

PHẦN I

ĐẠI CƯƠNG VI SINH Y HỌC

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

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được đối tượng nghiên cứu của vi sinh vật học.
2. Trình bày được lịch sử phát triển của vi sinh vật học và hướng giải quyết bệnh nhiễm trùng hiện nay.

I. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU CỦA VI SINH VẬT HỌC

Vi sinh vật học (Microbiology) là khoa học khảo sát hoạt động của các vi sinh vật (từ Hylạp micros là nhỏ bé, bios là sự sống và logos là khoa học).

Vi sinh vật là các sinh vật nhỏ bé mắt trần không thấy và chỉ được phát hiện bằng kính hiển vi.

Muốn đo kích thước của vi sinh vật, người ta sử dụng các đơn vị sau:

Micromet (μm , micrometre) = 10^{-6}m

Nanomet (nm, nanometre) = 10^{-9}m

Angstrom = 10^{-10}m

Vi sinh vật bao gồm vi khuẩn, nấm men, nấm mốc, tảo, nguyên sinh động vật và virus. Trước khi khám phá vi sinh vật người ta chia sinh vật làm 2 giới: giới động vật và giới thực vật. Sau khi khám phá vi sinh vật người ta nhận thấy vi sinh vật kết hợp những đặc tính của thực vật và động vật với tất cả những tổ hợp có thể có, cho nên việc phân loại sinh vật thành hai giới làm phát sinh một số điều không hợp lý. Ví dụ như nấm men được phân loại là thực vật vì phần lớn không di động mặc dù chúng ít có những tính chất của thực vật và cho thấy những liên hệ sinh tiến hóa đậm nét với nguyên sinh động vật.

Năm 1866 nhà khoa học Đức E. Haeckel đề nghị xếp vi sinh vật vào một giới riêng, giới Protista. Giới này phân biệt với thực vật và động vật ở sự tổ chức đơn giản của chúng: dù đơn bào hoặc đa bào, tế bào của chúng không biệt hóa thành mô. Protista được phân loại như sau :

Protista lớp trên, cấu trúc tế bào giống như tế bào động vật và thực vật bao gồm:

- Tảo (trừ tảo xanh lục).
- Nguyên sinh động vật.
- Nấm men.
- Nấm mốc.

Protista lớp dưới, cấu trúc tế bào đơn giản hơn nhiều và bao gồm:

- Vi khuẩn.
- Tảo xanh lục.

Protista lớp trên có tế bào nhân thật, Protista lớp dưới có tế bào nhân nguyên thủy.

Theo kiến nghị của nhà sinh vật học Trung Quốc Trần Thế Tương năm 1979 thì vi khuẩn nằm trong nhóm giới sinh vật có nhân nguyên thủy, còn virus thuộc về nhóm giới sinh vật chưa có tế bào.

Tế bào nhân thật có nhân chứa một số đôi nhiễm sắc thể, màng nhân nối liền với lưới nội chất nguyên sinh. Nguyên tương của tế bào nhân thật có lưới nội chất nguyên sinh, không bào và những plastit tự sao chép. Những plastit chứa ADN riêng và nhân lên bằng phân liệt. Những plastit bao gồm ti thể chứa hệ thống chuyên chở điện tử của sự phosphoryl hóa và lục lạp ở những sinh vật quang hợp chứa lục diệp tố và những thành phần quang hợp khác. Nguyên tương bản chất lipoprotein nằm bên trong màng tế bào. Nhiều vi sinh vật tế bào nhân thật có vách tế bào tạo nên bởi cellulosa, chitin hoặc oxyt silic. Tế bào nhân thật có thể di động nhờ những lông. Những lông này gồm một bó 9 sợi nhỏ bao quanh 2 sợi nhỏ trung tâm.

Tế bào nhân nguyên thủy có cấu trúc tế bào đơn giản. Nhân chỉ gồm có một nhiễm sắc thể không màng nhân, nhưng vách tế bào lại phức tạp hơn. Tế bào nhân nguyên thủy không có plastit tự sao chép như ti thể và lục lạp. Enzyme cytochrom được tìm thấy ở màng tế bào; ở những cơ thể quang hợp, những sắc tố quang hợp được tìm thấy ở những phiến mỏng nằm dưới màng tế bào. Vi khuẩn thường tích tụ vật liệu dự trữ dưới hình thức những hạt nhỏ không hòa tan, dạng polyme, trung tính, trơ thẩm thấu. Vật liệu cacbon được biến đổi bởi một số vi khuẩn thành polyme polyaxit- β -hydrobutyric và bởi những vi khuẩn khác thành polyme glucoza tương tự như glycogen gọi là granuloza. Những hạt nhỏ dự trữ được sử dụng như nguồn C lúc sự tổng hợp protein và axit nucleic được thực hiện trở lại. Một cách tương tự một vài vi khuẩn oxy hóa sulfua biến đổi lượng thừa H_2S ở môi trường bên ngoài thành những hạt sulfua nội bào. Nhiều vi khuẩn tích trữ photphat hữu cơ thành những hạt nhỏ polymetaphosphate gọi là volutin.

Virus khác với tất cả các cơ thể có tế bào kể cả vi khuẩn và *Rickettsia*. Virion hay là hạt virus gồm một phân tử ADN hoặc ARN nằm bên trong một vỏ protein gọi là capsid. Vào bên trong tế bào vật chủ, axit nucleic của virus sử dụng bộ máy tổng hợp của tế bào để hình thành axit nucleic và những thành phần khác của virus. Axit nucleic và những thành phần protein đặc hiệu kết hợp thành hạt virus xâm nhiễm hoàn chỉnh gọi là virion. Virion được phóng thích vào môi trường bên ngoài và bắt đầu quá trình xâm nhiễm tế bào vật chủ.

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

1. Sự phát hiện vi sinh vật

Sự phát hiện vi sinh vật gắn liền với sự phát minh kính hiển vi. Anton van Leeuwenhoek (1632 - 1723), người Hà lan, là người đầu tiên ở thế kỷ 17 nhìn thấy vi sinh vật nhờ những kính hiển vi độ phóng đại 270 - 300 lần mà ông đã chế tạo (1676). Trước đó người ta đã chế tạo những kính hiển vi dùng để quan sát hồng cầu, phấn hoa, mao mạch phổi nhưng chưa đủ nhạy để phát hiện vi sinh vật.

2. Sự trưởng thành của vi sinh vật học

Trong thế kỷ 17 và suốt thế kỷ 18 vi sinh vật học chỉ chú trọng về phần mô tả, tuy nhiên cũng có một số công trình xuất sắc như Spallanzani sử dụng môi trường nuôi cấy khử khuẩn bằng nhiệt, Edward Jenner phát minh vaccine đậu mùa, Zinke phát hiện tác nhân của bệnh dại ở trong nước bọt của chó bị dại.

Thế kỷ 19 mới cho thấy những bước phát triển lớn về vi sinh vật học nhờ công lao của Louis Pasteur và Robert Koch.

L.Pasteur (1822 - 1895) hoàn chỉnh việc nghiên cứu vi sinh vật. Vi sinh vật không những được mô tả chính xác mà còn được khảo sát đầy đủ về những tính chất sinh lý.

L.Pasteur là nhà vi sinh vật học vĩ đại đã có công:

- Chấm dứt tranh luận về thuyết tự sinh bằng các thí nghiệm xuất sắc với bình cổ ngỗng.

- Phát hiện tác nhân của sự lên men như lên men rượu, lên men thối là vi sinh vật: các vi sinh vật phát triển đã tạo thành các enzyme chịu trách nhiệm về hiện tượng lên men.

- Xác định vai trò tác nhân gây bệnh của các vi sinh vật trong bệnh nhiễm trùng

- Khái quát hóa vấn đề vaccine và tìm ra phương pháp điều chế một số vaccine phòng bệnh như vaccine bệnh than, vaccine bệnh tả gà... và phát minh vaccine dại.

R.Koch (1843 - 1910) cùng đóng góp lớn lao cho vi sinh vật học nhờ những công trình:

- Phát triển những kỹ thuật cố định và nhuộm vi khuẩn.

- Sử dụng môi trường đặc để phân lập vi khuẩn ròng.

- Nêu tiêu chuẩn xác định bệnh nhiễm trùng.

- Khám phá vi khuẩn lao, vi khuẩn tả.

Nhờ công lao của L.Pasteur, R.Koch và nhiều nhà bác học khác, phần lớn các vi khuẩn gây bệnh ở người và động vật đều được khám phá ở đầu thế kỷ 20. Lúc bấy giờ vi sinh học đã trở thành một khoa học ứng dụng quan trọng trong lĩnh vực y học, nông nghiệp và công nghiệp.

Trong lâm sàng, khoa lây đã thành lập để tiếp nhận bệnh nhân nhiễm trùng, khoa ngoại đã sử dụng phương pháp phẫu thuật sát trùng, tiền đề của phương pháp phẫu thuật vô trùng ngày nay.

3. Những thành tựu hiện đại

Trong những thập kỷ gần đây từ một khoa học ứng dụng, vi sinh vật học đã trở thành một khoa học cơ bản làm phát sinh một ngành khoa học mới: sinh học phân tử và dưới phân tử và cùng với các ngành khoa học khác tạo nên một cuộc cách mạng khoa học kỹ thuật hiện đại.

Nhờ những hiểu biết về di truyền học hiện đại mà mô hình nghiên cứu là *E.coli*, Watson và Crick đã phát hiện mẫu cấu trúc của ADN và cơ chế sao chép bán bảo tồn làm cơ sở cho sự hình thành sinh học phân tử và dưới phân tử. Những phát hiện kỳ diệu về cơ cấu của mã di truyền và các cấu trúc khác của tế bào sống được sử dụng làm cơ sở cho sự phát triển công nghiệp sinh học, ngành công nghiệp cho phép con người can thiệp vào quá trình hình thành và phát triển của sinh vật để phục vụ lợi ích của con người .

Gần đây những kỹ thuật tổng hợp gen, tháo ghép gen làm cho công nghệ sinh học trở thành một lực lượng sản xuất mũi nhọn của nền kinh tế thế giới. Trong lĩnh vực y học những kỹ thuật trên có nhiều triển vọng giải quyết các bệnh di truyền, phòng chống các bệnh nhiễm trùng, bệnh ung thư .

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

Trong y học, vi sinh vật là căn nguyên của các bệnh nhiễm trùng. Vì vậy khi xét về tầm quan trọng hiện nay của vi sinh vật y học phải đề cập tới tình hình các bệnh nhiễm trùng.

Từ ngàn xưa bệnh nhiễm trùng là một tai họa cho nhân loại. Bệnh đậu mùa, bệnh dịch hạch, bệnh dịch tả ... đã giết chết hàng triệu người, tàn phá nhiều làng mạc, thành phố.

Từ khi vi sinh vật học trưởng thành cho đến nay con người đã có khả năng dần dần chế ngự được bệnh nhiễm trùng. Nhưng con đường chế ngự để tiến tới xóa bỏ bệnh nhiễm trùng là con đường khó khăn và lâu dài.

Thành tựu vang dội đầu tiên xảy ra vào năm 1891 lúc Von Behring đã cứu sống một em bé nhờ huyết thanh kháng bạch hầu, mở đầu thời kỳ huyết thanh liệu pháp. Thực tế cho thấy huyết thanh liệu pháp có những mặt hạn chế và chỉ hữu hiệu đối với những bệnh nhiễm độc tố vi khuẩn như bạch hầu, uốn ván, hoại thư sinh hơi .v.v...

Thành tựu vang dội thứ hai là công lao của Domagk phát minh sulfonamid năm 1935. Nhưng dần dần vũ khí sulfonamid tỏ ra yếu kém không đủ khả năng điều trị phần lớn các bệnh nhiễm trùng thường gặp.

Năm 1940 Fleming, Florey và Chain phát minh penicillin và đưa vào điều trị mở đầu thời đại kháng sinh. Trong suốt hai thập kỷ, nhiều kháng sinh hữu hiệu đã được phát minh và người ta có thể chế ngự một cách hữu hiệu các bệnh nhiễm trùng. Nhưng thời gian cho thấy bệnh nhiễm trùng vẫn còn lâu mới giải quyết xong vì các vi khuẩn kháng thuốc đã được quan sát trong các loài vi khuẩn. May mắn là các kháng sinh hữu hiệu mới khám phá đã giữ không cho các vi khuẩn kháng thuốc phát triển ở quy mô quá lớn không chế ngự được. Đầu thập kỷ 80, thực tế cho thấy các vi khuẩn kháng thuốc xuất hiện ngày càng nhiều nhưng các kháng sinh hữu hiệu mới khám phá trở nên hiếm dần. Trừ những kháng sinh thuộc nhóm quinolon, những kháng sinh được gọi là mới chỉ là sự sắp xếp lại hay là sự thay đổi cấu trúc phân tử của những kháng sinh đã khám phá từ trước bằng kỹ thuật bán tổng hợp hoặc tổng hợp.

Hiện nay, phần lớn các bệnh nhiễm trùng đã được chế ngự một cách hữu hiệu, các vụ dịch được dập tắt nhanh chóng nhưng vẫn cần nghiên cứu nhiều để chế ngự các vi khuẩn kháng thuốc và tìm các thuốc hữu hiệu để điều trị các bệnh virus.

Hướng giải quyết bệnh nhiễm trùng hiện nay có thể là sử dụng đồng thời ba biện pháp sau:

- Thực hiện một chiến lược kháng sinh để hạn chế các vi khuẩn kháng thuốc.
- Tiếp tục tìm kiếm các kháng sinh hữu hiệu mới để điều trị bệnh vi khuẩn và phát minh các thuốc kháng virus hữu hiệu.
- Điều chế các vaccine hữu hiệu bằng các kỹ thuật hiện đại để phòng ngừa các bệnh nhiễm trùng, dần dần tiến đến xóa bỏ chúng như trường hợp bệnh đậu mùa trên phạm vi toàn thế giới.

HÌNH THỂ , CẤU TẠO VÀ SINH LÝ CỦA VI KHUẨN

Mục tiêu học tập:

1. Mô tả được các loại hình thể của vi khuẩn
2. Mô tả được cấu trúc của tế bào vi khuẩn
3. Trình bày được các nét cơ bản của sinh lý vi khuẩn

I. HÌNH THỂ CỦA VI KHUẨN

Vi khuẩn thông thường có hình thể nhất định do vách tế bào xác định. Một số không vách (hình thức L) như *Mycoplasma* không có hình thể nhất định. Đường kính trung bình của vi khuẩn khoảng 1µm . Những đại diện nhỏ nhất như *Mycoplasma* có đường kính khoảng 0,1 µm và những đại diện lớn hơn có kích thước hàng chục µm như *Spirillum volutans* 20µm. Các vi khuẩn gây bệnh có kích thước từ 0,2µm đến 10µm

Về hình thể người ta có thể chia vi khuẩn thành cầu khuẩn, trực khuẩn và vi khuẩn hình xoắn.

1. Cầu khuẩn :

Là những vi khuẩn hình cầu, hình trứng hay hình hạt cà phê

1.1. Micrococci (Đơn cầu)

Đây là những cầu khuẩn xếp hàng đều hoặc không đều, đó là những tạp khuẩn tìm thấy trong không khí và nước.

1.2. Diplococci (Song cầu)

Là những cầu khuẩn xếp từng đôi phân chia trong một mặt phẳng. Một số gây bệnh cho người như phế cầu, lậu cầu, cầu khuẩn màng não.

1.3. Stretococci (Liên cầu):

Là những cầu khuẩn xếp thành chuỗi ngắn hoặc dài. Một số loại gây bệnh cho người như *Streptococcus pyogenes* thuộc nhóm A của Lancefield.

1.4. Tetracocci (Tứ cầu)

Các cầu khuẩn hợp thành 4, phân chia theo hai mặt phẳng, rất ít khi gây bệnh.

1.5. Sarcina (Bát cầu)

Các cầu khuẩn xếp thành 8-16 con, phân chia theo ba mặt phẳng, thường tìm thấy trong không khí.

1.6. Staphylococci (Tụ cầu)

Các cầu khuẩn hợp thành đám như chùm nho, phân chia theo mặt phẳng, một số loại gây bệnh cho người và thường phát triển nhanh chóng tính đề kháng với nhiều kháng sinh.

2. Trực khuẩn

Là những vi khuẩn có hình que thẳng.

2.1. Bacteria

Là những trực khuẩn hiếu khí, không tạo nha bào như vi khuẩn đường mật, vi khuẩn bạch cầu, vi khuẩn lao...

2.2. Bacilli

Là những trực khuẩn hiếu khí tuyệt đối tạo nha bào ví dụ trực khuẩn bệnh than.

2.3. Clostridia

Là những trực khuẩn kỵ khí Gram dương tạo nha bào, ví dụ trực khuẩn uốn ván, trực khuẩn ngộ độc thịt.

3. Vi khuẩn hình xoắn

3.1. Phẩy khuẩn

Chỉ có một phần của hình xoắn nên có hình dấu phẩy, ví dụ phẩy khuẩn tả.

3.2. Xoắn khuẩn

Có nhiều vòng xoắn, ví dụ xoắn khuẩn giang mai, *Leptospira*, *Borrelia*.

II. CẤU TẠO CỦA TẾ BÀO VI KHUẨN

Khác với các thành viên của protista lớp trên có nhân thật như tế bào động vật và thực vật, vi khuẩn có tế bào nhân sơ, nhân chỉ có một nhiễm sắc thể, không có màng nhân, không có ti thể, không có bộ máy phân bào nhưng các tế bào lại phức tạp hơn.

1. Vách tế bào

Sự hiện diện của vách tế bào ở vi khuẩn được phát hiện bằng hiện tượng ly tương, bằng cách nhuộm và bằng phân lập trực tiếp.

Tác dụng cơ học như siêu âm phối hợp với ly tâm cho phép thu hoạch vách tế bào rỗng, tách rời khỏi nguyên tương.

1.1. Vách tế bào vi khuẩn gram dương

Kính hiển vi điện tử cho thấy vách tế bào dày từ 15 đến 50 nm. Thành phần chủ yếu là mucopeptit gọi là murein, một chất trùng hợp mà những đơn vị hoá học là những đường amin. N-acetyl glucosamin và axit N-acetyl muramic và những chuỗi peptit ngắn chứa alanin, axit glutamic và axit diaminopimelic hoặc lysin. Ngoài ra vách tế bào của một số vi khuẩn gram dương còn chứa axit teichoic. Ở một vài loại vi khuẩn, axit teichoic chiếm tới 30% trọng lượng khô của vách tế bào.

1.2. Vách tế bào vi khuẩn Gram âm gồm ba lớp

Lớp mucopeptit mỏng hơn khoảng 10nm và hai lớp lipoprotein và lipopoly-sacharit ở bên ngoài, lớp lipoprotein chứa tất cả những axit amin thông thường. Không có axit teichoic, vách tế bào vi khuẩn gram âm chứa một lượng lipid đáng kể, khoảng 20 % trọng lượng khô của vách tế bào.

1.3. Chức năng của vách tế bào

Vách tế bào vi khuẩn có nhiều chức năng:

- Duy trì hình thể của vi khuẩn: Vách cứng tạo nên bộ khung, làm cho vi khuẩn có hình thể nhất định.

- Quyết định tính bắt màu gram của vi khuẩn: Sự bắt màu gram khác nhau ở vi khuẩn gram dương và gram âm là do tính thấm thấu khác nhau đối với cồn của hai nhóm vi khuẩn đó. Nếu dùng lysozym biến đổi vi khuẩn gram dương thành protoplast không có vách thì protoplast lại bắt màu gram âm.

- Tạo nên kháng nguyên thân O của vi khuẩn đường ruột: Để điều chế kháng nguyên O của vi khuẩn đường ruột xử lý vi khuẩn không di động bằng nhiệt và cồn.

- Tạo nên nội độc tố của vi khuẩn đường ruột. Nội độc tố chỉ được giải tỏa lúc vi khuẩn bị ly giải. Ở vi khuẩn đường ruột, nội độc tố là những phức hợp lipopoly-sacharit dẫn xuất từ vách tế bào.

2. Màng nguyên tương

Là màng bán thấm dày khoảng 10nm nằm sát vách tế bào. Người ta có thể chứng minh sự hiện diện của nó bằng hiện tượng ly tương hoặc nhuộm với xanh Victoria 4R. Nó chứa 60-70% lipid, 20-30% protein và một lượng nhỏ hydrat cacbon. Màng nguyên tương có chức năng rào cản thẩm thấu của tế bào, ngăn cản không cho nhiều phẩm vật vào bên trong tế bào nhưng lại xúc tác việc chuyển chở hoạt động của nhiều phẩm vật khác vào bên trong tế bào. Hơn nữa màng tế bào chứa nhiều hệ thống enzyme và vì vậy có chức năng giống như ti thể của động vật và thực vật. Màng nguyên tương cho thấy những chỗ lõm vào gọi là mạc thể. Ở vi khuẩn Gram dương mạc thể khá phát triển cho thấy hình ảnh nhiều lá đồng tâm. Ở vi khuẩn Gram âm mạc thể chỉ là vết nhăn đơn giản.

3. Nguyên tương

Là cấu trúc được bao bọc bên ngoài bởi màng nguyên tương, ở trạng thái gel, cấu trúc này gồm 80% nước, các protein có tính chất enzyme, cacbohydrat, lipid và các ion vô cơ ở

nồng độ cao, và các hợp chất có trọng lượng phân tử thấp. Nguyên tương chứa dày đặc những hạt hình cầu đường kính 18nm gọi là ribôsôm. Ngoài ra còn có thể tìm thấy những hạt dự trữ glycogen, granuloza hoặc polymetaphotphat.

4. Nhân tế bào

Có thể thấy với kính hiển vi ánh sáng sau khi nhuộm hoặc soi trực tiếp ở kính hiển vi pha tương phản. Nhân có thể hình cầu, hình que, hình quả tạ hoặc hình chữ V. Khảo sát ở kính hiển vi điện tử nhân không có màng nhân và bộ máy phân bào. Nó là một sợi DNA trọng lượng phân tử 3×10^9 dallon và chứa một nhiễm sắc thể duy nhất dài khoảng 1mm nếu không xoắn. Nhân nối liền ở một đầu với thể mạc. Sự nối liền này giữ một vai trò chủ yếu trong sự tách rời 2 nhiễm sắc thể con sau khi sợi nhiễm sắc thể mẹ tách đôi. Trong sự phân chia nhân hai mạc thể qua chỗ nối liền với màng nguyên tương di chuyển theo những hướng đối nghịch theo hai nhóm con nối liền với chúng. Như thế màng nguyên tương tự động như một bộ máy thô sơ của sự gián phân với mạc thể đảm nhận vai trò thai vô sắc.

5. Lông của vi khuẩn

Lông chịu trách nhiệm về tính di động của vi khuẩn. Người ta quan sát sự di động của vi khuẩn ở kính hiển vi nhìn ở giọt treo hoặc đặt một giọt vi khuẩn ở lam kính và phủ một lá kính mỏng. Lông dài 3-12 μm hình sợi gợn sóng, mảnh (10-20nm) nên phải nhuộm với axit tannic để tạo thành một lớp kết tủa làm dày lông để phát hiện. Lông phát xuất từ thể đáy ngay bên dưới màng nguyên tương và có chuyển động xoay tròn. Bản chất protein nó tạo nên do sự tập hợp những đơn vị phụ gọi là flagellin tạo thành một cấu trúc hình trụ rỗng. Cách thức mọc lông là một đặc tính di truyền. Ở một số loại nhiều lông mọc quanh thân, ở một số loại một lông mọc ở cực và ở một số loại khác một chùm lông ở một cực. Nếu lông bị làm mất đi bằng cơ học thì lông mới được tạo thành nhanh chóng. Lông đóng vai trò kháng nguyên như kháng nguyên H ở vi khuẩn đường ruột.

6. Pili

Là những phụ bộ hình sợi, mềm mại hơn lông, mảnh hơn nhiều và có xu hướng thẳng đường kính 2-3 nm và dài từ 0,3-1nm, tìm thấy từ một đến hàng trăm ở mặt ngoài vi khuẩn, bản chất protein. Pili phát xuất ở trong màng nguyên tương và xuyên qua vách tế bào. Pili được tìm thấy ở vi khuẩn gram âm nhưng cũng có thể tìm thấy ở một số vi khuẩn gram dương. Pili F có nhiệm vụ trong sự giao phối. Những pili khác giúp cho vi khuẩn bám vào niêm mạc hoặc bề mặt khác của tế bào.

7. Vỏ của vi khuẩn

Vỏ là một cấu trúc nhầy bọc quanh vách tế bào của một số vi khuẩn, thường là Polysaccarit, chỉ có vỏ của *B.anthraxis* là một polypepit acid D-glutamic. Vỏ có thể phát hiện dễ dàng ở huyền dịch mực tàu ở đó nó hiện ra như một vùng sáng giữa môi trường mờ đục và tế bào vi khuẩn trông rõ hơn. Cũng có thể phát hiện bằng phản ứng phình vỏ hoặc bằng kỹ thuật nhuộm đặc biệt. Sự đột biến tạo thành vỏ rất dễ nhận biết vì tế bào có vỏ tạo nên khuẩn lạc bóng láng hoặc nhầy M trong khi tế bào không vỏ tạo nên khuẩn lạc xù xì R. Nhiệm vụ duy nhất được biết của vỏ là bảo vệ vi khuẩn chống thực bào và chống virut muốn gắn vào vách tế bào.

8. Nha bào

Những thành viên của *Bacillus*, *Clostridium* và *Sporosarcina* tạo thành nội nha bào dưới ảnh hưởng của môi trường bên ngoài không thuận lợi, mỗi tế bào làm phát sinh một nha bào. Nha bào có thể nằm ở giữa, ở đầu nút hoặc gần đầu nút tùy theo loài, vách nha bào chứa những thành phần mucoprotein và axit dipicolinic. Sự đề kháng của nha bào với hóa chất độc là do tính không thấm thấu của vách nha bào, sự đề kháng với nhiệt liên hệ đến trạng thái mất nước cao. Vì chịu đựng với điều kiện không thuận lợi bên ngoài nha bào góp phần quan trọng trong khả năng lây bệnh của trực khuẩn hiếu khí tạo nha bào như trực khuẩn than hoặc trực khuẩn kỵ khí tạo nha bào như *Clostridia*, nhất là trực khuẩn uốn ván, hoại thư, sinh hơi, ngộ độc thịt.

III. SINH LÝ VI KHUẨN

Như các sinh vật khác vi khuẩn cũng dinh dưỡng, chuyển hóa và phát triển.

1. Sự dinh dưỡng

Để phát triển vi khuẩn đòi hỏi môi trường nuôi cấy chứa đầy đủ những yếu tố dinh dưỡng bao gồm những hợp chất cần thiết để cung cấp năng lượng và những hợp chất được dùng làm nguyên liệu để tổng hợp những vật liệu mới của tế bào. Về nguyên liệu tổng hợp, vi khuẩn đòi hỏi những nhu cầu về muối khoáng như PO_4^{3-} , K^+ , Mg^{2+} với lượng đáng kể, một số ion (nguyên tố vi lượng) chỉ cần ở một nồng độ rất thấp như Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mo^{2+} , Ca^{2+} , các ion này thường tìm thấy trong nước và trong các muối khoáng không tinh khiết. Nguồn C do thức ăn năng lượng cung cấp. Nguồn N thông thường là protein hoặc một muối amoni.

Phần lớn vi khuẩn nếu được cung cấp đầy đủ những yếu tố trên thì có khả năng tổng hợp các chất cấu tạo của tế bào. Nhưng một số vi khuẩn mất khả năng tổng hợp một vài hợp chất và đòi hỏi được cung cấp ở trong môi trường nuôi cấy. Đó là những yếu tố phát triển; chúng được chia thành hai loại, một loại cần được cung cấp từng lượng nhỏ và đảm nhận chức vụ xúc tác như một thành phần của một enzyme ví dụ vitamin B, một loại cần được cung cấp từng lượng lớn và được dùng làm nguyên liệu cấu tạo tế bào như axit amin, purin, pyrimidin.

Ngoài ra những điều kiện vật lý như nhiệt độ pH, áp suất oxy cũng ảnh hưởng đến sự phát triển cần được điều chỉnh thích hợp.

2. Sự chuyển hóa

Bao gồm tất cả những phản ứng hóa học xảy ra ở những tế bào sống. Nhờ những phản ứng đó năng lượng được chiết từ môi trường và được sử dụng cho sinh tổng hợp và phát triển. Trong chuyển hóa quan trọng nhất là sự oxy hóa sinh học.

2.1. Sự oxy hóa sinh học

Sự oxy hóa được định nghĩa như là sự loại bỏ điện tử từ một cơ chất kèm theo sự loại bỏ ion hydro tức là sự loại bỏ nguyên tử hydro. Vì vậy sự oxy hóa được xem như là sự vận chuyển nguyên tử hydro. Cơ chất bị oxy hóa được gọi là chất cho hydro và phẩm vật bị khử được gọi là chất nhận hydro. Phần lớn hợp chất hữu cơ mất ion hydro do loại bỏ điện tử. Điện tử không thể ở trạng thái tự do trong dung dịch và không thể loại bỏ khỏi một cơ chất nếu không có một chất thích hợp để nhận nó. Sự vận chuyển điện tử là cốt lõi của sự oxy hóa và sự khử.

Tùy theo bản chất của chất nhận hydro cuối cùng người ta chia sự oxy hóa sinh học thành ba hình thức: Hô hấp hiếu khí, hô hấp kỵ khí và lên men. Chất nhận hydro cuối cùng là oxy phân tử (O_2) trong sự hô hấp hiếu khí, là một hợp chất vô cơ (nitrat, sulfat, cacbonat) trong sự hô hấp kỵ khí, là một hợp chất hữu cơ trong sự lên men.

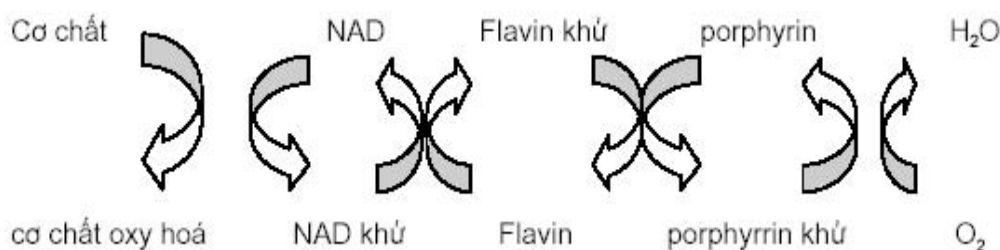
Về nhu cầu oxy người ta chia thành:

- Vi khuẩn hiếu khí bắt buộc như vi khuẩn lao và một vài trực khuẩn tạo nha bào, những vi khuẩn này đòi hỏi oxy vì thiếu khả năng lên men.
- Vi khuẩn kỵ khí bắt buộc như *Clostridia*, *Propionibacterium*, chúng chỉ phát triển khi không có oxy.

- Vi khuẩn tùy ý như nấm men, vi khuẩn đường ruột. Những vi khuẩn này có thể sống không có oxy nhưng đổi thành chuyển hóa hô hấp lúc có oxy.

2.2. Sự hô hấp hiếu khí

Chất nhận hydro cuối cùng là oxy phân tử. Cơ chất thông thường là đường nhưng cũng có thể là axit béo, axit amin. Điện tử được chuyển từ chất cho hydro đến chất nhận hydro qua nhiều bước. Điện tử lấy từ chất cho hydro có thể đầu tiên chuyển đến một coenzyme thứ nhất A, A do đó bị khử thành AH_2 . Một enzyme khác lại xúc tác sự chuyển điện tử từ AH_2 đến một coenzyme thứ hai B. AH_2 do đó được oxy hóa trở lại thành A và B trở nên trở thành BH. Quá trình này có thể tiếp diễn qua nhiều bước tạo nên dây chuyền hô hấp điện tử từ chất cho hydro đến oxy



Hình 1: minh họa về dây chuyền điện tử

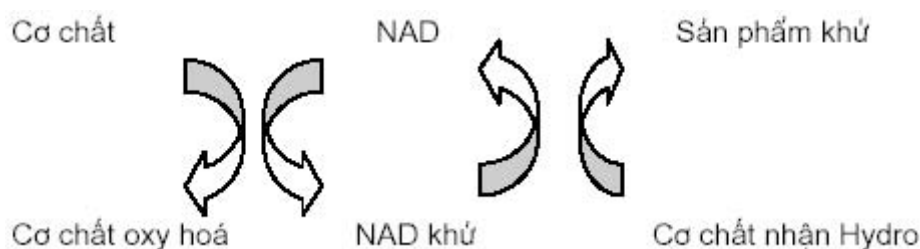
Kết quả cuối cùng là sự hình thành một sản phẩm oxy hóa, một sản phẩm khử và năng lượng. Năng lượng phát sinh hoặc được dự trữ trong các dây nối sẵn năng lượng hoặc tỏa thành nhiệt.

2.3. Sự hô hấp kỵ khí

Cơ chất có thể là hợp chất hữu cơ nhưng cũng có thể là chất vô cơ. Chất nhận điện tử ở đây không phải oxy không khí mà là nitrat, sulfat, cacbonat....

2.4. Sự lên men

Cơ chất là hợp chất hữu cơ nhưng chất nhận điện tử cũng là hợp chất hữu cơ. Ở đây, trong dây chuyền điện tử thông thường chỉ có NAD là chất mang điện tử trung gian.



Hình 2: Sự chuyển điện tử trong sự lên men

So với sự hô hấp, sự lên men kém hiệu quả hơn nhiều, nó cung cấp ATP 19 lần ít hơn đối với 1 mol glucoza chuyển hóa. Một vi khuẩn phát triển với một lượng giới hạn glucoza cho thấy hiệu suất phát triển (trọng lượng khô vi khuẩn / trọng lượng cơ chất chuyển hóa) lớn hơn trong điều kiện hiếu khí so với điều kiện kỵ khí.

3. Sự phát triển của vi khuẩn

Tế bào nhân lên trong sự phát triển. Ở vi khuẩn đơn bào, sự phát triển làm gia tăng số lượng vi khuẩn ở một sản phẩm cấy. Vi khuẩn nhân lên bằng phân liệt. Một thể hệ được định nghĩa như là sự tăng đôi tế bào. Thời gian thế hệ là khoảng thời gian cần thiết để tăng đôi số tế bào. Thời gian thế hệ thay đổi tùy loại vi khuẩn, 20 phút ở E.coli, 20 - 24 giờ ở vi khuẩn lao.

3.1. Sự phát triển lũy thừa :

Vì hai tế bào con có thể phát triển cùng một tốc độ như tế bào mẹ nên số tế bào trong ruột sản phẩm cấy tăng lên với thời gian như một cấp số nhân $2^0, 2^1, 2^2, 2^3 \dots$. Nghĩa là sự phát triển lũy thừa.

Tốc độ phát triển của một sản phẩm cấy ở một thời gian xác định tỷ lệ với số tế bào hiện diện ở thời gian đó. Sự liên hệ này có thể biểu thị dưới dạng phương trình sau

$$\frac{dN}{dT} = kN \quad (1)$$

Phân tích phương trình trên ta có :

$$N = N_0 e^{kt} \quad (2)$$

Trong đó N_0 là số tế bào ở thời gian 0 và N là số tế bào ở bất kỳ thời gian t sau đó. Trong phương trình (2), k là hằng số phát triển :

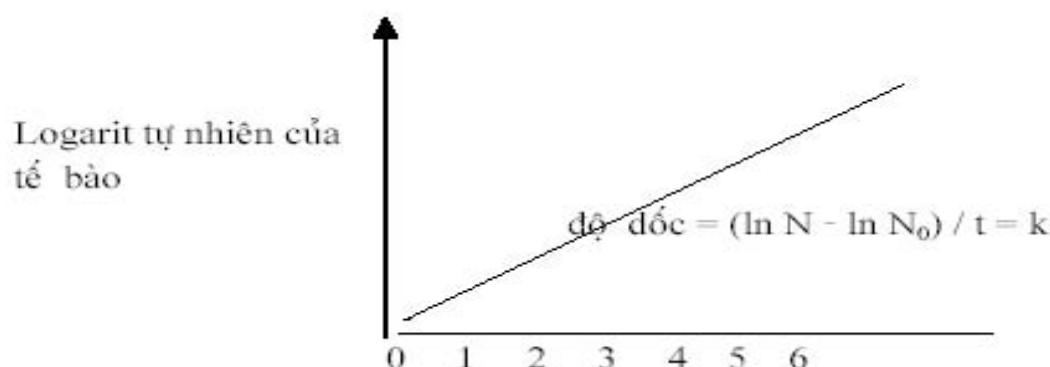
Giải phương trình theo k ta có :

$$k = \frac{\ln N - \ln N_0}{t} \quad (3)$$

Chuyển sang logarit thập phân

$$k = 2,302 \frac{\log N - \log N_0}{t_2 - t_1}$$

Như vậy k biểu thị tốc độ ở đó logarit tự nhiên của số tế bào tăng lên với thời gian và có thể xác định bằng đồ thị.

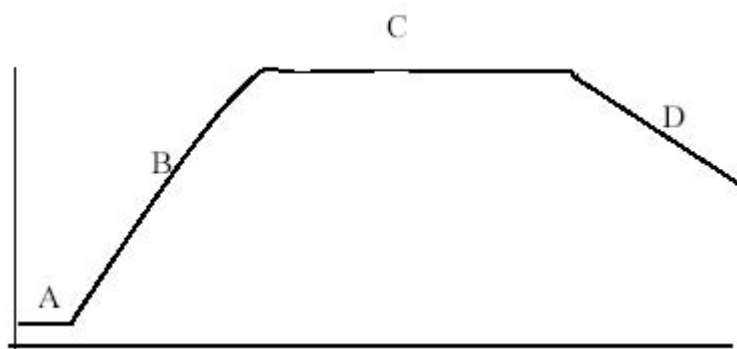


Hình 3. Tốc độ ở đó logarit tự nhiên của số tế bào tăng lên với thời gian.

3.2. Đường biểu diễn phát triển :

Cấy vào một môi trường lỏng những vi khuẩn lấy từ một sản phẩm cấy trước đó đã phát triển đến bão hòa, lần lượt xác định số tế bào trong một 1ml và biểu diễn logarit của nồng độ tế bào theo thời gian thì thu được đường biểu diễn phát triển.

Đường biểu diễn gồm 4 pha:



Hình 4. Đường biểu diễn phát triển

A :Pha tiềm ẩn B: pha lũy thừa C: pha dừng D: pha chết.

- Pha tiềm ẩn: Biểu thị giai đoạn ở đó tế bào bắt đầu thích nghi với môi trường mới. Enzyme và chất chuyển hóa trung gian được tạo thành và tích lũy cho đến khi đạt đến một nồng độ mà sự phát triển có thể bắt đầu trở lại.

- Pha lũy thừa: Trong pha này tốc độ phát triển không đổi. Tất cả các vi khuẩn điều nhân lên với một tốc độ không đổi và kích thước trung bình của tế bào cũng không đổi. Hiện tượng này được tiếp tục duy trì cho đến khi một trong hai sự kiện sau này xảy ra. Một hay nhiều thức ăn trong môi trường bị thiếu hụt hoặc sản phẩm chuyển hóa độc tích tụ nhiều. Đối với vi khuẩn hiếu khí thức ăn đầu tiên trở nên giới hạn là oxy. Lúc nồng độ tế bào khoảng 10^7 /ml trong trường hợp vi khuẩn hiếu khí, tốc độ vi khuẩn giảm xuống nếu oxy không được cho vào môi trường bằng cách khuấy hoặc bơm không khí. Lúc nồng độ tế bào đạt đến $4-5 \times 10^9$ /ml tốc độ khuếch tán của oxy không thể thỏa mãn nhu cầu ngay cả ở môi trường thoáng khí và sự phát triển dần dần giảm tốc độ.

- Pha dừng: ở giai đoạn này sự thiếu hụt thức ăn và sự tích lũy vật phẩm độc làm cho số lượng tế bào dừng lại hoàn toàn. Các vi khuẩn sinh sản ít dần và sự phát triển về khối lượng cũng giảm dần, có một số tế bào chết nhưng được bù lại nhờ sự tạo thành một số tế bào mới.

- Pha chết: Bắt đầu sau một thời gian ở pha dừng, thời gian này thay đổi theo từng loài vi khuẩn và điều kiện nuôi cấy. Vi khuẩn chết càng ngày càng nhiều. Thông thường sau khi tế bào chết, một số tế bào tiếp tục sống nhờ thức ăn phóng thích từ những tế bào bị ly giải.

DI TRUYỀN VI KHUẨN

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được các cơ chế vận chuyển di truyền ở vi khuẩn.
2. Trình bày được các cơ chế di truyền tính kháng thuốc ở vi khuẩn.

Di truyền là sự duy trì các đặc điểm qua nhiều thế hệ. Cơ sở vật chất của di truyền là nhiễm sắc thể. Nhiễm sắc thể của vi khuẩn ví dụ như của *E.coli* gồm 5×10^6 đôi nucleotide chia thành nhiều đoạn gọi là gen, mỗi gen quyết định sự tổng hợp một protein đặc hiệu. Những protein đặc hiệu như enzyme và những cấu tạo khác của tế bào xác định tất cả các tính trạng của một cá thể.

Nhiễm sắc thể chịu sự nhân đôi trước khi phân bào. Do đó mỗi tế bào con nhận một bộ gen tương đương với tế bào mẹ. Sự nhân đôi của nhiễm sắc thể là một quá trình chính xác, tuy nhiên mỗi gen có một xác suất nhỏ về sai sót trong sao chép, do đó làm phát sinh đột biến. Đột biến xảy ra ngẫu nhiên không cần sự can thiệp của môi trường bên ngoài với một tần suất rất nhỏ từ 10^{-5} đến 10^{-9} .

I. SỰ VẬN CHUYỂN DI TRUYỀN Ở VI SINH VẬT

Sự tiến hóa của vi sinh vật phụ thuộc vào sự biến dị và sự chọn lọc. Nó diễn ra chậm chạp, lúc sự biến dị xảy ra do tích lũy những biến dị liên tiếp ở một chủng sinh vật. Quá trình này trở nên nhanh chóng ở vi sinh vật nhờ các vi sinh vật phát triển những cơ chế vận chuyển di truyền giữa các cá thể.

Vi khuẩn vận chuyển những yếu tố di truyền qua ba cơ chế: biến nạp, tải nạp và tiếp hợp.

Trong biến nạp, một đoạn ADN được vận chuyển vào tế bào nhận. Đây là một cơ chế thô sơ của sự vận chuyển gen.

Trong tải nạp và tiếp hợp, những plasmid được vận chuyển qua trung gian của phage hoặc qua tiếp xúc.

Plasmid là những phân tử ADN dạng vòng tròn nằm ngoài nhiễm sắc thể và có khả năng tự sao chép. Plasmid có trọng khối nhỏ so với nhiễm sắc thể. Hai plasmid gọi là không phù hợp nếu chúng không thể tồn tại bền vững trong cùng một tế bào. Những plasmid F mang nhân tổ sinh sản F. Những plasmid cùng tồn tại trong một vi khuẩn với nhân tổ F gọi là F_i^+ nếu chúng ngăn cản sự tiếp hợp của F, gọi là F_i^- trong trường hợp ngược lại.

1. Biến nạp (Transformation)

Biến nạp là sự vận chuyển ADN hòa tan của nhiễm sắc thể từ vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận. Khi tế bào vi khuẩn bị vỡ do làm tan (lysis), ADN dạng vòng tròn của chúng thoát ra môi trường thành các đoạn thẳng với chiều dài khác nhau, có khả năng gây biến nạp cho các tế bào nhận khác.

Griffith năm 1928 đã khám phá sự biến nạp ở phế cầu bằng thí nghiệm sau ở chuột nhắt :

- Tiêm vào chuột phế cầu sống S1 có vỏ thì chuột chết vì nhiễm khuẩn huyết.
- Tiêm vào chuột phế cầu R1 sống không vỏ thì chuột không chết.

- Tiêm vào chuột phế cầu S1 chết thì chuột không chết.
- Tiêm vào chuột hỗn hợp phế cầu S1 chết với R1 sống thì chuột chết vì nhiễm khuẩn huyết. Từ máu chuột phân lập được S1 sống có vỏ.

Griffith cũng như các nhà khoa học thời bấy giờ chưa hiểu ý nghĩa sâu xa của sự kiện.

Alloway năm 1933 thực hiện thí nghiệm ở ống nghiệm và phân lập được phế cầu S1 ở hỗn hợp phế cầu S1 chết và phế cầu R1 sống.

Avery, Mac-Leod, Mac-Carthy năm 1944 đã phân lập được nhân tố biến nạp và xác định là ADN. Nhưng lúc bấy giờ giới khoa học chưa chấp nhận ADN là chất liệu di truyền. Đến năm 1952 lúc Hershey và Chase chứng minh ADN của Phage đi vào bên trong vi khuẩn trong khi vỏ Protein bị giữ ở bên ngoài thì ADN mới được công nhận là nhân tố biến nạp.

Sự biến nạp được khám phá thêm ở nhiều vi khuẩn khác: *Hemophilus*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*...

Trong biến nạp, tế bào nhận phải ở trạng thái sinh lý đặc biệt được gọi là khả nạp (competence) mới có khả năng tiếp nhận ADN hòa tan của tế bào cho. Trạng thái khả nạp xuất hiện trong một giai đoạn nhất định của quá trình phát triển của tế bào vào lúc tế bào đang tổng hợp vách.

Sau khi xâm nhập, phân tử ADN sợi kép bị một endonuclease cắt ở màng tế bào thành đoạn ngắn sợi đơn và đi vào nguyên tương. Đoạn ADN sợi đơn kết đôi với ADN của tế bào nhận ở đoạn tương đồng rồi tái tổ hợp; bằng cách đó ADN biến nạp kết hợp vào nhiễm sắc thể của tế bào nhận. Nhiễm sắc thể tái tổ hợp là phân tử ADN sợi kép của tế bào nhận trong đó một đoạn ngắn của một sợi được thay thế bằng một đoạn ADN của tế bào cho.

Đối với vi khuẩn đường ruột, sự tiếp nhận đòi hỏi sự biến đổi bề mặt của tế bào bằng cách xử lý với CaCl_2 .

Ý nghĩa của sự biến nạp:

Sự biến nạp cho phép kết hợp vào nhiễm sắc thể vi khuẩn ADN tổng hợp hoặc ADN biến đổi invitro.

Biến nạp cũng được sử dụng để xác định những vùng rất nhỏ trên bản đồ di truyền của vi khuẩn.

Biến nạp có thể xảy ra ở trong thiên nhiên. Người ta đã chọn lọc vi khuẩn tái tổ hợp độc lực tăng lúc tiêm 2 chủng phế cầu vào phúc mạc chuột nhắt. Như thế sự biến nạp có một ý nghĩa dịch tễ học, tuy nhiên sự vận chuyển di truyền bằng biến nạp không hữu hiệu bằng sự vận chuyển di truyền bằng plasmid.

2. Tải nạp (Transduction)

Tải nạp là sự vận chuyển ADN từ vi khuẩn cho đến vi khuẩn nhận nhờ phage. Trong tải nạp chung, phage có thể mang bất kỳ gen nào của vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận. Trong tải nạp đặc hiệu, một phage nhất định chỉ mang được một số gen nhất định của vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận.

2.1. Sự tải nạp chung

Kiểu tải nạp này được Zinder và Lederberg khám phá năm 1951 lúc khảo sát sự tiếp hợp ở *Salmonella*. Lúc lai giống chủng L22 và chủng L2, mỗi chủng mang một cặp tính trạng đột biến khác nhau thì thu được với một tỷ lệ nhỏ một số tế bào tái tổ hợp mang một cặp tính trạng đột biến như tế bào hoang dại gốc, phage P22 được tìm thấy trong nước lọc canh khuẩn của 2 chủng vi khuẩn trên. Phage P22 độc lực với chủng L2 nhưng ôn hòa với chủng L22.

Lúc cho P22 vào canh khuẩn L2 thì tất cả tế bào của L2 bị dung giải và phóng thích phage P22 trong đó có một ít phage chứa một mảnh ADN của L2. Lúc cho chủng L22 vào dung dịch phage P22 nói trên thì một số phage vận chuyển những gen của L2 vào L22 và vi khuẩn tự dưỡng như type hoang dại được phát sinh qua tái tổ hợp.

2.2 Sự tải nạp đặc hiệu

Năm 1954 Mores nhận thấy phage ôn hòa có thể thực hiện một kiểu tải nạp khác gọi là tải nạp đặc hiệu. Nó chỉ vận chuyển một nhóm giới hạn gen, nhóm gen được chuyển nằm sát chỗ prophage gắn vào ở nhiễm sắc thể. Sự tải nạp đặc hiệu vận chuyển những gen đặc hiệu ở nhiễm sắc thể và đòi hỏi sự tích hợp của phage. Hơn nữa khác với tải nạp chung, phage tải nạp đặc hiệu chỉ được phóng thích lúc chiếu tia cực tím chứ không bao giờ tự tách rời khỏi nhiễm sắc thể.

Lúc chiếu tia cực tím vào một canh khuẩn *E.coli* K12 Gal⁺ sinh tan với phage λ thì trong những phage được phóng thích có khoảng 10^{-6} λ dGal. λ dGal là phage λ mang gen Gal nhưng thiếu một đoạn ADN mà nó để lại trên nhiễm sắc thể của vi khuẩn. Đó là phage không hoàn chỉnh không thể nhân lên nếu không bổ sung đoạn ADN bị thiếu nhưng có thể vận chuyển gen Gal. Lúc cho dịch dung giải nói trên vào canh khuẩn *E.coli* K₁₂ Gal⁻ thì thu được khoảng 10^{-6} vi khuẩn tải nạp galactosa dương tính. Đó là hiện tượng tải nạp tần số thấp LTF (Low Frequency Transduction). Một số ít tế bào trong canh khuẩn *E.coli* K₁₂ Gal⁻ nhiễm dịch LTF trở nên hai lần sinh tan với phage λ bình thường và phage λ dGal. Những tế bào này hình thành clon tế bào hai lần sinh tan. Lúc chiếu tia cực tím vào những tế bào nói trên thì thu được một dịch phage trong đó những phage λ và phage λ dGal bằng nhau. Đó là sự tải nạp tần số cao (High frequency transduction).

Ý nghĩa của sự tải nạp:

Sự tải nạp có thể cho phép xác định những gen rất gần nhau ở nhiễm sắc thể, do đó được sử dụng để thiết lập bản đồ di truyền. Dựa vào tần số tải nạp hai gen cùng một lúc người ta có thể xác định khoảng cách giữa các gen và nhờ thế xác định vị trí của chúng.

Trong thiên nhiên sự tải nạp giữ một vai trò có ý nghĩa trong lây lan các Plasmid kháng thuốc ở vi khuẩn gram dương như plasmid penicillinase ở tụ cầu. Ngoài ra prophage có thể đem lại cho vi khuẩn một số tính chất đặc biệt quan trọng ví dụ prophage β ở trực khuẩn bạch hầu.

3. Tiếp hợp (Conjugation)

Tiếp hợp là hiện tượng vận chuyển những yếu tố di truyền từ vi khuẩn cho (đực) sang vi khuẩn nhận (cái) khi hai vi khuẩn tiếp xúc với nhau.

Lederberg và Tatum lần đầu tiên năm 1946 phát hiện ra sự tiếp hợp ở vi khuẩn. Hỗn hợp hai biến chủng *E.coli* K₁₂ với nhau. Chủng 1 khuyết dưỡng với Biotin và Methionin nhưng có khả năng tổng hợp Threonin và Leucin ký hiệu B⁻M⁻T⁺L⁺. Chủng 2 khuyết dưỡng với Threonin và Leucin nhưng tổng hợp được Biotin và Methionin, ký hiệu B⁺M⁺T⁻L⁻.

Cả hai biến chủng này không mọc được trong môi trường tổng hợp tối thiểu không chứa bốn chất trên nên không tạo thành khuẩn lạc.

Nếu trộn hai biến chủng trên với nhau rồi cấy vào môi trường tối thiểu thì thấy mọc các khuẩn lạc với tần số 10^{-6} . Điều này cho thấy hai chủng loại vi khuẩn qua trao đổi gen đã tạo thành các tế bào tái tổ hợp có khả năng tổng hợp bốn chất: Biotin, Methionin, Threonin, Leucin, ký hiệu B⁺, M⁺, T⁺, L⁺.

Hiện tượng tiếp hợp liên quan đến nhân tố sinh sản F. Nhân tố F là một Plasmid. Tế bào chứa F là tế bào đực hay tế bào F⁺ đóng vai trò tế bào cho. Tế bào không chứa F hay là tế

bào cái F^- đóng vai trò tế bào nhận. Trong thí nghiệm tiếp hợp trên, chủng (1) đóng vai trò chủng cho và chủng (2) đóng vai trò chủng nhận.

Từ các tế bào F^+ , Cavalli đã phân lập được các tế bào Hfr (High frequency of recombination) có khả năng vận chuyển gen với một tần số cao. Khi lai Hfr x F^- thì thu được các tế bào tái tổ hợp 1000 lần nhiều hơn khi lai F^+ x F^- .

Trong các tế bào F^+ nhân tố F tạo nên một lực đặc biệt gọi là lực tiếp hợp. Chính nhờ lực này mà xảy ra sự tiếp hợp giữa các vi khuẩn.

Trong các tế bào Hfr nhân tố F tích hợp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn và chỉ có khả năng sao chép cùng với nhiễm sắc thể. Ở tế bào Hfr nhân tố F cũng tạo nên một lực tiếp hợp, nhưng trong quá trình tiếp hợp vì nằm cuối bộ gen, nó đẩy bộ gen vào tế bào nhận qua cầu nguyên tương nối liền hai tế bào tiếp hợp.

Ở tế bào Hfr trong một số trường hợp F có thể tách rời khỏi nhiễm sắc thể và mang theo một đoạn ADN của nhiễm sắc thể và được gọi là F' . F' có khả năng tự sao chép và có thể vận chuyển vào tế bào nhận. F' có thể vận chuyển một số tính trạng của một vi khuẩn này sang một vi khuẩn khác. F' được sử dụng để phân lập và vận chuyển một số gen chọn lọc.

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

Ý nghĩa của sự tiếp hợp:

Sự tiếp hợp là một công cụ khảo sát quan trọng trong nhiều lĩnh vực sinh lý và di truyền vi khuẩn vì nó cho phép tạo nên những vi khuẩn phối hợp nhiều đột biến khác nhau.

Nhờ kỹ thuật tiếp hợp ngắt quãng người ta thiết lập bản đồ nhiễm sắc thể của vi khuẩn. Ngoài ra chủng F' được sử dụng để nghiên cứu hoạt động của một số gen.

Trong thiên nhiên sự tiếp hợp giữ một vai trò đáng kể trong biến dị của vi khuẩn đặc biệt trong lây lan tính kháng thuốc giữa các vi khuẩn Gram âm.

II. DI TRUYỀN VỀ TÍNH KHÁNG THUỐC

Các vi khuẩn kháng thuốc được tìm thấy khắp nơi kể cả những nơi chưa bao giờ sử dụng kháng sinh. Ngay khi phát minh penicilin năm 1941, vi khuẩn kháng penicilin đã được báo cáo. Ngày nay vấn đề kháng thuốc trở thành mối bận tâm hàng đầu trong điều trị các bệnh nhiễm trùng và kháng sinh đồ là một thử nghiệm hàng ngày ở các phòng xét nghiệm vi trùng.

Sự hình thành tính kháng thuốc ở vi sinh vật là do sự biến đổi gen ở nhiễm sắc thể hoặc do tiếp nhận plasmid kháng thuốc.

Vi khuẩn trở nên kháng thuốc qua 4 cơ chế: đột biến, tái tổ hợp hoặc thu hoạch plasmid kháng thuốc hoặc thu hoạch transposon.

1. Đột biến thành kháng thuốc

Nhiều thí nghiệm đã chứng minh tính kháng thuốc phát sinh do đột biến, như thế tính kháng thuốc liên hệ đến sự biến đổi gen ở nhiễm sắc thể và có thể di truyền cho các thế hệ sau. Sự đột biến xảy ra với tần suất 10^{-5} - 10^{-9} .

Trong tính kháng thuốc, kháng sinh giữ vai trò chọn lọc chứ không phải vai trò chỉ đạo. Việc sử dụng rộng rãi kháng sinh làm phát triển nhanh chóng các vi khuẩn kháng thuốc bằng cách giết chết các vi khuẩn nhạy cảm, tạo điều kiện cho vi khuẩn kháng thuốc phát sinh do đột biến chiếm ưu thế.

2. Sự tái tổ hợp

Lúc một đột biến kháng thuốc xuất hiện ở một quần thể vi khuẩn thì vi khuẩn kháng thuốc có thể vận chuyển gen kháng thuốc đến các vi khuẩn nhạy cảm theo một trong 3 cơ chế vận chuyển di truyền: biến nạp, tải nạp và tiếp hợp tùy theo loài vi khuẩn. Sự tái tổ hợp giữa 2 vi khuẩn, mỗi vi khuẩn kháng một kháng sinh làm xuất hiện những vi khuẩn kháng với cả 2 loại kháng sinh. Trong thiên nhiên, sự vận chuyển gen kháng thuốc trong tải nạp và tiếp hợp xảy ra với một tần suất thấp khoảng 10^{-5} . Trong biến nạp tần suất chưa được biết, nhưng có thể còn thấp hơn nữa.

3. Thu hoạch plasmid kháng thuốc

Hai cơ chế kháng thuốc trên liên quan đến gen kháng thuốc nằm ở trên nhiễm sắc thể. Ở đây tính kháng thuốc liên hệ đến plasmid nằm ngoài nhiễm sắc thể. Plasmid kháng thuốc được vận chuyển theo những cơ chế khác nhau tùy theo vi khuẩn Gram dương hoặc vi khuẩn Gram âm.

3.1. Plasmid kháng thuốc ở vi khuẩn Gram âm

Năm 1946 lần đầu tiên ở Nhật Bản người ta phân lập nhiều chủng *Shigella* kháng với nhiều kháng sinh : streptomycin, chloramphenicol, tetracyclin, sulfonamit. Nhân tố chịu trách nhiệm về tính kháng nhiều thuốc là một plasmid kháng thuốc gọi là nhân tố R. Nhân tố R điển hình là một plasmid lớn với 2 phần, chức năng riêng biệt. Phần thứ nhất RTF gọi là nhân tố vận chuyển đề kháng (Resistance transfer factor), khoảng 80 kb chứa những gen của sự tự sao chép và của sự tiếp hợp. Phần kia nhỏ hơn là quyết định đề kháng (R determinant), kích thước rất thay đổi và chứa gen kháng thuốc (R genes) RTF và quyết định đề kháng thông thường tạo nên một đơn vị. Nhân tố R thường tái tổ hợp với nhau làm phát sinh những tổ hợp mới về kháng thuốc.

Nhân tố R không những có thể lây truyền rộng rãi trong nhiều loài vi khuẩn đường ruột mà còn có thể lây truyền cho nhiều vi khuẩn khác như vi khuẩn tả, vi khuẩn dịch hạch...

Nhân tố R lây truyền trong vi khuẩn qua tiếp xúc nên tính kháng thuốc lan tràn trong một quần thể vi khuẩn nhạy cảm như một bệnh truyền nhiễm .

3.2. Plasmid kháng thuốc ở vi khuẩn Gram dương

Sự đề kháng của nhiều chủng tụ cầu vàng với penicillin, erythromycin và nhiều kháng sinh cũng do plasmid gây nên. Plasmid ở vi khuẩn Gram dương không thể vận chuyển bằng tiếp hợp mà bằng tải nạp qua trung gian của phage. Hiện nay phần lớn những chủng tụ cầu kháng penicillin ở bệnh viện đều mang plasmid penicillinase.

4. Thu hoạch transposon

Transposon còn gọi là gen nhảy là những đoạn ADN, kích thước nhỏ chứa một hay nhiều gen có 2 đầu tận cùng là những chuỗi nucleotic giống nhau nhưng ngược chiều nhau (inverted repeat). có thể nhảy từ plasmid vào nhiễm sắc thể hoặc từ nhiễm sắc thể vào plasmid hoặc từ plasmid đến plasmid. Tất cả mọi gen trong đó có gen kháng thuốc có thể nằm trên transposon. Những transposon chỉ đạo sự kháng kim loại nặng, sự tạo thành độc tố và khả năng sử dụng một số chất chuyển hóa (lactose, raffinose, histidin, hợp chất lưu huỳnh) đã được mô tả. Đặc biệt quan trọng trong vi sinh học là những transposon kháng kháng sinh như Tn3 mang gen kháng ampicillin, Tn5 mang gen kháng kanamycin, Tn10 mang gen kháng tetracyclin, Tn4 mang gen kháng ba kháng sinh ampicillin, streptomycin và sulfamid.

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC NHÂN TỐ NGOẠI CẢNH ĐẾN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI SINH VẬT

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được tác động của một số nhân tố vật lý, hoá học và sinh học lên sự phát triển của vi sinh vật.
2. Giải thích được cơ chế tác động của một vài yếu tố vật lý, hoá học và sinh học lên sự phát triển của vi sinh vật.

Sự tồn tại và phát triển của vi sinh vật chịu ảnh hưởng trực tiếp của các nhân tố của môi trường xung quanh như nhiệt độ, ánh sáng, hóa chất, các bức xạ, pH... Các nhân tố này có thể chia làm 3 nhóm lớn : các nhân tố vật lý, các nhân tố hóa học và các nhân tố sinh học. Hiểu được ảnh hưởng của các nhân tố này đối với sự phát triển của vi sinh vật để ứng dụng trong công tác tiệt trùng, khử trùng các dụng cụ y tế, dược phẩm, tẩy uế môi trường, phòng mô, phòng bệnh nhân, nghiên cứu vi sinh vật...

I. NHÂN TỐ VẬT LÝ

1. Vận động cơ giới

Vi sinh vật chịu ảnh hưởng của các tần số rung động của môi trường, yếu tố này có thể có tác dụng kích thích hay ức chế sự phát triển của vi sinh vật và tiêu diệt vi sinh vật.

- Khi lắc canh khuẩn với tần số vừa (1-60 lần / phút) thì có tác động tốt đến sự phát triển của vi khuẩn do tăng khả năng thông khí, thúc đẩy sự phân bào...
- Khi lắc mạnh thì lại ức chế sự phát triển của vi khuẩn, nếu lắc kéo dài thì có thể tiêu diệt các vi sinh vật.

Vận động cơ giới thường được ứng dụng khi nuôi cấy vi sinh vật để làm tăng sinh khối hoặc thu nhận số lượng lớn sản phẩm do vi khuẩn bài tiết ra...

2. Làm mất nước

Nước cần thiết cho hoạt động sống của vi sinh vật, làm mất nước thì vi sinh vật sẽ chết. Tốc độ chết tùy thuộc vào môi trường vi khuẩn sống.

- Huyền dịch vi khuẩn ở trong nước nếu đem làm khô thì vi khuẩn chết rất nhanh.
- Huyền dịch vi khuẩn trong thể keo khi làm khô vi khuẩn chết chậm hơn.
- Huyền dịch vi khuẩn nếu làm đông băng nhanh trước rồi mới tiến hành làm mất nước thì vi khuẩn chết rất ít. Phương pháp này được áp dụng để làm đông khô vi khuẩn nhằm bảo quản vi khuẩn trong thời gian dài.

Trạng thái nha bào là trạng thái mất nước tự nhiên của vi khuẩn. Nha bào chịu được khô hanh lâu dài.

3. Hấp phụ

Than hoạt, gel albumin, màng lọc sứ... có khả năng hấp phụ vi khuẩn và sự hấp phụ này làm thay đổi khả năng sống của vi khuẩn. Được áp dụng để làm vô khuẩn các sản phẩm của huyết thanh, các sản phẩm không chịu nhiệt...

4. pH

Độ pH của môi trường có ảnh hưởng đến hoạt động sống của vi khuẩn do làm thay đổi sự cân bằng về trao đổi chất giữa môi trường và vi khuẩn có thể giết chết vi khuẩn. Mỗi loại vi khuẩn chỉ thích hợp với một giới hạn pH nhất định (từ 5,5 đến 8,5), đa số là ở pH trung tính (pH=7), bởi vì pH nội bào của tế bào sống là trung tính. Ở môi trường kiềm, *Pseudomonas* và *Vibrio* phát triển tốt, đặc tính này rất hữu ích để phân lập chúng. Trong khi đó *Lactobacillus* phát triển tốt hơn ở pH=6 hoặc thấp hơn. Trong quá trình điều chế các môi trường nuôi cấy phải đảm bảo pH thích hợp thì vi khuẩn mới phát triển tốt. Trong tiết khuẩn hoặc khử khuẩn người ta có thể sử dụng các hóa chất có pH rất axit hoặc rất kiềm để loại trừ vi khuẩn.

5. Áp suất

5.1. Áp suất thủy tĩnh (áp suất cơ giới)

Vi khuẩn có khả năng chịu được áp suất cao của không khí, thường từ 2000-5000 atm đối với virus, phage; từ 5000-6000 atm đối với các vi khuẩn không có nha bào; từ 17000-20000 atm đối với các vi khuẩn có nha bào. Cơ chế tác động của áp suất cơ giới đối với vi khuẩn chưa được rõ.

5.2. Áp suất thẩm thấu

Áp suất thẩm thấu của môi trường xung quanh có tác động mạnh đến tế bào vi khuẩn do tính thẩm thấu của màng nguyên tương. Đa số các vi khuẩn phát triển thích hợp khi môi trường có áp suất thẩm thấu bằng 7 atm (dung dịch NaCl 0,9%).

- Trong dung dịch nhược trương, do áp suất thẩm thấu bên trong tế bào cao hơn môi trường nên nước bị hút vào tế bào vi khuẩn làm tế bào phình to lên và vỡ.

- Trong dung dịch ưu trương, áp suất thẩm thấu ở môi trường cao nên nước bị hút ra môi trường làm tế bào bị teo lại.

6. Nhiệt độ

Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của vi khuẩn. Mỗi loại vi sinh vật phát triển trong một giới hạn nhiệt độ nhất định, dựa vào khoảng nhiệt độ phát triển tối ưu, vi khuẩn có thể được chia làm 3 nhóm: nhóm ưa ấm có nhiệt độ tối ưu giữa 20°C-45°C, nhóm ưa lạnh có nhiệt độ tối ưu dưới 20°C và nhóm ưa nóng có nhiệt độ tối ưu trên 45°C. Ở nhiệt độ quá thấp vi khuẩn không phát triển được nhưng có thể còn sống; còn ở nhiệt độ cao hoặc rất cao thì vi khuẩn bị tiêu diệt.

- Nhiệt độ thấp: Ở nhiệt độ thấp các phản ứng chuyển hóa của vi khuẩn bị giảm đi, có thể bị ngừng lại. Một số vi sinh vật bị chết nhưng đa số vẫn sống trong thời gian dài. Lúc làm đông băng vi sinh vật thì một số bị chết, nhưng nếu làm đông băng rất nhanh thì số vi sinh vật sống sót nhiều hơn. Người ta sử dụng đặc điểm này để bảo quản các chủng vi khuẩn ở nhiệt độ thấp.

- Nhiệt độ cao: Nhiệt độ cao có khả năng giết chết vi khuẩn. Sức đề kháng của vi khuẩn với nhiệt độ cao tùy từng chủng loại và tùy theo ở trạng thái sinh trưởng hay ở trạng thái nha bào. Đa số các vi khuẩn ở trạng thái sinh trưởng ở nhiệt độ 56-60°C trong 30 phút là chết và ở 100°C thì chết ngay. Tế bào nha bào chịu được nhiệt độ cao hơn và lâu hơn ở 121°C trong 15-30 phút ở nồi hấp mới chết hoặc ở 170°C trong 30 phút - 1 giờ ở nhiệt độ khô mới bị tiêu diệt.

- Cơ chế tác dụng của nhiệt độ cao đối với vi khuẩn:

- + Protein bị đông đặc

- + Enzyme bị phá hủy

- + Tổn thương màng nguyên tương làm thay đổi tính thẩm thấu.
- + Phá hủy cân bằng lý - hóa trong tế bào do tăng tốc độ phản ứng sinh vật hóa học.
- + Giải phóng axit nucleic

7. Bức xạ

- Ánh sáng mặt trời: ánh sáng mặt trời do có tia cực tím có bước sóng từ 200-300 nm, nhất là 253,7nm, có tác dụng sát khuẩn.
- Tia Ronghen: có hiệu ứng diệt khuẩn và gây đột biến đối với vi sinh vật
- Nguyên tố phóng xạ: tạo ra các bức xạ α , β và γ trong đó tia α , β có tác dụng diệt khuẩn hay ức chế vi khuẩn phát triển. Còn tia γ ít có tác dụng.

Cơ chế tác dụng của bức xạ: Do nguyên tương của vi khuẩn có thành phần cấu tạo bằng các phân tử rất phức tạp, các phân tử này có khả năng hấp thụ một cách chọn lọc những tia bức xạ có bước sóng khác nhau. Thí dụ như axit nucleic của vi khuẩn có khả năng hấp thụ tia bức xạ dài 253,7nm, lúc đó quá trình sao chép của DNA bị biến đổi hoặc bị ức chế hoặc DNA bị phá hủy không thuận nghịch làm vi khuẩn chết.

8. Siêu âm

Khi những tần số của chấn động vượt quá 20.000 lần/1 phút thì gọi là siêu âm (do tai ta không nghe được nữa). Siêu âm có khả năng giết chết vi khuẩn do những chấn động có tần số cao phát sinh ra áp suất co giãn cao làm cho tế bào vi khuẩn bị xé tan; cũng có thể nước trong tế bào vi khuẩn dưới tác dụng của siêu âm phát sinh ra H_2O_2 có tác dụng giết chết vi khuẩn; siêu âm cũng có thể phá hủy hệ thống keo làm cho chất keo đông lại.

9. Tia laser

Tia laser do năng lượng cao và tập trung nên trong một thời gian cực kỳ ngắn có thể làm cho vật chất nóng chảy và bay hơi, có thể tăng nhiệt độ, áp suất tại chỗ lên rất cao nên cũng có tác dụng giết chết vi khuẩn.

II. CÁC NHÂN TỐ HÓA HỌC

Các hóa chất ở trong môi trường có ảnh hưởng hoặc kích thích hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Các hóa chất có tác dụng kích thích sự phát triển vi khuẩn được ứng dụng ở trong nuôi cấy vi khuẩn... Các hóa chất có tác dụng ức chế hoặc tiêu diệt vi khuẩn được sử dụng làm chất tẩy uế, chất khử khuẩn hoặc sát khuẩn tùy theo mục đích sử dụng và nồng độ sử dụng.

1. Chất tẩy uế, chất khử khuẩn

- Chất tẩy uế là những hóa chất có khả năng giết chết các vi khuẩn gây bệnh và vi sinh vật khác, còn đối với nha bào thì tác dụng giết khuẩn một phần. Chất tẩy uế sử dụng trên bề mặt các đồ dùng, các dụng cụ y tế, các chất thải của bệnh viện...

- Chất khử khuẩn là những hóa chất có tác dụng ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn, chất này chỉ có tác dụng giết chết vi khuẩn một phần nhưng có tác dụng ức chế vi khuẩn rất mạnh. Chất khử khuẩn có thể dùng để vô khuẩn vết mổ, nơi tiêm chích... Thực ra chất tẩy uế và khử khuẩn chỉ khác nhau về nồng độ khi sử dụng. Ví dụ: phenol ở nồng độ 2-5% thì dùng để tẩy uế, còn khi ở nồng độ thấp hơn 100 -1000 lần thì dùng làm chất khử khuẩn.

- Chỉ số phenol là tỉ lệ giữa nồng độ tối thiểu của chất tẩy uế có tác dụng diệt khuẩn và nồng độ tối thiểu của phenol khi sử dụng đối với một chủng vi khuẩn nhất định. Chỉ số này được dùng làm đơn vị đánh giá tác dụng diệt khuẩn của một hóa chất.

2. Các nhân tố hóa học ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn

2.1. Axit và bazơ

Axit và bazơ có khả năng phân li thành ion H^+ và OH^- rất mạnh, làm cho pH của môi trường thay đổi và có tác dụng diệt khuẩn hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn.

2.2. Các muối kim loại

Khi hòa tan vào trong nước thì muối của nhiều kim loại nặng có khả năng phân li thành ion và có tác dụng diệt khuẩn, khả năng diệt khuẩn của các muối kim loại nặng có thể do sự kết hợp của các ion kim loại với những nhóm $-SH$ của protein tế bào. Hoạt tính diệt khuẩn theo thứ tự Hg, Ag, Cu, Zn . Ví dụ :

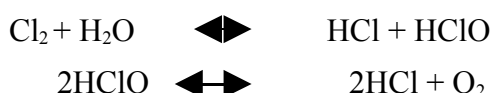
- Muối thủy ngân: được dùng nhiều nhất để tẩy uế như sublimê ($HgCl_2$),...
- Muối bạc: có tác dụng sát khuẩn như nitrat bạc (dung dịch argyrol).
- Muối đồng: sunphát đồng dùng để chữa bệnh nấm ngoài da.
- Muối vàng: được dùng để điều trị các bệnh do vi khuẩn kháng cồn- axit dưới dạng muối thiosunphát.

2.3. Nhóm Halogen

Tác dụng diệt khuẩn do phản ứng oxy hoá và halogen hoá các chất hữu cơ. Phản ứng oxy hoá xảy ra nhanh và không thuận nghịch, còn halogen hoá thì chậm hơn và không mạnh bằng. Những phản ứng này xảy ra với nhiều chất hữu cơ khác nhau, do đó sẽ làm giảm hoạt tính diệt khuẩn trong những dung dịch có nhiều chất bản hữu cơ hay các chất oxy hoá và halogen hoá khác, nhất là amoniac.

+ Iốt: Cồn iốt (7% I, 3% KI...) thường được sử dụng để sát trùng da, có chỉ số phenol cao.

+ Clo: thường được dùng ở dạng khí nguyên chất và dạng hợp chất hữu cơ hay vô cơ. Clo dùng để khử khuẩn nước sinh hoạt, nước bể bơi.



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

Chlorua vôi thường được sử dụng nhất để khử trùng chất nôn, chất thải và dụng cụ thô hoặc rắc hồ xí. Chloramin tinh khiết 1% trong nước có khả năng khử trùng bàn tay bằng cách ngâm 5 phút trong dung dịch này và có thể khử khuẩn dụng cụ bằng cách ngâm 20 phút.

2.4. Phenol

Là một chất tẩy uế tốt được sử dụng từ rất sớm. Tuy nhiên phenol độc với da, niêm mạc và gây độc thần kinh.

- Nồng độ: khoảng 1% có thể giết chết vi khuẩn ở trạng thái sinh trưởng
- Nồng độ 5% có thể giết chết vi khuẩn ở trạng thái nha bào.

2.5. Cồn

Rượu ethylic có tác dụng sát trùng da. Tác dụng diệt khuẩn tùy theo nồng độ, cao nhất là dung dịch ethanol 70% và nồng độ thấp hơn thì tác dụng diệt khuẩn giảm. Cồn tuyệt đối thì tác dụng diệt khuẩn kém. Ngoài dung dịch ethanol, dung dịch isopropanol 70% cũng thường được sử dụng.

2.6. Andehyt (các tác nhân ankyl hóa)

Rất độc đối với tế bào vi khuẩn. Formol là chất diệt khuẩn mạnh nhất của nhóm này, nó được sử dụng để phá hủy hiệu lực của độc tố hoặc của virus mà không phá hủy khả năng sinh kháng, có thể sử dụng để tẩy uế các phòng bệnh, quần áo, chăn màn...

2.7. Các chất oxy hoá khác và các thuốc nhuộm:

H_2O_2 , $KMnO_4$, thuốc nhuộm thường pha thành dung dịch lỏng dùng làm chất sát khuẩn. Thuốc nhuộm thường được dùng để ức chế sự phát triển của tập khuẩn trong các môi trường chọn lọc.

2.8. Các tác nhân có hoạt tính bề mặt

Những hợp chất này được gọi là thuốc tẩy tổng hợp. Diệt khuẩn mạnh mẽ nhất là những thuốc tẩy cation trong đó hiệu quả hơn cả là những hợp chất amonium bậc 4 như benzalkonium chlorua. Những hợp chất này được sử dụng rộng rãi để khử khuẩn. Chúng tác động bằng cách làm tan màng tế bào vi khuẩn do hòa tan màng lipid che chở vi khuẩn và làm biến thể protein.

3. Cơ chế tác động của các hóa chất đối với tế bào vi khuẩn.

- Phá hủy màng tế bào: do ion hóa, thay đổi sức căng bề mặt, làm tan màng lipid che chở vi khuẩn...

- Biến đổi chức năng của protein và các axit nucleic...

- Tác động hóa học làm giải phóng oxy phân tử, clo... có tác dụng giết chết vi khuẩn.

4. Các yếu tố ảnh hưởng đến tác dụng của các chất tẩy uế và sát khuẩn.

- Nồng độ của hóa chất: nồng độ càng cao thì tác dụng càng mạnh.

- Thời gian tiếp xúc: tiếp xúc càng lâu thì tác dụng càng mạnh.

- Nhiệt độ

- Thành phần của môi trường xung quanh: do các chất hữu cơ có tác dụng bảo vệ vi khuẩn hoặc tác dụng với hóa chất làm giảm hiệu lực.

- Mật độ vi sinh vật tại nơi khử trùng

- Khả năng đề kháng của vi sinh vật (virus có lớp vỏ lipid sẽ nhạy cảm với chất hoà tan lipid như cồn, phenol hơn là những virus không có vỏ).

III. NHÂN TỐ SINH VẬT

Trong quá trình tồn tại của vi sinh vật nếu chúng phải sống trong điều kiện có vi sinh vật khác thì chúng có thể bị cạnh tranh sinh tồn, bị tiêu diệt hoặc song song tồn tại.

1. Chất đối kháng (Bacterioxin)

Nhiều loại vi khuẩn khi phát triển thì tổng hợp các chất đối kháng có tác dụng ức chế các vi khuẩn cùng loài hoặc các loài lân cận. Ví dụ : Colixin của *E.coli*, Staphylococxin của *Tụ cầu*... Chúng có bản chất protein hoặc phức hợp glucit-lipit-protein, có tác động đặc hiệu với các vi khuẩn nhạy cảm.

2. Phage

Là virus của vi khuẩn, phage xâm nhập các vi khuẩn đặc hiệu, nhân lên và phá vỡ tế bào vi khuẩn. Phage cũng có thể cùng tồn tại và nhân lên với vi khuẩn ở trạng thái ôn hòa.

3. Interferon

Là chất do tế bào sản sinh ra khi bị virus xâm nhập, có bản chất glycoprotein, có tác dụng ức chế sự nhân lên của virus.

4. Chất kích thích

Một số vi khuẩn khi phát triển sản sinh ra một chất làm thuận lợi cho vi khuẩn khác phát triển. Ví dụ như *Hemophilus* mọc tốt xung quanh khuẩn lạc Tụ cầu (do Tụ cầu sinh ra yếu tố V cần thiết cho *Hemophilus* phát triển) ...

TIỆT TRÙNG - KHỬ TRÙNG VÀ KHÁNG SINH

Mục tiêu học tập

1. Nêu được các phương pháp tiệt trùng và khử trùng trong phòng thí nghiệm.
2. Trình bày được định nghĩa kháng sinh, các cơ chế tác dụng của kháng sinh.
3. Kể được các nhóm thuốc kháng sinh và hiệu quả của chúng với các nhóm vi khuẩn chính.
4. Mô tả được các cơ chế đề kháng của vi khuẩn với kháng sinh, nguồn gốc của sự đề kháng, cách theo dõi sự đề kháng và mục đích của phối hợp kháng sinh trong điều trị bệnh nhiễm trùng

I. TIỆT TRÙNG VÀ KHỬ TRÙNG

1. Tiệt trùng

Tiệt trùng là sự loại bỏ tất cả vi sinh vật sống (gồm thể dinh dưỡng và nha bào của chúng) bằng nhiệt độ, bằng tia bức xạ, bằng các hóa chất hoặc bằng các biện pháp cơ học. Tiệt trùng là công việc cần thiết trong y học nhằm giết chết các vi sinh vật sinh bệnh khỏi dụng cụ y tế, sinh vật phẩm, dược phẩm... Trong phòng thí nghiệm vi sinh vật, tiệt trùng là biện pháp không thể thiếu được cho việc phân lập, nuôi cấy và lưu giữ các vi khuẩn thuần khiết. Người ta dùng nhiều phương pháp tiệt trùng khác nhau trong phòng thí nghiệm vi sinh học.

- Các phương pháp tiệt trùng bằng dùng nhiệt như đốt nóng trên ngọn lửa, dùng lò sấy khô 160-170°C, dùng nhiệt ẩm trong nồi áp suất, hoặc chưng cách thủy ngắt quãng kiểu Tyndal .

- Tiệt trùng bằng các tia bức xạ: các tia bức xạ cực tím, tia gamma, tia beta có tác dụng giết chết vi sinh vật, được dùng để tiệt trùng dụng cụ, chế phẩm sinh học...

- Tiệt trùng bằng cơ học dùng các máy lọc, vi khuẩn sẽ bị giữ lại phía trên máy lọc. Phương pháp này dùng để tiệt trùng các môi trường nuôi cấy vi khuẩn.

2. Khử trùng (hay khử khuẩn)

Thuật ngữ này dùng cho các tác nhân vật lý, và thường là hóa học có khả năng giết chết vi sinh vật sống trên các đồ dùng, dụng cụ thí nghiệm, phòng thí nghiệm, phòng bệnh ...

Tác nhân vật lý như tia cực tím được dùng để khử trùng phòng mổ, phòng nuôi cấy vi khuẩn .

Nhiều hóa chất đặc biệt được dùng cho mục đích khử trùng phòng làm việc, phòng thí nghiệm, khử trùng các đồ dùng, dụng cụ thí nghiệm như xà phòng, phenol, các hợp chất halogen, các muối kim loại, cồn...

Thuật ngữ sát khuẩn (antiseptic) được sử dụng cho các hóa chất dùng để giết chết vi sinh vật trên bề mặt của cơ thể con người hoặc động vật mà không làm tổn thương tổ chức của cơ thể. Các hóa chất này ít độc với cơ thể và thường ở nồng độ thấp. Như vậy một hóa chất có thể sử dụng làm dung dịch khử khuẩn hoặc sử dụng để sát khuẩn phụ thuộc vào mục đích sử dụng và nồng độ chất sử dụng ví dụ phenol khi ở nồng độ 2-5% được dùng như chất khử trùng, còn khi ở nồng độ thấp hơn 100 đến 1000 lần được dùng làm chất sát khuẩn .

II. CÁC CHẤT KHÁNG SINH

1. Định nghĩa

Thuật ngữ kháng sinh theo định nghĩa ban đầu là những tác nhân kháng khuẩn có nguồn gốc từ vi sinh vật, chúng có tác dụng chống vi khuẩn hữu hiệu ở nồng độ rất thấp. Lúc đầu các kháng sinh đều chiết từ môi trường nuôi cấy nấm mốc hoặc vi khuẩn, sau đó nhiều

kháng sinh được bán tổng hợp bằng cách biến đổi cấu trúc phân tử của kháng sinh để thu được kháng sinh mới.

Hiện nay kháng sinh được xem như là những hợp chất hóa học có tác dụng cản khuẩn hoặc diệt khuẩn với cơ chế tác động ở mức phân tử, hữu hiệu ở liều lượng thấp và có thể sử dụng để điều trị bệnh nhiễm trùng.

Các kháng sinh có tác dụng đặc hiệu đối với một loại vi khuẩn hoặc một nhóm vi khuẩn nhất định. Các kháng sinh có hoạt tính khác nhau, có loại có phổ kháng khuẩn rộng, có loại có phổ kháng khuẩn hẹp.

2. Cơ chế tác dụng của kháng sinh

2.1. Ức chế tổng hợp vách tế bào

Khác với tế bào động vật, vi khuẩn có vách tế bào. Loại bỏ vách hoặc ngăn cản sự tạo thành vách đều làm tan tế bào vi khuẩn. Vách tế bào vi khuẩn chứa mucopeptit còn gọi là murein hay peptidoglycan. Các penicilline và cephalosporin tác động lên các phân tử protein chọn lọc đặc hiệu nên ức chế sự liên kết ngang cuối cùng của cấu trúc mucopeptit của vách tế bào, vi khuẩn dễ dàng bị tan.

Các kháng sinh khác như bacitracin, vancomycin, novobiocin, D-cycloserin cũng ức chế sự tạo vách của vi khuẩn bằng ức chế sự hình thành mucopeptit của vách.

2.2. Ức chế chức năng của màng nguyên tương

Màng nguyên tương hoạt động như một màng bán thấm. Màng này thẩm thấu các chất chọn lọc và nhờ vậy kiểm soát được các thành phần bên trong của các tế bào. Nếu sự toàn vẹn của màng nguyên tương bị phá vỡ thì các thành phần nội bào thoát ra khỏi tế bào và tế bào chết. Màng tế bào của một số vi khuẩn và nấm dễ bị phá vỡ bởi một số thuốc kháng sinh hơn tế bào động vật do hoạt tính tác dụng chọn lọc của các kháng sinh này lên các nhóm cấu trúc hóa học đặc biệt có ở màng của vi khuẩn hoặc của nấm mà không có ở tế bào động vật. Polymycin có tác động ở màng nguyên tương của vi khuẩn gram âm, polyen có tác động ở màng nguyên tương của nấm.

2.3. Ức chế tổng hợp protein

Nhiều thuốc kháng sinh ức chế tổng hợp protein của vi khuẩn:

2.3.1. Chloramphenicol: chloramphenicol và các dẫn chất thuộc nhóm này ngăn cản sự kết hợp axit amin vào chuỗi peptit mới sinh ở đơn vị 50S của ribosome vi khuẩn qua việc cản trở tác động của enzyme peptidyl-transferaza.

2.3.2. Các tetracyclin: tetracyclin và các thuốc kháng sinh nhóm này ức chế sự tổng hợp protein của vi khuẩn bằng cách ngăn cản sự gắn liền của amino acyl-RNA vận chuyển vào đơn vị 30S của ribosome.

2.3.3. Các macrolid và lincomycin: Các kháng sinh nhóm này ngăn cản sự tổng hợp protein bằng cạnh tranh vị trí kết hợp của axit amin ở ribosome và bằng cách phong bế phản ứng dây chuyền aminoacyl.

2.3.4. Các aminoglycoside: các thuốc kháng sinh nhóm aminoglycoside ức chế tổng hợp protein bằng cách gắn vào protein tiếp nhận trên đơn vị 30S của ribosome làm đọc sai thông tin của RNA thông tin làm hình thành các protein không có hoạt tính, ngoài ra còn làm tách các ribosome ở trạng thái polymer thành monomer

2. 4. Tác dụng ức chế sự hình thành acid nucleic

2.4.1. Các sulfonamid và trimethoprim: Đối với nhiều vi sinh vật, axit para-aminobenzoic (viết tắt là PABA) là một chất chuyển hóa cần thiết trong quá trình tổng hợp axit folic cần thiết để tổng hợp purin và DNA. Sulfonamid do có cấu trúc tương tự như PABA nên có thể đi vào phản ứng thay cho PABA, hậu quả là một chất tương tự như axit folic nhưng không có hoạt tính được tạo thành và ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn.

Trimethoprim ức chế enzyme dihydro folic reductase, enzyme này biến đổi axit dihydro folic thành axit tetrahydro folic, một giai đoạn trong chuỗi phản ứng tổng hợp purin và DNA.

Sự phối hợp một trong các sulfonamid với trimethoprim, hai chất tác động ở hai khâu khác nhau của một quá trình tổng hợp làm tăng rõ hoạt tính của thuốc, cotrimoxazol (sulfamethoxazol và trimethoprim) là chế phẩm phối hợp sử dụng hiệu quả trong điều trị các bệnh nhiễm trùng

2.4.2. Rifampin: Rifampin và các dẫn chất kết hợp với RNA polymerase phụ thuộc DNA và như thế ức chế sự tổng hợp RNA ở vi khuẩn.

2.4.3. Các quinolone: Các quinolon và cacboxy fluoroquinolon kết hợp vào DNA gyrase nên ức chế tổng hợp DNA.

3. Các nhóm thuốc kháng sinh

3.1. Sulfonamid

Là những hợp chất thay thế nhóm amit (SO_2NH_2) hoặc nhóm amin (NH_2) của axit sulfanilamic.

Sulfonamid có tác dụng cản khuẩn đối với vi khuẩn gram âm và vi khuẩn gram dương. Chúng ức chế nhiều vi khuẩn gram dương và vi khuẩn đường ruột bao gồm *E.coli*, *Klebsiella* và *Proteus*.

Các sulfonamid được sử dụng rộng rãi như sulfaguanidin, sulfadiazim, sulfisoxazol, sulfamethoxazol, sulfadimethoxin....

Trở ngại chính của các thuốc nhóm sulfamid là vi khuẩn trở nên đề kháng với thuốc nhanh chóng, thêm vào đó nhiều sulfamid có thể gây phản ứng phụ nghiêm trọng. Nên hiện nay các thuốc nhóm sulfamid chỉ được dùng hạn chế.

Chế phẩm sulfamid đang được dùng rộng rãi hiện nay là cotrimoxazol là phối hợp của sulfamethoxazol và trimethoprim. Thuốc này được dùng trong điều trị các nhiễm trùng đường tiêu hóa, hô hấp và tiết niệu. Dạng phối hợp khác là fansidar bao gồm sulfadoxin và pyrimethamin có hiệu quả trong điều trị sốt rét, ít hiệu quả đối với bệnh nhiễm trùng.

3.2. Các beta- lactamin

Các thuốc này trong công thức hóa học có chứa vòng beta-lactam bao gồm các penicillin và các cephalosporin.

3.2.1 Các penicillin

Các penicillin có nhân chung là axit 6 amino-penicillanic hợp bởi một vòng thiazolidin và một vòng β -lactam các penicillin này khác với penicillin khác ở chỗ gốc R gắn vào nhân chung.

Các penicillin dùng trong điều trị thuộc 3 nhóm chính :

- Các penicillin có hoạt tính cao đối với vi khuẩn gram dương, bị phá hủy bởi enzyme penicillinase: penicillin G, penicillin V (phenoxy methylpenicillin), benzathin penicillin.

- Các penicillin có hoạt tính đối với vi khuẩn gram dương, đề kháng đối với enzyme penicillinase: methicillin, nafcillin, oxacillin, dicloxacillin .

- Các penicillin có hoạt tính rộng đối với cả vi khuẩn gram dương và vi khuẩn gram âm, bị phá hủy bởi enzyme penicillinase. Các penicillin nhóm này bao gồm:

- + Các aminopenicillin: ampicillin, amoxicillin, bacampicillin, metampicillin.

- + Các carboxy penicillin: carbenicillin, ticarcillin.

- + Các ureidopenicillin: azlocillin, mezlocillin, piperacillin.

Ngoài 3 nhóm chính trên hiện nay người ta còn có các penicillin phối hợp trong đó người ta kết hợp các penicillin khác nhau với những chất ức chế enzyme β lactamase dùng để điều trị các nhiễm trùng do vi khuẩn đề kháng sản xuất enzyme β lactamase. Hai chất ức chế enzyme này được dùng để phối hợp với các penicillin là axit clavulanic và sulbactam: các thuốc của sự kết hợp này như: timentin gồm ticarcillin và axit lavulanic, augmentin (amoxicillin và a.clavulanic), unasyn (ampicillin & sulbactam).

3.2.2 Các cephalosporin

Các cephalosporin có một nhân chung là axit faminocephalo-sporanic hình thành bởi một vòng β lactam kết hợp với một vòng dihydrotiazin thay thế hydro của nhóm amin bằng các gốc R khác nhau thì thu được các cephalosporin bán tổng hợp.

Các cephalosporin có hoạt tính với cả vi khuẩn gram dương và với cả vi khuẩn gram âm.

Dựa vào tính kháng khuẩn các cephalosporin được chia các thế hệ:

- Các cephalosporin thế hệ thứ nhất:

Bao gồm cephalothin, cephazolin, cephalin, cefaclor. Các thuốc này có hoạt tính đối với tụ cầu liên cầu A, phế cầu, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*..

- Cephalosporin thế hệ thứ hai:

Các thuốc nhóm này có hoạt tính tốt hơn các thuốc cephalosporin thế hệ thứ nhất chống lại *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *H.influenzae*, *N.gonorrhoe*, *N. meningitidis*. Các thuốc nhóm này gồm: cefamandol, cefuroxime, cefonicid, cefoxitin...

- Cephalosporin thế hệ thứ ba:

Có phổ tác dụng kháng khuẩn bao trùm toàn bộ vi khuẩn đường tiêu hóa, tuy nhiên có tác dụng kém với vi khuẩn gram dương, thuốc nhóm này có thể chia 02 nhóm, nhóm có tác dụng chống *Pseudomonas aeruginosa* gồm ceftazidime và cefoperazone, và các nhóm không có tác dụng chống *P. aeruginosa* bao gồm cefotaxim, ceftazidime, ceftizoxime, moxalactam. Nhiều thuốc nhóm này thâm vào màng não tốt nên được dùng để điều trị viêm màng não do vi khuẩn gram âm.

3.2.3. Monobactam và Carbapenem:

Hai nhóm thuốc này khác với các beta-lactam về cấu tạo hóa học nhưng cơ chế tác dụng là ức chế tổng hợp vách tương tự như cách tác dụng của các beta lactam, aztreonam là thuốc thuộc nhóm monobactam có sẵn hiện nay, phổ kháng khuẩn giới hạn trên vi khuẩn gram âm tương tự như các aminoglycoside.

Imipenem là kháng sinh carbapenem có sẵn hiện nay, phổ kháng khuẩn của thuốc này được xem là rộng nhất trong các thuốc kháng sinh hiện nay bao trùm lên các vi khuẩn gram dương gồm cả liên cầu D, có tác dụng chống lại hầu hết các vi khuẩn gram âm kể cả *P.aeruginosa*, và có tác dụng chống lại vi khuẩn kỵ khí.

3.3. Các kháng sinh aminoglycoside

Gồm streptomycin, neomycin, gentamycin, tobramycin, amikacin, kanamycin

Các kháng sinh nhóm này có tác dụng diệt khuẩn bao gồm cả vi khuẩn gram dương và nhiều vi khuẩn gram âm. gentamycin, tobramycin, neomycin có tác dụng chống *P.aeruginosa*, trái lại streptomycin có tác dụng với vi khuẩn lao nên là thuốc dành riêng để điều trị lao.

3. 4. Các thuốc tetracyclin

Có công thức hóa học tương tự nhau. Các thuốc khác nhau chỉ ở các gốc R khác nhau.

Các thuốc này bao gồm tetracyclin, chlortetracyclin, oxytetracyclin, doxycyclin, minocyclin, thuốc nhóm này có tác dụng cản khuẩn với vi khuẩn gram dương và gram âm, các tetracyclin có hiệu quả với *Rickettsia*, *Chlamydia*, *Mycoplasma pneumoniae* và *Leptospira*.

3. 5. Chloramphenicol

Lúc đầu chiết xuất từ *Streptomyces venezuelae* nhưng hiện nay được tổng hợp. Thuốc này có tác dụng cản khuẩn và phổ kháng khuẩn rộng. Nó có hiệu quả trong bệnh thương hàn và các nhiễm trùng do *Rickettsia*.

3. 6. Macrolit và các thuốc tương tự

Các thuốc kháng sinh macrolit gồm erythromycin, oleandomycin, spiramycin. Các kháng sinh thuộc nhóm này có tác dụng cản khuẩn, chúng tác dụng tốt trên vi khuẩn gram dương, một số vi khuẩn gram âm như phẩy khuẩn tả. Erythromycin là thuốc an toàn nên được

dùng làm thuốc thay thế penicillin trong các nhiễm trùng do vi khuẩn gram dương ở bệnh nhân dị ứng với penicillin. Lincomycin và clindamycin có cơ chế tác dụng và hoạt phổ tương tự như erythromycin.

3.7. Polypeptid

Kháng sinh nhóm polypeptid chủ yếu là polymycin, phổ tác dụng chủ yếu diệt khuẩn với vi khuẩn gram âm kể cả *Pseudomonas*. Polymycin độc với thần kinh và thận, hiện nay ít được dùng đường toàn thân để điều trị các nhiễm trùng gram âm. Các thuốc có polymycin thường được dùng để điều trị nhiễm trùng tại chỗ.

3.8. Rifamycin

Là kháng sinh chiết suất từ *Streptomyces mediterranei*, chất dẫn xuất bán tổng hợp là rifampin, hai thuốc này có hoạt phổ đối với một số vi khuẩn gram âm và gram dương, vi khuẩn đường ruột, vi khuẩn kháng acid cồn. Rifamycin do vậy là thuốc sử dụng chủ yếu để điều trị bệnh lao hiện nay.

3.9. Các quinolon và cacboxy - fluoroquinolon

Hợp chất quinolon tổng hợp đầu tiên là axit nalidixic chủ yếu dùng để điều trị nhiễm trùng đường tiết niệu. Các cacboxy-fluoroquinolon là các dẫn chất từ axit nalidixic, các thuốc này có tác dụng diệt khuẩn đối nhiều vi khuẩn gram dương và vi khuẩn gram âm kể cả tụ cầu đề kháng với methicillin và *P.aeruginosa*, chúng còn có tác dụng chống *Mycoplasma* và *Chlamydia*. Các fluoroquinolon được sử dụng trong nhiều nhiễm trùng các cơ quan. Một số fluoroquinolon thường dùng hiện nay gồm ciprofloxacin, enoxacin, norfloxacin, pefloxacin.

4. Sự đề kháng của vi khuẩn với thuốc kháng sinh

4.1. Cơ chế kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn

Nhiều cơ chế kháng thuốc kháng sinh của vi khuẩn đã được khảo sát. Ở những chủng vi khuẩn khác nhau, sự đề kháng với một loại kháng sinh có thể do một hoặc nhiều cơ chế khác nhau.

4.1.1. Tăng sự phá hủy thuốc do enzyme

Đây là cơ chế đề kháng thông thường qua trung gian của plasmid. Ví dụ điển hình là enzyme beta lactamase gây nên sự đề kháng với các kháng sinh beta lactamin. Các vi khuẩn sản xuất enzyme penicillinase thì đề kháng với các penicillin, các vi khuẩn tạo được enzyme cephalosporinase thì đề kháng với các cephalosporin, các aminoglycoside bị bất hoạt bởi các enzyme phosphorylase, adenylase, acetylase. Chloramphenicol bị bất hoạt bởi acetylase.

4.1.2. Sự biến đổi receptor của thuốc

Đây là cơ chế quan trọng. Sự biến đổi protein đặc hiệu với thuốc ở ribosome làm vi khuẩn trở nên đề kháng đối với thuốc kháng sinh như sự đề kháng với các thuốc nhóm aminoglycoside, erythromycin, đề kháng với rifampin trên cơ sở thay đổi một amino axit trên tiểu đơn vị beta của enzyme RNA polymerase phụ thuộc DNA làm thay đổi sự gắn vào enzyme này của rifampin. Sự đề kháng của sulfonamid và trimethoprim cũng tương tự do sự biến đổi của phân tử enzyme nên sulfamid không được nhận vào phản ứng để tổng hợp acid folic.

4.1.3. Giảm tính thấm ở màng nguyên tương

Tính chất này do sự mất hoặc thay đổi hệ thống vận chuyển ở màng nguyên tương. Sự đề kháng này gặp ở các kháng sinh như các beta lactamin, chloramphenicol, quinolon, tetracyclin và trimethoprim. Ngoài ra rào cản thẩm thấu bình thường của màng nguyên tương cũng chịu trách nhiệm cho sự đề kháng tự nhiên của nhiều thuốc.

4.1.4. Tăng sự tạo thành một enzyme

Cơ chế này có thể liên quan đến sự sản xuất gia tăng số lượng enzyme ức chế như đã được thấy ở một số vi khuẩn mang plasmid kháng thuốc hoặc liên hệ đến sự tạo thành một enzyme mới có ái lực mạnh hơn với một cơ chất khác so với thuốc như trong trường hợp đề kháng với sulfonamid.

4.2. Nguồn gốc của tính kháng thuốc

Kháng thuốc kháng sinh ở vi khuẩn chủ yếu do sự hình thành những gen kháng thuốc ở nhiễm sắc thể hoặc ở plasmid tuy nhiên ở một vài trạng thái sinh lý đặc biệt vi khuẩn trở thành đề kháng với thuốc kháng sinh. Các vi khuẩn ở trạng thái ngủ nghỉ là không nhân lên có thể không chịu tác động của thuốc như vi khuẩn lao. hình thức mất vách của một số tế bào vi khuẩn (dạng L) sẽ không bị ảnh hưởng bởi các thuốc ức chế tạo thành vách như penicillin sau thời gian dùng thuốc các vi khuẩn này có thể lấy lại cấu trúc nguyên vẹn.

4.2.1. Kháng thuốc do đột biến nhiễm sắc thể

Một quần thể vi khuẩn có thể chứa những biến chủng ít nhạy cảm hơn với một thứ thuốc. Sự hiện diện của thuốc kháng sinh như thể chỉ chọn lọc cho phép các chủng ít nhạy cảm hơn sống sót. Như vậy vai trò của thuốc chỉ như một yếu tố chọn lọc chứ không có vai trò gây nên sự đột biến kháng thuốc. Một khi có sự hiện diện của biến chủng vi khuẩn kháng thuốc thì biến chủng này có thể truyền tính kháng thuốc này đến những vi khuẩn khác bằng nhiều cơ chế khác nhau: Chuyển thể, chuyển nạp, giao phối.

4.2.2. Kháng thuốc qua plasmid

Plasmid là một phân tử DNA tự sao chép nhỏ hiện diện trong nguyên tương nhiều vi khuẩn. Phân tử DNA nhỏ này thường mang các gen kháng thuốc (resistance) nên gọi là R plasmid. Các plasmid của vi khuẩn thường còn mang trên nó các gen cho phép chúng gắn vào bề mặt niêm mạc, tạo ra độc tố, và xâm nhập, các plasmid kháng thuốc này có thể truyền cho nhau giữa các vi khuẩn làm lan nhanh sự đề kháng.

4.2.3. Các cơ chế làm lan truyền tính kháng thuốc

Như đã nêu ở trên một khi xuất hiện biến chủng mang gen đề kháng thuốc ở nhiễm sắc thể hoặc ở plasmid, các biến chủng này có thể lan truyền nhanh tính đề kháng cho vi khuẩn khác bằng 3 cơ chế trao đổi vật liệu di truyền sau :

- Biến nạp.
- Tải nạp do bacteriophage.
- Tiếp hợp.

Các phương tiện làm lây lan nhanh tính kháng thuốc:

- Plasmid: thêm vào các gen kháng thuốc, trên các plasmid còn mang các gen thúc đẩy sự trao đổi gen giữa các vi khuẩn.

- Do transposon: đây là những gen có khả năng di chuyển. Các transposon có mang những gen kháng kháng sinh có thể nhảy từ plasmid này đến một plasmid khác hoặc từ plasmid qua nhiễm sắc thể. Một số transposon kháng thuốc tìm thấy ở vi khuẩn Gram âm còn mang gen thúc đẩy sự lây truyền.

- Do các integron đây là vector có thể mang gen kháng kháng sinh, integron có thể chèn vào các vị trí nhất định trên nhiễm sắc thể

4.2.4. Xác định độ nhạy cảm của vi khuẩn với kháng sinh

Hiện nay nhiều vi khuẩn đề kháng với kháng sinh đã gây nên nhiều vụ dịch nhiễm trùng nặng, điều này dẫn đến nhu cầu cần có những chương trình theo dõi tính kháng thuốc của vi khuẩn trên phạm vi quốc gia và quốc tế. Khảo sát về dịch tễ học tính kháng thuốc của vi khuẩn giúp cho các thầy thuốc lâm sàng chọn thuốc kháng sinh thích hợp để điều trị bệnh nhiễm trùng. Xác định độ nhạy cảm của vi khuẩn với thuốc kháng sinh bằng những phương pháp phòng thí nghiệm tin cậy và thống nhất để có các dữ kiện có thể so sánh được. Thử nghiệm độ nhạy cảm của vi khuẩn trong phòng thí nghiệm, còn gọi là kháng sinh đồ, có thể được thực hiện bằng phương pháp hòa loãng hoặc bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường đặc. Khi thực hiện kháng sinh đồ vi khuẩn cần phải được nuôi cấy thuần khiết, đa số vi khuẩn gây bệnh ở người khi phân lập cần 16-18 giờ mới phát triển, nếu bệnh phẩm chỉ thuần một loại vi khuẩn thì cần thêm 16-18 giờ nữa để làm kháng sinh đồ, như vậy kết quả kháng sinh đồ sớm nhất cũng mất 36 - 48 giờ, trong trường hợp bệnh phẩm nhiều vi khuẩn, hoặc nhiều vi khuẩn phát triển chậm cần thời gian lâu hơn. Đối với một số vi khuẩn mà tính kháng

sinh ổn định và rõ ràng thì không cần thiết phải làm kháng sinh đồ như vi khuẩn bạch hầu, liên cầu A tan máu β . Tính chất đề kháng kháng sinh của vi khuẩn có tính chất dịch tễ, do vậy kết quả kháng sinh đồ của các vi khuẩn gây bệnh có thể khác nhau giữa bệnh viện này và bệnh viện khác và những vùng khác nhau, ngay cả trong cùng một bệnh viện độ nhạy cảm của vi khuẩn cũng thay đổi hàng ngày. Vì vậy các phòng thí nghiệm vi khuẩn ở bệnh viện cần làm kháng sinh đồ để chọn kháng sinh thích hợp trong điều trị bệnh nhiễm trùng.

4.2.5. Phối hợp kháng sinh

Phối hợp kháng sinh để điều trị bệnh nhiễm trùng nhằm một số mục tiêu sau :

- Giảm khả năng xuất hiện chủng vi khuẩn đề kháng. Đối với vi khuẩn đề kháng do đột biến thì phải phối hợp kháng sinh làm giảm tần suất đột biến kép, ví dụ đột biến của vi khuẩn lao kháng streptomycin là 10^{-7} , đột biến kháng rifamycin là 10^{-9} thì xác suất đột biến kháng được với cả hai thứ thuốc trên là $10^{-7} \times 10^{-9} = 10^{-16}$. Đây chính là lý do phải phối hợp kháng sinh để điều trị lao.

- *Điều trị các nhiễm khuẩn hỗn hợp* : Một loại kháng sinh có phổ tác động trên một nhóm vi khuẩn nhất định. Trong các nhiễm khuẩn do nhiều loại vi khuẩn thủ phạm như viêm phổi, viêm phúc mạc... thường do cả vi khuẩn ái khí và vi khuẩn kỵ khí. Phối hợp kháng sinh thì sẽ diệt được cả hai loại vi khuẩn này.

- *Để tăng khả năng diệt khuẩn*: Ví dụ phối hợp sulfamethoxazol và trimethoprim làm tăng khả năng diệt khuẩn đối với nhiều vi khuẩn so với khi dùng đơn độc một trong hai thuốc trên. Mục đích này được dùng trong trường hợp điều trị các nhiễm trùng do *Pseudomonas aeruginosa* thường người ta phối hợp carbenicillin và gentamicin...

ĐẠI CƯƠNG VIRUS

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được những đặc điểm, kích thước, hình thể và cấu trúc của virus.
2. Trình bày được sự nhân lên của virus và hậu quả của sự nhân lên của virus trong tế bào.
3. Trình bày được các phương pháp nuôi cấy virus.

I. SƠ LƯỢC LỊCH SỬ PHÁT HIỆN VIRUS

Năm 1796 E.Jenner đã cho chủng đậu để phòng bệnh đậu mùa. L.Pasteur đã tìm ra vaccine chống bệnh dại vào năm 1885, nhưng chưa chứng minh được tác nhân gây bệnh vì chúng không trông thấy được ở kính hiển vi quang học và không mọc ở môi trường nuôi cấy nhân tạo.

Năm 1892 D.I. Ivanovski chứng minh được rằng mầm bệnh gây bệnh khảm thuốc lá có thể chui qua các lọc vi khuẩn bằng sứ. Ivanovski cho rằng đó là một chất độc tương tự như độc tố do cây bị bệnh tiết ra.

Năm 1898 M.W.Beijerinck đã chứng minh rằng chính tác nhân gây bệnh khảm thuốc lá chứ không phải chất độc của nó đã đi qua được lọc vi khuẩn và ông dùng tiếng Latin là virus (mầm độc) để gọi mầm bệnh này.

Năm 1898 F.Loeffler và P.Frosch chứng minh được tính qua lọc sứ của tác nhân gây bệnh lở mồm long móng ở bò.

Năm 1915 - 1917 F.W.Twort và F.H. d'Hérelle phát hiện ra virus của vi khuẩn và đặt tên là Bacteriophage, sau này thường gọi tắt là phage.

Năm 1935, W.M. Stanley lần đầu tiên tách biệt và kết tinh được virus khảm thuốc lá.

Từ năm 1940 trở đi kính hiển vi điện tử được hoàn thiện dần cho phép quan sát được hình dạng và các thành phần cấu trúc của virus.

II. NHỮNG ĐẶC ĐIỂM CỦA VIRUS

Virus là tác nhân nhiễm trùng nhỏ nhất (đường kính từ 20 - 300 nm) có thể lọt qua các lọc vi khuẩn, có cấu tạo rất đơn giản. Virus là một đại phân tử nucleoprotein có đặc tính cơ bản của một sinh vật, nhưng không có khả năng tự sinh sản, không có cấu tạo tế bào, không có quá trình trao đổi chất và có thể coi chúng là trung gian giữa các chất sống và chất vô sinh.

Virus khác biệt với các vi sinh vật khác ở các đặc điểm sau đây:

- Virus chỉ chứa một loại axit nucleic duy nhất: hoặc là ADN hoặc là ARN, không bao giờ chứa đồng thời cả 2 loại axit nhân.
- Virus sinh sản bằng cách sao chép từ vật liệu di truyền duy nhất của chúng, không phân chia bằng cách phân đôi như các vi khuẩn.
- Virus ký sinh bắt buộc trong tế bào sống, chúng dựa vào nguồn năng lượng và bộ máy của tế bào (ví dụ các ribosome, ARN vận chuyển...) để tổng hợp protein.
- Virus tổng hợp các thành phần của chúng một cách riêng rẽ và sau đó tự lắp ráp với nhau để tạo thành những hạt virus mới.

- Virus không nhạy cảm với các kháng sinh thông thường.

III. KÍCH THƯỚC, HÌNH THỂ VÀ CẤU TRÚC CỦA VIRUS

1. Kích thước

Virus có kích thước rất nhỏ bé, có thể qua được các lọc vi khuẩn. Chính vì thế mà chỉ có thể quan sát thấy virus qua kính hiển vi điện tử.

Đơn vị đo kích thước của virus là nanomet (nm)

$$1 \text{ nm} = 1/1000 \text{ micromet}$$

Mỗi loại virus có một kích thước nhất định (từ 20-300 nm) và không thay đổi trong suốt quá trình phát triển.

2. Hình thể

Phần lớn các virus có một hình thể nhất định, đặc trưng cho từng loài virus.

Một số loại hình thể virus thường gặp:

- Hình cầu : virus cúm, sởi, bại liệt.
- Hình khối đa diện : Adenovirus, Papovavirus.
- Hình que : virus khảm thuốc lá.
- Hình viên gạch : virus đậu mùa
- Hình đuôi trống (đỉnh ghim): phage T₂ của E.coli

3. Cấu trúc

Virus có cấu trúc rất đơn giản, không có cấu tạo tế bào. Tất cả các hạt virus đều có 2 thành phần cơ bản : axit nucleic là thành phần mang mật mã di truyền của virus và capsid là vỏ protein bao quanh axit nucleic. Lõi axit nucleic và capsid hợp lại tạo thành nucleocapsid. Đối với một số virus, nucleocapsid còn được bao quanh bởi một vỏ lipid hay lipoprotein gọi là bao ngoài (envelope hoặc peplos)

3.1. Axit nucleic của virus

Mỗi một hạt virus đều có một trong hai loại axit nucleic hoặc là ADN hoặc là ARN. Axit nucleic nằm ở giữa hạt virus tạo thành lõi hay hệ gen của virus.

Phân tử ADN của virus phần lớn ở dạng ADN 2 sợi và có một số ít ở dạng ADN 1 sợi như Parvoviridae. Phân tử ARN của virus đa số ở dạng ARN 1 sợi, trừ một số ít ở dạng ARN 2 sợi như Reoviridae.

Các axit nucleic chỉ chiếm 1-2% trọng lượng phân tử của hạt virus nhưng có chức năng đặc biệt quan trọng :

- Axit nucleic mang toàn bộ mã thông tin di truyền đặc trưng cho từng virus.
- Axit nucleic quyết định khả năng gây nhiễm trùng của virus trong tế bào cảm thụ.
- Axit nucleic quyết định chu kỳ nhân lên của virus trong tế bào cảm thụ
- Axit nucleic mang tính kháng nguyên đặc hiệu của virus.

3.2. Capsid

Capsid là cấu trúc bao quanh lõi axit nucleic. Bản chất hóa học của capsid là protein. Capsid được cấu tạo bởi các đơn vị hình thái gọi là capsomer bao gồm các phân tử protein có sắp xếp đặc trưng cho từng loại virus. Các capsomer được sắp xếp theo một trật tự không gian

xác định tạo nên các kiểu đối xứng của capsid : hoặc đối xứng xoắn hoặc đối xứng khối hoặc đối xứng phức hợp.

Capsid của virus có các chức năng sau đây:

- Vỏ protein có tác dụng bảo vệ axit nucleic của virus.
- Protein capsid mang tính kháng nguyên đặc hiệu của virus.
- Capsid đóng vai trò quan trọng trong giai đoạn bám và xâm nhập tế bào của virus.
- Capsid giữ cho hình thể và kích thước của virus luôn luôn được ổn định.

3.3. Vỏ ngoài (envelope)

Các virus như Herpesviridae, Flaviviridae, Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae,... còn có thêm một lớp vỏ bao bọc ngoài capsid gọi là envelope hoặc peplos. Bản chất hóa học của vỏ ngoài là một phức hợp lipid, protein và glucit. Vỏ ngoài có nguồn gốc từ màng bào tương hoặc màng nhân của tế bào chủ nhưng đã bị virus cải tạo và mang tính kháng nguyên đặc hiệu cho virus. Vỏ ngoài có thể bị các dung môi hòa tan lipid (như ether, muối mật , ...) phá hủy.

Vỏ ngoài của virus có chức năng :

- Tham gia vào sự bám của virus vào tế bào cảm thụ
- Tham gia vào giai đoạn lắp ráp và giải phóng virus ra khỏi tế bào sau chu kỳ nhân lên.

Những virus không có vỏ ngoài gọi là virus trần.

3.4. Gai protein

Trên vỏ ngoài của một số virus có những mấu gai protein lồi lên có thể có những chức năng riêng biệt như ngưng kết hồng cầu tổ hoặc enzyme neuraminidase hoạt động .

3.5. Một số enzyme

Virus không có một hệ enzyme chuyển hóa hoàn chỉnh như vi khuẩn, nhưng trong thành phần cấu trúc của một số virus có một vài loại protein có hoạt tính enzyme. Phổ biến nhất là các polymerase như ARN polymerase, ADN polymerase, ADN polymerase phụ thuộc ARN (enzyme sao chép ngược)...

4. Virion

Hạt virus hoàn chỉnh có khả năng gây nhiễm trùng cho tế bào cảm thụ được gọi là virion. Tùy theo từng loài virus, virion có thể có capsid trần hoặc capsid có vỏ ngoài.

5. Pseudovirion

Hạt virus đã nhận vật liệu di truyền của tế bào chủ trong quá trình sao chép thay cho axit nucleic của virus được gọi là pseudovirion. Những hạt pseudovirion này khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử chúng giống hệt các virion bình thường, nhưng chúng không có hoạt tính nhiễm trùng và không thể nhân lên được. Các hạt này có khả năng chuyển các gen của tế bào từ một tế bào chủ này đến một tế bào chủ khác.

6. Viroid

Viroid là một tác nhân nhiễm trùng nhỏ bé gây bệnh ở thực vật và có thể ở một vài nhiễm trùng virus chậm của động vật. Tác nhân này chỉ có axit nucleic (phân tử ARN dạng vòng kín, trọng lượng phân tử 70.000-120.000) không có lớp protein cấu trúc.

IV. PHÂN LOẠI VIRUS

Có nhiều cách để phân loại virus. Hiện nay việc phân loại virus dựa theo những tiêu chuẩn cơ bản sau đây:

- Loại axit nucleic (ADN hoặc ARN) và cấu trúc của chúng (số sợi).
- Đối xứng của capsid.
- Có hoặc không có vỏ ngoài (envelope).
- Cấu trúc gen virus
- Đường kính và số lượng capsomer của virus
- Các enzyme
- Nhạy cảm với ether
- Tính kháng nguyên
- Triệu chứng học

Căn cứ vào các tiêu chuẩn trên để chia virus ra thành các họ (...viridae), giống (...virus), loài và type virus.

Theo sự phân loại hiện nay, các virus của người và động vật có xương sống được chia thành 22 họ khác nhau: 8 họ virus chứa ADN và 14 họ virus chứa ARN.

Các họ virus chứa ADN gồm có:

- | | |
|--------------------|------------------|
| - Parvoviridae | - Iridoviridae |
| - Polyomaviridae | - Poxviridae |
| - Papillomaviridae | - Hepadnaviridae |
| - Adenoviridae | - Herpesviridae |

Các họ virus chứa ARN gồm có:

- | | |
|--------------------|-------------------|
| - Reoviridae | - Paramyxoviridae |
| - Picornaviridae | - Rhabdoviridae |
| - Astroviridae | - Filoviridae |
| - Caliciviridae | - Arenaviridae |
| - Togaviridae | - Coronaviridae |
| - Flaviviridae | - Bunyaviridae |
| - Orthomyxoviridae | - Retroviridae |

V. SỰ NHÂN LÊN CỦA VIRUS

Virus không có quá trình trao đổi chất, không có khả năng tự nhân lên ngoài tế bào sống. Vì vậy sự nhân lên của virus chỉ có thể được thực hiện ở trong tế bào sống nhờ vào sự trao đổi chất của tế bào chủ. Điều này cho thấy tính ký sinh của virus trong tế bào sống là bắt buộc.

Sự nhân lên của virus là một quá trình phức tạp, trong đó axit nucleic của virus giữ vai trò chủ đạo truyền đạt các thông tin di truyền của chúng cho tế bào chủ. Virus hướng các quá trình trao đổi chất của tế bào chủ sang việc tổng hợp các hạt virust mới.

Nói chung quá trình nhân lên của virus trong tế bào được chia thành 5 giai đoạn :

Hấp phụ → xâm nhập → Tổng hợp các thành phần cấu trúc → Lắp ráp → Giải phóng.

1. Sự hấp phụ của virus vào bề mặt tế bào

Sự hấp phụ xảy ra khi các cấu trúc đặc hiệu trên bề mặt hạt virus gắn được vào các thụ thể (receptor) đặc hiệu với virus nằm ở trên bề mặt của tế bào. Do tính đặc hiệu trên mà mỗi loài virus chỉ có thể hấp phụ và gây nhiễm cho một loại tế bào nhất định gọi là các tế bào cảm thụ với chúng. Ví dụ virus cúm chỉ gây nhiễm tế bào biểu mô của đường hô hấp trên, virus HIV chỉ xâm nhập tế bào bạch huyết gọi là tế bào lympho CD4.

2. Sự xâm nhập của virus vào trong tế bào

Các virus động vật sau khi đã gắn vào các thụ thể đặc hiệu trên bề mặt tế bào cảm thụ sẽ xâm nhập vào tế bào theo cơ chế ẩm bào. Khi đã lọt vào tế bào, capsid của virus sẽ được enzyme cởi vỏ (decapsidase) của tế bào phân hủy, giải phóng ra axit nucleic của virus. Đó là giai đoạn “cởi áo”.

Đối với phage, sau khi hấp phụ lên bề mặt tế bào thì bao đuôi co rút, lõi bên trong chọc thủng màng tế bào và bơm axit nucleic vào tế bào còn capsid nằm lại bên ngoài.

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

Ngay sau khi axit nucleic của virus được giải phóng, virus bị mất khả năng lây nhiễm và đi vào giai đoạn tiềm ẩn, trong giai đoạn này không thấy virus trong tế bào nữa. Đây chính là giai đoạn các virus truyền đạt những thông tin di truyền của mình cho tế bào chủ và bắt tế bào chủ chuyển hướng hoạt động của mình sang việc tổng hợp các thành phần của virus. Trước hết, các axit nucleic của virus được nhân lên, sau đó protein của virus được tổng hợp. Các axit nucleic của virus xác định tính đặc hiệu của protein. Như vậy cấu trúc kháng nguyên của virus không bị phụ thuộc vào tế bào chủ mà do các axit nucleic của virus quyết định. Cơ chế nhân lên của các ADN và ARN của virus có khác nhau. Dưới đây là ví dụ về ba loại virus có ba loại axit nucleic khác nhau:

- Ở các virus chứa ADN hai sợi: đầu tiên các thông tin di truyền của virus được sao chép từ ADN sang ARN thông tin nhờ ARN polymerase phụ thuộc ADN. Các ARN thông tin của virus sẽ đóng vai trò truyền tin để tạo ra các ADN và các protein của virus.

- Ở các virus chứa ARN một sợi dương: các thông tin di truyền của virus được mã hóa trong phân tử ARN sẽ sao chép sang một ARN bổ sung nhờ có ARN polymerase phụ thuộc ARN và từ đó chúng được làm khuôn mẫu để tạo ra các ARN của virus. Đồng thời các ARN của virus cũng đóng vai trò của ARN thông tin để tổng hợp nên các protein của virus.

- Ở các virus chứa ARN có enzyme sao chép ngược: các thông tin di truyền được mã hóa trong ARN của virus được sao chép ngược để tạo ra một ADN trung gian nhờ có enzyme sao chép ngược (reverse transcriptase; ADN polymerase phụ thuộc ARN). Từ ADN trung gian các mã thông tin di truyền của virus sẽ được sao chép sang ARN thông tin, từ đó chúng tiếp tục được sao chép để tổng hợp ra các ARN virus và các protein virus.

4. Sự lắp ráp các thành phần của virus

Sau khi các thành phần cơ bản của virus đã được tổng hợp và đã được tích lũy phong phú trong tế bào chủ thì sẽ bắt đầu quá trình lắp ráp. Hình như cơ chế lắp ráp các thành phần của virion xảy ra tự phát do kết quả của sự tương tác phân tử đặc biệt của các cao phân tử capsid với axit nucleic virus để tạo thành các virion.

Việc lắp ráp đúng sẽ tạo ra các virus hoàn chỉnh (các virion) và nếu lắp ráp sai sẽ tạo ra các virus không hoàn chỉnh (hạt DIP) hoặc tạo ra các virus giả (Pseudovirion).

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

Virus thoát ra khỏi tế bào chủ theo nhiều kiểu khác nhau tùy theo loài virus.

Nhiều virus được giải phóng theo kiểu phá vỡ màng tế bào làm hủy hoại tế bào và các virus đồng loạt được phóng thích. Hoặc được giải phóng nhờ sự xuất bào (exocytosis) hoặc qua các rãnh đặc biệt mà không làm hủy hoại tế bào chủ.

Các virus có vỏ ngoài được giải phóng theo kiểu nảy chồi qua các chỗ đặc biệt của màng tế bào chủ và virus sẽ nhận được một phần của màng tế bào chủ.

Thời gian nhân lên của virus thường ngắn hơn rất nhiều so với vi khuẩn. Ví dụ từ virus ban đầu, một tế bào bị nhiễm virus cúm có thể tạo ra hàng nghìn virus mới sau khoảng 5 - 6 giờ.

VI. HẬU QUẢ CỦA SỰ NHÂN LÊN CỦA VIRUS TRONG TẾ BÀO

Khi virus xâm nhập và nhân lên trong các tế bào để tạo ra các thế hệ virus mới thì có thể gây nhiều hậu quả khác nhau tùy thuộc vào bản chất sinh học của tế bào và của virus.

1. Tế bào bị hủy hoại

Sau khi virus xâm nhập và nhân lên trong tế bào thì hầu hết các tế bào bị phá hủy. Do các hoạt động bình thường của tế bào bị ức chế, các chất cần thiết cho tế bào không được tổng hợp mà chỉ tổng hợp ra các hạt virus mới vì vậy tế bào bị chết. Đây là trường hợp hay gặp nhất.

Ở nuôi cấy tế bào *in vitro* có thể thấy các tế bào bị nhiễm virus biến dạng, dính lại với nhau, ly giải.

2. Tế bào bị tổn thương nhiễm sắc thể

Virus có thể làm cho nhiễm sắc thể của tế bào chủ bị gãy, bị phân mảnh, bị đảo lộn về trật tự sắp xếp và gây ra các hậu quả như:

2.1. Dị tật bẩm sinh, thai chết lưu

Ở phụ nữ có thai, đặc biệt trong ba tháng đầu của thời kỳ mang thai, mà bị nhiễm virus thì sự làm sai lệch nhiễm sắc thể có thể dẫn tới một số thiếu hụt bẩm sinh trong quá trình hình thành bào thai và gây ra trạng thái nhiễm virus cho bào thai.

2.2. Tế bào tăng sinh vô hạn tạo khối u

Các tế bào bị nhiễm một số loại virus (chủ yếu là các virus gây ra khối u) có hiện tượng mất ức chế tiếp xúc khi tế bào sinh sản nên tạo ra những đám tế bào chồng chất lên nhau.

3. Tạo ra các tiểu thể đặc trưng cho các virus khác nhau

Trong các tế bào nhiễm virus có thể xuất hiện các thể vùi ở trong nhân (Adenovirus), hoặc trong bào tương (tiểu thể Negri của virus dại), hoặc ở cả hai nơi (virus sởi). Bản chất các tiểu thể có thể do tích tụ những virion hoặc những thành phần của virion hoặc có thể là các hạt phản ứng của tế bào khi nhiễm virus.

Các tiểu thể này có thể nhuộm soi thấy dưới kính hiển vi quang học và dựa vào đó có thể chẩn đoán gián tiếp sự nhiễm virus trong tế bào.

4. Tạo hạt virus không hoàn chỉnh (DIP: Defective interfering particles)

Hạt virus không hoàn chỉnh là virus chỉ có capsid, không có hoặc có không hoàn chỉnh axit nucleic. Do vậy các hạt DIP không có khả năng nhân lên độc lập khi vào trong các tế bào,

có nghĩa là hạt DIP không có khả năng gây nhiễm trùng cho tế bào. Những hạt DIP có thể giao thoa đặc hiệu với những virus đồng chủng .

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

Axit nucleic của virus tích hợp vào ADN của tế bào chủ có thể dẫn tới các hậu quả khác nhau:

- Chuyển thể tế bào (transformation) và gây nên các khối u hoặc ung thư.
- Làm thay đổi kháng nguyên bề mặt của tế bào.
- Làm thay đổi một số tính chất của tế bào.
- Tế bào trở thành tế bào sinh tan.

6. Kích thích tế bào tổng hợp Interferon

Interferon là những glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 17.000 - 25.000 Daltons do các tế bào tổng hợp ra sau khi bị kích thích bởi các chất cảm ứng sinh interferon như các virus hoặc các chất cảm ứng khác.

Có 3 loại Interferon: Interferon-alpha, interferon-beta và interferon-gama. Các loại này được phân biệt bởi các kháng thể đặc hiệu. Interferon-alpha thường do các tế bào bạch cầu sinh ra. Interferon-beta được sản xuất bởi các nguyên bào sợi. Interferon-gama là một lymphokine do các tế bào lympho T sinh ra.

Một số tính chất của interferon:

- Tính kháng nguyên yếu.
- Xuất hiện sớm (vài giờ) sau kích thích của chất cảm ứng.

- Tính chất chống virus của interferon mang tính đặc hiệu loài nhưng không đặc hiệu với virus: Interferon do các tế bào loài nào sinh ra thì chỉ có tác dụng ức chế sự nhân lên của virus ở tế bào của loài đó (ví dụ chỉ có interferon sản xuất từ các tế bào có nguồn gốc từ người mới có tác dụng bảo vệ cho người). Trái lại, interferon có phổ tác dụng rộng ức chế sự nhân lên của nhiều loại virus khác nhau chứ không phải chỉ với virus đã cảm ứng sinh interferon.

- Interferon không tác động trực tiếp lên virus như kháng thể mà phản ứng ức chế sự nhân lên của virus xảy ra bên trong tế bào.

Cơ chế sinh interferon của tế bào:

Ở tế bào người có 15 gen khác nhau mã hóa cho interferon-alpha, chỉ có 1 gen mã hóa cho interferon-beta và 1 gen mã hóa cho interferon-gama. Bình thường các gen này ở trạng thái ức chế và không hoạt động. Các chất cảm ứng sinh interferon có tác dụng giải ức chế cho các gen này làm cho chúng trở lại dạng hoạt động và do đó tế bào sẽ tổng hợp ra các Interferon. Chất cảm ứng quan trọng nhất đối với các gen alpha và beta là các virus, nhưng đối với gen gama là các chất hoạt hóa lympho bào T. Hai loại interferon-alpha và interferon-beta có tác dụng chống virus mạnh hơn so với interferon-gama. Các interferon-gama có tác dụng điều hòa miễn dịch và ức chế các tế bào ung thư mạnh hơn các interferon-alpha và interferon-beta.

Cơ chế tác dụng chống virus của interferon:

Interferon gắn vào các thụ thể đặc hiệu dành cho interferon ở trên bề mặt màng tế bào, gây ra giải ức chế một số gen mã hóa các protein ức chế virus. Dưới tác dụng kích thích của interferon có ít nhất 2 gen của tế bào được hoạt hóa để tổng hợp ra 2 enzyme đó là: eIF2 kinase và 2', 5'-oligoadenylate synthetase. eIF2 là yếu tố khởi động cần thiết cho việc gắn

ARN thông tin vào ribosome; eIF2 kinase phosphoryl hóa yếu tố eIF2 và làm bất hoạt eIF2 do đó ngăn cản sự tổng hợp protein của virus. Oligoadenylate có tác dụng hoạt hóa ribonuclease của tế bào để phân hủy ARN thông tin của virus, do đó ức chế sự tổng hợp protein virus.

Như vậy, interferon chỉ thể hiện tác dụng chống virus ở trong tế bào sống và thực chất là kích thích tế bào dùng cơ chế enzyme để phân hủy ARN thông tin của virus và ức chế tổng hợp protein của virus.

VII. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Virus có khả năng gây bệnh cho người. Một virus có thể gây ra nhiều hội chứng khác nhau và ngược lại một hội chứng có thể do nhiều virus khác nhau gây ra.

Nhiễm trùng virus có thể chia làm hai loại chính tùy theo thời gian cư trú của virus trong cơ thể:

1. Tác động của virus lên cơ thể xảy ra trong thời gian ngắn

Loại này bao gồm hai hình thái nhiễm virus sau đây:

- Nhiễm virus cấp tính: có đặc điểm là thời gian ủ bệnh ngắn(từ một vài ngày đến một vài tuần lễ) và tiếp theo sau đó các triệu chứng đặc trưng cho tác nhân gây bệnh phát triển. Nhiễm virus cấp có thể kết thúc khỏi hoàn toàn, hoặc một phần, hoặc tử vong. Trong quá trình hồi phục virus bị thải trừ.

- Nhiễm virus không biểu lộ: nhiễm virus không có triệu chứng, virus ở trong cơ thể một thời gian ngắn và thải trừ nhanh. Xác minh có virus trong cơ thể nhờ phát hiện hiệu giá kháng thể trong huyết thanh.

2. Tác động kéo dài của virus trong cơ thể

Cả bốn hình thái nhiễm trùng của loại này đều có đặc điểm là trạng thái mang virus kéo dài:

- Nhiễm virus tồn tại dai dẳng: virus tồn tại dai dẳng không có triệu chứng nhưng có kèm theo thải virus ra môi trường xung quanh. Hình thái này có thể được hình thành sau khi bình phục sức khỏe. Nó đóng vai trò quan trọng trong dịch tễ vì là nguy cơ trực tiếp gây ô nhiễm môi trường. Ví dụ bệnh viêm gan B.

- Nhiễm virus tiềm tàng: virus tồn tại dai dẳng, không có triệu chứng nhưng không thải virus ra môi trường xung quanh. Trong nhiễm virus tiềm tàng virus có thể ở dưới dạng tiền virus, axit nucleic của virus có thể tích hợp vào bộ gen của tế bào chủ. Trong một vài trường hợp do ảnh hưởng của một hay nhiều tác nhân như chấn thương, stress, giảm miễn dịch, v.v..., tiền virus có thể được hoạt hóa và chuyển sang trạng thái nhân lên, gây bệnh cấp tính cho cơ thể. Ví dụ bệnh herpes.

- Nhiễm virus mạn tính: virus tồn tại dai dẳng có kèm theo một hoặc vài triệu chứng lúc ban đầu, sau đó tổn thương bệnh lý tiếp tục phát triển trong một khoảng thời gian dài. Đặc điểm trong tiến triển của nhiễm virus mạn tính là có những thời kỳ sức khỏe bệnh nhân khá lên, bệnh thuyên giảm, xen kẽ với những giai đoạn bệnh bùng phát, kéo dài một vài tháng có khi hằng năm.

- Nhiễm virus chậm: đây là một hình thái tác động đặc biệt giữa virus với cơ thể và có những đặc điểm là thời gian nung bệnh không có triệu chứng kéo dài nhiều tháng hoặc năm, tiếp theo là sự phát triển chậm nhưng không ngừng tăng lên của các triệu chứng và kết thúc bằng những tổn thương rất nặng hoặc tử vong.

VIII. NUÔI CẤY VIRUS

Virus động vật có thể nuôi cấy được trên một hệ thống tế bào sống bao gồm động vật cảm thụ, phôi gà và các tế bào nuôi trong ống nghiệm (*in vitro*)

1. Động vật thí nghiệm cảm thụ

Trước khi kỹ thuật phôi gà và nuôi cấy tế bào được phát minh thì tiêm nhiễm động vật là phương pháp duy nhất để nuôi cấy virus. Mỗi loài virus có một vài động vật cảm thụ riêng. Ví dụ đối với Arbovirus, động vật thí nghiệm cảm thụ thường được sử dụng là chuột nhắt trắng mới đẻ.

Tùy theo loài virus có thể sử dụng những động vật cảm thụ khác nhau như chuột nhắt còn bú, chuột nhắt, chuột lang, thỏ, khỉ... và những đường gây nhiễm khác nhau: tiêm, uống, nhỏ mũi, mắt.

Hiện nay động vật được sử dụng để sản xuất vaccine và phân lập một số ít virus mà động vật thí nghiệm là vật chủ nhạy cảm duy nhất hoặc vật chủ được chọn lựa.

2. Phôi gà

Thường dùng trứng gà đã ấp 9-12 ngày, lúc đó phôi đã tạo thành, khoang ối và khoang niệu phát triển đầy đủ.

Tùy theo mục đích : phân lập, thử nghiệm, sản xuất vaccine và tùy theo loài virus, có thể tiêm nhiễm vào màng niệu đệm (virus đậu mùa, đậu vaccine, Herpesvirus), vào khoang ối (virus cúm, quai bị), vào khoang niệu (virus cúm, quai bị, virus Newcastle).

3. Nuôi cấy tế bào

Xử lý mô bằng trypsin để tách rời tế bào rồi nuôi tế bào trong ống nghiệm có chứa các môi trường nuôi đặc biệt. Tế bào phát triển thành một lớp tế bào đều đặn bám vào mặt trong của ống nghiệm được gọi là nuôi cấy tế bào một lớp.

Các loại tế bào thường dùng trong nuôi cấy virus:

- Tế bào nguyên phát: là những tế bào có nguồn gốc từ mô động vật, thực vật hay côn trùng được nuôi cấy thành một lớp tế bào trong ống nghiệm thường dùng để nuôi cấy phân lập virus. Các tế bào nguyên phát có đặc điểm chỉ sử dụng một lần, không thể cấy truyền nhiều lần được. Những mô thường dùng để sản xuất tế bào nguyên phát là thận khỉ, thận bào thai người, thận chuột đồng, mô của phôi gà v.v...

- Tế bào thường trực: có nguồn gốc từ mô động vật, thực vật hay côn trùng đã được cấy truyền nhiều lần mà không bị thoái hoá. Các tế bào thường trực hiện nay thường dùng như tế bào Hela, Hep-2, Vero, C6 / 36,...

- Tế bào lưỡng bội của người: là dòng tế bào bào thai người. Dòng tế bào này có hình thái bình thường, nhiễm sắc thể lưỡng bội có hình thái bình thường, có thể cấy truyền được nhiều lần (từ 40-100 lần), chúng không chứa các virus tiềm tàng như các loại tế bào nguyên phát nuôi một lần, do đó thường được sử dụng trong sản xuất vaccine sống.

BACTERIOPHAGE

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được hình thái và cấu trúc của phage.
2. Nêu được mối quan hệ giữa phage và vi khuẩn tíc chủ.

Bacteriophage thường gọi tắt là phage được Twort phát hiện ở Tụ cầu năm 1915 và sau đó d'Herelle cũng phát hiện được ở vi khuẩn lỵ. Phage là virus có khả năng xâm nhiễm vi khuẩn. Mỗi vi khuẩn có thể là vật chủ của một hoặc nhiều phage. Phage được sử dụng để khảo sát sự liên hệ giữa ký sinh và vật chủ, sự nhân lên của virus, vận chuyển các yếu tố di truyền trong nghiên cứu sinh học phân tử.

I. HÌNH THÁI VÀ CẤU TRÚC CỦA PHAGE

Những phage được khảo sát nhiều nhất là những phage xâm nhiễm *E.coli*. Hình thái của những phage này dưới kính hiển vi điện tử trông giống như hình thái của tinh trùng gồm có đầu và đuôi.

Đầu có cấu trúc đối xứng hình khối, capsid hợp bởi nhiều capsomer kết hợp thành một cấu trúc hình lăng trụ, thông thường có thiết diện thẳng hình 6 cạnh. Bên trong đầu chứa axit nucleic. Phần lớn phage chứa ADN 2 sợi, cũng có phage chứa ADN 1 sợi. Những phage chứa ARN 1 sợi cũng được tìm thấy.

Đuôi có cấu trúc dạng hình xoắn. Ở phage T₂ một đỉnh của đầu được kéo dài thành đuôi dài 95 nm. Nó hợp bởi 2 phần lồng vào nhau: ống bên trong cứng đường kính 8 nm thông với đầu, vỏ bên ngoài hình xoắn đường kính 20 nm co rút được theo chiều dọc như cái lò xo. Tận cùng là một tấm 6 góc ở mỗi góc có một sợi đính vào. Phần tận cùng của đuôi tạo nên một hệ thống của phage bám vào bề mặt vi khuẩn.

II. MỐI QUAN HỆ GIỮA PHAGE VÀ VI KHUẨN TÍC CHỦ

1. Phage độc lực và phage ôn hòa

Lúc gặp vi khuẩn cảm thụ, phage hấp phụ lên bề mặt của vi khuẩn và axit nucleic được bơm vào bên trong. Axit nucleic cung cấp mã di truyền để tế bào vi khuẩn cho tổng hợp axit nucleic và các đơn vị protein capsid của phage. Các thành phần này tự lắp ráp để hình thành những phage con. Vi khuẩn bị ly giải và phage tự do được phóng thích. Đó là phage độc lực.

Nhiều phage được gọi là phage ôn hòa lúc xâm nhiễm vi khuẩn thì axit nucleic của phage tích hợp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn. Trong quá trình phân bào axit nucleic của phage được sao chép đồng thời với nhiễm sắc thể của vi khuẩn. Ở dạng tích hợp axit nucleic của phage được gọi là prophage. Vi khuẩn chứa prophage ở nhiễm sắc thể gọi là vi khuẩn sinh tan. Sau một số lần phân bào prophage có thể tách rời khỏi nhiễm sắc thể và trở thành phage độc lực. Nó cho tổng hợp những phage con, làm tan vi khuẩn và phóng thích những phage độc lực.

Cũng có trường hợp vi khuẩn sinh tan mất prophage và trở thành vi khuẩn bình thường.

2. Hệ thống sinh tan

Những phage ôn hòa không ly giải vi khuẩn mà chúng nhiễm và hình như sao chép đồng thời với vi khuẩn trong nhiều thế hệ.

Ở vi khuẩn sinh tan axit nucleic của phage tích hợp vào nhiễm sắc thể của vi khuẩn và được gọi là prophage.

Hệ thống sinh tan có những đặc điểm sau :

2.1. Miễn dịch

Lúc một vi khuẩn mang một prophage nó trở nên miễn dịch với phage tương ứng. Phage có thể được hấp phụ nhưng rồi bị loại ra khỏi tế bào lúc phân bào. Những phage ôn hòa làm xuất hiện ở tế bào chất trần áp ức chế sự nhân lên của phage và phong tỏa sự tách rời của phage.

2.2. Sự cảm ứng

Những vi khuẩn sinh tan có thể cảm ứng bằng nhiều cách khác nhau để phóng thích phage độc lực, ví dụ : dưới ảnh hưởng của tia cực tím phần lớn vi khuẩn sinh tan phóng thích phage. Cũng có một số trường hợp prophage tự động tách rời nhiễm sắc thể và trở thành phage sinh dưỡng.

2.3. Đột biến thành độc lực

Hậu quả của sự nhiễm phage ở một vi khuẩn hình như được xác định bởi sự cạnh tranh giữa sự sao chép của phage và sự tạo thành chất trần áp. Nếu quá trình sao chép đã tiến xa trước khi xuất hiện chất trần áp thì vi khuẩn bị ly giải. Nếu chất trần áp xuất hiện sớm thì vi khuẩn sống sót và trở nên sinh tan.

Phage ôn hòa cũng có thể đột biến thành phage độc lực. Hai type biến chủng được quan sát. Trong type thứ nhất sự đột biến làm cho phage đề kháng với chất trần áp, trong type thứ 2 phage mất khả năng tạo thành chất trần áp.

3. Phương pháp khảo sát phage

Vì cũng như tất cả virus phage chỉ nhân lên ở tế bào sống. Vì kích thước không cho phép quan sát trực tiếp nếu không có kính hiển vi điện tử nên cần thiết theo dõi hoạt động của chúng bằng phương tiện gián tiếp. Trong mục đích này người ta sử dụng sự kiện một hạt phage cho vào một lớp vi khuẩn đang phân chia ở trên thạch dinh dưỡng sẽ tạo nên một vùng phân giải sáng trên film mờ đục của vi khuẩn đang phát triển. Vùng phân giải này gọi là một "plaque"; nó được tạo thành do tế bào vi khuẩn bị nhiễm phage phân giải và phóng thích nhiều hạt phage mới, những phage này liền xâm nhiễm những tế bào vi khuẩn kế cận. Qua trình này tuần tự lặp lại cho đến khi sự phát triển của vi khuẩn ở trên đĩa thạch ngừng lại do hết thức ăn và tích tụ phẩm vật độc. Lúc thao tác khéo léo, mỗi hạt phage tạo nên một plaque. Mọi vật liệu chứa phage có thể định lượng như thế bằng cách pha loãng thích hợp và cho vào đĩa thạch dinh dưỡng mọc dày đặc vi khuẩn nhạy cảm. Đếm plaque cũng tương tự như đếm khuẩn lạc trong định lượng vi khuẩn.

Phân lập và tinh chế: Để khảo sát những tính chất vật lý và hóa học của phage cần phải điều chế một lượng đầy đủ virus tinh chế không chứa vật liệu tế bào. Trong mục đích đó môi trường lỏng nuôi cấy vi khuẩn vật chủ được tiếp chủng phage và ủ cho đến khi môi trường nuôi cấy hoàn toàn ly giải. Lúc này dịch thủy phân chỉ chứa hạt phage và mảnh vụn vi khuẩn, chúng được lấy riêng bằng li tâm phân biệt. Phần phage li tâm có thể làm dung dịch treo và rửa rồi khảo sát những tính chất vật lý và hóa học hoặc soi kính hiển vi điện tử.

III. ỨNG DỤNG CỦA BACTERIOPHAGE

1. Ứng dụng trong nghiên cứu sinh học phân tử

Phage được dùng làm phương tiện vận chuyển gen trong nghiên cứu sinh học phân tử, rất nhiều phage được sử dụng để nghiên cứu di truyền vi khuẩn. Sự chuyển nạp là quá trình vận chuyển gen ở vi khuẩn qua trung gian của phage. Một vài chủng phage ví dụ phage P₂₂ có thể vận chuyển bất cứ gen nào của vi khuẩn, đó là sự chuyển nạp tổng quát. Trong sự chuyển nạp đặc hiệu, một số phage đặc hiệu ví dụ phage λ chỉ vận chuyển một số gen của vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận.

2. Ứng dụng trong chẩn đoán vi khuẩn và dịch tễ học

Phage được sử dụng để định type phage ở vi khuẩn. Mỗi loài vi khuẩn có thể gồm nhiều type phage khác nhau do bản chất của receptor ở vi khuẩn đối với các phage khác nhau. Người ta đã chọn một số bộ phage. Trong mỗi bộ phage, mỗi phage chỉ làm li giải một type phage của một loài vi khuẩn. Việc định type phage có giá trị về chẩn đoán vi khuẩn và nhất là về dịch tễ học.

Phage ôn hòa β có thể tích hợp vào nhiễm sắc thể vi khuẩn bạch hầu; chỉ ở trạng thái sinh tan vi khuẩn bạch hầu mới tạo thành độc tố.

3. Ứng dụng khác

Tuy có khả năng xâm nhiễm vi khuẩn, phage không được sử dụng để điều trị bệnh nhiễm trùng vì những thử nghiệm điều trị không đem lại kết quả.

PHÒNG NGỪA VÀ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIRUS

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được các biện pháp phòng ngừa sự tiếp xúc với tác nhân nhiễm trùng.
2. Trình bày được phương pháp phòng ngừa và điều trị bằng liệu pháp miễn dịch đặc hiệu.
3. Trình bày được phương pháp phòng ngừa và điều trị bằng liệu pháp hoá học.

I. PHÒNG NGỪA SỰ TIẾP XÚC VỚI TÁC NHÂN NHIỄM TRÙNG

Các biện pháp phòng ngừa như: cải thiện vệ sinh, cải thiện nguồn nước sinh hoạt, cách ly bệnh nhân, khử trùng tiết trùng dụng cụ và môi trường, diệt tác nhân trung gian truyền bệnh... được áp dụng thích hợp trong từng bệnh, từng vụ dịch.

Những biện pháp kể trên góp phần đáng kể để giải quyết bệnh virus, nhưng việc thực hiện đòi hỏi nhiều công sức và tiền của. Biện pháp diệt tác nhân trung gian truyền bệnh là một biện pháp phòng dịch hữu hiệu.

II. PHÒNG NGỪA VÀ ĐIỀU TRỊ BẰNG LIỆU PHÁP MIỄN DỊCH ĐẶC HIỆU

Liệu pháp miễn dịch nhằm làm tăng cường miễn dịch bảo vệ đặc hiệu của cơ thể đối với các thành phần của virus. Bao gồm liệu pháp miễn dịch chủ động là chủng ngừa các vaccine chống virus và liệu pháp miễn dịch thụ động là tiêm các globulin miễn dịch.

1. Liệu pháp miễn dịch chủ động

Các vaccine chống virus, cũng như tất cả các loại vaccine, dựa trên sự kích thích chủ động hệ thống miễn dịch bằng cách đưa vào trong cơ thể kháng nguyên của tác nhân nhiễm trùng đã được làm mất khả năng gây bệnh cho người, làm cho cơ thể tự tạo ra tình trạng miễn dịch chống lại tác nhân gây bệnh. Tình trạng miễn dịch mà cơ thể có được sau khi sử dụng vaccine là kết quả của sự đáp ứng miễn dịch đối với các thành phần kháng nguyên có trong vaccine.

Việc sử dụng vaccine để phòng bệnh là một phương thức chủ yếu để làm giảm tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong của các nhiễm trùng virus. Các vaccine virus được sử dụng hiện nay có thể bao gồm virus sống đã được làm giảm độc lực, virus đã bị bất hoạt, hoặc các thành phần cấu trúc của virus. Các thành phần cấu trúc của virus có thể được chế tạo nhờ kỹ thuật tái tổ hợp ADN hoặc thu được từ virion.

1.1. Vaccine bất hoạt (còn được gọi là vaccine chết)

Loại vaccine này được sản xuất bằng cách làm bất hoạt virus bằng các tác nhân lý hóa như nhiệt, formol, beta propiolacton hoặc tia cực tím. Như vậy, loại vaccine này bao gồm các virion tinh khiết và đã bị giết chết, do đó mất khả năng gây nhiễm trùng, mất khả năng gây bệnh.

Vaccine bất hoạt gây nên sự đáp ứng miễn dịch tốt lúc tiêm đủ liều lượng, đúng thời gian. Nó có thể chủng ngừa cho những đối tượng bị suy giảm miễn dịch cũng như ở phụ nữ có thai.

Vaccine bất hoạt thường không gây được miễn dịch lâu bền so với vaccine sống giảm độc lực và thường phải tiêm nhiều lần để duy trì miễn dịch. Loại vaccine này hầu như chỉ kích thích cơ thể tiết ra các IgG và IgM kháng virus ở trong máu. Vì thế nó ngăn cản kém sự xâm nhập của các virus hoang dại vào trong các niêm mạc đường tiêu hóa và hô hấp, nhưng nó chống lại sự nhiễm trùng ở giai đoạn nhiễm virus máu nếu có một nhiễm trùng lan tỏa.

Các vaccine virus bất hoạt được sử dụng cho người là vaccine cúm, vaccine dại, vaccine bại liệt (vaccine Salk), vaccine viêm não Nhật bản, v. v....

Một dạng khác của vaccine bất hoạt (Subunit (Subvirion) vaccine) chỉ bao gồm thành phần kháng nguyên quan trọng nhất về phương diện sinh miễn dịch của virion được tinh khiết và làm bất hoạt. Ví dụ loại vaccine viêm gan B được điều chế từ HBsAg có trong huyết tương những người nhiễm kháng nguyên này.

1.2. Vaccine sống giảm độc lực

Loại vaccine này chứa virus đột biến đã mất phần lớn độc lực của chúng đối với người. Virus vaccine gây ra miễn dịch nhưng không gây bệnh ở người mặc dù chúng nhân lên có giới hạn ở người được chủng vaccine.

Để sản xuất loại vaccine này cần phải sử dụng một chủng virus không có khả năng gây bệnh (khác với chủng virus độc lực hoang dại) nhưng đồng nhất kháng nguyên hoặc gần giống với virus hoang dại gây bệnh về cấu trúc kháng nguyên.

Đặc trưng chủ yếu của vaccine sống giảm độc lực là tạo ra trong cơ thể một quá trình giống như quá trình nhiễm trùng tự nhiên, kích thích cơ thể đáp ứng cả miễn dịch toàn thể và miễn dịch tại chỗ, cả miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào. Đặc biệt là sự kích thích ngay tại đường vào của virus vaccine trong cơ thể tạo ra đáp ứng miễn dịch bảo vệ tại chỗ mà chủ yếu là tiết ra IgA chống virus. Ví dụ cho trẻ em uống vaccine bại liệt sống giảm độc lực (vaccine Sabin) đã tạo ra được miễn dịch tại chỗ ở niêm mạc đường tiêu hóa có tác dụng phòng ngừa sự xâm nhập sau này của virus bại liệt hoang dại vào ống tiêu hóa.

Những vaccine này còn có ưu điểm là gây được miễn dịch ở mức độ cao và tồn tại trong một thời gian dài, thường chỉ tiêm chủng một lần và có thể dùng bằng đường uống.

Tuy nhiên điều cần lưu ý đặc biệt là tính an toàn của vaccine sống phải đảm bảo không còn khả năng gây bệnh hoặc chỉ gây bệnh rất nhẹ và chủng virus vaccine phải có tính di truyền ổn định không đột biến trở lại độc lực ban đầu.

Các vaccine virus sống giảm độc lực được cho phép sử dụng ở người gồm có vaccine bại liệt (vaccine Sabin), vaccine sởi, vaccine quai bị, vaccine Rubella, vaccine thủy đậu, vaccine sốt vàng, v.v...

1.3. Vaccine tái tổ hợp

Một loại vaccine tái tổ hợp gồm các thành phần của virus được sản xuất bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN. Ví dụ như vaccine viêm gan B tái tổ hợp ADN được điều chế bằng công nghệ sinh học phân tử và công nghệ di truyền.

Một loại vaccine tái tổ hợp khác gồm có chủng virus vaccine đã bị biến đổi. Nghĩa là dùng kỹ thuật tái tổ hợp ADN để gắn thêm vào vật liệu di truyền của virus vaccine một gen mã hóa cho thành phần sinh miễn dịch của một virus gây bệnh nào đó. Khi virus vaccine này phát triển trong cơ thể vật chủ, sản phẩm gen "ngoại lai" cũng được tạo thành và miễn dịch chống lại cả hai loại virus trên đã được tạo ra. Các vaccine tái tổ hợp thuộc loại này như các vaccine chống virus viêm gan B và virus gây suy giảm miễn dịch đang được kiểm định và đánh giá về hiệu lực và sự an toàn.

1.4. Một số vaccine phòng bệnh virus đang được dùng ở Việt Nam

1.4.1. Vaccine phòng bệnh bại liệt

Vaccine phòng bệnh bại liệt đang được dùng ở Việt Nam thuộc loại vaccine sống giảm độc lực, dạng nước để uống, có tên vaccine Sabin gồm 3 týp virus Sabin: týp 1, týp 2, và týp 3, do Trung tâm khoa học - sản xuất vaccine Sabin của nước ta sản xuất. Vaccine Sabin tạo miễn dịch cơ bản cho trẻ dưới 1 tuổi: uống 3 liều vào các tháng 2, 3, 4 sau khi sinh. Mỗi liều 2 giọt (tương đương 0, 1 ml). Tạo miễn dịch bổ sung cho trẻ em từ 0 - 5 tuổi bằng cách hàng năm uống 2 liều cách nhau 1 tháng trong các chiến dịch uống vaccine phòng bại liệt.

1.4.2. Vaccine phòng bệnh sởi

Vaccine sởi đang dùng ở nước ta được nhập từ nước ngoài (Pháp, Canada, Nhật, Ấn độ...). Vaccine sởi là vaccine sống giảm độc lực, ở dạng đông khô. Khi dùng, vaccine đông khô được pha với nước cất để tiêm dưới da vùng cánh tay với liều 0, 5 ml cho trẻ 9 tháng đến 11 tháng tuổi.

Hiện nay ở nhiều nước như Mỹ , Bỉ, Pháp, Ấn Độ,... vaccine phòng bệnh sởi được sản xuất dưới dạng vaccine tam liên phòng 3 bệnh Sởi - Quai bị - Rubella, có biệt dược là M - M -R. Đây là vaccine sống giảm độc lực, đông khô, tiêm dưới da hoặc bắp thịt với liều 0,5ml cho trẻ em trong khoảng 12 tháng đến 15 tháng tuổi.

1.4.3. Vaccine phòng bệnh viêm gan B

Vaccine phòng bệnh viêm gan B đang dùng ở Việt Nam được sản xuất bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ (Hà Nội) hoặc được nhập từ nước ngoài như Bỉ, Mỹ, Hàn Quốc,... Vaccine viêm gan B hiện có 2 loại : loại thứ nhất (thể hệ 1) sản xuất từ kháng nguyên bề mặt (HBsAg) của virút viêm gan B có trong huyết tương người lành. Loại thứ 2 (thể hệ 2) sản xuất từ HBsAg được tạo ra nhờ công nghệ ADN tái tổ hợp thực hiện trên tế bào nấm men. Vaccine viêm gan B dạng nước để tiêm phòng bệnh cho các đối tượng bao gồm trẻ sơ sinh, trẻ lớn, người khỏe mạnh, người có nguy cơ cao nhiễm virus viêm gan B. Cách dùng vaccine viêm gan B theo chỉ dẫn của nhà sản xuất vaccine ở mỗi nước.

1.4.4. Vaccine phòng bệnh viêm não Nhật Bản

Vaccine phòng bệnh viêm não Nhật bản được sản xuất bởi Viện Vệ sinh Dịch tễ (Hà Nội) hoặc được nhập từ nước ngoài (Nhật bản, Hàn quốc,...). Đây là loại vaccine virus bất hoạt, dạng nước, tiêm dưới da với liều 0,5ml đối với trẻ dưới 5 tuổi, với liều 1ml đối với trẻ từ 5 tuổi trở lên.

- Tạo miễn dịch cơ bản bằng cách tiêm 3 liều:

+ Liều thứ nhất: vào thời điểm chọn tiêm .

+ Liều thứ hai: Sau liều thứ nhất từ 1 - 2 tuần.

+ Liều thứ ba: Sau liều thứ nhất 1 năm.

Nên tiêm trước tháng có dịch.

- Tiêm nhắc lại :

+ Mỗi năm tiêm 1 liều ở vùng có dịch viêm não lưu hành . Nên tiêm vào tháng gần trước tháng phát dịch .

+ Bốn năm tiêm một liều ở vùng không có dịch viêm não lưu hành .

1.4.5. Vaccine phòng bệnh dại cho người

Có 2 loại vaccine phòng bệnh dại cho người đang dùng ở nước ta:

- Vaccine đại Fuenzalida do Việt Nam sản xuất, dạng đông khô và dạng nước, tiêm trong da 6 mũi cách nhật :

Trên 15 tuổi: mỗi liều tiêm 0,2 ml

Dưới 15 tuổi: mỗi liều tiêm 0,1ml

Không dùng các thuốc ức chế miễn dịch như ACTH, corticoid trong thời gian 6 tháng kể từ khi tiêm vaccine phòng đại.

- Vaccine đại Verorab của Pháp được sản xuất trên tế bào Vero, dạng đông khô, tiêm dưới da hoặc bắp thịt 5 liều, mỗi liều 0,5ml vào các ngày: ngày 0 (thời điểm chọn tiêm), ngày 3, ngày 7, ngày 14, ngày 30. Tùy ý tiêm nhắc lại liều 0,5ml vào ngày 90.

Vaccine đại cần được tiêm sớm cho nạn nhân bị chó (hoặc mèo) cắn, sau khi đã xử lý tại chỗ vết cắn .

Các vaccine thường được sử dụng để phòng bệnh nhưng có thể tiêm vaccine trong thời kỳ ủ bệnh để điều trị bệnh virus. Đối với những bệnh có thời kỳ ủ bệnh dài như bệnh đại thì việc tiêm vaccine tỏ ra hữu hiệu nếu thực hiện ngay khi mới bị nhiễm virus.

2. Liệu pháp miễn dịch thụ động

Thường sử dụng globulin miễn dịch được bào chế từ huyết thanh người và được chia ra làm 2 loại:

- Globulin miễn dịch bình thường hay còn được gọi là globulin miễn dịch huyết thanh người được bào chế từ huyết thanh của tất cả những người khỏe mạnh, không có sự chọn lọc, do đó nó chứa các kháng thể chống lại những virus phổ biến trong cộng đồng. Trên thực tế loại huyết thanh này có hiệu quả trong việc phòng ngừa bệnh sởi và viêm gan A.

- Globulin miễn dịch đặc hiệu được điều chế từ huyết thanh của những người đang ở thời kỳ hồi phục sau khi mắc bệnh nhiễm trùng nào đó đã khỏi , hoặc của những người mới được tiêm chủng vaccine. Nhờ có sự chọn lọc thích hợp người cho máu nên trong globulin miễn dịch đặc hiệu nồng độ kháng thể chống lại virus là căn nguyên của bệnh nhiễm trùng mà người cho đã mắc hoặc đã được tiêm chủng thường cao gấp hàng chục lần so với loại globulin miễn dịch bình thường.

Ngoài globulin miễn dịch bào chế từ huyết thanh người, còn có globulin miễn dịch bào chế từ huyết thanh động vật đã được tiêm vaccine để kích thích sản xuất kháng thể. Ngày nay việc sử dụng huyết thanh động vật giảm đi nhiều vì tỷ lệ gây ra phản ứng cao hơn hẳn so với kháng thể được sản xuất từ huyết thanh người.

Các kháng thể kết hợp với các protein virus nằm ở bề mặt bên ngoài của virion có thể ngăn cản sự hấp phụ của virion vào các thụ thể (receptor) đặc hiệu với virus ở trên bề mặt tế bào.

Có những bằng chứng cụ thể cho thấy khi tiêm globulin miễn dịch sớm trong thời kỳ ủ bệnh có thể ngăn chặn hoặc làm giảm sự trầm trọng của nhiều bệnh virus như: sởi, thủy đậu, viêm gan virus, đại, đậu mùa, đậu vaccine. Cần sử dụng lượng globulin miễn dịch đầy đủ và tiêm sớm trước giai đoạn nhiễm virus máu. Kháng thể sẽ phát huy hiệu lực ngay sau khi được tiêm vào cơ thể , nhưng chỉ tồn tại trong một thời gian ngắn không quá 3 tuần lễ.

III. PHÒNG NGỪA VÀ ĐIỀU TRỊ BẰNG LIỆU PHÁP HÓA HỌC

Khác với vi khuẩn, các virus ký sinh bắt buộc bên trong tế bào sống, chúng không có chuyển hóa và sự sao chép của virus hoàn toàn nằm trong tế bào chủ nên chúng không nhạy cảm với các kháng sinh thường dùng. Do đó một thuốc điều trị đặc hiệu cho virus phải đạt được những yêu cầu sau :

-Thuốc phải xâm nhập được vào trong tế bào, đặc biệt là các tế bào bị nhiễm virus.

-Thuốc ngăn cản quá trình tổng hợp ra các virus nhưng không hoặc ít ảnh hưởng đến hoạt động của tế bào .

1. Thuốc ức chế sự cởi áo của virus

Amantadine và rimantadine ngăn cản sự xâm nhập và/hoặc sự cởi áo của một vài virus ARN có vỏ ngoài; nhưng trên lâm sàng nó chỉ có hiệu quả chống lại virus cúm type A ở người. Thuốc này có tác dụng giảm được số lượng người mắc bệnh, giảm nhẹ biểu hiện lâm sàng và rút ngắn thời gian bị bệnh. Cả 2 thuốc này đều ngăn cản sự nhân lên của virus thông qua sự tương tác với protein M2 của virus cúm type A, do đó ngăn cản quá trình cởi áo.

Các chủng virus cúm A đột biến đề kháng amantadine đã được tìm thấy ở bệnh nhân bị cúm. Sự đề kháng phụ thuộc vào sự đột biến gen mã hóa protein bao ngoài. Rimantadine là một dẫn xuất của amantadine có tác dụng chống virus cúm A tương tự amantadine, nhưng có ít tác dụng phụ hơn. Những biến chủng đề kháng amantadine thì cũng đề kháng với rimantadine. Amantadine ức chế sự cởi áo của bộ gen (genome) virus, do đó sau khi xâm nhiễm axit nucleic của virus không được phóng thích khỏi capsid để tiến hành quá trình sao chép.

2. Thuốc ức chế giai đoạn tổng hợp các thành phần của virus

2.1. Các thuốc có cấu trúc tương tự nucleoside

Chỉ trừ các virus nhỏ chứa ADN (Polyomavirus, Papillomavirus và Parvovirus), còn tất cả các virus đều mã hóa enzyme polymerase của riêng chúng để tổng hợp nên các axit nucleic của virus. Các enzyme polymerase của virus là những cái đích lý tưởng của các thuốc kháng virus loại tương tự nucleoside. Nói chung, những thuốc tương tự nucleoside kháng virus được phosphoryl hóa thành nucleoside triphosphate nhờ các enzyme kinase của virus hoặc của tế bào chủ. Sau đó triphosphate sẽ tác động như một chất ức chế cạnh tranh với nucleoside triphosphate bình thường có trong tế bào và được tế bào sử dụng như một tiền chất cho sự tổng hợp axit nucleic. Đối với một chất tương tự nucleoside để có được tác dụng chống virus, nó phải có 3 đặc tính sau: có thể phosphoryl hóa thành triphosphate, có ái lực với enzyme polymerase của virus cao hơn ái lực với enzyme polymerase của tế bào chủ và có thể kết hợp vào chuỗi axit nucleic đang nối dài ra ở vị trí của chất tương đồng cạnh tranh của nó.

Hai thuốc chống virus được sử dụng rộng rãi nhất trong thực hành lâm sàng là aciclovir và zidovudine.

2.1.1. Aciclovir

Aciclovir có cấu tạo tương tự deoxyguanosine, một nucleoside cần thiết cho quá trình tổng hợp nên các ADN. Nó có hiệu quả trong điều trị các nhiễm trùng do virus herpes simplex và virus thủy đậu gây ra. Aciclovir được phosphoryl hóa để trở thành monophosphate nhờ enzyme kinase của virus và sau đó thành ra triphosphate nhờ các enzyme của tế bào chủ. Aciclovir triphosphate có ái lực với ADN polymerase của virus mạnh hơn nhiều ái lực với ADN polymerase của tế bào. Vì thế, ở những nồng độ mà nó ức chế chức năng của ADN polymerase virus thì hầu như không ức chế ADN polymerase của tế bào. Aciclovir triphosphate cũng được sử dụng như là một tiền chất cho sự tổng hợp ADN. Khi đã kết hợp vào chuỗi ADN đang nối dài ra ở vị trí của deoxyguanosine triphosphate thì làm cho sự nối dài chuỗi ADN bị gián đoạn. Như vậy, cách thức tác động của aciclovir là ngăn cản quá trình tổng hợp ADN của virus. Aciclovir ở nồng độ điều trị là thực sự không độc bởi vì sự phosphoryl hóa cần phải có enzyme kinase của virus; cho nên, không có aciclovir triphosphate ở trong các tế bào không bị nhiễm virus herpes simplex hoặc virus thủy đậu. Đã

tìm thấy trong lâm sàng các chủng virus herpes simplex đột biến đề kháng aciclovir. Có lẽ sự đột biến có ảnh hưởng đến gen kinase hoặc gen ADN polymerase.

2.1.2. Zidovudine (azidothymidine, AZT)

Zidovudine là một chất tương tự thymidine. Nó có tác dụng ức chế enzyme sao chép ngược của virus (reverse transcriptase) do đó ngăn cản sự phát triển của HIV.

Zidovudine được phosphoryl hóa thành dẫn xuất triphosphate nhờ các enzyme kinase của tế bào chủ. Triphosphate chỉ ức chế một mình enzyme sao chép ngược của HIV, cho nên quá trình sao mã ngược từ sợi ARN bộ gen của virus thành sợi ADN bổ xung bị ức chế. Nó cũng được kết hợp vào chuỗi ADN đang nối dài thay thế cho axit thymidylic, có thể làm cho sự nối dài chuỗi ADN bị gián đoạn.

Như vậy, Zidovudine ức chế sự tổng hợp ADN virus từ ARN bộ gen virus.

Zidovudine có một số hạn chế là: chỉ ức chế enzyme sao chép ngược của HIV tại tế bào T_{CD4}, không tác động được trên HIV nhân lên mạnh mẽ ở các đại thực bào hoặc một số tế bào khác. Có độc tính cao như gây buồn nôn, nôn, đau đầu mất ngủ, đặc biệt gây thiếu máu, giảm bạch cầu do ức chế tủy xương (gặp ở 50% bệnh nhân). Để khắc phục tình trạng đó, phải luân phiên dùng một số thuốc cùng nhóm.

Hiện nay có hai dideoxynucleoside được đưa vào điều trị AIDS là: Zalcitidine (dideoxycytidine hoặc ddC) và didanosine (dideoxyinosine hoặc ddI). Giống như Zidovudine, cả ddC và ddI đều tác động như những chất ức chế enzyme sao chép ngược của HIV.

2.1.3. Ribavirin

Ribavirin là một loại nucleoside tổng hợp tương tự guanosine có tác dụng ức chế in vitro sự phát triển của nhiều virus chứa ADN và virus chứa ARN. Nó khá độc đối với tế bào chủ, gây ra quái thai ở động vật. Mặc dù gây độc tế bào, ribavirin đã được sử dụng có kết quả trên lâm sàng trong hai trường hợp: bằng đường tĩnh mạch để điều trị bệnh sốt Lassa và bằng đường khí dung để điều trị các nhiễm trùng đường hô hấp do virus hợp bào đường hô hấp (R.S virus) gây ra ở trẻ nhỏ.

2.1.4 Vidarabine (Adenine arabinoside, ARA-A)

Đây là một nucleoside tổng hợp có cấu tạo tương tự adenosine. Nó biến thành dạng triphosphate nhờ các enzyme của tế bào và khi đó trở thành chất ức chế ADN polymerase của virus. Nó được dùng để điều trị nhiễm trùng herpes ở trẻ sơ sinh, bệnh thủy đậu ở những bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch.

2.1.5. Ganciclovir (Dihydroxy-propoxy-methyl-guanine, DHPG)

Ganciclovir là một nucleoside gần giống acyclovir, nó được hoạt hóa thành dạng triphosphate nhờ các enzyme của tế bào và nhờ một enzyme protein kinase của virus. Nó là một chất ức chế mạnh enzyme ADN polymerase của Cytomegalovirus.

Ganciclovir được dùng để điều trị các nhiễm trùng nặng do Cytomegalovirus gây ra như viêm phổi, viêm võng mạc, viêm đại tràng.

2.1.6. Idoxuridine và Trifluridine

Đây là những chất tương tự nucleoside có tác dụng kháng virus. Chúng rất độc. Do vậy cấm dùng đường toàn thân, chỉ dùng tại chỗ bên ngoài trong điều trị viêm giác mạc do virus Herpes.

2.2. Foscarnet (trisodium phosphonoformate)

Foscarnet có cấu trúc tương tự pyrophosphate. Nó ức chế ADN polymerase của virus herpes cũng như của virus viêm gan B và enzyme sao chép ngược của HIV. Trái với các nucleoside kháng virus, để có hiệu lực foscarnet không cần có sự phosphoryl hóa trước đã. Nó được dùng để điều trị viêm võng mạc do Cytomegalovirus ở những bệnh nhân AIDS. Foscarnet và ganciclovir có tác dụng ức chế hiệp đồng lên sự sao chép của Cytomegalovirus in vitro.

2.3. Methisazone (Marboran, IBT)

Methisazone là thiosemicarbazone có tác dụng ức chế sự nhân lên của Poxvirus bằng cách phong tỏa các ARN thông tin muộn của virus (ức chế sự dịch mã của Poxvirus). Thuốc này có tác dụng phòng ngừa bệnh đậu mùa và được sử dụng để điều trị các biến chứng của bệnh đậu vaccine như chàm, đậu lan toàn thân.

2.4. Các thuốc ức chế protease của HIV

Có một số loại thuốc ức chế enzyme protease của HIV được sử dụng trong điều trị HIV như saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir và lopinavir. Các thuốc ức chế protease cạnh tranh với polyprotein để gắn vào vị trí hoạt động của protease, ngăn cản sự cắt polyprotein của virus dẫn đến sự tạo thành các hạt virus không có khả năng gây nhiễm.

2.5. Interferon

Interferon (IFN) có tác dụng chống virus, điều hòa miễn dịch và chống lại các tế bào ung thư. Hai loại IFN - alpha và IFN - beta có tác dụng kháng virus, IFN - gamma có tác dụng điều hòa miễn dịch và ức chế tế bào ung thư.

Những đặc tính chống virus quan trọng của IFN là có hiệu lực ở nồng độ nanogram, có tác dụng chống lại tất cả các loài virus, và không có biến chứng đề kháng IFN. Nói chung, tác dụng chống virus của IFN có tính đặc hiệu loài. Vì thế, IFN dùng điều trị cho các nhiễm trùng ở người phải là IFN sản xuất từ các nuôi cấy tế bào người. Tác dụng chống virus chủ yếu của IFN là ức chế sự dịch mã của ARN thông tin của virus.

3. Thuốc ức chế sự giải phóng virus ra khỏi tế bào

Trong quá trình nhân lên của virus cúm, các virion được giải phóng ra khỏi tế bào theo kiểu nảy chồi với sự tham gia của neuraminidase. Nếu enzyme này bị ức chế thì virion không được giải phóng.

Các thuốc Zanamivir và Oseltamivir ngăn cản sự giải phóng các virion mới được hình thành bằng cách ức chế enzyme neuraminidase của virus cúm A và B. Các thuốc này tác động vào vị trí hoạt động của enzyme neuraminidase, làm bất hoạt enzyme này.

NHIỄM TRÙNG VÀ ĐỘC LỰC CỦA VI SINH VẬT

Mục tiêu học tập

1. *Nắm được các khái niệm liên quan đến sự tương tác giữa vi sinh vật nhiễm trùng và cơ thể vật chủ*
2. *Mô tả được vai trò gây bệnh của vi sinh vật gồm các yếu tố độc lực của vi sinh vật, số lượng vi sinh vật và đường xâm nhập*
3. *Trình bày được cơ sở di truyền của độc lực vi khuẩn và các phương thức vi khuẩn tránh được sự loại bỏ nó của cơ thể vật chủ*

I. ĐẠI CƯƠNG

Đối với vi khuẩn, cơ thể con người là môi trường sống thích hợp cho nhiều vi sinh vật, môi trường này có nhiệt độ, độ ẩm và thức ăn thích hợp cho chúng phát triển được. Nhiều vi khuẩn cư trú (colonization) trên bề mặt của cơ thể con người mà không gây hại cho cơ thể vật chủ, chúng sống cộng sinh (commensal) bình thường với cơ thể vật chủ và tạo nên thành phần khuẩn chí (normal microflora) của cơ thể, tuy nhiên những vi khuẩn chí này sẽ trở thành tác nhân gây bệnh khi vượt qua rào cản của cơ thể (da, niêm mạc) xâm nhập vào trong cơ thể vật chủ. Những vi khuẩn có độc lực như vi khuẩn bạch hầu, thương hàn, tả, vi khuẩn lỵ.. chúng luôn có cơ chế làm dễ dàng cho chúng phát triển ở cơ thể vật chủ và gây tổn thương tổ chức hoặc cơ quan của cơ thể và gây nên bệnh nhiễm trùng.

Khi vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào cơ thể vật chủ, trong những điều kiện tự nhiên và xã hội nhất định và gây nên một quá trình phản ứng tương tác phức tạp gọi là nhiễm trùng. Trong quá trình này vi sinh vật là nguyên nhân, cơ thể con người là đối tượng cảm thụ. Hoàn cảnh khách quan ảnh hưởng trực tiếp hoặc gián tiếp đến sự nhiễm trùng. Khi vi sinh vật chưa xâm nhập vào cơ thể thì yếu tố hoàn cảnh có ảnh hưởng trực tiếp đến con người và vi sinh vật gây bệnh tạo điều kiện thuận lợi hoặc không thuận lợi cho quá trình nhiễm khuẩn. Khi vi sinh vật đã xâm nhập vào cơ thể thì hoàn cảnh chỉ tác động vào con người và có ảnh hưởng đến vi sinh vật.

II. CÁC HÌNH THÁI CỦA SỰ NHIỄM TRÙNG

Quá trình nhiễm trùng đưa đến tổn thương tổ chức hoặc cơ quan của cơ thể vật chủ, làm rối loạn cơ chế điều hòa thần kinh, miễn dịch và làm xuất hiện những triệu chứng rõ của chứng bệnh. Đó là những bệnh nhiễm trùng thể lâm sàng. Độ trầm trọng của các triệu chứng bệnh phụ thuộc vào cơ quan bị ảnh hưởng và mức độ tổn thương của cơ quan do sự nhiễm trùng

Ở người khỏe mạnh bình thường, đa số trường hợp nhiễm trùng chỉ gây nên tổn thương tổ chức không đáng kể và về mặt lâm sàng không có những biểu hiện rõ ràng của chứng bệnh đó là nhiễm trùng thể ẩn. Nhiễm trùng không triệu chứng làm cho cơ thể vật chủ có được tính miễn dịch với tác nhân nhiễm trùng, giúp cho cơ thể loại bỏ hiệu quả sự nhiễm trùng do vi sinh vật đó vào lần sau.

Về phương tiện dịch tễ học, các nhiễm trùng thể ẩn rất nguy hiểm vì đó là nguồn lây lan mầm bệnh mà không biết trong các vụ dịch như dịch tả, dịch bại liệt, viêm gan tỷ lệ bệnh nhiễm trùng thể ẩn rất cao so với thể lâm sàng.

Diễn biến của một bệnh nhiễm trùng thường qua bốn giai đoạn: Ủ bệnh, khởi phát, toàn phát và hồi phục. Phần lớn bệnh nhiễm trùng sau khi hồi phục cơ thể được miễn dịch trong một thời gian dài tùy theo từng bệnh.

Bệnh nhiễm trùng có thể biểu hiện tại chỗ hoặc toàn thân, cấp tính hay mãn tính.

Lúc vi sinh vật gây bệnh trực tiếp truyền từ người này sang người khác, gây nên những quá trình nhiễm trùng mới thì chúng làm phát sinh bệnh truyền nhiễm. Bệnh truyền nhiễm có thể tản phát hay phát triển thành dịch địa phương hoặc thành đại dịch.

III. VI SINH VẬT GÂY BỆNH

Vi sinh vật gây bệnh là nguyên nhân của bệnh nhiễm trùng. Không có vi sinh vật gây bệnh thì không có nhiễm trùng. Khả năng gây bệnh của vi sinh vật phụ thuộc vào độc lực, số lượng vi sinh vật xâm nhập và đường xâm nhập.

1. Độc lực vi sinh vật

Là khả năng gây bệnh mạnh hay yếu của một loài vi sinh vật, vi khuẩn *Salmonella typhi* và *Salmonella paratyphi* đều gây nên bệnh sốt thương hàn, nhưng bệnh sốt thương hàn do *Salmonella typhi* biểu hiện với những triệu chứng bệnh trầm trọng hơn.

Để đánh giá độc lực của một chủng vi khuẩn, người ta dùng liều gây chết 50 (LD 50). LD 50 là liều lượng vi sinh vật hoặc độc tố của chúng làm chết 50% quần thể súc vật thí nghiệm trong một khoảng thời gian nhất định. Hiện nay người ta có xu hướng dùng đơn vị này hơn là liều gây chết tối thiểu (MLD). MLD là liều lượng nhỏ nhất của một chủng vi sinh vật hoặc độc tố của nó giết chết một súc vật thí nghiệm có trọng lượng nhất định, trong một khoảng thời gian thực nghiệm nhất định. MLD ít chính xác vì phụ thuộc vào trạng thái, chức năng của hệ miễn dịch và thần kinh của mỗi con vật thí nghiệm.

Độc lực của một chủng vi sinh vật không phải là cố định. Khi mới phân lập được ở cơ thể bệnh nhân vi sinh vật thường có độc lực cao nhưng qua quá trình cấy chuyển thì độc lực giảm dần và có khi mất hẳn, do đã chọn lọc lại những biến chủng thích nghi trong điều kiện mới. Trên cơ sở này nhiều loại vaccin vi sinh vật sống giảm độc đã được điều chế ví dụ như vaccin bại liệt, vaccin BCG. Ở vaccin BCG vi khuẩn có nguồn gốc đầu tiên là chủng vi khuẩn lao bò (*M. bovis*) rất độc nhưng qua nuôi cấy trên môi trường mật bò nhiều năm và cấy chuyển nhiều lần Calmette và Guérin đã tạo được một chủng vi khuẩn hoàn toàn không độc gọi là vi khuẩn BCG dùng làm vaccin phòng lao (Bacille de Calmette et Guérin). Mặt khác một chủng vi sinh vật giảm độc khi tiêm truyền vào cơ thể súc vật có thể làm gia tăng độc lực của chúng.

Độc lực của vi sinh vật bao gồm độc tố, khả năng bám dính và khả năng xâm nhiễm của chúng.

1.1 Khả năng bám dính

Bám dính là bước đầu tiên trong quá trình nhiễm trùng, nhiều vi khuẩn có trên bề mặt của chúng những đại phân tử gọi là các yếu tố bám dính (adhesin) nó làm trung gian cho sự bám dính của vi khuẩn vào các receptor đặc hiệu tìm thấy trên một số tế bào động vật nhưng không tìm thấy ở những tế bào khác. Những thành phần bám dính ở vi khuẩn có thể do pili đảm nhiệm, *E.coli* bám dính vào tế bào ruột hoặc tế bào biểu mô bàng quang hơn vào niêm mạc miệng. *Shigella* gây bệnh bám dính vào biểu mô ruột. Tương tự như vậy *Neisseria gonorrhoeae* bám dính vào biểu mô niệu đạo.

Kháng thể của thành phần bề mặt vi khuẩn không những có tác dụng opsonin hóa vi khuẩn mà còn trung hòa kháng nguyên ngăn cản vi khuẩn bám dính vào biểu mô. Hơn nữa glycoprotein trong chất tiết của cơ thể cạnh tranh với các receptor bám của vi khuẩn và ngăn cản sự bám dính của vi khuẩn, sự bong tế bào biểu mô bề mặt cũng là một cơ chế bảo vệ khác vì nó loại bỏ vi khuẩn bám dính vào tế bào

1.2 Khả năng xâm nhiễm

Là khả năng đi vào bên trong tổ chức của cơ thể vật chủ, nhân lên ở đó rồi lan tràn sang các vùng khác.

1.2.1. Khả năng tạo vỏ: Vỏ của nhiều vi khuẩn giúp cho vi khuẩn đề kháng lại sự thực bào, ví dụ rõ ràng nhất là phế cầu: so sánh một chủng phế cầu có vỏ (khuẩn lạc dạng S) và một chủng phế cầu không có vỏ (khuẩn lạc dạng R), thì chủng phế cầu có vỏ (S) gây bệnh ở chuột nhắt trong khi chủng không có vỏ (R) thì không bệnh. Ở *Streptococcus pyogenes* yếu tố kháng đại thực bào nằm ở mặt ngoài của vách tế bào.

1.2.2. Các enzyme: Nhiều vi khuẩn gây bệnh tạo được nhiều enzyme góp phần vào khả năng xâm nhiễm của chúng.

- Enzyme hyaluronidase do tụ cầu, liên cầu tiết ra làm thủy phân axit hyaluronic là thành phần cơ bản của mô liên kết, làm cho vi khuẩn phân tán vào mô dễ dàng.

- Collagenase phân hủy collagen thành phần của mô cơ.

- Streptokinase làm tan cục máu đông.

- Leucocidin giết chết bạch cầu.

- Hemolysin làm tan hồng cầu.

- Mucinase được một số vi khuẩn đường tiêu hóa tiết ra, làm phá vỡ lớp niêm dịch bao phủ niêm mạc ruột, tạo điều kiện vi khuẩn tiếp xúc trực tiếp với tế bào và xâm nhập vào bên trong biểu mô.

1.3. Khả năng sinh độc tố

Độc tố được tạo thành trong quá trình chuyển hóa của vi khuẩn. Người ta chia độc tố của vi khuẩn thành ngoại độc tố và nội độc tố.

1.3.1. Ngoại độc tố: Do một số vi khuẩn gram dương và vi khuẩn gram âm tạo thành và phân tiết ra môi trường xung quanh, bản chất hóa học của nó là protein, có tính chất sinh kháng cao và dễ bị phá hủy bởi nhiệt độ (60°C). Nhiều ngoại độc tố của vi khuẩn như ngoại độc tố của bạch hầu, uốn ván, ngộ độc thịt được chiết xuất dưới dạng tinh khiết. Ngoại độc tố có độc tính mạnh, ví dụ chỉ cần 0,02mg ngoại độc tố bạch hầu có thể giết chết một người.

Ngoại độc tố khi được xử lý bằng focmol hoặc bằng nhiệt độ sau một thời gian thì mất tính độc mà vẫn giữ hoàn toàn tính chất kháng nguyên, chế phẩm này được gọi là giải độc tố dùng để làm vaccin phòng bệnh đặc hiệu.

1.3.2. Nội độc tố: Độc tố này liên hệ chặt chẽ với vách tế bào vi khuẩn gram âm, nó không khuếch tán ra môi trường bên ngoài, chỉ khi nào vi khuẩn chết, tế bào bị phá hủy thì nội độc tố mới được phóng thích ra bên ngoài.

Cấu tạo hóa học vách của vi khuẩn gram âm là một hỗn hợp glucit, lipid và protein trong đó thành phần có độc tính của nội độc tố chủ yếu là thành phần lipid A của lớp lipopolysacarit của vách tế bào. Nội độc chịu nhiệt cao, độc tính yếu hơn so với ngoại độc tố. Hiện nay người ta biết rõ ràng nội độc tố của vi khuẩn gram âm (-) có những tác động sinh

học vừa có lợi cho cơ thể vật chủ kích thích đáp ứng miễn dịch mặt khác nó cũng tác động độc gây choáng và chết.

Tính chất sinh miễn dịch của nội độc tố yếu, không có khả năng biến thành giải độc tố khi xử lý với focmol.

2. Độc lực của virus

Khác với vi khuẩn, virus là tác nhân xâm nhập nội bào bắt buộc. Virus có cấu trúc đơn giản, virus không chứa các enzyme và các bộ máy phân bào cần thiết để chuyển hóa và phát triển. Virus chỉ nhân lên được khi xâm nhập vào trong tế bào của cơ thể vật chủ, chúng sử dụng các vật liệu có sẵn của tế bào để tổng hợp và nhân lên trên cơ sở thông tin di truyền của chúng. Các virus mới hình thành trong tế bào vật chủ sẽ phá vỡ tế bào để phóng thích các virus mới ra môi trường và tiếp tục chu kỳ nhân lên ở các tế bào kế cận. Như vậy tính chất gây bệnh của virus liên hệ đến.

- Phá vỡ quần thể tế bào bị xâm nhiễm
- Thay đổi hình thái, cấu trúc và làm cho tế bào mất chức năng.

3. Số lượng vi sinh vật

Cơ thể con người có những cơ chế bảo vệ hữu hiệu. Vi sinh vật chỉ gây bệnh lúc số lượng xâm nhập đạt một mức nào đó. Nếu số lượng ít quá thì vi sinh vật dễ dàng bị cơ thể vật chủ loại bỏ. Thí nghiệm ở những người tình nguyện cho thấy số lượng *Salmonella typhi* nuốt vào ruột để có thể gây bệnh vào khoảng 10^6 hoặc để gây bệnh tả thực nghiệm, những người tình nguyện phải uống các dung dịch natri bicarbonate để làm kiềm hóa dịch dạ dày đồng thời uống một lượng khoảng 10^9 vi khuẩn tả.

4. Đường xâm nhập

Đường xâm nhập cũng ảnh hưởng đến khả năng gây bệnh nhiễm trùng. Nhiều vi sinh vật có đặc tính hướng cơ quan, chúng chọn lọc bề mặt tổ chức mà chúng xâm nhiễm. Não mô cầu và phế cầu thường tìm thấy ở vùng mũi hầu nhưng phế cầu thì xâm nhiễm đường hô hấp dưới gây nên viêm phổi trong khi não mô cầu xâm nhiễm đường hô hấp trên và xâm nhập gây viêm màng não. Vi sinh vật chỉ gây bệnh lúc chúng xâm nhập cơ thể qua đường thích hợp: Vi khuẩn thương hàn qua đường miệng, lậu cầu qua đường sinh dục, trực khuẩn uốn ván qua đường vết thương, viêm gan virus A, virus bại liệt qua đường miệng, virus viêm gan B qua đường tiêm chuyen...

IV. CƠ SỞ DI TRUYỀN CỦA ĐỘC LỰC VI SINH VẬT

Các yếu tố độc lực của vi sinh vật có thể được mã hoá trên DNA nhiễm sắc thể, trên DNA của bacteriophage, trên các plasmid hoặc trên các đoạn gen nhảy nằm trên plasmid hoặc nằm trên nhiễm sắc thể.

Độc tố của nhiều vi khuẩn gây bệnh được mã bởi một đoạn gen trên nhiễm sắc thể của vi khuẩn như độc tố ruột của vi khuẩn tả, độc tố ruột của các loài *Shigella*, hoặc ngoại độc tố A của *Pseudomonas aeruginosa*. Các yếu tố xâm nhiễm của *E. coli*, độc tố bong da của *S. aureus*, độc tố của vi khuẩn than được mã hoá bởi một đoạn gen trên plasmid của vi khuẩn. Ở nhiều vi khuẩn chúng có khả năng tạo độc tố khi chúng bị nhiễm bởi các bacteriophage đặc hiệu, các bacteriophage tích hợp đoạn DNA của chúng vào DNA của vi khuẩn, ở trạng thái này vi khuẩn sản xuất độc tố như độc tố của bạch hầu, độc tố sinh đở của *Streptococcus pyogenes*.

Với các kỹ thuật phân tử hiện nay người ta dễ dàng xác định các gen độc lực của các vi khuẩn gây nhiễm trùng, điều này rất có ý nghĩa để tìm nguồn gốc dịch tễ học của chủng vi khuẩn gây bệnh, và để chẩn đoán nguyên nhân các bệnh nhiễm trùng

V. SỰ TRÁNH NÉ VỚI ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CỦA VI SINH VẬT

Về lý thuyết, vi khuẩn tồn tại trong cơ thể vật chủ càng lâu thì chúng càng có nhiều thời gian để gây tổn thương cho cơ thể, vì vậy những vi sinh vật tránh né được sức đề kháng của cơ thể vật chủ thì có khả năng hơn để gây bệnh

1. Sự lẩn tránh trong tổ chức hoặc tế bào

Nhiều vi sinh vật nằm bên trong tế bào tránh được tác dụng có hại cho chúng của kháng thể và thuốc kháng sinh. *Mycobacterium tuberculosis* và *M. leprae* thoát khỏi cơ chế miễn dịch tế bào do ngăn cản sự hòa nhập các lysozim của đại thực bào với các phagosome của lưới nguyên tương có chứa vi khuẩn. Virus herpes simplex và virus zoster sau khi xâm nhập vào tế bào biểu mô, các virus này đến vùng hạch rễ thần kinh lưng và chúng tồn tại ở trong đó một thời gian dài, Epstein-Barr virus tồn tại được trong tế bào lympho B...

2. Các yếu tố hòa tan của vi sinh vật

Nhiều vi khuẩn có khả năng tạo ra các yếu tố hòa tan làm trở ngại đáp ứng miễn dịch của cơ thể vật chủ chống lại nó. Ví dụ nhiều chủng tụ cầu sản sinh protein A kết hợp với vùng Fc của phân tử kháng thể ảnh hưởng đến chức năng của kháng thể trong quá trình opsonin hóa, lậu cầu và nhiều nấm mô cầu tạo ra enzyme protease phá hủy phân tử IgA miễn dịch

3. Thay đổi kháng nguyên

Sự thay đổi kháng nguyên vi sinh vật thấy rõ ràng nhất ở virus cúm. Virus này có hai quyết định kháng nguyên chính: kháng nguyên ngưng kết hồng cầu (H) và kháng nguyên neuramidase (N). Những thay đổi nhỏ về đặc tính kháng nguyên làm xuất hiện typ virus mới. typ mới này thoát khỏi sự bất hoạt của kháng thể có trong máu của người bệnh đã bị nhiễm trùng trước đây bởi typ virus bố mẹ.

KHÁNG NGUYÊN VI SINH VẬT

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được các kháng nguyên của vi khuẩn.
2. Trình bày được các kháng nguyên của virus.

Đối với cơ thể người và động vật thì vi sinh vật và những chất độc của chúng là những kháng nguyên. Mỗi chủng vi sinh vật được cấu tạo bởi nhiều chất phức tạp và có tính kháng nguyên khác nhau, cho nên mỗi chủng vi sinh vật đều có nhiều kháng nguyên.

I. KHÁNG NGUYÊN CỦA VI KHUẨN

Chia làm 2 loại :

1. Các kháng nguyên hòa tan

Đó là những kháng nguyên do vi khuẩn bài tiết ra môi trường xung quanh trong quá trình phát triển. Chúng bao gồm các kháng nguyên ngoại tế bào có bản chất là protein như các độc tố và các enzyme.

1.1. Kháng nguyên ngoại độc tố

Các vi khuẩn bạch hầu, uốn ván, ngộ độc thịt.v.v... Có ngoại độc tố là những kháng nguyên mạnh và có khả năng biến đổi thành giải độc tố sau khi xử lý với formol ở 40°C trong một thời gian. Giải độc tố không còn độc tính nhưng vẫn giữ được khả năng sinh miễn dịch, được dùng để làm vaccine phòng bệnh rất tốt. Các vaccine phòng bệnh bạch hầu, bệnh uốn ván đều là những giải độc tố.

Vi khuẩn tả và một số *E.coli* như ETEC gây bệnh bằng cơ chế sinh ra độc tố ruột (enterotoxin). Độc tố ruột có tính kháng nguyên cao, kích thích sự hình thành kháng thể IgA tiết tại ruột, chủ yếu chống lại phần B của độc tố ruột.

1.2. Kháng nguyên enzyme

Trong các enzyme ngoại tế bào có tính kháng nguyên mạnh, đáng kể nhất là các dung huyết tố. Ví dụ như dung huyết tố Streptolysin O của liên cầu là một kháng nguyên mạnh, kích thích cơ thể hình thành antistreptolysin O (ASO) , phản ứng huyết thanh ASO thường được dùng trong chẩn đoán bệnh liên cầu. Enzyme Streptokinase do nhiều chủng liên cầu tan máu β tạo thành cũng là một kháng nguyên tốt kích động sự hình thành antistreptokinase (ASK).

2. Các kháng nguyên tế bào

Tế bào vi khuẩn có bao nhiêu thành phần cấu tạo thì có bấy nhiêu loại kháng nguyên.

2.1. Kháng nguyên của vách tế bào vi khuẩn

- Vi khuẩn Gram dương: Cấu tạo chính của vách tế bào vi khuẩn Gram dương là peptidoglycan gọi là murein. Nhiệm vụ chính của murein là làm sườn cơ bản của vách tế bào còn vai trò sinh miễn dịch rất thứ yếu. Những thành phần cấu tạo khác của vách tế bào mặc dù ở tỷ lệ thấp nhưng có tính kháng nguyên cao, đó là:

+ Các protein: thường là kháng nguyên gây ngưng kết đặc hiệu, căn cứ vào đó có thể chia vi khuẩn thành nhiều nhóm, mỗi nhóm thành nhiều type, thí dụ như protein A của tụ cầu, protein M của liên cầu A.

+ Polysaccharide: thường là những hapten, chỉ khi nào gắn với một protein thì mới trở thành có tính sinh miễn dịch, ví dụ như polysaccharide C của liên cầu, phế cầu.

- Vi khuẩn Gram âm : Ở vách tế bào vi khuẩn Gram âm, thành phần kháng nguyên chủ yếu là phức hợp protein - lipid - polysaccharide trong đó thành phần protein làm cho phức hợp có tính chất kháng nguyên, phần polysaccharide quy định tính đặc hiệu của kháng nguyên, phần lipid có tính độc. Kháng nguyên vách tế bào vi khuẩn Gram âm thường được gọi là kháng nguyên O có bản chất là lipopolysaccharide (LPS) . Kháng nguyên O (LPS) là nội độc tố của vi khuẩn Gram âm.

2.2. Kháng nguyên vỏ của vi khuẩn

Một số vi khuẩn có vỏ bọc ngoài vách tế bào, che chở vi khuẩn chống hiện tượng thực bào. Kháng nguyên vỏ bản chất thường là những polysaccharide đặc hiệu type như phế cầu dạng S, *E.coli*..., nhưng cũng có thể là polypeptide như vỏ của trực khuẩn than, trực khuẩn dịch hạch.

2.3. Kháng nguyên lông của vi khuẩn

Một số vi khuẩn Gram âm có kháng nguyên lông bản chất là protein mang tính đặc hiệu type. Kháng nguyên lông không đóng vai trò quan trọng trong việc gây bệnh, nhưng có tác dụng trong việc chẩn đoán và xếp loại vi khuẩn. Kháng nguyên lông thường được gọi là kháng nguyên H.

2.4. Kháng nguyên bề mặt Vi

Một vài loài *Salmonella* có một lớp polysaccharide mỏng bao bọc bên ngoài vách tế bào vi khuẩn, không nhìn thấy được ở kính hiển vi quang học. Ví dụ như kháng nguyên Vi của *Salmonella typhi*.

II. KHÁNG NGUYÊN CỦA VIRUS

Các kháng nguyên của virus được chia ra làm 2 loại: các kháng nguyên hòa tan và các kháng nguyên là thành phần cấu tạo hạt virus.

1. Các kháng nguyên hòa tan

Đó 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 các enzyme của virus, những thành phần cấu tạo mà virus đã tổng hợp thừa trong quá trình nhân lên. Các kháng nguyên này ít có ý nghĩa thực tế.

2. Các kháng nguyên hạt virus

Mọi virus đều có 2 thành phần cấu tạo cơ bản là axit nucleic và capsid. Một số virus còn có vỏ ngoài (envelope).

2.1. Kháng nguyên nucleoprotein

Là phức hợp kháng nguyên tạo nên bởi axit nucleic và protein. Ở virus cúm, ribonucleoprotein là kháng nguyên đặc hiệu type.

2.2. Kháng nguyên của capsid

Là kháng nguyên quan trọng và mạnh nhất của virus vì capsid chứa phần lớn protein của virus . Nó có thể là kháng nguyên riêng biệt hoặc gắn với nucleoprotein thành một kháng nguyên phức hợp. Vỏ protein gây nên trong cơ thể những kháng thể trung hòa đảm bảo miễn dịch đặc hiệu chống lại virus. Kháng nguyên này đóng vai trò quan trọng trong phân loại các virus không có vỏ ngoài (envelope).

2.3. Kháng nguyên của vỏ ngoài (envelope)

Bản chất hoá học của vỏ ngoài thường là lipoprotein, ở một số virus là glycoprotein. Trên vỏ thường chứa các kháng nguyên đặc hiệu như yếu tố gây ngưng kết hồng cầu hoặc neuraminidase, kháng nguyên ngưng kết hồng cầu giúp ích nhiều cho việc phát hiện và chẩn đoán virus.

SỰ ĐỀ KHÁNG CỦA CƠ THỂ CHỐNG LẠI CÁC VI SINH VẬT GÂY BỆNH

Mục tiêu học tập

Trình bày được các cơ chế bảo vệ không đặc hiệu và đặc hiệu của cơ thể chống lại các vi sinh vật gây bệnh.

Cơ thể con người phải đối phó rất nhiều loài vi sinh vật. Chúng khác nhau về cấu trúc, thành phần hóa học, cách xâm nhiễm cũng như hoạt động ở trong cơ thể con người. Cơ chế bảo vệ không đặc hiệu được huy động đầu tiên để ngăn cản vi sinh vật xâm nhập cơ thể hoặc giảm số lượng cũng như khả năng gây nhiễm của chúng. Trong quá trình chống vi sinh vật có sự phối hợp chặt chẽ của cơ chế bảo vệ không đặc hiệu với cơ chế bảo vệ đặc hiệu cũng như cơ chế miễn dịch thể dịch và cơ chế miễn dịch tế bào.

I. CƠ CHẾ BẢO VỆ KHÔNG ĐẶC HIỆU

Cơ chế này bao gồm nhiều hệ thống sẵn có của cơ thể nên nó hoạt động đầu tiên nhằm mục đích ngăn cản sự xâm nhập của mọi loài vi sinh vật gây bệnh.

1. Da và niêm mạc

Da và niêm mạc là rào cản đầu tiên ngăn chặn sự xâm nhập của các vi sinh vật vào cơ thể bằng các cơ chế sau:

1.1. Cơ học

Các tế bào sừng hóa ở da, tế bào biểu mô có lông của niêm mạc đường hô hấp và tiêu hóa là các vật cản và đẩy lùi các vi sinh vật lạ xâm nhập.

1.2. Vật lý và hóa học

Sự bài tiết các chất bã nhờn (axit béo), bài tiết mồ hôi (axit lactic) trên bề mặt da và độ pH thấp (môi trường axit) của một số vị trí ở da và niêm mạc dạ dày hay đường tiết niệu sinh dục... có tác dụng ức chế và diệt các vi sinh vật. Lysozym có trong nước bọt, nước mắt, dịch nhầy mũi họng... có tác dụng diệt vi sinh vật.

1.3. Cạnh tranh sinh học

Xảy ra giữa các vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào da và niêm mạc với quần thể vi sinh vật bình thường cư trú trên bề mặt da, niêm mạc của cơ thể. Chính điều này đã tạo ra sự bảo vệ tự nhiên cho cơ thể.

2. Phản ứng viêm

Khi vi sinh vật qua được da và niêm mạc, cơ thể chống lại bằng phản ứng viêm tại chỗ nơi vi sinh vật vừa lọt vào. Viêm là một phản ứng tích cực của cơ thể với các biểu hiện sưng, nóng, đỏ và đau. Tại chỗ viêm có sự tập trung các tế bào như bạch cầu đa nhân trung tính, các đại thực bào, các lympho bào... và các chất có hoạt tính sinh học như histamin, serotonin, các men gây phân hủy tổ chức. Tại chỗ viêm: tuần hoàn chậm, giãn mạch, các chất diệt khuẩn có trong máu tràn vào ổ viêm, có sự thay đổi sinh hóa như tăng axit lactic, pH giảm làm cho vi sinh vật phát triển không thuận lợi. Có hàng rào fibrin bao bọc ngăn cách ổ viêm không cho vi sinh vật lan rộng. Quá trình viêm có thể lan tỏa, có thể khu trú trong các ổ viêm, song đều nhằm một mục đích là ngăn cản sự xâm nhập và lan tỏa của các vi sinh vật gây bệnh và các sản phẩm độc hại của chúng.

3. Bạch cầu trung tính

Xâm nhập vào bên trong cơ thể vi sinh vật bị các bạch cầu trung tính và tế bào mono tấn công. Trên bề mặt bạch cầu trung tính có các thụ thể (receptor) dành riêng cho Fc của IgG và thụ thể cho C₃ của bổ thể nên dễ bám và bắt các vi khuẩn đã gắn với kháng thể và bổ thể, đó là hiện tượng opsonin hóa. Hiện tượng này làm cho thực bào xảy ra nhanh chóng hơn, nhất là vi khuẩn có vỏ polysaccharit như phế cầu. Với khả năng bắt và tiêu diệt vi khuẩn, bạch cầu trung tính rất quan trọng trong các phản ứng viêm cấp tính.

4. Đại thực bào

Nếu vi sinh vật thoát khỏi bạch cầu trung tính thì chúng theo máu và bạch huyết đến các tổ chức. Ở đây chúng bị các đại thực bào tấn công. Các tế bào đơn nhân thực bào bắt nguồn từ một loại tế bào tủy xương, phát triển thành tế bào chín tuần hoàn trong máu ngoại vi rồi đến các tổ chức khác nhau: Tế bào mono tìm thấy trong tủy xương và máu, các đại thực bào trong các tổ chức. Chức năng quan trọng của đại thực bào là bắt giữ và xử lý các vật lạ. Gọi là thực bào lúc vật lạ có kích thước lớn như tế bào, vi khuẩn, ký sinh trùng đơn bào... hoặc ẩm bào nếu vật lạ là phân tử dưới dạng hòa tan. Thực bào phải qua các giai đoạn: bám, nuốt và tiêu hóa. Phần lớn các vi sinh vật bị các lysosom tiêu diệt, chúng bị nhện chìm trong các bong bóng liên kết với các lysosom để hình thành các phagolysosom. Các đại thực bào và tế bào mono tiêu diệt vi sinh vật theo một cơ chế giống như bạch cầu trung tính thông qua các thụ thể (receptor) dành cho Fc và C₃. Một số vi khuẩn độc lực như vi khuẩn lao, *Listeria*, *Brucella*... không những không bị tiêu diệt mà còn có thể nhân lên trong đại thực bào và thoát khỏi tác dụng của các chất trong huyết thanh có khả năng tiêu diệt chúng.

5. Kháng thể tự nhiên

Có một số protein trong huyết thanh bình thường với những đặc tính cấu trúc của globulin miễn dịch. Chúng phản ứng đặc hiệu với một vài kháng nguyên mặc dù cá nhân trong đó chúng được tìm thấy chưa hề tiếp xúc với những kháng nguyên đó. Chúng được tìm thấy trong huyết thanh ở hiệu giá thấp và có thể có một vai trò có ý nghĩa trong sự đề kháng với một vài nhiễm trùng. Sự thực bào đối với các vi khuẩn gây bệnh được tăng cường bởi các kháng thể tự nhiên do tác dụng opsonin hóa. Kháng thể tự nhiên được hình thành do cơ thể tiếp xúc với một vi sinh vật nào đó có chung thành phần kháng nguyên với vi sinh vật gây bệnh hoặc do tiếp xúc không biết với kháng nguyên hiện diện trong thiên nhiên ví dụ nhiễm trùng không biểu hiện hoặc ở trong thức ăn.

6. Bổ thể

Tìm thấy trong huyết thanh của động vật, không bền với nhiệt (56⁰/30 phút). Bổ thể (C') gồm chín thành phần C₁ - C₉. Lúc thành phần thứ nhất bị kích động bởi một phức hợp miễn dịch thì nó có khả năng kích động nhiều phân tử của thành phần thứ hai và như thế tạo nên một hiệu ứng dây chuyền khuếch đại. Theo cách này sự kích động một phân tử của C₁ làm kích động hàng nghìn phân tử của thành phần tiếp theo. Ở mỗi giai đoạn, sự kích động làm xuất hiện hoạt tính enzyme mới. Thành phần cuối làm thủng một lỗ trên màng tế bào và làm cho tế bào chết. Như thế qua phản ứng khuếch đại dây chuyền, sự kích động thành phần C₁ có thể dẫn đến sự tiêu bào nhận biết bằng mắt.

Hoạt tính sinh học của bổ thể:

6.1. Làm tan tế bào

Mô hình phổ biến là phản ứng miễn dịch làm tan hồng cầu. Khái quát hơn phản ứng kết hợp bổ thể gây tan vi khuẩn, tế bào ung thư. Bổ thể làm tan vi khuẩn lần đầu tiên được Pfeiffer phát hiện lúc tiêm vi khuẩn tả vào phúc mạc chuột lang đã miễn dịch với phẩy khuẩn tả.

6.2. Dự phần vào hiện tượng opsonin hóa

Bề mặt của bạch cầu trung tính có thụ thể dành cho Fc của IgG và thụ thể dành cho C_{3b} của bổ thể nên bạch cầu trung tính dễ bám và bắt các vi khuẩn đã gắn với kháng thể và bổ thể. Đó là hiện tượng opsonin hóa.

6.3. Miễn dịch kết dính

Phản ứng miễn dịch kết dính xảy ra giữa các phức hợp đã được bao phủ bởi C_{3b} với một số tế bào như bạch cầu trung tính, đại thực bào, tế bào mono ở người.

Đối với tế bào, hiện tượng miễn dịch kết dính có tác dụng thúc đẩy hiện tượng thực bào. Nó còn có tác dụng khởi động sự giải phóng các enzyme từ lysosom của bạch cầu trung tính làm nhiệm vụ thực bào.

6.4. Hoạt tính hóa hướng động

Một số sản phẩm phân hóa được phóng thích trong phản ứng của chuỗi bổ thể như C_{5a}, Phức hợp C₅, C₆, C₇ có hoạt tính hóa hướng động đối với bạch cầu máu ngoại vi của người.

6.5. Hoạt tính phản vệ

C_{3a}, và C_{5a} là sản phẩm phân hóa của C₃ và C₅. Các sản phẩm này gây nên co bóp cơ trơn, gây nên hiện tượng giãn huyết quản và tăng tính thấm thấu của mao mạch tương tự như histamin.

7. Properdin

Thu được từ huyết thanh bình thường bằng cách hấp phụ lên Zymosan, một thành phần của vách tế bào nấm men. Nó có thể giết chết nhiều vi khuẩn và virus với sự hiện diện của Mg⁺⁺ và bổ thể qua sự hoạt hóa theo con đường tắt.

8. Interferon (INF)

Khi cơ thể bị nhiễm virus, một chất có vai trò quan trọng trong giai đoạn đầu để ức chế và diệt virus đó là IFN. IFN là những glycoprotein do nhiều loại tế bào sản xuất ra sau khi có tác dụng kích thích của virus. IFN xuất hiện sớm (vài giờ) sau nhiễm virus và tồn tại ngắn khoảng vài ngày đến vài tuần. IFN có tính đặc hiệu loài, IFN do các tế bào loài nào sinh ra thì chỉ bảo vệ được cho các tế bào của loài đó. Nó có tác động ngăn cản sự nhân lên của nhiều loại virus khác nhau chứ không phải chỉ với virus đã kích thích sinh ra IFN. Như vậy IFN không tác dụng đặc hiệu cho từng loại virus gây bệnh. IFN không tác động trực tiếp lên virus như kháng thể. Chúng tác động đến tế bào, kích thích tế bào dùng cơ chế enzyme để ngăn cản sự nhân lên của virus.

II. CƠ CHẾ BẢO VỆ ĐẶC HIỆU

Các cơ chế miễn dịch không đặc hiệu có thể hoạt động độc lập nhưng thường tác động hợp đồng với cơ chế miễn dịch đặc hiệu, do đó làm tăng hiệu quả của cơ chế miễn dịch đặc hiệu lên rất nhiều, nhất là đối với các vi sinh vật có độc lực cao. Các cơ chế bảo vệ đặc hiệu chỉ có được khi cơ thể đã tiếp xúc với các kháng nguyên của một vi sinh vật gây bệnh nào đó (do nhiễm trùng hoặc do dùng vaccin). Cơ chế bảo vệ đặc hiệu gồm có miễn dịch dịch thể bảo vệ và miễn dịch tế bào bảo vệ.

1. Cơ chế miễn dịch dịch thể bảo vệ

Sự hồi phục của cơ thể vật chủ trong nhiều trường hợp nhiễm vi sinh vật phụ thuộc vào sự xuất hiện của kháng thể bảo vệ. Sự tồn tại của kháng thể này cũng giúp cho cơ thể đề phòng tái nhiễm. Kháng thể có những tác dụng khác nhau đối với vi sinh vật.

1.1. Ngăn cản vi sinh vật bám

Đối với nhiều loài vi sinh vật gây bệnh, việc bám vào niêm mạc đường tiêu hóa, tiết niệu, hô hấp là bước quan trọng để chúng có thể gây bệnh như *E.coli*, lậu cầu, vi khuẩn tả, *Mycoplasma*, các loại virus. Các kháng thể thường là IgA tiết (IgAs) có khả năng ngăn cản các vi sinh vật bám vào niêm mạc.

1.2 Trung hòa độc lực của virus, Rickettsia, ngoại độc tố và enzyme

Các kháng thể IgG, IgA và IgM khi kết hợp đặc hiệu với các kháng nguyên trên, đã làm cho các virus, *Rickettsia*, ngoại độc tố và enzyme mất khả năng gây bệnh.

1.3. Làm tan các vi sinh vật trong trường hợp có bổ thể tham gia

Các kháng thể IgG, IgA và IgM khi kết hợp đặc hiệu với các kháng nguyên là các vi sinh vật đã hoạt hóa bổ thể dẫn tới làm tan tế bào vi sinh vật (vi khuẩn Gram âm, virut).

1.4. Ngưng kết vi sinh vật và kết tủa các sản phẩm hòa tan của vi sinh vật

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

1.5. Opsonin hóa

Lúc opsonin hóa tức là kết hợp với kháng thể và bổ thể vi sinh vật dễ dàng bị bạch cầu trung tính và đại thực bào tiêu diệt vì trên bề mặt của bạch cầu trung tính và đại thực bào có các thụ thể dành cho Fc của kháng thể và C_{3b} của bổ thể và do đó bị tiêu diệt nhanh chóng hơn. Qua opsonin hóa sự thực bào ngay cả với những vi sinh vật có độc lực cũng được thực hiện mạnh mẽ.

1.6. Hiện tượng gây độc tế bào do tế bào phụ thuộc kháng thể (Antibody dependent cellular cytotoxicity: ADCC)

Gọi tắt là hiệu quả ADCC. Các tế bào gây nên hiện tượng này là các lympho K còn gọi là tế bào Null. Ngoài ra đại thực bào và tế bào mono cũng gây ra hiệu quả trên đây. Cho đến nay chưa hiểu hết cơ chế làm tan tế bào do hiệu quả ADCC. Một số nghiên cứu cho rằng hiện tượng tan tế bào do hiệu quả ADCC có điểm giống tan tế bào do lympho T gây độc, một số khác lại cho rằng hiện tượng tan tế bào này dẫn đến vỡ màng tế bào giống như sự tác dụng của kháng thể và bổ thể. Hiệu quả ADCC liên quan đến tế bào ung thư, nhưng các vi sinh vật cũng bị tiêu diệt theo cơ chế này. Tuy in vitro người ta đã chứng minh khả năng giết vi khuẩn và tế bào nhiễm virus theo cơ chế của hiệu quả ADCC nhưng cho đến nay chưa hiểu hết tầm quan trọng của hiệu quả này. Trong bệnh viêm gan B có thể hiệu quả ADCC có vai trò quan trọng trong việc tiêu diệt các tế bào gan nhiễm virus. Ở trẻ em bị sởi hiệu quả ADCC cũng có tác dụng diệt tế bào nhiễm virus nhưng chưa rõ ý nghĩa lâm sàng của hiệu quả này.

2. Cơ chế miễn dịch qua trung gian tế bào bảo vệ

Một số vi khuẩn như vi khuẩn lao, vi khuẩn phong cũng như *Listeria*, *Brucella* và tất cả các virus có khả năng sống và tiếp tục phát triển ở bên trong tế bào nên kháng thể không thể tiếp cận với các vi sinh vật này. Chính cơ chế miễn dịch qua trung gian tế bào gọi tắt là đáp ứng miễn dịch tế bào có vai trò quan trọng trong việc chống lại các vi sinh vật ký sinh bên trong tế bào. Có hai hình thức đáp ứng miễn dịch tế bào: Một hình thức do lympho T gây quá mẫn muộn (Delayed-type hypersensitivity T lymphocyte: Lympho T_{DTH}) và đại thực bào phụ trách, một hình thức do lympho T gây độc (Cytotoxicity T lymphocyte: lympho T_c) phụ trách.

2.1. Hình thức đáp ứng miễn dịch tế bào do lympho T_{DTH} (lympho T gây quá mẫn muộn) và đại thực bào phụ trách

Gồm hai giai đoạn: Trong giai đoạn đầu xảy ra sự tương tác giữa đại thực bào làm nhiệm vụ trình diện kháng nguyên với các lympho T_{DTH} để cho các lympho T_{DTH} nhận diện các quyết định kháng nguyên. Ngoài sự kích thích của kháng nguyên, lympho T_{DTH} còn nhận sự kích thích của Interleukin 2 do Lympho T cảm ứng tiết ra. Sau khi nhận hai kích thích, một của quyết định kháng nguyên, một của Interleukin 2, lympho T_{DTH} trở thành dạng hoạt hóa và phân chia để tăng sinh. Trong giai đoạn 2, lympho T_{DTH} hoạt hóa tiết ra các lymphokin, đó là những chất hòa tan có tác dụng trên các hoạt động của các tế bào khác như đại thực bào, bạch cầu trung tính... Sau khi được hoạt hóa bởi lymphokin, các đại thực bào trở nên có khả năng tiêu diệt các vi sinh vật nội bào như vi khuẩn lao, *Brucella*, *Listeria*, *Salmonella typhi*.

2.2. Hình thức đáp ứng miễn dịch tế bào do lympho T_c (lympho T gây độc) phụ trách

Những nghiên cứu trên tế bào người cho thấy ở người cũng có hình thức đáp ứng miễn dịch tế bào do lympho T_c đảm nhận. Lympho T_c của người bị sốt có thể diệt các tế bào đích nhiễm virus in vitro. Lúc lympho T_c và tế bào đích lấy từ một cơ thể thì khả năng tiêu diệt tế bào đích đạt tối đa.

Lympho T_c có khả năng tiêu diệt các tế bào đích bị nhiễm virus (sởi, cúm, Epstein Barr...) khi các lympho T_c nhận diện cả kháng nguyên virus lẫn kháng nguyên phù hợp tổ chức trên bề mặt tế bào đích. Ngoài sự kích thích của kháng nguyên, lympho T_c còn nhận sự kích thích của interleukin 2. Sau khi nhận hai kích thích, một của kháng nguyên, một của Interleukin 2, tiền lympho T_c được hoạt hóa thành lympho T_c hoạt động có khả năng diệt tế bào đích nhiễm virus. Cơ chế lympho T_c diệt các tế bào đích nhiễm virus hiện nay chưa được sáng tỏ.

KỸ THUẬT MIỄN DỊCH SỬ DỤNG TRONG CHẨN ĐOÁN VI SINH VẬT

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được nguyên lý của một số kỹ thuật miễn dịch.
2. Biết áp dụng một số kỹ thuật huyết thanh học trong chẩn đoán bệnh nhiễm trùng.

I. BẢN CHẤT CỦA SỰ KẾT HỢP GIỮA KHÁNG NGUYÊN VÀ KHÁNG THỂ

Sự kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể phụ thuộc vào cấu trúc bề mặt của kháng nguyên và kháng thể. Sự kết hợp này xảy ra giữa một phần rất giới hạn giữa phân tử kháng nguyên (nhóm quyết định) và một phần rất giới hạn của phân tử kháng thể (trung tâm hoạt động).

Theo Pauling, phân tử kháng thể thường hóa trị hai nghĩa là cùng một lúc có thể kết hợp với hai phân tử kháng nguyên. Còn kháng nguyên đa hóa trị nên cùng một lúc có thể kết hợp với nhiều phân tử kháng thể. Cho nên kháng nguyên và kháng thể kết hợp với nhau để tạo thành một phức hợp hình mạng lưới trong không gian ba chiều. Vì kích thước quá lớn nên phức hợp kết tủa hoặc ngưng kết.

Kháng nguyên và kháng thể có thể kết hợp với nhau theo bất cứ tỷ lệ nào nhưng phản ứng yếu đi nếu thừa hoặc thiếu kháng nguyên hoặc kháng thể. Phản ứng rõ rệt nhất lúc số phân tử kháng nguyên tương đương với số phân tử kháng thể.

Sự kết hợp giữa phân tử kháng nguyên và kháng thể xảy ra nhờ các lực như: lực liên kết ion (lực tĩnh điện Coulomb) giữa các nguyên tử hoặc các nhóm hoá học mang điện trái dấu, ví dụ giữa NH_3^+ và COO^- , lực liên kết của các cầu nối hydro giữa các nguyên tử hydro mang điện tích dương với các nguyên tử mang điện tích âm, lực Van der Waals (lực hấp dẫn liên phân tử) giữa hai phân tử phụ thuộc vào tương tác giữa các lớp mây điện tử ở mặt ngoài và lực ô thủy nếu ở diện tiếp xúc cả phía kháng nguyên và kháng thể đều có các axit amin ô thủy thì khi kháng nguyên kháng thể kết hợp, nước sẽ bị đẩy ra tạo nên một lực gắn giữa các axit amin ô thủy đó, sự kết hợp này không phải là một phản ứng hóa học.

Phản ứng kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể rất đặc hiệu. Một kháng nguyên chỉ kết hợp với kháng thể do nó kích thích cơ thể tạo thành. Do đó phản ứng kết hợp kháng nguyên - kháng thể được sử dụng để xác định kháng nguyên hoặc kháng thể nếu một trong hai phân tử đã biết.

Hiệu giá của kháng thể ở trong huyết thanh người hoặc động vật có thể xác định nhờ kháng nguyên đã biết và do đó cho biết sự tiếp xúc trước đó với kháng nguyên. Ngược lại nhờ kháng thể đã biết những kháng nguyên khác nhau của một vi sinh vật có thể nhận mặt. Mặt khác sự hiểu biết cấu tạo kháng nguyên cho phép chọn lựa thích đáng vi sinh vật dùng làm vaccine phòng ngừa bệnh nhiễm trùng.

II. PHẢN ỨNG KẾT TỦA

1. Nguyên lý

Phản ứng kết tủa là sự kết hợp giữa kháng nguyên hòa tan lúc gặp kháng thể tương ứng, tạo thành tủa có thể quan sát trực tiếp bằng mắt thường hoặc nhờ soi kính lúp.

Kháng nguyên đa hóa trị kết hợp với kháng thể hóa trị hai để tạo thành kết tủa hình mạng lưới 3 chiều. Phản ứng có thể thực hiện ở môi trường lỏng hoặc môi trường gel.

2. Phản ứng kết tủa ở môi trường lỏng

2.1. Phản ứng định tính

Được thực hiện với kháng huyết thanh pha loãng hoặc không pha loãng. Kháng huyết thanh và kháng nguyên được trộn với nhau và quan sát kết tủa tạo thành. Cũng có thể cho kháng huyết thanh vào một ống nghiệm nhỏ rồi sau đó cho kháng nguyên dần dần vào theo thành ống. Một vòng kết tủa được quan sát ở mặt phẳng phân cách.

2.2. Phản ứng định lượng

Cho phép xác định lượng kháng thể kết tủa với một lượng kháng nguyên đã biết. Cho một lượng kháng nguyên tăng dần vào một lượng kháng huyết thanh không đổi, lấy kết tủa bằng ly tâm và định lượng protein bằng những phương pháp thông thường để xác định lượng kháng thể đã phản ứng.

3. Phản ứng kết tủa ở môi trường gel

2.1. Phản ứng khuếch tán đôi Ouchterlony

Kháng nguyên và kháng thể được đặt vào những lỗ đục ở trong thạch. Chúng khuếch tán và tạo nên những đường kết tủa ở trên mặt thạch. Một phẩm vật chứa nhiều kháng nguyên tạo thành nhiều đường kết tủa.

Những liên hệ miễn dịch giữa hai kháng nguyên có thể khảo sát bằng phản ứng khuếch tán đôi. Những dải kết tủa tạo thành có thể cho biết sự tương đồng miễn dịch, sự đồng nhất từng phần hoặc sự không liên hệ.

2.2. Phản ứng khuếch tán đơn

Có thể làm cho sự khuếch tán ở môi trường gel nhạy hơn bằng cách trộn kháng thể vào thạch. Kháng nguyên được cho khuếch tán từ một lỗ đục ở trên môi trường thạch chứa kháng thể. Lúc bắt đầu khuếch tán, kháng nguyên còn ở nồng độ cao nên tạo thành những phức hợp hòa tan. Lúc khuếch tán xa hơn, nồng độ hạ dần cho đến khi đạt một trị số thích nghi ở đó vòng kết tủa được tạo thành. Phương pháp này không những có thể ứng dụng để nhận mặt kháng nguyên mà còn có thể cho phép định lượng IgG ở trong huyết thanh.

III. PHẢN ỨNG NGỪNG KẾT

1. Nguyên lý

Phản ứng ngưng kết là sự kết hợp giữa kháng nguyên hữu hình với kháng thể tương ứng, tạo thành các hạt ngưng kết có thể quan sát được bằng mắt thường.

Kháng nguyên có thể là vi khuẩn, hồng cầu, bạch cầu, tinh trùng.v.v... Phản ứng ngưng kết chỉ xảy ra nếu có chất điện giải, rõ nhất, nhanh nhất ở pH từ 7 đến 7,2 và ở nhiệt độ 37°C.

2. Phản ứng ngưng kết trực tiếp

Vi sinh vật sống và chết đều có khả năng ngưng kết với kháng thể. Với vi sinh vật sống, thực hiện phản ứng trên một phiến kính. Phản ứng này thường được sử dụng để nhận mặt vi khuẩn. Ngoài vi khuẩn, các tế bào như hồng cầu, tinh trùng... đều có khả năng ngưng kết với kháng thể đối ứng.

Trường hợp kháng nguyên là vi sinh vật chết, thực hiện phản ứng trong ống nghiệm để xác định hiệu giá kháng thể ở trong huyết thanh trong chẩn đoán bệnh như phản ứng Widal trong chẩn đoán bệnh thương hàn.

3. Phản ứng ngưng kết gián tiếp

Ở đây kháng nguyên và kháng thể chỉ ngưng kết khi có sự hiện diện của một nhân tố thứ 3. Phản ứng Coombs là một ví dụ. Người mẹ Rh- sinh đứa con Rh+ (kháng nguyên D). Lúc sinh con, hồng cầu Rh+ lọt vào máu người mẹ và kích động sự tạo thành kháng thể D. Kháng thể D có thể lọt qua nhau trong những lần mang thai sau. Phản ứng giữa kháng thể D và kháng nguyên D có thể phá hủy hồng cầu và gây nên chứng tan máu ở trẻ sơ sinh.

Để phòng ngừa cho bà mẹ Rh- khỏi bị nhạy cảm hóa bởi kháng nguyên D của đứa con Rh+, tiêm vào người mẹ ngay trước khi sinh đứa con thứ nhất một lượng nhỏ kháng thể D.

4. Phản ứng ngưng kết thụ động

Kháng nguyên hòa tan được hấp phụ lên bề mặt những nền mượn như hạt bentonit, hạt latex nhưng thông dụng nhất là hồng cầu cừu. Những hạt này ngưng kết với kháng thể nhờ sự hiện diện của kháng nguyên dính vào bề mặt chúng. Những hạt này khá lớn nên phản ứng dương tính có thể khám phá bằng mắt thường. Trong trường hợp hồng cầu được sử dụng làm giá mang kháng nguyên thì phản ứng được gọi là phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động.

Để phát hiện kháng nguyên, người ta gắn kháng thể lên nền mượn. Khi kháng thể gặp kháng nguyên đặc hiệu, hiện tượng ngưng kết sẽ xuất hiện. Loại này được gọi là phản ứng ngưng kết thụ động ngược.

Phản ứng ngưng kết thụ động nhạy hơn phản ứng ngưng kết trực tiếp nhờ hình thể tương đối lớn của những hạt mang kháng nguyên và độ đặc hiệu cao hơn phản ứng ngưng kết trực tiếp vì có thể tinh chế được các kháng nguyên hoặc kháng thể trước khi gắn lên nền mượn. Loại phản ứng này được dùng trong chẩn đoán nhiều bệnh nhiễm trùng như dịch hạch, Whitmore, viêm màng não mủ...

5. Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu

Có một số virus có khả năng ngưng kết hồng cầu của một số động vật và phản ứng đó bị ức chế bởi kháng huyết thanh của virus. Đó là phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu. Phản ứng ngăn ngưng kết hồng cầu được sử dụng để chẩn đoán nhiều chứng bệnh virus như cúm, quai bị, sốt xuất huyết, đậu mùa.v.v...

IV. PHẢN ỨNG KẾT HỢP BỔ THỂ

1. 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 khác.

2. Các giai đoạn tiến hành phản ứng kết hợp bổ thể

Trong phòng thí nghiệm người ta thực hiện phản ứng kết hợp bổ thể bằng cách ghép 2 hệ thống phản ứng:

- Trong hệ thống 1, kháng nguyên được cho tác dụng với kháng thể (một yếu tố biết, một yếu tố chưa biết). Nếu kháng nguyên và kháng thể phản ứng đặc hiệu thì tất cả lượng bổ thể kết hợp vào phức hợp kháng nguyên - kháng thể (KN-KT)

- Hệ thống thứ hai được sử dụng để nhận mặt bổ thể tự do (không kết hợp). Thêm vào hệ thống thứ nhất những hồng cầu cừu và huyết thanh kháng hồng cầu cừu (hệ thống tan máu). Lúc bổ thể kết hợp vào phức hợp KN-KT của hệ thống 1 thì không còn bổ thể để ly giải hồng cầu cừu đã nhạy cảm hóa. Nếu ở hệ thống 1, kháng nguyên và kháng thể không phản ứng đặc hiệu với nhau thì bổ thể tự do kết hợp với phức hợp hồng cầu cừu - kháng hồng cầu cừu và do đó làm tan hồng cầu cừu. Cho nên đọc kết quả phản ứng dương tính lúc không có tan máu và âm tính lúc có tan máu.

Phản ứng kết hợp bổ thể được sử dụng để chẩn đoán bệnh giang mai, bệnh virus cũng như để nhận mặt kháng nguyên và kháng thể.

V. CÁC PHẢN ỨNG TRUNG HÒA

1. Nguyên lý

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

2. Phản ứng trung hòa độc tố

Độc tố nói ở đây là ngoại độc tố. Nếu một liều chí mạng hay lớn hơn độc tố được hỗn hợp với một lượng thích nghi kháng độc tố đối ứng rồi tiêm hỗn hợp vào một động vật nhạy cảm thì con vật không bị nguy hiểm. Tính độc của độc tố đã bị kháng độc tố trung hòa. Cũng như những phản ứng miễn dịch khác, phản ứng này rất đặc hiệu: một độc tố chỉ trung hòa với kháng độc tố tương ứng.

Lượng kháng độc tố cần thiết để trung hòa một lượng độc tố phụ thuộc với cách thức hỗn hợp 2 cấu trúc với nhau vì tùy theo điều kiện thí nghiệm độc tố có khả năng kết hợp với kháng độc tố ở những tỷ lệ khác nhau. Nếu thay vì cho một lượng độc tố đã biết vào một lượng kháng độc tố để trung hòa, người ta cho lượng độc tố làm hai lần vào lượng kháng độc tố thì hỗn hợp không trung hòa đối với động vật thí nghiệm. Đó là hiện tượng Danysz. Người ta cho rằng lúc cho nửa lượng độc tố vào kháng độc tố thì độc tố kết hợp với nhiều kháng độc tố hơn và do đó số lượng phân tử kháng độc tố tự do còn lại ít không đủ để trung hòa lượng độc tố còn lại.

3. Phản ứng trung hòa virus

Nhiều loài virus phát triển ở nuôi cấy tế bào thì phá hủy các tế bào (hiện tượng tế bào bệnh lý) nhưng nếu cho kháng thể tương ứng của virus vào đồng thời với virus thì virus bị trung hòa không nhân lên được và hiện tượng tế bào bệnh lý không xảy ra. Phản ứng này được sử dụng để xác định hàm lượng kháng thể trong huyết thanh cũng như định type virus.

Mặt khác cũng có thể định lượng kháng thể của virus ở trong huyết thanh bằng cách hỗn hợp kháng huyết thanh với virus rồi tiêm hỗn hợp vào một nhóm động vật nhạy cảm. Nếu động vật thử nghiệm không cho thấy triệu chứng bệnh thì sự hiện diện của kháng thể trung hòa đã được chứng minh.

4. Phản ứng trung hòa enzyme

Nhiều enzyme của vi khuẩn có tính chất sinh kháng tốt và kích thích sự tạo thành kháng thể như streptolysin O, streptokinase của liên cầu khếch động sự tạo thành kháng streptolysin O (antistreptolysin O - ASO), kháng streptokinase (anti streptokinase - ASK). Dựa trên nguyên tắc phản ứng trung hòa có thể định lượng kháng streptolysin O (ASO), kháng streptokinase (ASK) có trong huyết thanh của bệnh nhân để chẩn đoán nhiễm liên cầu. Đặc biệt phản ứng ASO phát hiện kháng thể kháng streptolysin O được sử dụng trong chẩn đoán bệnh thấp tim và viêm cầu thận cấp sau nhiễm liên cầu nhóm A.

VI. PHẢN ỨNG MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG

1. Nguyên lý

Những thuốc nhuộm huỳnh quang như Fluorescein, Rhodamin có thể kết hợp với kháng thể mà không phá hủy tính chất đặc hiệu của kháng thể. Kháng thể liên hợp ấy có khả năng kết hợp với kháng nguyên và phức hợp KN-KT có thể quan sát ở kính hiển vi huỳnh quang.

2. Phương pháp trực tiếp

Kháng thể được liên hợp với thuốc nhuộm huỳnh quang rồi cho tác dụng với kháng nguyên. Ví dụ trong chẩn đoán vi khuẩn tả sau 6 - 8 giờ nuôi cấy ở nước pepton kiềm, làm một phiên phết rồi nhuộm với kháng huyết thanh liên hợp với Fluorescein. Quan sát ở kính hiển vi huỳnh quang, ta phát hiện thấy khuẩn tả phát huỳnh quang xanh lục nếu mẫu phân dương tính.

3. Phương pháp gián tiếp

Kháng thể được cho tác dụng trực tiếp với kháng nguyên rồi cho kết hợp với kháng globulin người liên hợp với Fluorescein. Trước hết cho kháng nguyên cố định lên tiêu bản rồi cho tác dụng với huyết thanh bệnh nhân, rửa để loại bỏ kháng thể thừa sau đó nhỏ một giọt globulin người gắn Fluorescein rồi quan sát ở kính hiển vi huỳnh quang. Phương pháp này được sử dụng để chẩn đoán bệnh giang mai (phản ứng FTA - Abs), bệnh tự miễn... Phương pháp gián tiếp có nhiều ưu điểm như: Sự phát huỳnh quang mạnh hơn, tiết kiệm được thời gian nếu nhiều huyết thanh được thử nghiệm cùng một lúc.

VII. PHẢN ỨNG MIỄN DỊCH ENZYME (Enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)

Nguyên lý: Kỹ thuật này sử dụng kháng thể hoặc kháng nguyên cố định vào một tấm polystyren. Sau đó nó được dùng để bắt kháng nguyên hoặc kháng thể đối ứng ở dung dịch thử nghiệm và phức hợp được phát hiện nhờ enzyme gắn với kháng thể hoặc kháng nguyên tác động lên cơ chất đặc hiệu. Cơ chất của enzyme thủy phân đo ở quang phổ kế, tỷ lệ với nồng độ của kháng thể hoặc kháng nguyên không biết ở trong dung dịch thử nghiệm.

Kháng nguyên hoặc kháng thể liên hợp với enzyme vẫn giữ hoạt tính miễn dịch. Enzyme được sử dụng có thể là photphatase kiềm hoặc peroxydase. Thử nghiệm cho kết quả khách quan và rất nhạy. Thử nghiệm miễn dịch liên kết enzyme được áp dụng để chẩn đoán những vi khuẩn như giang mai, *Brucella*, *Salmonella*, vi khuẩn tả... và các virus như virus viêm gan, virus sởi, virus rota...

VIII. PHẢN ỨNG MIỄN DỊCH PHÓNG XẠ (Radioimmunoassay: RIA)

Nguyên lý: Dùng đồng vị phóng xạ như Thymidin H₃, Cacbon 14, I₁₂₅... đánh dấu kháng nguyên hoặc kháng thể để theo dõi phản ứng kết hợp kháng nguyên kháng thể.

Có thể xác định vị trí của kháng nguyên (hoặc kháng thể) đã đánh dấu đồng vị phóng xạ bằng cách cho nhũ tương ảnh lên trên tiêu bản tổ chức học, sau đó phát hiện bằng các phương pháp chụp ảnh thông thường. Để phát hiện và đo lường đồng vị phóng xạ trong môi trường lỏng, ví dụ các đồng vị phát xạ beta (như thymidin H₃, Cacbon C₁₄), cần dùng một dung dịch nhấp nháy và đo trong máy đếm tự động. Phương pháp đồng vị phóng xạ không những có thể khu trú vị trí kết hợp một cách chính xác mà còn làm tăng độ nhạy cảm phản ứng lên hàng nghìn lần.

IX. KỸ THUẬT SẮC KÝ MIỄN DỊCH

Nguyên lý: Phức hợp kháng kháng thể (KKT) gắn chất màu được phân bố đều trên bản giấy sắc ký. Kháng nguyên (KN) đặc thù của vi sinh vật được gắn cố định tại “vạch phản ứng”. Khi nhỏ huyết thanh cần xác định kháng thể (KT) lên bản sắc ký, KT đặc hiệu (nếu có) trong huyết thanh sẽ kết hợp với KKT gắn màu, phức hợp miễn dịch KT-KKT gắn màu này di chuyển trên giấy sắc ký sẽ bị giữ lại tại “vạch phản ứng” do KT kết hợp với KN vi sinh vật, kết quả “vạch phản ứng” hiện màu. Nếu trong huyết thanh không có KT đặc hiệu, ở “vạch phản ứng” KN không thể giữ được KKT gắn màu, vì vậy không hiện màu.

X. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ CÁC PHẢN ỨNG KẾT HỢP KHÁNG NGUYÊN KHÁNG THỂ

Trong nhận định kết quả của các phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể trước hết phải lưu ý đến độ nhạy

1. Kết quả định tính

Kết quả định tính cho biết trong mẫu xét nghiệm có hay không có kháng thể hoặc kháng nguyên. Thông thường kết quả các phản ứng được ký hiệu bằng các mức độ dương tính (+, ++, +++), không rõ dương tính hay âm tính (+/-), âm tính (-). Các ký hiệu này tuy có tiêu chuẩn quy định nhưng phụ thuộc vào chủ quan của người đọc kết quả.

2. Kết quả định lượng

Chẩn đoán gián tiếp các bệnh nhiễm trùng qua việc xác định kháng thể trong huyết thanh được gọi là chẩn đoán huyết thanh học. Kết quả định lượng trong chẩn đoán huyết thanh cho biết hiệu giá kháng thể. Nồng độ kháng thể trong huyết thanh cao hay thấp được đánh giá qua hiệu giá kháng thể. Thông thường kháng thể người bệnh được pha loãng dần theo cấp số 2 hoặc 4. Độ đậm độ huyết thanh thấp nhất cho kết quả dương tính thì độ đậm độ đó là hiệu giá.

Các phản ứng định lượng cần thiết để theo dõi động lực kháng thể của các huyết thanh kép thường lấy cách nhau 7 ngày. Động lực kháng thể là đại lượng đặc trưng cho mức độ thay đổi hiệu giá kháng thể theo thời gian. Trong nhận định, quan trọng là số thương chứ không phải hiệu số giữa hai lần kết quả. Đối với bệnh virus hiệu giá kháng thể tăng lên 4 lần mới có giá trị chắc chắn.

3. Ranh giới hiệu giá

Là ranh giới giữa hiệu giá kháng thể bình thường và hiệu giá bệnh lý. Liên cầu thường cư trú ở hầu hết mọi người nên trong huyết thanh của hầu hết mọi người đều có kháng thể kháng streptolysin O (ASO). Vì thế người ta xem 1/200 (200 đơn vị /ml), là hiệu giá ranh giới. Chỉ khi nào trong huyết thanh có 400 đơn vị/ml trở lên mới là bệnh lý.

4. Kết quả dương tính giả

Hay gặp lúc làm phản ứng huyết thanh học vì kỹ thuật và trong một vài trạng thái sinh lý bệnh lý của người bệnh.

Trong huyết thanh học cổ điển chẩn đoán giang mai với các kháng nguyên lipoit có thể thấy nhiều kết quả dương tính giả (sốt rét, một số bệnh ký sinh trùng khác...). Trong thực tế người ta thực hiện nhiều phản ứng huyết thanh học khác nhau cùng một lúc để kiểm tra dương tính giả. Ví dụ Kolmer, Kaln, VDRL và nhất là dùng các kháng nguyên đặc hiệu để tránh dương tính giả, ví dụ TPI, FTA-Abs...

5. Kết quả âm tính giả

Có nhiều nguyên nhân dẫn đến hiện tượng âm tính giả như: các thành phần tham gia phản ứng không được chuẩn độ, lượng kháng thể quá nhiều so với kháng nguyên và ngược lại, kháng thể mẫu hoặc kháng nguyên mẫu bị hỏng...

Để khắc phục hiện tượng dương tính giả, âm tính giả phải chuẩn độ các thành phần tham gia phản ứng, đảm bảo đúng các điều kiện của phản ứng (dung dịch đệm, nhiệt độ, thời gian ủ...) và phải luôn luôn có chứng dương, chứng âm.

VACCINE VÀ HUYẾT THANH

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được nguyên lý sử dụng và phân loại vaccine và huyết thanh.
2. Trình bày được nguyên tắc sử dụng vaccine và huyết thanh.

Vaccine và huyết thanh là những chế phẩm phòng ngừa bệnh nhiễm trùng bằng phương tiện miễn dịch. Những phương tiện này biến đổi tính thụ cảm của vật chủ thành sự đề kháng tạm thời hoặc vĩnh viễn. Chúng tạo nên tính miễn dịch hoạt động (vaccine) hoặc thụ động (huyết thanh) thông thường rất đặc hiệu.

I. VACCINE

1. Nguyên lý sử dụng vaccine

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

Sự bảo vệ hình thành nhờ sự đáp ứng miễn dịch vừa dịch thể (globulin miễn dịch đặc hiệu nhất là IgG, có thể IgA và IgM), vừa trung gian tế bào (đại thực bào và tế bào lympho).

Cường độ và hiệu quả của sự đáp ứng miễn dịch biến thiên theo :

- Vaccine: Tính chất và nồng độ của kháng nguyên, những chất phụ gia miễn dịch, thường sử dụng là những muối kim loại: Al hoặc Ca có thể tăng cường sự đáp ứng của một vài vaccine bất hoạt.

- Vật chủ: Tuổi là một nhân tố quan trọng. Trẻ sơ sinh cần ít tháng để đạt sự trưởng thành miễn dịch (dịch thể), ngoài ra kháng thể từ sữa mẹ có thể đóng vai trò ngăn ngừa bệnh nhiễm trùng. Ngược lại sự đáp ứng miễn dịch giảm dần với tuổi nhưng không biến mất ở người lớn tuổi. Những nhân tố di truyền, còn chưa biết rõ cũng ảnh hưởng đến cường độ của sự đáp ứng miễn dịch. Cuối cùng là một vài nhân tố làm suy giảm sự đáp ứng miễn dịch, chúng có thể do di truyền như không có γ globulin huyết, giảm sút tế bào miễn dịch hoặc do mắc phải như trong bệnh u ác tính, điều trị giảm miễn dịch, suy dinh dưỡng...

2. Các loại vaccine

2.1. Vaccine sống giảm độc lực

Là những tác nhân nhiễm trùng tự nhiên, được làm giảm độc một cách nhân tạo ở phòng thí nghiệm. Vaccine đậu mùa, vaccine đầu tiên ở trong lịch sử, là một virus động vật (đậu bò) có khả năng đem lại sự bảo vệ chéo chống lại virus đậu mùa mà nó rất gần gũi. Phần lớn những vaccine sống hiện có là những vaccine virus: vaccine sốt vàng, vaccine bại liệt, sởi, rubêon, quai bị. Một vaccine vi khuẩn sống thường sử dụng là BCG. Đối với vaccine sống, sự chủng ngừa thường một lần, gây nên sự nhiễm trùng nhẹ hoặc không biểu hiện, sự nhân lên của virus trong cơ thể gây nên miễn dịch thường lâu bền, tương đương với sự miễn dịch do sự nhiễm trùng tự nhiên.

Những thuận lợi của vaccine sống là tiện lợi (tiêm 1 lần), giá thành thường rẻ. Điều bất tiện là có thể đem lại nguy cơ nhiễm trùng (phản ứng và biến chứng).

2.2. Vaccine chết

Là những chế phẩm kháng nguyên đã mất khả năng nhiễm trùng nhưng còn bảo tồn tính chất gây miễn dịch. Người ta phân biệt :

2.2.1. Những vaccine chết toàn thể

Loại vaccine này chứa tất cả các thành phần của tác nhân nhiễm trùng, giết chết bằng nhiệt, formol hoặc β propiolacton, bao gồm vaccine vi khuẩn như ho gà, thương hàn TAB, dịch tả hoặc vaccine virus như cúm, bại liệt, dại.

2.2.2. Những vaccine chết chỉ chứa kháng nguyên tinh chế

Loại vaccine này chỉ bao gồm thành phần kháng nguyên quan trọng nhất về phương diện sinh miễn dịch của vi khuẩn hoặc virus được tinh khiết và làm bất hoạt. Ví dụ như vaccine chứa giải độc tố vi khuẩn bản chất protein (vaccine uốn ván, vaccine bạch hầu), vaccine chứa thành phần polysaccharide của vi khuẩn (vaccine não mô cầu, vaccine phế cầu), vaccine chứa thành phần kháng nguyên virus (vaccine virus viêm gan B được điều chế từ HBsAg có trong huyết tương những người nhiễm kháng nguyên này).

Những vaccine chết có ưu điểm không có nguy cơ nhiễm trùng. Những bất lợi bao gồm: giá thành thường cao, nguy cơ miễn cảm, một lịch chủng ngừa nhiều lần và lặp lại.

2.3. Vaccine tái tổ hợp

Là những vaccine được sản xuất dựa vào kỹ thuật di truyền và công nghệ gen, như vaccine viêm gan B tái tổ hợp.

3. Nguyên tắc sử dụng vaccine

Việc sử dụng vaccine phải đảm bảo các nguyên tắc sau:

- Tiêm chủng trên phạm vi rộng, đạt tỷ lệ cao.
- Tiêm chủng đúng đối tượng.
- Bắt đầu tiêm chủng đúng lúc, bảo đảm đúng khoảng cách giữa các lần tiêm chủng, tiêm chủng nhắc lại đúng thời gian.
- Tiêm chủng đúng đường và đúng liều lượng.
- Nắm vững phương pháp phòng và xử trí các phản ứng không mong muốn do tiêm chủng.
- Bảo quản vaccine đúng quy định.

3.1. Phạm vi và tỷ lệ tiêm chủng

3.1.1. Phạm vi tiêm chủng

Phạm vi tiêm chủng được quy định tùy theo tình hình dịch tễ của từng bệnh. Phạm vi tiêm chủng đương nhiên không giống nhau giữa các nước. Ngay cả các khu vực trong một nước cũng có thể có sự khác nhau. Những quy định này lại có thể thay đổi theo thời gian do sự thay đổi về dịch tễ học của bệnh nhiễm trùng. Về lý thuyết, người ta thường nói tiêm chủng càng rộng càng tốt. Thực tế thì không thể thực hiện được điều đó vì những lý do sau đây: thứ nhất, sẽ rất tốn kém (chi phí cho việc mua hoặc sản xuất vaccine và cho việc tổ chức tiêm chủng); thứ hai, tuy các phản ứng không mong muốn do vaccine gây ra rất ít nhưng không phải không có.

3.1.2. Tỷ lệ tiêm chủng

Những khu vực có lưu hành bệnh truyền nhiễm, tiêm chủng phải đạt trên 80% đối tượng chưa có miễn dịch mới có khả năng ngăn ngừa được dịch. Nếu tỷ lệ tiêm chủng chỉ đạt trong khoảng 50 đến 80%, nguy cơ xảy ra dịch chỉ giảm bớt. Nếu tỷ lệ tiêm chủng dưới 50% dịch vẫn dễ dàng xảy ra.

3.2. Đối tượng tiêm chủng

Đối tượng cần được tiêm chủng một loại vaccine nào đó là tất cả những người có nguy cơ nhiễm vi sinh vật gây bệnh mà chưa có miễn dịch.

Trẻ em là đối tượng cần được đặc biệt quan tâm. Sau khi hết miễn dịch thụ động do mẹ truyền (trong thời gian khoảng 6 tháng), nguy cơ mắc bệnh nhiễm trùng của trẻ rất lớn. Mặt khác miễn dịch thụ động nhờ kháng thể truyền qua rau thai hoặc qua sữa chỉ có đối với những bệnh mà cơ chế bảo vệ chủ yếu là do miễn dịch dịch thể. Đối với những bệnh nhiễm trùng mà cơ chế bảo vệ là miễn dịch qua trung gian tế bào thì trẻ có thể bị bệnh ngay từ những tháng đầu tiên sau khi sinh. Những hiểu biết này là cơ sở cho việc quy định thời điểm bắt đầu tiêm chủng cho trẻ em. Trừ những đối tượng chống chỉ định, tất cả trẻ em đều phải được tiêm chủng.

Đối với người lớn, đối tượng tiêm chủng thu hẹp hơn. Thường chỉ tiến hành tiêm chủng cho những nhóm người có nguy cơ cao. Những người đi du lịch đến các vùng dịch tễ cần phải được tiêm chủng.

Trong những năm gần đây, để phòng bệnh uốn ván sơ sinh, phụ nữ ở lứa tuổi sinh đẻ được tiêm phòng uốn ván.

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

- Những người đang bị sốt cao. Những trường hợp đang bị nhiễm trùng nhẹ không sốt hoặc chỉ sốt nhẹ thì không cần phải hoãn tiêm chủng.
- Những người đang ở trong tình trạng dị ứng. Những người có cơ địa dị ứng hoặc có lịch sử gia đình bị dị ứng vẫn tiêm chủng được, nhưng cần phải theo dõi cẩn thận hơn.
- Vaccine sống giảm độc lực không được tiêm chủng cho những người bị thiếu hụt miễn dịch, những người đang dùng thuốc ức chế miễn dịch hoặc những người mắc bệnh ác tính.
- Tất cả các loại vaccine virus sống giảm độc lực không được tiêm cho phụ nữ đang mang thai.

3.3. Thời gian tiêm chủng

Việc tiêm chủng được tiến hành thường xuyên hoặc tập trung tiêm chủng hàng loạt tùy thuộc vào yêu cầu của mỗi loại vaccine và các điều kiện cụ thể khác.

3.3.1. Thời điểm tổ chức tiêm chủng

Khi đã xác định được quy luật xuất hiện dịch, cần phải tiến hành tiêm chủng đón trước mùa dịch, để cơ thể có đủ thời gian hình thành miễn dịch. Đối với vaccine được tiêm chủng lần đầu, thời gian tiêm tâng kéo dài từ 24 giờ (trung bình khoảng 1 tuần), tùy thuộc vào bản chất vaccine và tính phản ứng của cơ thể. Hiệu giá kháng thể đạt được đỉnh cao nhất sau khoảng 4 ngày đến 4 tuần (trung bình 2 tuần). Đó là kết quả của đáp ứng tiên phát. Khi tiêm chủng nhắc lại, thời gian tiêm tâng sẽ rút ngắn, hiệu giá kháng thể đạt được đỉnh 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.

3.3.2. Khoảng cách giữa các lần tiêm chủng

Đối với những vaccine phải tiêm chủng nhiều lần (khi tạo miễn dịch cơ bản), khoảng cách hợp lý giữa các lần tiêm chủng là 1 tháng. Nếu khoảng cách này ngắn hơn, mặc dù tiêm chủng lần sau nhưng kết quả đáp ứng của cơ thể vẫn chỉ như tiên phát, đáp ứng miễn dịch thứ phát sẽ không có hoặc bị hạn chế. Ngược lại vì một lý do nào đó phải tiêm chủng lần tiếp theo sau hơn 1 tháng, hiệu quả miễn dịch vẫn được đảm bảo, vì vậy lần tiêm chủng trước vẫn được tính. Tuy nhiên không nên kéo dài việc tiêm chủng nếu không có những lý do bắt buộc, vì trẻ có thể bị mắc bệnh trước khi được tiêm chủng đầy đủ.

3.3.3. Thời gian tiêm chủng nhắc lại

Thời gian tiêm chủng nhắc lại tùy thuộc vào thời gian duy trì được tình trạng miễn dịch có đủ hiệu lực bảo vệ của mỗi loại vaccine. Thời gian này khác nhau đối với các loại vaccine khác nhau. Khi tiêm chủng nhắc lại thường chỉ cần 1 lần. Với lần tăng cường này, cơ thể sẽ đáp ứng miễn dịch nhanh và mạnh hơn, cho dù kháng thể của lần tiêm chủng trước chỉ còn lại rất ít.

3.4. Liều lượng và đường đưa vaccine vào cơ thể

3.4.1. Liều lượng

Liều lượng vaccine tùy thuộc vào loại vaccine và đường vào cơ thể. Liều lượng quá thấp sẽ không đủ khả năng kích thích cơ thể đáp ứng miễn dịch. Ngược lại, liều lượng quá lớn sẽ dẫn đến tình trạng dung nạp đặc hiệu đối với lần tiêm chủng tiếp theo.

3.4.2. Đường tiêm chủng

Mỗi loại vaccine đòi hỏi một cách thức chủng ngừa thích hợp. Người ta sử dụng nhiều phương pháp chủng ngừa :

- Chủng (rạch da): đây là đường cổ điển nhất, được thực hiện ngay từ lúc Jenner sáng chế ra vaccine phòng bệnh đậu mùa. Đối với vaccine này, đường chủng vẫn được dùng cho đến khi bệnh đậu mùa bị tiêu diệt hoàn toàn trên hành tinh của chúng ta (1979), không cần phải chủng đậu nữa. Ngày nay đường chủng vẫn còn được sử dụng cho một số ít vaccine (BCG, dịch hạch).

- Đường tiêm: có thể tiêm trong da, tiêm dưới da hoặc tiêm bắp, không bao giờ tiêm vaccine vào đường tĩnh mạch. Đa số các vaccine có thể tiêm dưới da, chỉ một số vaccine không cho phép sử dụng cách chủng ngừa này, BCG phải tiêm trong da, tiêm dưới da thường hay gây loét. Phương pháp tiêm trong da có nhiều ưu điểm : chỉ cần một lượng vaccin tương đối nhỏ (0,1ml), ít gây phản ứng, hiệu ứng miễn dịch không kém gì phương pháp tiêm dưới da. Tiêm trong da có thể được thực hiện bằng bơm kim tiêm hoặc bằng bơm nén áp lực không kim, phương pháp này giúp việc tiêm chủng nhanh chóng dễ thực hiện với quy mô rộng rãi, nhưng cần lưu ý đúng kỹ thuật.

- Đường uống: Đường uống là đường đưa vaccine vào cơ thể dễ thực hiện nhất. Tuy nhiên chỉ thực hiện được đối với những vaccine không bị dịch đường tiêu hoá phá hủy. Sự hiểu biết tốt hơn về vai trò của miễn dịch tại chỗ do IgA tiết, những vaccine phòng nhiễm trùng đường tiêu hoá hoặc nhiễm trùng ở nơi khác nhưng vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể theo đường tiêu hoá đã được sử dụng (như vaccin bại liệt) hoặc đang được nghiên cứu đưa vào cơ thể bằng cách uống. Đường uống có lợi điểm là kích thích miễn dịch tại chỗ mạnh hơn nhiều so với đường tiêm, nhưng đường uống không bảo đảm sự cố định của virus trong

vaccine, cho nên uống ba lần liên tiếp vaccin bại liệt được xem như cần thiết để tạo thành miễn dịch.

- Ngậm dưới lưỡi: hiện nay đã có một số vaccine đường ruột điều chế dưới dạng viên để ngậm dưới lưỡi. Cần phải có một liều lượng kháng nguyên cao mới bảo đảm tác dụng gây miễn dịch.

- Nhỏ mũi: Được sử dụng rộng rãi cho vaccine cúm.

- Ngoài ra vaccine còn được đưa vào cơ thể theo một số đường khác như khí dung, thụt đại tràng, những đường này ít được sử dụng.

3.5. Các phản ứng phụ do tiêm chủng

Về nguyên tắc, vaccine phải đảm bảo đủ độ an toàn. Song trên thực tế không thể đạt được mức độ an toàn tuyệt đối. Tất cả các vaccine đều có thể gây ra phản ứng phụ ở một số người.

- Phản ứng tại chỗ: Những phản ứng nhẹ thường gặp sau tiêm chủng là nơi tiêm có thể hơi đau, mẩn đỏ, hơi sưng hoặc nổi cục nhỏ. Những phản ứng này sẽ mất đi nhanh chóng sau một vài ngày, không cần phải can thiệp gì. Nếu tiêm chủng không đảm bảo vô trùng, thì nơi tiêm chủng có thể bị viêm nhiễm, làm mủ.

- Phản ứng toàn thân: Trong các phản ứng toàn thân, sốt hay gặp hơn cả (10 - 20%). Sốt thường hết nhanh sau một vài ngày. Co giật có thể gặp nhưng với tỷ lệ rất thấp (1/10.000), hầu hết khỏi không để lại di chứng gì. Một số vaccine có thể gây ra phản ứng nguy hiểm hơn, trong đó có sốc phản vệ, tuy nhiên tỷ lệ rất thấp.

Khi bàn đến những phản ứng do vaccine, rất cần thiết phải nhấn mạnh rằng mức độ nguy hiểm do vaccine nhỏ hơn rất nhiều so với mức độ nguy hiểm do bệnh nhiễm trùng tương ứng gây ra. Thí dụ, tỷ lệ biến chứng nguy hiểm do bệnh ho gà gấp hàng trăm đến hàng nghìn lần phản ứng nguy hiểm do vaccine bạch hầu - ho gà - uốn ván (vaccine DPT) gây ra.

3.6. Bảo quản vaccine

Vaccine rất dễ bị hỏng nếu không được bảo quản đúng. Chất lượng vaccine ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu lực tạo miễn dịch, vì vậy các vaccine cần phải được bảo quản tốt ngay từ lúc nó được sản xuất cho tới khi được tiêm chủng vào cơ thể. Thường quy bảo quản các vaccine không giống nhau, nhưng nói chung các vaccine đều cần được bảo quản trong điều kiện khô, tối và lạnh.

Nhiệt và ánh sáng phá hủy tất cả các loại vaccine, nhất là những vaccine sống như vaccine sởi, bại liệt và vaccine BCG sống. Ngược lại, đông lạnh phá hủy nhanh các vaccine giải độc tố (như vaccine phòng uốn ván và bạch hầu). Trong quá trình sử dụng ở cộng đồng, các vaccine cần được bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng từ 2°C đến 8°C.

Một trong những công việc quan trọng nhất trong việc tổ chức tiêm chủng là tạo lập được dây chuyền lạnh. Dây chuyền lạnh không đơn thuần là có các nhà lạnh, tủ lạnh, các phích đá hoặc các hộp cách nhiệt mà còn phải lưu ý cả những khâu trung gian trong quá trình vận chuyển vaccine và tiến hành tiêm chủng. Vaccine nếu đã bị phá hủy dù có được bảo quản lại ở điều kiện thích hợp cũng không thể có hiệu lực trở lại, cũng không có tác dụng nữa, phải loại bỏ.

4. Tiêu chuẩn của vaccine

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

4.1. An toàn

Một vaccine lý tưởng khi sử dụng sẽ không gây bệnh, không gây độc và không gây phản ứng. Sau khi sản xuất vaccine phải được cơ quan kiểm định nhà nước kiểm tra chặt chẽ về mặt vô trùng, thuần khiết và không độc.

- Vô trùng: vaccine không được nhiễm các vi sinh vật khác, nhất là các vi sinh vật gây bệnh.

- Thuần khiết: ngoài kháng nguyên đưa vào để kích thích cơ thể đáp ứng miễn dịch chống vi sinh vật gây bệnh, không được lẫn các thành phần kháng nguyên khác có thể gây ra các phản ứng phụ bất lợi.

- Không độc: liều sử dụng phải thấp hơn rất nhiều so với liều gây độc.

Tuy nhiên, không có vaccine nào đạt được độ an toàn tuyệt đối. Khi cân nhắc để quyết định xem một vaccine nào đó có được đưa vào sử dụng hay không, cần phải so sánh giữa mức độ phản ứng do vaccine và tính nguy hiểm của bệnh nhiễm trùng tương ứng.

4.2. Hiệu lực

Vaccine có hiệu lực lớn là vaccine gây được miễn dịch ở mức độ cao và tồn tại trong một thời gian dài.

Hiệu lực của những vaccine rất khác nhau. Người ta đánh giá bằng cách đo sự đáp ứng miễn dịch. Sự đáp ứng dịch thể có thể khám phá rõ ràng và định lượng bằng những thử nghiệm huyết thanh khác nhau, phản ánh sự bảo vệ nhiều hoặc ít tùy theo lượng kháng thể ở trong máu. Miễn dịch trung gian tế bào khó đánh giá hơn trừ trường hợp sử dụng những kỹ thuật tìm sự mẫn cảm như thử nghiệm tuberculin. Nhưng nhờ đánh giá những kết quả dịch tễ học người ta đo hiệu lực thực sự của sự chủng ngừa. Việc này đôi khi gặp khó khăn và có thể làm phát sinh những mâu thuẫn.

Ngoài 2 tiêu chuẩn trên, để chọn một vaccine tiêm chủng, người ta còn quan tâm đến giá thành và tính thuận lợi cho việc tiến hành tiêm chủng.

5. Phối hợp vaccine

Mục đích chính của việc phối hợp vaccine là giảm bớt số mũi tiêm chủng hoặc làm giảm bớt số lần tổ chức tiêm chủng. Có hai loại phối hợp vaccine:

- Tiêm chủng vaccine phối hợp (trộn các vaccine với nhau, tiêm chủng cùng một lần, cùng một đường).

- Tiêm chủng nhiều vaccine riêng biệt trong cùng một thời gian, có thể ở các vị trí khác nhau hoặc theo những đường khác nhau.

Phối hợp vaccine phải đảm bảo giữ được hiệu lực tạo miễn dịch và không gây ra tác hại gì. Hiệu lực tạo miễn dịch đối với mỗi thành phần vaccine ít nhất phải bằng khi chúng được tiêm chủng riêng rẽ. Một số trường hợp khi phối hợp vaccine tạo ra được đáp ứng miễn dịch mạnh hơn. Ngược lại có những trường hợp phối hợp không hợp lý làm giảm hiệu lực tạo miễn dịch. Sự phối hợp vaccine hợp lý sẽ không làm tăng tỷ lệ phản ứng phụ, nghĩa là độ an toàn vẫn được đảm bảo như khi chúng được tiêm chủng riêng rẽ ở những thời gian khác nhau.

6. Lịch tiêm chủng

Cơ sở xây dựng lịch tiêm chủng là những hiểu biết về dịch tễ học của bệnh truyền nhiễm và sự đáp ứng miễn dịch của đối tượng được tiêm chủng. Trước khi lập ra lịch tiêm chủng cần phải xác định những vấn đề cơ bản sau đây: tuổi tốt nhất cho việc tiến hành tiêm chủng đối với mỗi vaccine, thời gian nào trẻ có nguy cơ mắc bệnh lớn nhất, tính nguy hiểm của bệnh ở các lứa tuổi khác nhau và khả năng đáp ứng của trẻ khi được tiêm chủng. Tuy nhiên, dịch tễ học của bệnh truyền nhiễm ở một thời gian nào đó có thể bị thay đổi do chính

việc sử dụng vaccine, khi đó lịch tiêm chủng cần được điều chỉnh cho phù hợp với tình hình mới.

Căn cứ vào dịch tễ học của các bệnh truyền nhiễm tại các nước đang phát triển và khả năng cung cấp vaccine, Tổ chức Y tế thế giới đã đưa ra chương trình tiêm chủng mở rộng với mục tiêu là làm giảm tỷ lệ trẻ em mắc và tử vong do các bệnh bạch hầu, ho gà, uốn ván, lao, sởi và bại liệt bằng tiêm chủng vaccine. Lịch tiêm chủng các vaccine trong chương trình tiêm chủng mở rộng được Tổ chức Y tế thế giới khuyến cáo như sau:

Vaccine	Liều lượng	Đường tiêm chủng	Tuổi tiêm chủng
BCG (phòng lao)	0,1 ml	Trong da (thường ở cánh tay trái)	Sơ sinh hoặc bất kỳ lúc nào sau đó
Sabin (phòng bại liệt)	2 giọt	Uống	Sơ sinh và lúc 2,3,4 tháng tuổi
DPT (phòng bạch hầu, ho gà, uốn ván)	0,5 ml	Tiêm bắp (thường ở đùi)	Lúc 2,3,4 tháng tuổi
Sởi	0,5 ml	Dưới da (thường ở cánh tay trái)	Lúc 9 tháng tuổi hoặc sớm nhất sau đó

Lịch tiêm chủng thông dụng là một hướng dẫn mà người ta có thể áp dụng với một mức độ tương đối uyển chuyển tùy theo hoàn cảnh cá nhân. Lúc có sự chậm trễ trong áp dụng lịch, không cần bắt đầu lại cả chương trình, chỉ cần lấy lại ở giai đoạn bị gián đoạn. Trí nhớ miễn dịch đặc biệt hiệu quả ngay trong thời gian dài.

Ngoài tiêm chủng mở rộng ở trẻ dưới 1 tuổi, tiêm chủng được chỉ định trong những trường hợp sau:

- Hoàn cảnh cá nhân bị thương tích: vết thương, tiêm giải độc tố uốn ván; động vật dại cắn, tiêm vaccine dại. Những tiêm chủng thực hiện sau khi bị thương tích hoặc bị cắn chỉ hiệu quả nếu thời gian bảo vệ của vaccine lớn hơn thời gian ủ bệnh. Bệnh uốn ván nhờ thế có thể tránh khỏi bằng một mũi tiêm nhắc lại. Trong bệnh dại, thời gian ủ bệnh thông thường khá lâu nên có thể tiêm chủng sơ khởi.

- Nguy cơ nghề nghiệp: tiêm vaccine viêm gan B cho những cán bộ có nguy cơ ở bệnh viện.

- Nguy cơ bệnh dịch: tiêm chủng nhanh cho tập thể có nguy cơ dẫn đến bệnh bại liệt, sởi, đậu mùa, não mô cầu, tả.

II. HUYẾT THANH

1. Nguyên lý sử dụng huyết thanh

Dùng huyết thanh miễn dịch là đưa vào cơ thể kháng thể có nguồn gốc từ người hay động vật, giúp cho cơ thể có ngay kháng thể đặc hiệu chống lại tác nhân gây bệnh. Điều trị huyết thanh đem lại tính miễn dịch thụ động tức thời nhưng thoáng qua, điều này trái ngược với tính miễn dịch hoạt động và bền vững trong tiêm chủng.

2. Phân loại huyết thanh

Người ta sử dụng 2 loại huyết thanh:

- Huyết thanh khác loài cổ điển, nguồn gốc động vật chủ yếu là ngựa. Những huyết thanh này đặc hiệu đối với một bệnh nhiễm trùng nhất định đặc biệt mà động vật cho đã được miễn dịch hóa trước đó. Loại huyết thanh này có lợi điểm rõ nhưng có những bất lợi là dung

nap kém, có thể gây quá mẫn tức thời như shock phản vệ hoặc quá mẫn chậm như bệnh huyết thanh, hiệu lực lại ngắn hạn chỉ kéo dài đến 2 hay 3 tuần lễ sau lần tiêm thứ nhất, vài ngày sau những lần tiêm tiếp theo. Sử dụng huyết thanh khác loài phải nên hạn chế và phải tránh tiêm lại cùng một người.

- Huyết thanh đồng loài nguồn gốc người, mới được sử dụng gần đây. Đó là chế phẩm globulin miễn dịch chủ yếu là γ globulin người tinh chế, loại tất cả nguy cơ nhiễm trùng như virus viêm gan, HIV... Đối với huyết thanh đồng loài người ta phân biệt globulin miễn dịch đa giá (bình thường) được lấy từ máu người khỏe mạnh hoặc từ máu rau thai và globulin miễn dịch đặc hiệu được bào chế từ máu những người đã có miễn dịch như người lành bệnh nhiễm trùng hoặc mới được tiêm chủng. Trong globulin miễn dịch đặc hiệu, nồng độ kháng thể chống lại vi sinh vật, là căn nguyên của bệnh nhiễm trùng, thường cao gấp hàng chục lần trong globulin miễn dịch đa giá.

Globulin miễn dịch người rất đắt tiền, nhất là loại đặc hiệu và được sản xuất giới hạn vì phụ thuộc vào người cho, nhưng có ưu điểm thường được dung nạp tốt, có thể tiêm lại cùng một người và có khả năng bảo vệ lâu dài, nhiều tuần lễ cho đến 1 tháng.

3. Nguyên tắc sử dụng huyết thanh

Các nguyên tắc cơ bản phải thực hiện khi sử dụng huyết thanh là:

- Đúng đối tượng
- Đúng liều lượng
- Đúng đường
- Đề phòng phản ứng
- Phối hợp sử dụng vaccine

3.1. Đối tượng

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

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

- Globulin miễn dịch người đa giá thường được sử dụng trong những trường hợp sau:

- + Điều trị suy giảm miễn dịch thể bẩm sinh hoặc thu hoạch.
- + Một vài hoàn cảnh bệnh lý có nguy cơ nhiễm trùng trầm trọng như bỏng.
- + Phòng ngừa một vài bệnh nhiễm trùng phổ biến như sởi, viêm gan A.

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

Globulin miễn dịch người có thể trung hòa hiệu lực của một vài vaccine sống, vì vậy nên tránh tiêm vaccine sởi trong 3 tháng sau khi tiêm globulin miễn dịch người.

3.2. Liều lượng

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

3.3. Đường đưa huyết thanh vào cơ thể

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

3.4. Đề phòng phản ứng

Ở bệnh nhân đã tiêm huyết thanh ngựa một lần thì lần tiêm thứ 2 có thể gây nên hiện tượng quá mẫn, nên khi tiêm huyết thanh cần thực hiện tốt các việc sau đây để ngăn ngừa phản ứng do huyết thanh gây ra:

- Trước hết phải hỏi xem bệnh nhân đã tiêm huyết thanh ngựa lần nào chưa? Trường hợp bệnh nhân đã tiêm huyết thanh rồi thì cần phải cân nhắc cẩn thận. Nếu thấy thật cần thiết mới tiêm lại lần thứ 2 vì tỷ lệ phản ứng cao hơn nhiều so với lần thứ nhất.

- Làm phản ứng giải mẫn cảm (phản ứng Besredka) trước khi tiêm: pha loãng huyết thanh 10 lần với nước muối sinh lý 0,85 %, tiêm 0,1 ml trong da. Nếu không có mẫn đỏ sau 30 phút thì tiêm cả lượng huyết thanh cần thiết. Nếu có mẫn đỏ mà không có huyết thanh đồng loài để tiêm và tình trạng bệnh nhân bắt buộc phải sử dụng huyết thanh thì phải tiêm dần dần từ liều nhỏ đến liều lớn cách nhau 20-40 phút và cứ như thế cho đến khi tiêm hết liều cần thiết trong 2 giờ.

- Trong quá trình tiêm huyết thanh cần theo dõi bệnh nhân liên tục để kịp thời can thiệp nếu có phản ứng xảy ra, đặc biệt là phải chuẩn bị đầy đủ các điều kiện để xử trí sốc phản vệ.

3.5. Tiêm vaccine phối hợp

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

4. Các phản ứng do tiêm huyết thanh

Nói chung loại globulin miễn dịch có nguồn gốc từ người đã được tinh chế cao và đưa vào cơ thể bằng đường tiêm bắp ít gây ra các phản ứng nguy hiểm. Tuy nhiên cần phải lưu ý rằng, tỷ lệ phản ứng do tiêm huyết thanh cao hơn nhiều so với phản ứng do tiêm chủng vaccine. Những phản ứng khi tiêm huyết thanh do hai cơ chế chính:

- Do cơ thể phản ứng với các thành phần kháng nguyên lạ, nhất là đối với các huyết thanh chưa được tinh chế cao.

- Do cơ thể sản xuất kháng thể chống lại chính globulin miễn dịch.

Các phản ứng do tiêm huyết thanh có thể là tại chỗ hoặc toàn thân.

4.1. Phản ứng tại chỗ

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

4.2. Phản ứng toàn thân

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

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

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

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

Mục tiêu học tập

1. Trình bày được sự phân bố của vi khuẩn trong đất, trong nước và trong không khí và các yếu tố ảnh hưởng đến sự phân bố đó
2. Trình bày được các vi khuẩn ký sinh ở trên cơ thể người và vai trò của chúng
3. Trình bày được các đường lây truyền bệnh

Vi sinh vật phân bố khắp nơi trong tự nhiên. Người ta thấy chúng ở trong đất, trong nước, trong không khí, trên cây cỏ, trong thức ăn, trên nhiều dụng cụ khác nhau và trên cơ thể người và động vật. Mỗi quan hệ giữa vi sinh vật và môi trường ngoại cảnh là rất chặt chẽ gọi là sinh thái học. Đó là mối quan hệ thích ứng, có nghĩa là vi sinh vật có khả năng thích ứng để tồn tại trong điều kiện ngoại cảnh nhất định. Nhiệm vụ quan trọng của vi sinh vật y học là nghiên cứu vi sinh vật gây bệnh có ở ngoại cảnh để tìm các phương pháp phòng ngừa chúng, đồng thời nghiên cứu sự phân bố của vi sinh vật trên cơ thể người để có biện pháp phòng bệnh thích hợp.

I. VI SINH VẬT TRONG TỰ NHIÊN

1. Vi sinh vật trong đất

Đất chứa rất nhiều vi sinh vật và là môi trường thích hợp cho sự phát triển của vi sinh vật, vì trong đất có nước, có không khí, có các chất vô cơ và các chất hữu cơ tạo thành một môi trường thiên nhiên thích hợp cho vi sinh vật.

Tùy theo tính chất và thành phần của đất ở mỗi nơi có khác nhau và khí hậu có khác nhau mà số lượng và chủng loại vi sinh vật cũng phân bố khác nhau. Ví dụ: Ở bề mặt của đất do tác dụng của ánh sáng mặt trời và sự khô ráo, số lượng vi sinh vật ít. Ở độ sâu 10 - 20 cm thì số lượng vi sinh vật nhiều, chủng loại đa dạng. Nhưng đến độ sâu một mét trở đi thì số lượng và chủng loại vi sinh vật giảm dần và chỉ có một số ít vi sinh vật tồn tại mà thôi vì ở độ sâu này, thiếu ôxy và các chất hữu cơ nên vi sinh vật hiếu khí không phát triển.

Đất còn bị ô nhiễm phân và các chất bài tiết của người và động vật với mức độ khác nhau nên số lượng và thành phần vi sinh vật cũng khác nhau. Tuy rằng trong đất có nhiều vi sinh vật khác nhau nhưng người ta phân chia thành 3 loại:

- Loại thứ nhất: vi sinh vật tự dưỡng: tự tổng hợp các chất cần thiết để sống.
- Loại thứ hai: vi sinh vật dị dưỡng là vi sinh vật làm thối rữa xác động vật, thực vật trong đất.
- Loại thứ ba: vi sinh vật gây bệnh theo thi thể hoặc theo chất bài tiết của động vật và của con người rơi vào trong đất. Loại vi sinh vật này đòi hỏi phải có nhiều chất dinh dưỡng và một số điều kiện thích hợp, cho nên loại này rất dễ chết, chỉ có các vi khuẩn sinh nha bào thì có khả năng tồn tại lâu trong đất. Từ đất, vi sinh vật gây bệnh có thể lây sang cơ thể người và động vật. Đường lây chủ yếu là gián tiếp do sự ô nhiễm của đất bản vì dụ rau quả xanh bị nhiễm vi sinh vật. Nghiên cứu vi sinh vật trong đất là một vấn đề luôn được đặt ra, nhất là

những vùng có liên quan đến chất thải công nghiệp, chất thải sinh hoạt, chất thải từ các lò mổ, bệnh viện... để đề ra những biện pháp diệt trừ và đề phòng các mầm bệnh có thể lây lan từ đất sang người, nhất là khâu bảo vệ môi trường.

2. Vi sinh vật trong nước

Nước là một môi trường tự nhiên trong đó vi sinh vật có thể phát triển được, bởi vì vi sinh vật chỉ sinh sản trong điều kiện ẩm ướt. Vi sinh vật vào nước từ đất, bụi, không khí và từ chất thải bỏ của người và động vật. Số lượng và chủng loại vi sinh vật thay đổi tùy theo độ bẩn của nước. Nước ở sông, hồ gần chỗ dân cư đông đúc có nhiều vi sinh vật, nước ở biển và các hồ lớn thì ít vi sinh vật hơn.

Nước có khả năng tự làm sạch do tác dụng thanh khuẩn của ánh sáng mặt trời và do sự cạnh tranh sinh tồn của các vi sinh vật trong nước.

Ngoài những vi sinh vật sống trong nước, còn có những vi sinh vật gây bệnh do người và động vật làm ô nhiễm. Do vậy nước cũng là nguồn truyền bệnh nguy hiểm nhất là các bệnh đường ruột, như vi khuẩn *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*... Các vi sinh vật gây bệnh này chỉ tồn tại trong nước một thời gian nhất định và gây bệnh cho người trong một thời kỳ nhất định. Nếu một nguồn nước bị ô nhiễm phân thì thường thấy xuất hiện *E.coli* - vi khuẩn này thường được dùng trong việc đánh giá sự ô nhiễm phân của nước. Ngoài ra trong một nguồn nước có mặt vi khuẩn *Clostridium perfringens* chứng tỏ nguồn nước đã bị nhiễm phân từ trước.

3. Vi sinh vật trong không khí

Không khí không phải là môi trường thuận lợi cho vi sinh vật phát triển vì không có chất dinh dưỡng, thêm vào đó lại có ánh sáng mặt trời. Tuy nhiên trong không khí vẫn có vi khuẩn do cuốn theo bụi đất và do con người bài tiết ra khi ho, khi hắt hơi...

Vi sinh vật trong không khí có nhiều chủng loại, những loại nào có bào tử, có sắc tố và nấm chịu được độ khô hanh và ánh sáng mặt trời mới tồn tại được. Số lượng vi sinh vật trong không khí tùy thuộc từng vùng. Ở những vùng dân cư đông đúc thì trong không khí có nhiều vi sinh vật, ở núi cao và ở trên các đại dương thì không khí có rất ít vi sinh vật. Ở thành thị không khí chứa nhiều vi sinh vật hơn ở nông thôn.

Trong không khí, ngoài các tạp khuẩn, nấm, nấm mốc, người ta thường gặp các vi sinh vật gây bệnh là: trực khuẩn lao, trực khuẩn bạch hầu, liên cầu tan máu, tụ cầu gây bệnh, trực khuẩn ho gà, virus cúm, sởi... từ bệnh nhân hoặc từ người lành mang trùng bài tiết ra không khí và làm lây lan từ người này sang người khác chủ yếu là hình thức gián tiếp thông qua những hạt nước bọt nhỏ mang vi sinh vật. Trong không khí lưu thông, những hạt này tồn tại không lâu nên khả năng nhiễm bệnh giảm xuống, do đó về mặt phòng bệnh cần lưu ý vấn đề lưu thông không khí nơi buồng bệnh và nơi công cộng.

II. VI SINH VẬT TRÊN CƠ THỂ NGƯỜI

Da, niêm mạc và các ổ tự nhiên nuôi dưỡng nhiều chủng loại vi sinh vật, những vi sinh vật đó được xếp vào 2 nhóm :

- Khuẩn chí bình thường: gồm những chủng loại vi khuẩn tương đối cố định, tìm thấy đều đặn ở một vùng nhất định, ở một lứa tuổi nhất định, nếu bị phá hủy thì tự thiết lập lại một cách nhanh chóng.

- Khuẩn chí tạm thời: gồm những vi sinh vật có hoặc không có khả năng gây bệnh, cư ngụ ở da, niêm mạc trong khoảng thời gian giới hạn, phát sinh từ môi trường xung quanh, không phát sinh chứng bệnh, không tự định cư thường xuyên ở bề mặt cơ thể.

Thành phần của khuẩn chí tạm thời thường không có ý nghĩa khi khuẩn chí bình thường còn nguyên vẹn. Tuy nhiên nếu khuẩn chí bình thường bị phá hủy thì khuẩn chí tạm thời có thể phát triển và phát sinh chứng bệnh.

1. Vai trò của khuẩn chí bình thường

Khuẩn chí bình thường ở mỗi vùng nhất định của cơ thể giữ một vai trò nhất định trong việc duy trì sức khỏe và các chức năng bình thường.

- Khuẩn chí bình thường ở da và niêm mạc: là hàng rào ngăn cản đầu tiên cản trở quá trình xâm nhiễm của các vi sinh vật theo cơ chế cạnh tranh sinh tồn hoặc giao hoán vi khuẩn.

- Thành phần khuẩn chí bình thường ở ruột giúp cơ thể tổng hợp một số vitamin như K, B₁, B₆ ... và góp phần thuận lợi cho việc nuôi dưỡng cơ thể.

Tuy nhiên thành phần khuẩn chí bình thường có thể gây nên bệnh trong một số hoàn cảnh vì những vi sinh vật này đã thích nghi với kiểu sống không xâm nhiễm, nếu bị bắt buộc rời khỏi chỗ cư ngụ bình thường và đưa vào máu hoặc mô thì chúng trở nên gây bệnh. Ví dụ :

- + *Streptococcus viridans* thường ký sinh ở đường hô hấp trên, nếu vào máu do nhổ răng hoặc cắt amygdales thì có thể gây nên bệnh viêm màng trong tim bán cấp (bệnh Osler)

- + Xoắn khuẩn và trực khuẩn hình thoi : bình thường ở khoang miệng, nếu mô bị hủy hoại do chấn thương, cơ thể suy dinh dưỡng hoặc nhiễm trùng nặng... thì chúng phát triển mạnh mẽ ở biểu mô hoại tử và gây viêm họng (gọi là viêm họng Vincent).

2. Những vi sinh vật ký sinh ở cơ thể người

2.1. Các vi sinh vật ở trên da

Chủng loại vi sinh vật sống trên da và niêm mạc rất thay đổi, chúng phụ thuộc vào hoàn cảnh, tình hình vệ sinh cá nhân và nghề nghiệp. Vì da tiếp xúc thường xuyên với môi trường xung quanh, da chứa đựng nhiều vi sinh vật tạm thời, tuy nhiên những khuẩn chí bình thường không đổi được tìm thấy ở những vùng giải phẫu khác nhau. Các vi sinh vật bình thường thường thấy ở da là :

- *Staphylococcus coagulase âm tính*, *streptococcus viridans*, *coliformes*, các loại trực khuẩn Gram dương (bacilli gram positive).

- Nấm men : thường thấy ở các lần da

- Các *Mycobacteria* không gây bệnh: thường thấy trên da ở những vùng sần chất xuất tiết, cơ quan sinh dục, ống tai ngoài...

- Trên da cũng có thể có các vi sinh vật gây bệnh như *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*...

Chủng loại vi sinh vật sống trên da thay đổi theo vùng: vùng có nhiều vi khuẩn như da đầu, mặt, kẽ ngón tay... Vùng có ít vi khuẩn như mặt ngoài của các chi, bàn tay, da bụng... Những yếu tố có thể phá hủy các vi sinh vật thường thấy ở da là: pH thấp, axit béo của chất xuất tiết nhầy và lysozym. Số lượng vi sinh vật ở bề mặt có thể giảm bớt bằng cách chà sát mạnh trong trường hợp vệ sinh da trước khi mổ, nhưng khuẩn chí nhanh chóng lập lại từ tuyến nhờn và mồ hôi sau đó.

2.2. Vi sinh vật ở đường hô hấp

- Ở mũi có nhiều trực khuẩn giả bạch hầu (*diptheroides*) và chủ yếu là tụ cầu, đáng chú ý là có nhiều tụ cầu vàng ở mũi trước từ 20 - 50 % người lành mang tụ cầu vàng trong mũi.

- Ở họng mũi: số lượng và chủng loại vi sinh vật khá phong phú. Họng thường vô khuẩn lúc mới sinh, nhưng cũng có thể lây nhiễm trong khi sinh. Sau sinh trong vòng 4 - 12 giờ đầu tiên thì *Streptococcus viridans* xuất hiện như là thành phần chủ yếu và tồn tại suốt đời. Sau đó các loài thuộc *Diphtheroides*, *Lactobacilus*, *Staphylococci*, *Neisseria* sớm được thêm vào.

- Ở tuyến hạnh nhân (amygdales): có thể có liên cầu nhóm A tan máu β . Đây là vi khuẩn chủ yếu gây viêm họng (80 - 90%) và gây bệnh thấp tim tiên triển.

- Ở khí quản, phế quản: do cấu tạo sinh lý có niêm dịch, đại thực bào nên ở đường hô hấp dưới thường không có vi sinh vật.

2.3. Vi sinh vật ở đường tiêu hóa

Lúc mới sinh ống tiêu hóa vô khuẩn, nhưng vi sinh vật được nhanh chóng đưa vào theo thức ăn.

2.3.1. Ở người trưởng thành: vi sinh vật ở ống tiêu hóa rất đa dạng và thay đổi.

- Ở miệng và thực quản: Ở miệng có sự cân bằng sinh thái giữa các vi khuẩn với nhau. Phần lớn các vi khuẩn sống chung, tuy vậy cũng có một số có khả năng gây bệnh quyết định tình trạng nhiễm khuẩn, ví dụ nhiễm khuẩn tại chỗ tại mũi họng, răng, hoặc đôi khi gây bệnh cho toàn thân do độc tố hoặc vi khuẩn xâm nhập vào máu. Thường thấy ở miệng là các cầu khuẩn Gram (+), cầu khuẩn Gram (-), trực khuẩn Gram (+), các vi khuẩn kỵ khí như *Clostridium*, các xoắn khuẩn. Ngoài ra còn thấy các vi khuẩn đường ruột, trực khuẩn mủ xanh trong các trường hợp đặc biệt như cơ địa yếu hoặc sử dụng kháng sinh phổ rộng, kéo dài.

- Ở dạ dày: bình thường pH rất thấp (pH=2) nên có rất ít vi sinh vật, đa số là vi sinh vật từ miệng nuốt vào. Vì dạ dày có pH là axit nên chỉ có vi khuẩn lao tồn tại được. Nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh có một loại xoắn khuẩn là *Helicobacter* có khả năng phát triển trong môi trường axit của dạ dày đặc biệt là hang vị. Trong giống này có *Helicobacter pylori* là căn nguyên của viêm loét dạ dày, tá tràng. Trong một số trường hợp như ung thư, loét dạ dày, tá tràng... thì pH thay đổi nên có thể có tụ cầu và nấm.

- Ở ruột:

+ Ở ruột non: pH kiềm và có enzyme li giải vi sinh vật nên chỉ còn những vi sinh vật sống sót khi đi qua dạ dày. Chỉ có một số ít liên cầu, tụ cầu, các loài thuộc *Lactobacilus* tại ruột non. Ở người bị loét dạ dày - tá tràng, viêm ruột, xơ gan thì có thể thấy *E.coli* ở ruột non.

+ Ở ruột già: có rất nhiều vi sinh vật, có 10^{11} vi sinh vật trong 1 gam chất chứa tạo nên 10 - 20 % khối lượng phân khô. Các vi sinh vật ở ruột già chủ yếu là vi khuẩn kỵ khí (99%) bao gồm các loài thuộc *Bacteroides*, *Clostridium spp.*, *Lactobacilus...*, các vi khuẩn hiếu khí chỉ có 1% gồm *E.coli*, liên cầu D, tụ cầu, *Proteus...*

2.3.2. Ở trẻ em: Sau sinh một vài giờ đã có vi sinh vật phát triển. Ở trẻ em nuôi bằng sữa mẹ, vi sinh vật chỉ có một loại hình thể - chủ yếu 99% là *Bifidobacterium bifidum*, sau đó là *E.coli*, còn trẻ em nuôi bằng sữa bò thì có những loại vi sinh vật như ở người lớn.

Ở một người thì vi sinh vật ở ruột tương đối ổn định, tuy vậy cũng có thể thay đổi do: chế độ ăn uống, tuổi: ở người già thì tăng *E.coli* và các loài *Clostridium*. Trong một số điều kiện nhất định thì có sự thay đổi lớn đội ngũ vi sinh vật ở ruột như ỉa chảy, táo bón... Sử dụng kháng sinh cũng làm đảo lộn đội ngũ vi sinh vật, nó làm giảm số lượng khuẩn chí bình thường bằng các vi sinh vật kháng thuốc từ ngoài vào.

2.4. Vi sinh vật ở đường sinh dục- tiết niệu

Trong điều kiện bình thường, chỉ ở bên ngoài bộ máy sinh dục mới có vi sinh vật. Ở nam giới thì có *Mycobacterium smegmatis*, ở lỗ niệu đạo có tụ cầu, trực khuẩn Gram âm. Ở nữ giới lỗ ngoài niệu đạo có tụ cầu, trực khuẩn giả bạch hầu, vi khuẩn đường ruột... Sau sinh thì *Lactobacilus* (trực khuẩn Doderlin) xuất hiện ở cơ quan sinh dục và tồn tại suốt đời chừng nào pH vẫn còn axit. Lúc pH trở nên trung tính thì có các vi khuẩn khác như các cầu khuẩn và trực khuẩn. Ở tuổi dậy thì, *Lactobacilus* giảm và lúc bị phá hủy vì điều trị kháng sinh... thì *Candida albicans* và những vi khuẩn khác có thể phát triển gây nên bệnh.

III. NGUỒN GỐC VÀ CÁC ĐƯỜNG TRUYỀN BỆNH NHIỄM TRÙNG

1. Nguồn truyền bệnh

Bao gồm bên ngoài và bên trong cơ thể.

1.1. Nguồn gốc bên ngoài

- Môi trường truyền cho người: một số vi sinh vật gây bệnh ở trong đất có nha bào tồn tại lâu, có thể gây bệnh cho người.

- Người truyền cho người: chiếm đa số, bao gồm người bệnh và người lành mang trùng. Người bệnh từ trước lúc thấy rõ triệu chứng cho đến sau khi khỏi bệnh một thời gian vẫn còn mang vi khuẩn.

- Động vật truyền sang cho người: nhiều bệnh truyền nhiễm do động vật truyền sang cho người: bệnh dịch hạch (chuột), bệnh dại (chó)...

1.2. Nguồn gốc bên trong

Có một số vi sinh vật bình thường sống ở da, niêm mạc hay các ổ tự nhiên (khuẩn chí bình thường). Lúc có yếu tố thuận lợi: cơ thể suy yếu, sử dụng kháng sinh... chúng phát triển mạnh mẽ và gây nên bệnh, ví dụ : *E.coli* từ đại tràng đến đường tiết niệu thì gây bệnh.

2. Phương thức truyền bệnh

2.1. Truyền bệnh do tiếp xúc

Người khỏe tiếp xúc với người ốm hay động vật ốm qua các hình thức cọ xát, giao hợp, bú, liếm, cắn, qua nhau thai, qua sử dụng đồ đạc, dụng cụ đã nhiễm vi sinh vật hay dụng cụ y tế, thuốc, máu, huyết thanh của người bệnh hay người lành mang trùng nhiễm vi sinh vật.

2.2. Truyền bệnh qua ăn uống

Đa số bệnh đường ruột lây truyền do ăn uống phải thức ăn, nước uống bị nhiễm khuẩn do người bệnh hoặc người lành mang trùng bài tiết ra như tả, lỵ, thương hàn, bại liệt... qua môi giới nước, ruồi nhặng, gián, tay chân bẩn...

2.3. Truyền bệnh do côn trùng tiết túc

Đa số các bệnh nhiễm trùng theo đường máu do côn trùng tiết túc truyền bệnh như muỗi, rận, bọ chét...

3. Đối tượng truyền bệnh

Đối tượng truyền bệnh là cơ thể cảm nhiễm. Khi có nguồn bệnh và đường lây truyền thích hợp nhưng nếu không có cơ thể cảm nhiễm thì không thể phát sinh bệnh. Do đó cơ thể cảm nhiễm là khâu quan trọng trong quá trình lây truyền của bệnh nhiễm trùng. Cơ thể cảm nhiễm là những đối tượng vì lý do dinh dưỡng, bệnh tật... mà khả năng đề kháng (bao gồm miễn dịch thụ động, miễn dịch không đặc hiệu và cả miễn dịch chủ động đặc hiệu) đều bị suy giảm và như vậy khi gặp vi sinh vật xâm nhiễm thì dễ dàng mắc bệnh nhiễm trùng. Cơ thể cảm nhiễm thường gặp là trẻ em, người già, người mắc các bệnh mãn tính, phụ nữ có thai...

NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

Mục tiêu học tập

1. Nêu được định nghĩa thế nào là nhiễm trùng bệnh viện
2. Mô tả được tầm quan trọng của NTBV, các VSV gây nhiễm trùng, ổ chứa, phương thức lây truyền, và các yếu tố ảnh hưởng đến NTBV
3. Trình bày được các NTBV thường gặp

I. ĐỊNH NGHĨA

Nhiễm trùng bệnh viện (NTBV) là nhiễm trùng xảy ra lúc người bệnh nằm điều trị ở bệnh viện, nhiễm trùng này không biểu hiện cũng không ở thời kỳ ủ bệnh lúc người bệnh vào viện. Những nhiễm trùng mắc phải ở bệnh viện nhưng chỉ biểu hiện sau khi người bệnh rời bệnh viện cũng được kể vào. Mặc dù nhiều NTBV có thể phòng ngừa nhưng có một số không thể phòng ngừa nên NTBV không tương đương với nhiễm trùng do thầy thuốc tức là nhiễm trùng do can thiệp chẩn đoán hoặc điều trị như đặt ống thông niệu đạo hoặc thông tĩnh mạch. Nhiễm trùng cơ hội xảy ra ở những bệnh nhân mà cơ chế bảo vệ bị suy giảm và thường gây nên do những tác nhân nhiễm trùng bình thường không gây bệnh ở người khỏe mạnh. Nhiễm trùng cơ hội gây nên do vi khuẩn ở khuẩn chí của người bệnh và thường không tránh khỏi vì liên quan đến tổn thương ở rào cản niêm mạc hoặc những cơ chế bảo vệ khác của người bệnh.

II. CĂN NGUYÊN VÀ DỊCH TỄ HỌC

1. Tỷ lệ bệnh

NTBV xảy ra từ 2 đến 10 % (trung bình 5%) người bệnh điều trị ở bệnh viện. Tỷ lệ NTBV thay đổi tùy theo bệnh viện, thường cao ở những bệnh viện trung ương; điều này phản ánh tình trạng nặng hơn của chứng bệnh ở người bệnh và việc sử dụng nhiều hơn những phương tiện chẩn đoán và điều trị dễ gây chấn thương.

NTBV có thể nghiêm trọng và dẫn đến tử vong. Trung bình NTBV có tỷ lệ tử vong 1%, phí tổn điều trị NTBV khá lớn. Hơn nữa NTBV làm giảm năng suất lao động vì người bệnh phải được điều trị thêm một thời gian.

2. Vi sinh vật gây NTBV

Thường gặp nhất là vi khuẩn hiếu khí Gram âm, tụ cầu, liên cầu ruột.

- Trực khuẩn Gram âm quan trọng nhất trong các vi sinh vật gây NTBV vì chúng là tác nhân chính của nhiễm trùng đường tiêu và còn gây bệnh ở những vị trí khác. Những trực khuẩn đường ruột như *E. coli*, *Klebsiella* thường tìm thấy trong NTBV ở những bệnh nhân mà cơ chế bảo vệ bị suy giảm. Nhiều trực khuẩn Gram âm như *Pseudomonas* và *Klebsiella* có nhu cầu dinh dưỡng tối thiểu nên có thể tạo nên những ổ bệnh ở môi trường bệnh viện cũng như ở người bệnh. Các trực khuẩn Gram âm phát triển sự đề kháng thuốc nhanh hơn các cầu khuẩn Gram dương, trực khuẩn Gram âm trở nên kháng thuốc qua thu hoạch plasmid R. Ngoài ra *Enterobacter*, *Pseudomonas* và *Serratia* còn có cơ chế đột biến nhiễm sắc thể đề kháng penicillin và cephalosporin.

- Trong các cầu khuẩn Gram dương *S. aureus* hiện nay vẫn còn là tác nhân gây bệnh quan trọng. Nó thường gây nhiễm trùng vết thương phẫu thuật, bỏng và thông tĩnh mạch. Tụ cầu vàng tìm thấy khắp nơi, ở da, tóc, tỉ hầu của người bệnh và nhân viên bệnh viện, ở tay nhân viên bệnh viện, ở dụng cụ và ở hầu hết đồ vật tìm thấy ở bệnh viện. Nhiều chủng *S.*

aureus kháng thuốc được tìm thấy ở nhiều bệnh viện, chúng có thể gây nên những vụ dịch nhiễm trùng ở những đơn vị chăm sóc tích cực. Chúng đề kháng với erythromycin, clindamycin và aminoglycoside. Những chủng tụ cầu kháng methicillin (MRSA: *methicillin resistant S. aureus*) cũng là tác nhân gây nhiễm trùng bệnh viện gặp khá phổ biến nhiều nơi trên thế giới: ở Đan Mạch gặp với tỷ lệ 0,1%, Thụy Điển 0,3%, Hà Lan 1,5%, Thụy Sĩ 1,8%, ở một số nước khác tìm thấy cao hơn 20% chủng tụ cầu kháng methicillin như ở Áo 21,6%, Belgium 25,6%, Tây Ban Nha 30,3%, Pháp 33,6% Những chủng *S. epidermidis* cũng mang những gen đa đề kháng và có thể truyền những gen đó cho *S. aureus*.

- Liên cầu ruột được biết từ lâu là một tác nhân NTB quan trọng về đường tiêu, nó là tác nhân có ý nghĩa ở vết thương của những người bệnh điều trị với các cephalosporin. Đặc biệt nhiều chủng *enterococci* đề kháng aminoglycoside như gentamicin và vancomycin

- Danh sách những vi sinh vật quan trọng trong NTB đang tăng lên đáng kể. Những nhiễm trùng cơ hội gây nên bởi những vi khuẩn độc lực thấp (*S. epidermidis*) và nấm (*Aspergillus*, *Candida*) cũng thường gặp. Viêm ruột kết do *Clostridium difficile* là hậu quả của sự biến đổi khuẩn chí đường ruột do điều trị kháng sinh.

- Virus đường hô hấp như virus hợp bào đường hô hấp và virus cúm, gần đây virus corona gây bệnh SARS (severe acute respiratory syndrome) là các tác nhân NTB. Những virus khác như virus viêm gan, HIV liên hệ đến nhiễm trùng do truyền máu hoặc các sản phẩm máu, do tai biến. Cytomegalovirus, virus varicella-zoster và rotavirus cũng giữ một vai trò đáng kể trong NTB, những tác nhân này gây nhiễm trùng bệnh viện ở những người suy miễn dịch, ở những bệnh nhân ghép cơ quan.

3. Ổ chứa

Nhân viên y tế, bệnh nhân và những người đến thăm là ổ chứa đầu tiên.

Hầu hết nhiễm trùng bệnh viện xuất phát từ vi khuẩn sống trên cơ thể người bệnh

Các vi khuẩn gây bệnh thường cư trú ở các vị trí gồm: hốc mũi như tụ cầu vàng, tụ cầu kháng methicillin; trên da *S. epidermidis*; ở đường tiêu hoá như *enterococci*, các vi khuẩn họ đường ruột, các loài *Candida*. Ở đường sinh dục tiết niệu *enterococci*, vi khuẩn họ đường ruột.

Những bệnh nhân bị nhiễm trùng hay ở tình trạng mang các vi khuẩn đề kháng như *enterococci* đề kháng thuốc, tụ cầu kháng methicillin, *Clostridium difficile* sẽ làm nhiễm bẩn môi trường. Và môi trường bị nhiễm bẩn lại trở thành ổ chứa thứ phát. Một số môi trường là ổ chứa đầu tiên một số vi khuẩn gây bệnh như: nước chứa vi khuẩn *Legionella*, các loài *Pseudomonas*; thức ăn chứa các vi khuẩn đường tiêu hoá

4. Sự lây truyền vi sinh vật trong NTB

4.1. Lây trực tiếp

Trong bệnh viện, tay nhân viên y tế thường bị nhiễm bẩn tạm thời và thường là môi giới truyền vi khuẩn từ người này đến người khác. Những nhân viên y tế khoẻ mạnh thường mang các vi khuẩn gây bệnh như tụ cầu vàng, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella enteritidis* và truyền các vi khuẩn này cho người bệnh.

4.2. Lây qua dụng cụ

Các dụng cụ như nhiệt kế điện tử, thuốc men, các loại dịch chuyển tĩnh mạch, thức ăn, sữa, các loại dung dịch uống có thể truyền các vi khuẩn gây nhiễm trùng bệnh viện cho người bệnh.

4.3. Lây qua không khí

Không khí trong bệnh viện, hệ thống thông khí có thể truyền các tác nhân như *M. tuberculosis*, virus varicella-zoster, virus corona gây SARS, các loài nấm *Aspergillus*. Bụi nước bị nhiễm bẩn có thể truyền các vi khuẩn *Legionella*

5. Những yếu tố ảnh hưởng đến NTB

Cũng như phần lớn những nhiễm trùng, NTB là hậu quả của sự tương tác giữa 2 nhân tố

5.1. Yếu tố vi sinh vật: Độc lực và khả năng lan tràn của vi sinh vật gây bệnh,

5.2. Sự đề kháng của người bệnh: Tuổi, chứng bệnh, sự toàn vẹn của niêm mạc và da và tình trạng miễn dịch là những nhân tố chính quyết định tỷ lệ bệnh và hậu quả của NTB. Những cơ chế bảo vệ cơ thể: vật lý (suy giảm trong trường hợp bỏng hoặc chấn thương), hóa học (thiếu HCl dịch vị, cắt dạ dày làm giới hạn axit dịch vị) hoặc miễn dịch (bệnh Hodgkin, hóa liệu pháp chống ung thư.v.v...) ảnh hưởng mạnh mẽ đến NTB.

Ngoài người bệnh và vi sinh vật, những nhân tố khác liên quan đến NTB bao gồm các biện pháp chẩn đoán thăm dò chức năng, những phương thức điều trị, những bệnh nhân nhiều nguy cơ NTB là những bệnh nhân suy giảm miễn dịch, bệnh nhân điều trị với thuốc làm giảm sức bảo vệ (corticosteroid .v.v...) và bệnh nhân trong quá trình điều trị là đối tượng với nhiều lần can thiệp. Sử dụng ngày càng nhiều những phương pháp chẩn đoán gây chấn thương làm tăng xác suất NTB.

Nhân viên bệnh viện cũng có nguy cơ NTB, nhân viên ở phòng xét nghiệm có mẫu nghiệm máu có thể mắc bệnh viêm gan virus, HIV và ở những khoa lây (lao, ho gà...).

III. NHỮNG NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN THƯỜNG GẶP

1. Nhiễm trùng đường tiểu

Nhiễm trùng đường tiểu chiếm khoảng 40% NTB và thường do đưa dụng cụ vào niệu đạo, bàng quang và thận. yếu tố thuận lợi cho nhiễm trùng ngược dòng là đặt ống thông niệu đạo làm bất hoạt rào cản bình thường. Khảo sát cho thấy 10-15% bệnh nhân người lớn được thông niệu đạo, trong đó nhiều trường hợp không cần thiết đặt. Đường tiết niệu là tiêu điểm nhiễm trùng thường gặp nhất đưa đến nhiễm khuẩn huyết do vi khuẩn Gram âm.

2. Nhiễm trùng vết thương

Phần lớn nhiễm trùng vết thương gây nên do vi khuẩn trực tiếp đưa vào mô trong thời gian phẫu thuật. Thông thường vi khuẩn có nguồn gốc là khuẩn chí của người bệnh, tuy nhiên nhân viên phẫu thuật có thể là nguồn gốc của nhiễm trùng, đặc biệt với liên cầu A và *S. aureus*. Những yếu tố ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm trùng vết thương bao gồm loại phẫu thuật, thời gian phẫu thuật, kỹ năng của thầy thuốc và sức khỏe cơ bản của người bệnh. Phẫu thuật ở những vị trí bị nhiễm bẩn như ruột, cơ quan sinh dục nữ thường dễ bị nhiễm trùng hơn là ở những vị trí vô trùng trước khi mổ. Phẫu thuật thời gian dài hoặc phẫu thuật trong đó những mô chết, vật thể lạ hoặc bứu máu được lấy đi thường tăng tỷ lệ nhiễm trùng vết thương. Những nhân tố thuận lợi khác bao gồm người lớn tuổi, tình trạng dinh dưỡng kém, sự hiện diện của một tiêu điểm nhiễm trùng ở đâu đó, bệnh đái đường, suy thận và điều trị corticosteroid.

Những vết thương không mổ gồm bỏng, loét do nằm, loét ở da do tắc nghẽn tĩnh mạch hoặc động mạch cũng là vị trí của NTB. Những vi khuẩn gây nhiễm trùng cũng tương tự như ở vết thương mổ trừ nhiễm trùng bỏng thường do *P. aeruginosa* và nhiễm trùng loét ở vùng chậu cũng như những chi dưới thường do khuẩn chí ở ruột.

3. Viêm phổi

Nhiễm trùng đường hô hấp dưới thường là nguyên nhân đưa đến tử vong ở NTBV mặc dù về tỷ lệ nó đứng thứ ba sau nhiễm trùng đường tiểu và nhiễm trùng vết thương. Những vi khuẩn gây bệnh chủ yếu là trực khuẩn Gram âm và *S. aureus*, những vi khuẩn này thường đến đường hô hấp dưới do từ họng hơn là qua đường máu. Viêm phổi bệnh viện thường xảy ra ở các đối tượng sau:

- Người bệnh trở mà phản xạ nôn và ho không hiệu quả
- Người bệnh có chứng bệnh phổi hoặc suy tim xung huyết
- Người bệnh cần dùng dụng cụ hoặc hỗ trợ thông khí.

Sự lây truyền virus đường hô hấp ở bệnh viện cũng hay gặp đặc biệt ở khoa nhi, nhưng trừ trường hợp cúm, hợp bào đường hô hấp, gần đây virus corona gây viêm phổi cấp và suy hô hấp cấp tính nặng có tỷ lệ tử vong cao trên 10% bệnh nhân bị nhiễm trùng. Nhân viên bệnh viện thường nhiễm virus hô hấp của người bệnh và sự lây lan do hít phải hoặc tiếp xúc trực tiếp qua niêm mạc các giọt chất tiết có virus từ bệnh nhân khi săn sóc, khi tiếp xúc với người bệnh. Các phương thức lây khác như dùng các dụng cụ hỗ trợ hô hấp, qua tay...Biện pháp phòng ngừa sự lây nhiễm các virus hô hấp như SARS gồm phát hiện và cách ly bệnh sớm, sử dụng biện pháp bảo vệ như dùng khẩu trang có lọc, mang găng và các trang phục bảo vệ mắt, đầu khi săn sóc người bệnh.

4. Nhiễm khuẩn huyết

Mặc dù nhiễm khuẩn huyết có thể xảy ra ở bất cứ NTBV nào, nhưng canuyn huyết quản bị nhiễm bản là nguyên nhân thông thường và dễ phòng ngừa nhất của nhiễm khuẩn huyết tiên phát ở bệnh viện. Nhiễm trùng do điều trị tĩnh mạch chiếm khoảng 5% tổng số NTBV và 10% của tổng số cấy máu dương tính. Những vi khuẩn gây bệnh thường gặp là *S. epidermidis*, *S. aureus*, trực khuẩn Gram âm và liên cầu ruột. Lúc dinh dưỡng bằng dịch qua ống thông thì *Candida* cũng là tác nhân quan trọng. Vi khuẩn có thể vào ở bất cứ vị trí nào khi có đường chuyển dịch, thường vị trí vào da lúc đặt Canuyn hoặc những thủ thuật sau đó và vi sinh vật theo canuyn vào máu. dịch truyền có thể bị nhiễm khuẩn gây nên nhiễm khuẩn huyết do một trong những vi khuẩn kém độc lực như *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter freundii*, những vi khuẩn này có thể phát triển ở dịch truyền chứa 5% glucose.

Nhiễm khuẩn huyết tạm thời sau những thao tác chẩn đoán hoặc điều trị ở miệng, đường hô hấp, đường tiêu hóa, đường sinh dục thường được người bệnh dung nạp tốt. Tuy nhiên những người có bệnh tim hoặc van tim bẩm sinh có thể có nguy cơ viêm màng trong tim lúc chịu những thao tác nói trên và cần được phòng ngừa bằng kháng sinh.

5. Nhiễm trùng các virus viêm gan B, C và HIV

Nhiễm trùng do virus viêm gan B và virus HIV liên quan không những người bệnh và cả nhân viên y tế trong săn sóc bệnh nhân hoặc thao tác mẫu máu của người bệnh. Người bệnh nhiều nguy cơ là người bệnh nhận chuyển máu hoặc chế phẩm máu hoặc những bệnh nhân qua thẩm phân lọc máu. Việc xét nghiệm sàng lọc để loại trừ những người cho máu bị nhiễm trùng các virus này cùng với việc xử lý máu trước khi chuyển để loại trừ HIV làm giảm tỷ lệ viêm gan do virus B và C và HIV sau truyền máu. Sự lây nhiễm HIV xảy ra cho nhân viên y tế do các tai biến kim tiêm hoặc các dụng cụ sắc nhọn đâm vào tay trong quá trình lấy máu, mổ xẻ..Nhiễm trùng HIV trong nhồ rằng từ bác sĩ đến người bệnh cũng đã được đề cập

Những biện pháp phòng ngừa nhiễm trùng các virus viêm gan và HIV bao gồm:

5.1. Cần phổ biến ý thức phòng bệnh để giới hạn sự lây truyền do kim tiêm hoặc tiếp xúc trực tiếp.

5.2. Dán nhãn hiệu và thao tác cẩn thận tất cả mẫu máu và mô của người bệnh.

5.3. Khuyến cáo nhân viên có nguy cơ nhiễm trùng nên tiêm phòng vaccin

5.4. Cần lưu ý những trường hợp nhiễm trùng HIV trong giai đoạn sớm các xét nghiệm sàng lọc tìm kháng thể sẽ cho kết quả âm tính. Những mẫu máu nghi ngờ cần được kiểm tra kỹ bằng tìm kháng nguyên hoặc axit nucleic của virus.

5.5. Tiêm ngay globulin miễn dịch viêm gan B và vaccin viêm gan B cho nhân viên và người bệnh có nguy cơ đặc biệt viêm gan B như bị kim tiêm người bệnh viêm gan B đâm vào da.

IV. KIỂM TRA NHIỄM TRÙNG BỆNH VIỆN

1. Mục tiêu

Kiểm tra NTB bao gồm những mục tiêu :

1.1. Làm giảm nguy cơ NTB ở người bệnh.

1.2. Chăm sóc đầy đủ những người bệnh bị nhiễm trùng lây truyền mạnh.

1.3. Giảm đến mức tối thiểu nguy cơ nhiễm trùng ở nhân viên bệnh viện.

Phần lớn những bệnh viện thành lập một ban kiểm tra NTB. Ban này có nhiệm vụ :

- Tìm biện pháp thích hợp để xử lý bệnh nhiễm trùng.

- Xác định và theo dõi những người bệnh bị bệnh truyền nhiễm.

- Phòng ngừa sự lây truyền bệnh nhiễm trùng ở người bệnh và nhân viên.

- Theo dõi việc sử dụng kháng sinh và mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các vi sinh vật thường gây NTB.

2. Biện pháp

Những biện pháp chủ yếu bao gồm rửa tay giữa những lần tiếp xúc với người bệnh, cách li thích đáng những bệnh nhiễm trùng dễ lây truyền, áp dụng những biện pháp dịch tễ học để xác định và loại bỏ kịp thời những ổ nhiễm trùng.

Những biện pháp phòng ngừa không những áp dụng với người bệnh mà cả với nhân viên bệnh viện.

Lúc nhập viện phải chọn lựa riêng người bệnh lây, điều này đặc biệt quan trọng với khoa nhi, khoa ung thư và khoa ghép cơ quan vì những bệnh nhiễm trùng ít quan trọng như thủy đậu, sởi có thể nguy hiểm với người bệnh ở những khoa đó.