.

3.3. Dịch tễ học

Virus bại liệt phân bố rộng rãi khắp thế giới, lây truyền qua đường tiêu hoá. Nước nhiễm chất thải, thức ăn bị nhiễm hoặc côn trùng trung gian (ruồi, gián) là nguồn lây nhiễm. Bệnh thường xảy ra ở mùa hè và gặp ở trẻ em dưới 15 tuổi. Từ năm 2000, Việt Nam đã công bố thanh toán bại liệt, tuy nhiên bại liệt vẫn lưu hành tại một số nơi trên thế giới, do đó chúng ta vẫn phải

tiếp tục giám sát các trường hợp liệt mềm cấp theo thường quy của Tổ chức Y tế Thế giới.

3.4. Chẩn đoán vi sinh

3.4.1. Phân lập và xác định virus

- Bệnh phẩm: Phân lấy trong vòng 0 – 14 ngày kể từ khi liệt, 2 mẫu lấy cách nhau 24 giờ.
- Phân lập virus trên 2 dòng tế bào nhạy cảm: Tế bào L20B, tế bào RD.
- Xác định sự có mặt của virus là những đám hoại tử tế bào.
- Định typ virus bằng phản ứng trung hoà trên nuôi cấy tế bào.

3.4.2. Chẩn đoán huyết thanh

- Bệnh phẩm: Huyết thanh bệnh nhân được lấy 2 lần cách nhau khoảng 7 ngày để tìm động lực kháng thể.
- Các phản ứng thường dùng: Phản ứng trung hoà trên nuôi cấy tế bào.

3.5. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + Phòng bệnh không đặc hiệu: Đảm bảo vệ sinh thực phẩm, vệ sinh nguồn nước và tăng cường diệt côn trùng gieo mầm bệnh (ruồi gián). 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 có 2 loại vaccin được sử dụng là vaccin bất hoạt Salk và vaccin sống giảm độc Sabin.
- 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.

4. ROTAVIRUS

Được Bishop phát hiện năm 1973 khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử mảnh sinh thiết niêm mạc ruột một trẻ em chết vì tiêu chảy. Sau đó được đặt tên là Rotavirus thuộc họ *Reoviridae*.

4.1. Đặc điểm sinh học

4.1.1. Hình thể và cấu trúc

Dưới kính hiển vi điện tử, virus trông giống hình bánh xe, đường kính khoảng 70 – 75nm, có capsid đối xứng hình khối gồm có hai lớp bao bọc quanh một ARN sợi kép. *Rotavirus* không có vỏ envelope.

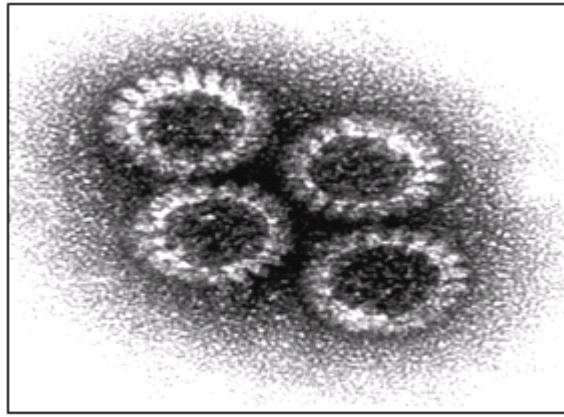
4.1.2. Sức đề kháng

Rotavirus có thể tồn tại nhiều ngày trong phân ở nhiệt độ thường và không chịu tác dụng của các chất hoà tan lipid. Virus có khả năng tồn tại lâu trong buồng bệnh, nên tỷ lệ nhiễm trùng bệnh viện khá cao.

Rotavirus dễ bị bất hoạt bởi hoá chất EDTA và nhiệt độ cao hơn 45°C.

4.1.3. 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.



Hình 11.4. Ảnh hiển vi điện tử của *Rotavirus*

4.1.4. 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.

4.2. Dịch tễ học và khả năng gây bệnh

4.2.1. Dịch tễ

Nhiễm *Rotavirus* xuất hiện khắp thế giới. Đến 3 tuổi, gần như mỗi một cá thể đã bị nhiễm *Rotavirus* một lần. Ở vùng khí hậu ôn hoà, nhiễm *Rotavirus* thường xuất hiện vào mùa đông lạnh. Ở vùng nhiệt đới, nhiễm *Rotavirus* có xu hướng xuất hiện suốt năm nhưng nhiều nhất là mùa thu đông. *Rotavirus* chủ yếu gây tiêu chảy cấp ở trẻ dưới 3 tuổi nhưng cũng có thể gây bệnh ở người lớn, đặc biệt là những đối tượng suy giảm miễn dịch, nhiễm HIV. Sự lây truyền của *Rotavirus* là theo con đường tiêu hoá.

Ở Việt Nam, từ 1980 đã xác định *Rotavirus* là căn nguyên gây viêm dạ dày, ruột cấp tính ở trẻ em, đây là một bệnh rất phổ biến đứng thứ hai sau nhiễm trùng hô hấp cấp tính ở trẻ em.

4.2.2. Khả năng gây bệnh

Rotavirus gây viêm dạ dày, ruột cấp tính. ủ bệnh thường chỉ 1 – 2 ngày. Toàn phát xảy ra đột ngột với các triệu chứng sốt nhẹ, nôn, tiêu chảy nhiều lần, phân thường có nhày và không có máu. Dấu hiệu mất nước nhẹ hay nặng tùy theo mức độ tiêu chảy.

4.3. Miễn dịch

Trẻ nhỏ dưới 3 tháng ít mắc bệnh do kháng thể có từ mẹ.

Các loại kháng thể:

- IgA tiết trong sữa mẹ, chiếm tỷ lệ cao và tồn tại đến 24 tháng.
- IgA tiết ở niêm mạc ruột non, là cơ sở nghiên cứu vaccin đường uống.
- IgM xuất hiện sớm trong máu ở giai đoạn cấp tính.
- IgG tăng cao ở giai đoạn hồi phục.

4.4. Chẩn đoán vi sinh học

- Bệnh phẩm: Là phân lấy trong tuần đầu của bệnh.
- Phân lập virus: Ít làm.
- Chẩn đoán nhanh phát hiện virus từ bệnh phẩm bằng một trong kỹ thuật sau:
 - + Kỹ thuật miễn dịch men (ELISA): Hiện nay được sử dụng nhiều nhất.

- + 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.

4.5. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh: Hiện nay chưa có vaccin phòng bệnh.

Phòng bệnh không đặc hiệu với những công việc sau: vệ sinh ăn uống, vệ sinh môi trường, phòng chống nhiễm trùng bệnh viện.

- 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.

5. CÁC VIRUS GÂY VIÊM GAN (*Hepatitis viruses*)

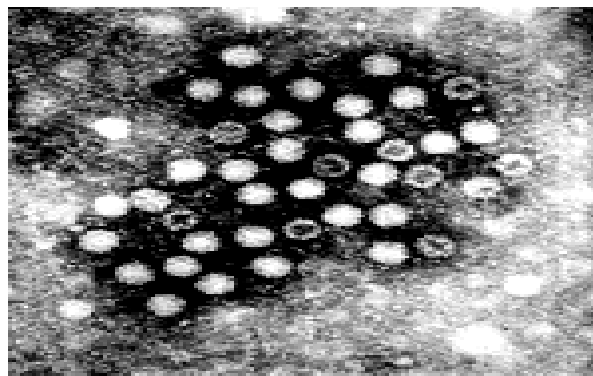
Các virus gây viêm gan là những virus có ái tính với tế bào gan, nhưng chúng có cấu trúc, đường xâm nhập, cơ chế lan truyền khác nhau. Những virus này xâm nhập, nhân lên và gây tổn thương ở tế bào gan. Hiện nay các virus gây viêm gan được chia thành 5 loại chính: A, B, C, D, E.

5.1. Virus viêm gan A (*Hepatitis A virus – HAV*)

5.1.1. Đặc điểm sinh học

5.1.1.1. Hình thể và cấu trúc

HAV là typ thứ 72 của *Enterovirus*, thuộc họ *Picornavirus*, không có vỏ envelope, ngoài cùng là vỏ capsid đối xứng khối bao bọc vật liệu di truyền là ARN một sợi dương.



Hình 11.5. Ảnh hiển vi điện tử của virus viêm gan A

5.1.1.2. Sức đề kháng

HAV không bị bất hoạt bởi các dung môi hoà tan lipid, nhưng lại dễ dàng bị bất hoạt bởi tia cực tím, hoá chất sát trùng, ở 100°C sau 5 phút.

5.1.1.3. Nuôi cấy

Có thể nuôi cấy HAV trên tế bào lưỡng bội phổi người, tế bào vero,...

5.1.1.4. 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 viêm gan A thì cơ thể sẽ đáp ứng miễn dịch với kháng thể lớp IgG tồn tại trong nhiều năm và có thể là suốt đời.

5.1.2. Khả năng gây bệnh

HAV gây bệnh viêm gan cho người, bệnh dễ lây lan thành dịch. Thời gian ủ bệnh khoảng 30 –

40 ngày rồi biểu hiện các triệu chứng như: sốt nhẹ, mệt mỏi, chán ăn, nước tiểu vàng, vàng da, niêm mạc, men gan tăng cao, rất hiếm có các triệu chứng nặng. Khoảng 40 – 60% người mắc HAV không có biểu hiện lâm sàng, đây là nguồn lây nguy hiểm.

5.1.3. Đặc điểm dịch tễ

HAV có mặt khắp thế giới và lây truyền qua đường tiêu hoá. Nguồn lây chính là người mang virus không biểu hiện triệu chứng và người bệnh.

Đối tượng nhiễm HAV chủ yếu là trẻ em và người sống thiếu vệ sinh.

Bệnh viêm gan A có tỷ lệ mắc cao ở vùng nhiệt đới, đặc biệt là các nước nghèo có điều kiện vệ sinh thấp kém.

5.1.4. Chẩn đoán vi sinh học

5.1.4.1. Phân lập và xác định virus

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.

5.1.4.2. Chẩn đoán huyết thanh

Bệnh phẩm là huyết thanh bệnh nhân. Có thể tìm thấy IgM ngay từ những ngày đầu của bệnh bằng phản ứng ELISA, sau đó là IgG cũng tìm được bằng các phản ứng kết hợp bổ thể, phản ứng trung hoà.

5.1.5. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh:

+ Phòng bệnh không đặc hiệu: Vệ sinh ăn uống, quản lý bệnh nhân và xử lý tốt chất thải, đồ dùng của bệnh nhân,....

+ Phòng bệnh đặc hiệu: Dùng vaccin.

– Điều trị:

Chủ yếu là chăm sóc điều dưỡng và điều trị triệu chứng.

5.2. Virus viêm gan B (*Hepatitis B virus* – HBV)

5.2.1. Đặc điểm sinh học

5.2.1.1. Hình thể và cấu trúc

HBV thuộc họ *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 42nm và vùng lõi đậm kích thước khoảng 28nm. Hạt này được gọi là hạt Dane.

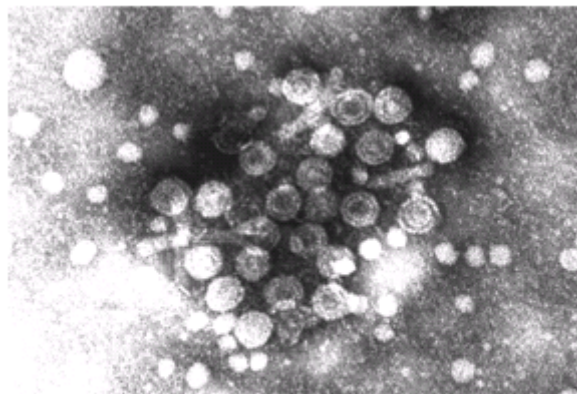
Cấu trúc hạt Dane gồm: Vỏ ngoài dày 7nm cấu tạo bởi 3 protein cấu trúc làm cho virus có hình cầu; capsid đối xứng hình khối tạo thành lõi; vật liệu di truyền là ADN hai sợi không khép kín.

5.2.1.2. Sức đề kháng

Virus bị bất hoạt bởi tia cực tím, nhiệt độ 100°C sau 5 phút

5.2.1.3. Nuôi cấy

Hiện nay chưa tìm được hệ tế bào nuôi cấy thích hợp cho HBV.



Hình 11.6. Ảnh hiển vi điện tử của virus viêm gan B

5.2.1.4. Kháng nguyên

– HBV có 3 loại kháng nguyên chính:

+ HBsAg là kháng nguyên bề mặt. Đây là kháng nguyên có sự thay đổi giữa các thứ typ, gồm có 4 typ phụ: adw, ayw, adr, ayr.

+ 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.

5.2.1.5. Kháng thể

Khi cơ thể nhiễm HBV thì sẽ sinh các kháng thể tương ứng:

+ Kháng thể kháng HBsAg: Xuất hiện rất muộn sau khi nhiễm HBV, có tác dụng chống virus nên khi xuất hiện thì bệnh cảnh được cải thiện.

+ Kháng thể kháng HBcAg: Có sớm ở giai đoạn ủ bệnh, nhưng nếu kéo dài thì bệnh nhân sẽ mắc viêm gan mạn tính.

+ Kháng thể kháng HBeAg: xuất hiện rất muộn, thường ở thời kỳ lui bệnh và hồi phục.

5.2.2. 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, mệt mỏi, chán ăn, mất ngủ, nước tiểu vàng, vàng da, vàng mắt. 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 cấp có thể trở thành mạn tính và có các biến chứng xơ gan hay ung thư gan.

5.2.3. Đặc điểm dịch tễ

HBV lây truyền chủ yếu qua 3 con đường chính: 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. Ngoài ra, viêm gan B còn được biết là căn nguyên chủ yếu dẫn tới suy gan và ung thư gan.

5.2.4. Chẩn đoán vi sinh học

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. 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.

5.2.5. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh:

+ Phòng bệnh không đặc hiệu: Rất quan trọng, đó là tránh sự lây nhiễm HBV theo nhiều đường khác nhau, các dụng cụ y tế phải đảm bảo nguyên tắc vô trùng.

+ Phòng bệnh đặc hiệu: Hiện nay có vaccin được sản xuất bằng huyết tương của người nhiễm HBV và vaccin tái tổ hợp phòng viêm gan B.

– Điều trị: Chủ yếu là điều trị triệu chứng, nghỉ ngơi, chế độ dinh dưỡng hợp lý. Hiện nay, người ta thường sử dụng các thuốc kháng virus không đặc hiệu như: interferon trong điều trị viêm gan virus.

5.3. Virus viêm gan C (*Hepatitis C virus – 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 thuộc họ *Flaviviridae*.

5.3.1. Đặc điểm sinh học

5.3.1.1. Hình thể và cấu trúc

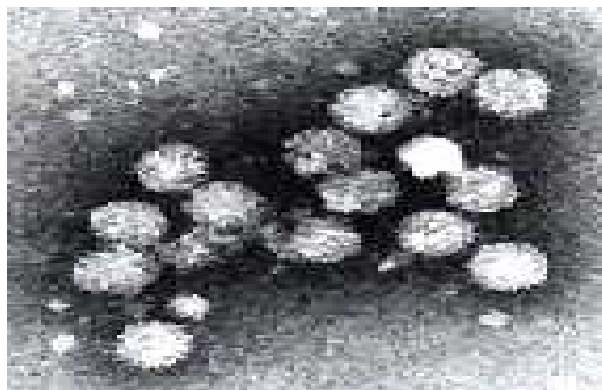
HCV có hình cầu, đường kính khoảng 40 – 60nm, vỏ envelope có cấu trúc lipid kép, vỏ capsid đối xứng khối và trong cùng là ARN sợi đơn.

5.3.1.2. Sức đề kháng

Virus bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipid, tia cực tím, nhiệt độ cao.

5.3.2. Khả năng gây bệnh

HCV gây bệnh cho người, thời gian ủ bệnh 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 mãn tính, điều này rất nguy hiểm, rất dễ dẫn đến xơ gan và ung thư gan.



Hình 11.7. Ảnh hiển vi điện tử của virus viêm gan C

5.3.3. Đặc điểm dịch tễ

Bệnh lây truyền chủ yếu bằng đường máu, do đó, đối tượng thường gặp ở những người tiêm chích ma tuý hoặc mắc các bệnh về máu như hemophylie, leucemie, suy tuý xương.

5.3.4. Chẩn đoán vi sinh học

Chủ yếu là dựa vào tìm kháng thể kháng HCV bằng kỹ thuật ELISA và có thể sinh thiết tế bào tìm tổn thương ở bào tương hoặc nhân tế bào gan.

Kết hợp với dấu hiệu tăng men gan trong máu.

5.3.5. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:
 - + Chủ yếu là phòng bệnh không đặc hiệu như kiểm soát máu và các chế phẩm máu, tuyên truyền giáo dục nếp sống lành mạnh.
 - + Phòng bệnh đặc hiệu: Chưa có vaccin phòng HCV.
- Điều trị: Tương tự như đối với viêm gan B.

5.4. Virus viêm gan D và virus viêm gan E (*Hepatitis delta virus* – HDV, *Hepatitis E virus* – HEV)

5.4.1. Virus gây viêm gan D (HDV)

- Cấu trúc: Là virus không hoàn chỉnh gồm một sợi ARN, vỏ bao ngoài là HBsAg của HBV, vỏ trong là kháng nguyên delta (Ag-HD).
- Dịch tễ và khả năng gây bệnh: Viêm gan D lây truyền theo đường máu, bệnh thường lưu hành ở những vùng có tỷ lệ nhiễm HBV cao.
- Người ta thấy, có thể nhiễm HDV đồng thời với HBV hoặc bội nhiễm HDV ở người mang HBV mãn tính.
- Chẩn đoán: Phát hiện kháng nguyên delta hoặc tìm kháng thể kháng delta bằng kỹ thuật ELISA.

5.4.2. 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 27nm 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 bị ô nhiễm. 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.

6. HERPESVIRIDAE

6.1. Các đặc điểm chung họ *Herpesviridae*

6.1.1. Hình thể và cấu trúc

Các virus thuộc họ *Herpesviridae* có cấu trúc hình cầu với kích thước khoảng 180 – 200nm và gồm các thành phần sau:

- Ngoài cùng là lớp vỏ envelope lấy từ màng nhân tế bào chủ.
- Capsid đối xứng hình khối, gồm có 162 capsome.
- Vật liệu di truyền là ADN hai sợi thẳng.

6.1.2. Sức đề kháng

Đề kháng rất yếu. Nếu gây nhiễm vào mô nuôi cấy thì cũng không thể giữ gìn được lâu hơn 2 tháng.

6.1.3. Nuôi cấy

Virus có thể được nhân lên ở môi trường nuôi cấy là tế bào người hoặc khỉ.

6.1.4. Đặc điểm nhân lên

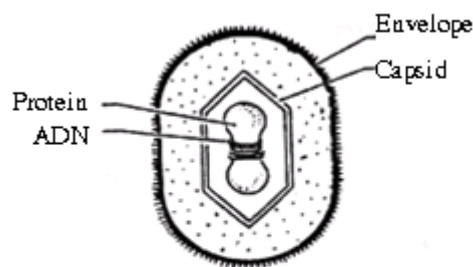
Virus bám vào receptor của tế bào cảm thụ rồi hoà nhập vỏ envelope vào màng nguyên tương. Sau đó, vỏ capsid được cởi bỏ trong bào tương và phức hợp ADN–protein xâm nhập vào trong nhân tế bào. Tại nhân, ADN sao mã thành mRNA và protein cấu trúc. Quá trình lắp ráp của các hạt virus được thực hiện trong nhân tế bào và vỏ envelope được hình thành từ màng nhân sau khi lắp ráp xong thì các hạt virus giải phóng khỏi tế bào.

6.1.5. Phân loại

Các *Herpes* virus gây nhiễm cho người gồm:

- *Herpes simplex*, virus gây nhiễm đường tiết niệu và môi.
- *Varicella – zoster*, virus gây thủy đậu và zona.
- *Epstein – Barr*, virus gây các bệnh: tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng, u tế bào lympho B, ung thư hầu họng.
- *Cytomengalovirus*.

6.2. Virus thủy đậu và zona (*varicella and zoster virus*)



Hình 11.8. Virus *Varicella zoster*

6.2.1. 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 xuất hiện sốt và các tổn thương trên da 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, hay tụ cầu vàng.

– Zona: Biểu hiện lâm sàng cũng là những mụn nước, nhưng khác với thủy đậu là zona chỉ gặp ở người lớn. 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.

Cùng một loại virus gây ra cả hai thể bệnh và virus zona được coi là sự tái hoạt của virus thủy đậu tiềm tàng trong các hạch giao cảm sau khi bị bệnh thủy đậu. Sự tái hoạt động của virus thủy đậu thường gặp ở những người bị suy giảm miễn dịch, rối loạn miễn dịch tế bào. Zona rất hay xảy ra ở những người mắc bệnh ác tính, AIDS.

6.2.2. 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.

6.2.3. Chẩn đoán vi sinh học

6.2.3.1. Chẩn đoán trực tiếp

- Làm tiêu bản Tzank: Bằng cách phết đáy tổn thương (mụn nước) lên lam kính rồi nhuộm bằng Giemsa 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.

6.2.3.2. Chẩn đoán huyết thanh

- Miễn dịch huỳnh quang là phương pháp phát hiện kháng thể kháng nguyên màng của virus *Varicella zoster*.
- Miễn dịch ELISA: Còn gọi là miễn dịch gắn men và cũng dùng để phát hiện kháng thể kháng kháng nguyên màng của virus.

6.2.4. Phòng bệnh và điều trị

- Phòng bệnh:

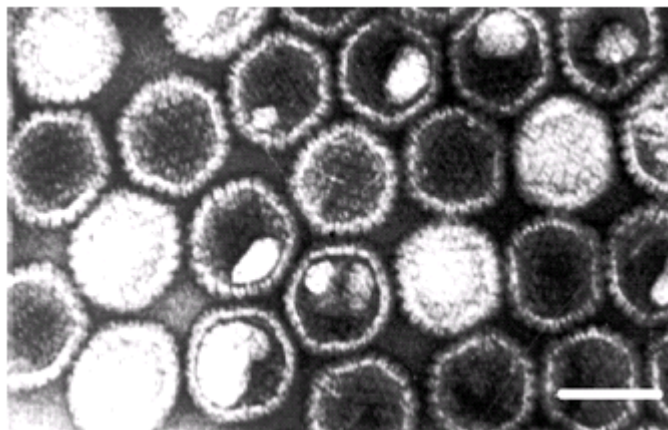
Các phương pháp phòng bệnh không đặc hiệu như: Cách ly bệnh nhân hoặc tránh tiếp xúc. Hiện nay người ta dùng vaccin để gây miễn dịch chủ động cho những đối tượng có nguy cơ đạt được kết quả rất tốt.

- Điều trị: Ngoài việc điều trị triệu chứng và chăm sóc điều dưỡng những chỗ tổn thương để tránh bội nhiễm, có thể dùng các loại thuốc kháng virus như acyclovir, thì các tổn thương da sẽ mau lành hơn và giảm biến chứng.

6.3. *Herpes simplex virus* (HSV)

Một số đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh

- HSV có hai typ huyết thanh là HSV-1 và HSV-2.
- Vị trí nhiễm:
 - + HSV-1 gây nhiễm phần trên lưng như: mồm, môi, da.
 - + HSV-2 gây nhiễm phần dưới lưng, đặc biệt là đường sinh dục, tiết niệu.
- Đường lây nhiễm:
 - + HSV-1 lây theo đường tiêu hoá, hô hấp hoặc trực tiếp môi – môi.
 - + HSV-2 lây nhiễm theo đường tình dục.
- Nhiễm HSV ở người biểu hiện thành 2 giai đoạn:
 - + Nhiễm lần đầu (sơ nhiễm): Bệnh thường nặng, biểu hiện toàn thân và có thể tử vong. Sau gây sơ nhiễm, HSV vẫn tồn tại trong cơ thể ở dạng tiềm ẩn.
 - + Tái nhiễm HSV có thể với typ huyết thanh khác.
- Trường hợp nhiễm HSV đã có kháng thể trung hoà thì chỉ nhiễm HSV khu trú mà không nhiễm toàn thân.



Hình 11.9. *Herpes simplex virus*

7. VIRUS DẠI (*Rabies virus*)

Rabies virus thuộc nhóm *Rhabdovirus*.

7.1. Đặc điểm sinh học

7.1.1 Hình thể và cấu trúc

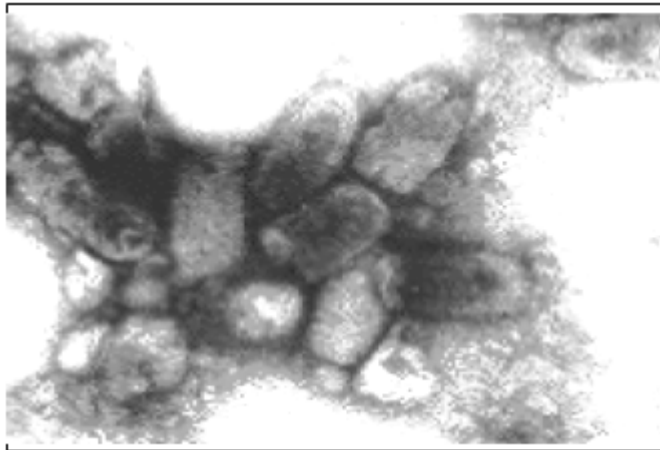
Virus dại có hình trụ giống như hình viên đạn: một đầu tròn, đầu kia dẹt, chiều dài trung bình từ 100 – 300nm, đường kính 70 – 80nm. Vật liệu di truyền là ARN một sợi âm, bao quanh có lớp vỏ capsid và vỏ envelope.

7.1.2. Sức đề kháng

Virus dễ bị bất hoạt bởi nhiệt độ 56°C/30 phút hoặc 80°C/10 phút, tia cực tím, ánh sáng mặt trời và các dung môi hoà tan lipid như: ete, formalin, xà phòng.

7.1.3. Nuôi cấy

Virus dại có thể nuôi cấy vào bào thai gà 7 ngày và tế bào thường trực như: tế bào vero, tế bào thận chuột đất BHK-21.



Hình 11.10. Ảnh hiển vi điện tử của virus dại

7.1.4. 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, sự lắp ráp xảy ra ở bào tương. Virus được giải phóng theo hình thức nảy chồi.

7.1.5. Kháng nguyên

Virus dại gồm có các loại kháng nguyên sau:

- Protein G: Kháng nguyên kích thích cơ thể sinh kháng thể trung hoà.
- Protein N: Nằm trong phần lõi của virus.

7.2. Phân loại

Theo tính chất sinh học, chia 2 loại:

- Virus dại hoang dại.
- Virus dại cố định: Khi nuôi cấy lâu dài (thường hơn 50 lần cấy truyền) virus dại sẽ trở thành

virus đại cố định. Virus này có thời kỳ ủ bệnh ngắn (7 ngày), được bảo tồn bằng nuôi cấy trong phòng thí nghiệm, không thể tồn tại trong điều kiện tự nhiên...

7.3. Khả năng gây bệnh

Virus đại cố định có khả năng gây bệnh cho người và các động vật máu nóng. Virus xâm nhập vào cơ thể người từ động vật bị đại qua vết cắn, virus này có ái tính với tế bào thần kinh, sau khi xâm nhập, nó tồn tại và nhân lên tại vết thương, rồi lan theo thần kinh ngoại biên đến các dây thần kinh trung ương và não với các tổn thương đặc hiệu. Vào giai đoạn cuối, toàn bộ hệ thần kinh trung ương cũng như một số mô ngoài tuyến nước bọt cũng bị nhiễm virus. 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 tiền triệu chứng 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 có thể gặp 2 thể bệnh là: thể co cứng và thể liệt. Bệnh nhân chết trong tình trạng suy hô hấp và rối loạn tuần hoàn.

7.4. Dịch tễ

Virus đại lưu hành khắp thế giới, nhưng tập trung nhiều ở các vùng nhiệt đới như: Đông Nam Á, Châu Phi, Nam Mỹ, ổ chứa chủ yếu là động vật máu nóng bị đại như: chó, mèo,... Virus truyền từ động vật sang động vật và người qua vết cắn, vết cào,... Ở Việt Nam, bệnh đại tập trung chủ yếu ở đồng bằng sông Hồng và sông Mê Kông.

7.5. Chẩn đoán vi sinh học

Rất ít làm vì lấy bệnh phẩm khó khăn và không có ý nghĩa trong điều trị. Có các phương pháp chẩn đoán sau:

7.5.1. Tìm tiểu thể Negri

Mô não chó nghi đại 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.

7.5.2 Phân lập virus

Bệnh phẩm là nước dãi người hoặc chó lúc đang mắc bệnh, hoặc não khi đã chết. Tiêm truyền bệnh phẩm vào chuột trắng mới đẻ, sau 3 – 4 ngày, chuột xuất hiện liệt mềm, mổ lấy não chuột và xác định virus bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang.

7.5.3. Xác định kháng nguyên

Có thể lấy nước dãi hoặc não của bệnh nhân hay súc vật bị đại phết lên tiêu bản, kháng nguyên sẽ được phát hiện bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang.

7.6. Phòng bệnh và điều trị

- Tiêm phòng vaccin đại cho chó, mèo trong cụm dân cư hằng năm.
- Người bị chó, mèo nghi đại cắn thì phải tiêm phòng ngay.
- Điều trị dự phòng trường hợp bị chó, mèo cắn:
 - + Điều trị tại chỗ: Rửa vết cắn bằng nước xà phòng đặc 20%, sau đó là nước muối sinh lý và sát khuẩn bằng cồn.
 - + Điều trị bằng vaccin và kháng huyết thanh kháng đại:
 - * Nếu vết cắn vào chỗ nguy hiểm (gần đầu, sâu) hoặc nếu chó bị mất tích, bị chết, hoặc chó con thì phải tiêm huyết thanh kháng đại và tiêm vaccin ngay.
 - * Nếu vết cắn nông, xa đầu, thì nhốt chó lại và theo dõi: Nếu sau 10 ngày chó vẫn sống bình thường thì không cần tiêm vaccin. Nếu sau 10 ngày bị chó ốm hoặc chết thì phải tiêm huyết thanh kháng đại và vaccin ngay. Vaccin phòng đại cho người hiện nay là: vaccin Fuenzalida hoặc vaccin verorab.

8. VIRUS SUY GIẢM MIỄN DỊCH Ở NGƯỜI

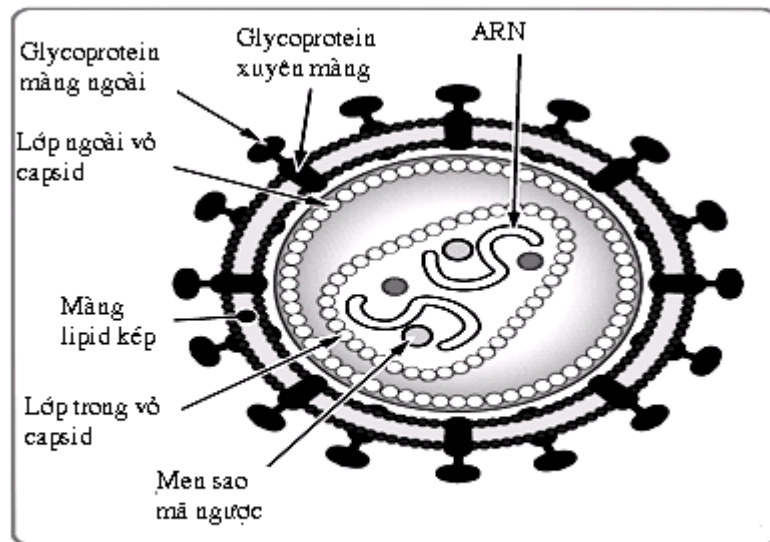
(HIV: Human Immunodeficiency Virus)

8.1. Đặc điểm sinh học

8.1.1. Hình thể và cấu trúc

HIV thuộc họ *Retroviridae*.

Virus có hình cầu, đường kính khoảng 100nm. Hạt virus hoàn chỉnh (virion) có cấu trúc gồm 3 lớp:



Hình 11.11. Cấu trúc HIV

– Lớp vỏ ngoài là một màng lipid kép, gắn trên màng là các gai nhú, đó là các phân tử glycoprotein có khối lượng phân tử 160 kilo dalton (viết tắt: gp 160). Gai nhú gồm 2 phần:

+ Glycoprotein màng ngoài có khối 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 khối lượng phân tử 41 kilo dalton (gp 41).

– Lớp vỏ trong (vỏ capsid) gồm 2 lớp:

+ Lớp ngoài hình cầu, cấu tạo bởi protein có khối lượng phân tử 18 kilodalton (p18) với HIV–2 và p17 với HIV–1.

+ Lớp trong hình trụ, cấu tạo bởi các protein có khối lượng phân tử là 24 kilodalton (p24). Đây là kháng nguyên quan trọng để chẩn đoán nhiễm HIV.

– Lõi: Gồm 2 sợi ARN là bộ gen di truyền của HIV, men sao mã ngược RT (Reverse Transcriptase) và một số enzym giúp cho quá trình tổng hợp virus mới.

8.1.2. Tính chất nuôi cấy

Nuôi cấy trên tế bào lympho người và tế bào thường trực Hela có CD4.

8.1.3. Sức đề kháng

HIV dễ bị bất hoạt bởi các yếu tố lý học, hoá học. HIV bị tiêu diệt ở nhiệt độ 56°C/30 phút. HIV bị bất hoạt với một số hoá chất như oxy già, Javen,... nhưng không bị tiêu diệt bởi tia cực tím.

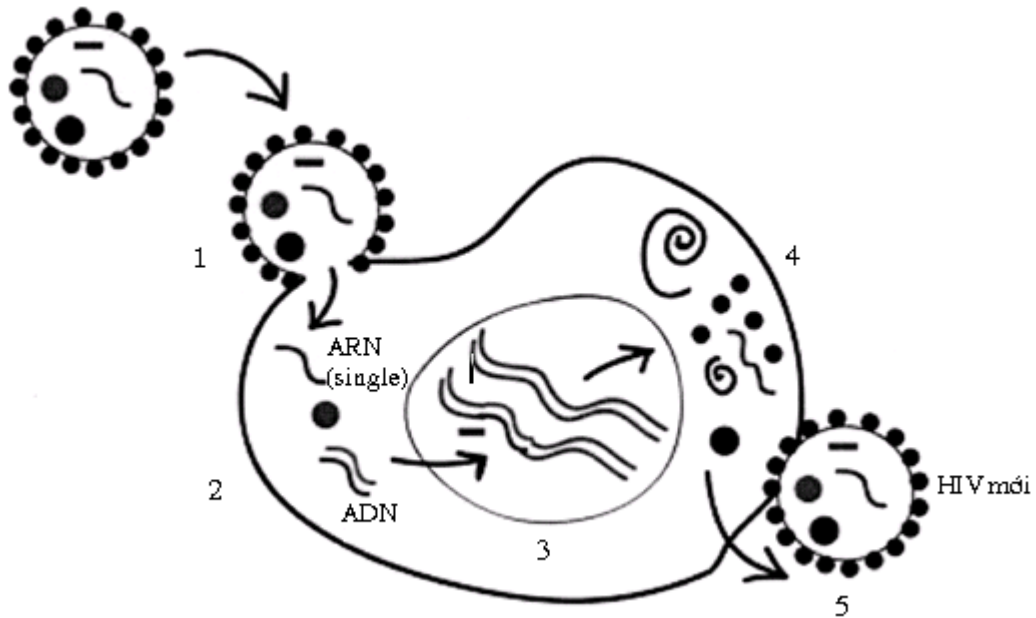
8.2. Sự xâm nhập vào tế bào và nhân lên của HIV

8.2.1. 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 chủ với gp 120 của virus.

8.2.2. 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 chủ. Nhờ đó mà ARN của virus chui vào bên trong tế bào.



Hình 11.12. Sự xâm nhập và nhân lên của HIV

1. Hấp phụ lên bề mặt và xâm nhập vào tế bào.
2. Sao mã ngược.
3. Tích hợp vào nhiễm sắc thể tế bào chủ.
4. Lắp ráp các thành phần cấu trúc.
5. Giải phóng hạt virus mới

8.2.3. Sự nhân lên trong tế bào

Sau khi vào trong tế bào, nhờ enzym sao mã ngược, ADN của virus được tạo thành từ khuôn mẫu ARN, sau đó là quá trình tích hợp ADN virus vào ADN của tế bào chủ. Tiếp đó, là quá trình sao mã, dịch mã để tổng hợp các thành phần hạt virus mới.

8.2.4. Giải phóng hạt virus mới

Các virus mới được tổng hợp đến gần màng tế bào chủ, đẩy màng này nẩy chồi, các hạt virus được giải phóng tiếp tục xâm nhập vào tế bào khác.

8.2.5. 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 gây nên các triệu chứng bệnh lý tại đây. 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 T_C trong miễn dịch tế bào). Các tế bào lympho bị suy giảm kéo theo sự suy giảm của hệ thống miễn dịch dẫn tới bệnh nhân bị nhiều loại nhiễm trùng cơ hội như viêm phổi, viêm da, viêm ruột, viêm họng do vi khuẩn, nấm, virus, và ung thư, đặc biệt là *Sarcom kaposi*.

8.3. 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.

– 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, 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 tới 40 – 50%.

8.4. Miễn dịch

8.4.1. Sự tạo thành kháng thể

Khi HIV xâm nhập, 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 gp 120). 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 kháng thể IgG kết hợp đặc hiệu với các kháng nguyên virus dẫn tới tan tế bào bị nhiễm HIV và giải phóng các hạt virus.

8.4.2. Miễn dịch tế bào

Hình thành các tế bào lympho T_C (T độc). Các tế bào này đã kết hợp đặc hiệu với 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.

8.4.3. Sự né tránh hệ miễn dịch bằng hình thức chủ yếu là biến dị kháng nguyên

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, HIV đánh vào các tế bào miễn dịch quan trọng là TCD4 (+), đại thực bào, hay HIV tồn tại ở dạng provirus.

8.5. Chẩn đoán vi sinh

8.5.1. 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:

- Kỹ thuật ngưng kết Latex nhanh (SERODIA).
- Kỹ thuật miễn dịch enzym ELISA.

8.5.2. Phát hiện HIV

– 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.

– Phản ứng khuếch đại gen PCR: 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.

8.5.3. Phát hiện kháng nguyên

Kháng nguyên P24 có trong huyết thanh, dịch não tủy và 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.

8.5.4. Các xét nghiệm huyết học và miễn dịch

- Hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu giảm.
- Tế bào lympho TCD4 giảm dưới 400/mm³ (bình thường 800 – 1200/mm³).
- Tỷ lệ lympho TCD4/ lympho TCD8 dưới 1 (bình thường = 2).
- γ globulin máu tăng.

8.6. Phòng bệnh và điều trị

– Phòng bệnh:

+ Vaccin: Hiện nay đã có nhiều loại vaccin đang ở giai đoạn thử nghiệm.

- + 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.
- + Phòng lây nhiễm HIV từ mẹ sang con: Khuyến khích phụ nữ đã nhiễm HIV không nên có con, nếu có thai thì nên mổ đẻ.
- Điều trị:
 - + Thuốc ngăn cản sự nhân lên của HIV: Retrovirr, AZT, Interferon. Hiện nay ứng dụng trị liệu phối hợp 3 thuốc.
 - + Chống nhiễm trùng cơ hội.
 - + Tăng cường miễn dịch bằng g globulin và các thuốc kích thích miễn dịch.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của virus cúm.
2. Nêu phương pháp chẩn đoán VSH virus cúm.
3. Nêu nguyên tắc phòng và điều trị bệnh cúm.
4. Kể tên 2 kháng nguyên quan trọng để định typ virus cúm.
5. Giải thích nguồn gốc các dịch cúm.
6. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của virus quai bị.
7. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của virus sởi.
8. Trình bày đặc điểm sinh học của virus viêm não Nhật Bản B.
9. Nêu 2 thể bệnh do virus viêm não Nhật Bản B.
10. Nêu đặc điểm dịch tễ và phương pháp phòng bệnh virus viêm não Nhật Bản B.
11. Trình bày đặc điểm sinh học của virus Dengue.
12. Trình bày 2 thể bệnh Dengue xuất huyết.
13. Nêu nguyên tắc phòng và điều trị bệnh sốt xuất huyết Dengue.
14. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của virus bại liệt.
15. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của Rotavirus.
16. Trình bày đặc điểm sinh học và đường lây truyền của các virus viêm gan A, B, C.
17. Kể tên các kháng nguyên và kháng thể quan trọng của virus viêm gan B và ứng dụng trong chẩn đoán và theo dõi điều trị của các kháng nguyên, kháng thể đó.
18. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của virus Varicella zoster.
19. Trình bày đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh của virus dại.
20. Trình bày đặc điểm sinh học của HIV.
21. Trình bày sự xâm nhập của HIV vào tế bào và sự nhân lên của virus.
22. Nêu phương pháp chẩn đoán vi sinh và các biện pháp phòng nhiễm HIV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Vũ Triệu An, Homberg, J.C. (1998). *Miễn dịch học*, Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
2. *Bergey's Manuals of Microbiology* (1994).
3. Bộ môn Công nghiệp Dược, Trường Đại học Dược Hà Nội (2001). *Kỹ thuật sản xuất Dược phẩm*, Tập I, Trung tâm Thông tin – Thư viện, Đại học Dược Hà Nội.
4. Bộ môn Hoá sinh – Vi sinh, Trường Đại học Dược Hà Nội (1999). *Vi sinh học*, Trung tâm Thông tin – Thư viện, Đại học Dược Hà Nội – TV ĐHD Hà Nội.
5. Bộ môn Miễn dịch – Sinh lý bệnh, Trường Đại học Y, Hà Nội (2003). *Miễn dịch học*, Nhà

xuất bản Y học, Hà Nội.

6. Bộ môn Vi sinh vật, Trường Đại học Y Hà Nội (2003). *Vi sinh học Y học*, Nhà xuất bản Y học.

7. Bộ Y tế (2002). *Dược điển Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.

8. Bộ Y tế (2005). *Hướng dẫn sử dụng kháng sinh*, NXB Y học, Hà Nội.

9. W. Crueger, A. Crueger. *Biotechnológia*, Mezoegazdasági Kiadó, Budapest, 1987.

10. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyên, Phạm Văn Ty (2002). *Vi sinh vật học*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.

11. Hồ Huỳnh Thuý Dương (2002). *Sinh học phân tử*, NXB Giáo dục.

12. Elizabeth Forget (2003). *Tài liệu hội thảo chuyên đề nấm gây bệnh*, Đại học tổng hợp Paris V.

13. Dr. Gúrrűg Jenűr (1973). *Ipari Mikrobiologiai Gyakorlatok*, Tankűnyv Kiadó, Budapest.

14. Phạm Thành Hổ (2004). *Di truyền học*, NXB Giáo dục.

15. B. Hugo & A. D. Rusel. *Pharmaceutical Microbiology*, p. 428–450, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 3th Edition, 1983.

16. Yoichi Matsubara (2005). *Healthcare in the Erea of Genomic Medicine*, Paper on The 5th Science Council of Asia (SCA) Conference, May 11–13, 2005, Daewoo Hotel, Hanoi, Vietnam.

17. Janeway, CA. and Tranvers, P. (1997). *Immunobiology: The Immune system in Health and Disease*, 3rd edn. Garland Publishing, New York.

18. Từ Minh Koóng (2004). *Cơ sở công nghệ sinh học và sản xuất Dược phẩm*, NXB Y học, Hà Nội.

19. J.P. Larpent, J.J. Sanglier (1989). *Biotechnologie des Antibiotiques*, Masson.

20. Lásztity Radomir (1973). *Biokémia*, Tankűnyv Kiadó, Budapest.

21. Lê Đình Lương, Phan Cự Nhân (1997). *Cơ sở di truyền học*, NXB Giáo dục, Hà Nội.

22. Trần Xuân Mai (2004). *Vi nấm y học*.

23. Dr. Sevélla Béla (1988). *Biomérűnűki Műveletek II*, Tankűnyv Kiadó, Budapest.

24. E.B. Shirling – D. Gottlieb (1966). *Methods for characterozation of Streptomyces species*, Int. J. Bacteriol., Vol.16 (3), 313 – 340.

25. Pr.Dr. C. Simon, Pr.Dr. W. Stille, Dr. Muennich D.. *Korszerű Antibiotikus Kezelés, Medicina Koenyvkiadó*, 1974, Budapest.

26. Szabó I. Mihály (1980). *Általános mikrobiológia* Vol. 1–4, Tankoenyvkiadó, Budapest.

27. Tadeusz Korzebski, Zuzanna Kevsuk – Gendifer, Wzodzinier Kuruzowicz (1967). *Antibiotics*, p. 11, 1167, PWN – Polish Sicientific Publishers, Warsava.

28. Phạm Văn Ty. *Miễn dịch học* (2001), Nhà xuất bản Đại học quốc gia Hà Nội.

29. Viện Y học lâm sàng các bệnh nhiệt đới (2001). *Tài liệu đào tạo chuyên ngành truyền nhiễm*.

30. Moselio Schaechter, Ph. D.; N. Cary Engleberg, M.D.; Barry L. Eisenstein, M.D.; Gerald Medoff, M.D., (1999). *Mechanisms of Microbial Disease*, Lippincott Williams & Wilkins.

31. B.R. Champ, E.Highley, A.D.Hocking and J.I. Pitt (1991). *Fungi and Mycotoxins in Stored Products*, ACIAR Proceedings, N^o. 36.

Chịu trách nhiệm xuất bản:
Chủ tịch HĐQT kiêm Tổng Giám đốc NGÔ TRẦN ÁI
Phó Tổng Giám đốc kiêm Tổng biên tập NGUYỄN QUÝ THAO

Chịu trách nhiệm nội dung:
Chủ tịch HĐQT kiêm Giám đốc Công ty CP Sách ĐH–ĐN TRẦN NHẬT TÂN

Biên tập nội dung và sửa bản in:
NGUYỄN HỒNG ÁNH

Trình bày bìa:
ĐINH XUÂN DŨNG

Chế bản:
TRỊNH THỰC KIM DUNG

VI SINH VẬT HỌC

Mã số: 7K786Y8 – DAI

In 1300 bản, (QĐ:...79...), khổ 19 x 27 cm, tại Công Ty Phần In Phúc Yên
Địa chỉ: Đường Trần Phú, thị xã Phúc Yên, Vĩnh Phúc.
Số ĐKKH xuất bản: 922-2008/CXB/6-1873/GD.
In xong và nộp lưu chiểu tháng 12 năm 2008.