

CHƯƠNG 4

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA VI SINH VẬT

MH11-04

Giới thiệu: Vi sinh vật hoạt động trong môi trường tự nhiên hay trong cơ thể động vật thì chúng cũng phải chịu ảnh hưởng bởi những yếu tố đến sự sinh trưởng phát triển của vi sinh vật.

Mục tiêu:

- Kiến thức: Trình bày được đặc tính về dinh dưỡng, sự phát triển và các yếu tố ảnh hưởng đến các quá trình sinh trưởng và phát triển ở vi sinh vật
- Kỹ năng: Đánh giá được các yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng vi sinh vật
- Năng lực tự chủ và trách nhiệm: Có ý thức về lợi ích của việc học tập, từ đó có thái độ học tập đúng đắn; ý thức tự học hỏi nâng cao trình độ.

1. Yếu tố vật lý

1.1. Độ ẩm

Mọi hoạt động sống của vi sinh vật đều liên quan đến nước. Trong tế bào vi sinh vật, nước chiếm tỷ lệ khá cao (nấm men 73-82%, nấm mốc 84- 90%, vi khuẩn 75-85%). Vì vậy thiếu nước tế bào có thể bị chết do hiện tượng loại nước ra khỏi tế bào.

Sự đề kháng của vi sinh vật với trạng thái khô phụ thuộc vào:

- Nguồn gốc của vi sinh vật: Vi sinh vật trong không khí chịu khô tốt hơn vi sinh vật sống trong nước.
- Loại vi sinh vật: Xạ khuẩn chịu khô tốt hơn vi khuẩn, vi khuẩn chịu khô tốt hơn nấm mốc,...
- Trạng thái tế bào: Tế bào già, tế bào có nha bào chịu khô tốt hơn tế bào non. ở trạng thái khô hầu hết các vi sinh vật đều bị ức chế, ngừng quá trình sinh trưởng và phát triển, nhưng nếu có độ ẩm thích hợp chúng lại hoạt động trở lại. Người ta ứng dụng đặc tính này trong bảo quản nông sản, thực phẩm và các nguyên vật liệu khác bằng cách phơi khô, sấy khô.

Trong phòng bệnh cho gia súc, điều quan trọng là giữ cho chuồng trại luôn khô ráo, thoáng mát để hạn chế sự phát triển của các vi sinh vật gây bệnh.

Âm độ > 70%, sự đề kháng với trạng thái khô của nhóm xạ khuẩn > vi khuẩn > nấm mốc

Nhóm vi sinh vật	Ấm độ tối thiểu
Phần lớn vk gram (-)	0,97
Phần lớn vk gram (+)	0,90
Phần lớn nấm	0,88
Phần lớn nấm sợi	0,80
Vi khuẩn ưa mặn	0,75
Một số nấm sợi khác	0,60

1.2. Nhiệt độ

Vi sinh vật cần một khoảng nhiệt độ thích hợp cho hoạt động sống của nó. Phạm vi nhiệt độ để vi sinh vật có thể tồn tại là từ 0°C - 90°C . Các nhóm vi sinh vật khác nhau, có phạm vi nhiệt độ sinh trưởng khác nhau được xác định bằng phạm vi từ nhiệt độ tối thiểu tới nhiệt độ tối đa. Phạm vi này được gọi là giới hạn nhiệt độ sinh trưởng.

Ví dụ: vi khuẩn nhiệt thán có thể sinh trưởng được trong khoảng từ 12°C – 42°C , trong đó có một nhiệt độ tối thích, ở đó vi sinh vật có thể sinh trưởng tối đa. Ví dụ vi khuẩn nhiệt thán thích hợp nhất với nhiệt độ 37°C . Vi khuẩn gram dương chịu được nhiệt độ lạnh tốt hơn so với vi khuẩn gram âm

Căn cứ vào giới hạn nhiệt độ sinh trưởng có thể chia vi sinh vật làm 4 nhóm:

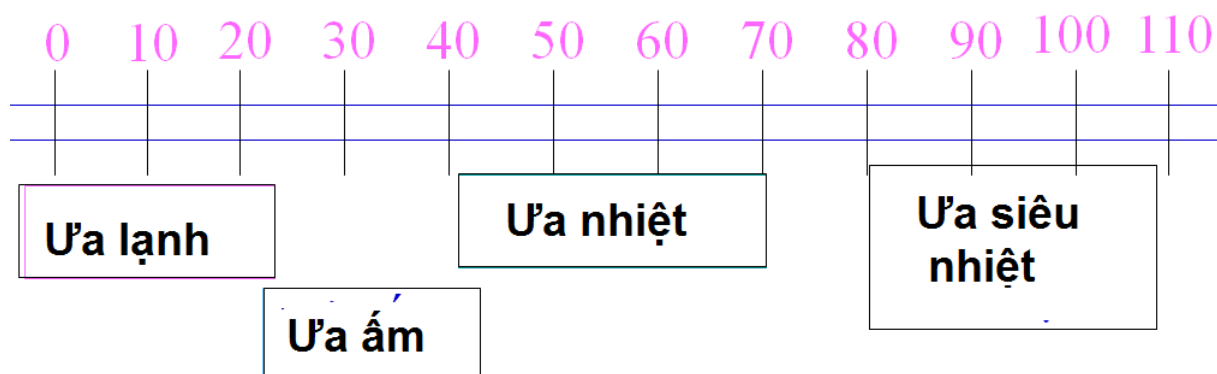
- Vi sinh vật ưa lạnh: sinh trưởng ở nhiệt độ 0°C , 15°C – 20°C gồm các vi sinh vật sống ở ao hồ, sông ngòi, hồ sâu, đáy biển hoặc trong phòng lạnh bảo quản thực phẩm.

- Vi sinh vật ưa ấm: 20°C – 25°C , 30°C – 37°C , 40°C – 45°C : chiếm đại đa số các vi sinh vật như nấm mốc, nấm men, vi sinh vật hoại sinh và vi sinh vật ký sinh, vi sinh vật gây bệnh.

- Vi sinh vật ưa nhiệt: 45°C - 50°C , 50°C – 60°C , 60°C – 80°C : đó là xạ khuẩn, nấm mốc, vi khuẩn có nha bào, gặp ở bãi rác, đống phân, suối nước nóng và núi lửa.

- Vi sinh vật chịu nhiệt: sinh trưởng trên nhiệt độ sôi của nước. Nếu nhiệt độ nằm ngoài phạm vi nhiệt độ sinh trưởng sẽ ảnh hưởng đến vi sinh vật.

Nhiệt độ sinh trưởng của các nhóm VSV



1.3. Áp suất thẩm thấu

Sự chênh lệch nồng độ của một chất giữa hai bên màng sinh chất gây nên một áp suất thẩm thấu. Áp suất thẩm thấu và áp lực thủy tĩnh cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của tế bào vi khuẩn.

Vì vậy, khi đưa vi sinh vật vào môi trường nhiều đường, muối, tức là môi trường ưu trương thì nước trong tế bào vi sinh vật bị rút ra ngoài, gây co nguyên sinh, do đó chúng không phân chia được.

Môi trường ưu trương: dung dịch đường cao (50 - 80%), muối cao (10 -15%) tế bào mất khả năng hút nước và các chất hòa tan, tế bào chịu trạng thái khô sinh lý, bị co nguyên sinh chất và có thể chết nếu kéo dài (áp dụng ngâm rau trong nước)

Môi trường nhược trương nước sẽ xâm nhập vào tế bào, áp lực bên trong tế bào tăng lên, tế bào bị trương nước gây chết nếu kéo dài.

Trong thực tế người ta áp dụng hiện tượng này để bảo quản cá bằng muối, muối dưa, bảo quản trái cây.

Vì vậy

- Nhóm vi sinh vật ưa mặn phát triển trong môi trường có nhiều muối ($\text{NaCl} > 0,2M$): *Halococcus morrhuae*, *Staphylococcus*, ...

- Nhóm vi sinh vật không ưa mặn ($< 0,2M$): *Enterobacteria*, *Pseudomonas*, ...

1.4. Sóng siêu âm

Sóng âm thanh đặc biệt là trong vùng siêu âm có ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của vi khuẩn. Với tần số 8.800-8.900Hz xử lý trong 40-60 phút sẽ giảm 99% vi khuẩn. Các tế bào sinh dưỡng bị chết nhanh chóng, tế bào non miễn cảm hơn nhiều so với tế bào già.

Mẫn cảm nhất là tác dụng của sóng siêu âm lên các tế bào hình sợi, ít mẫn cảm nhất là các tế bào hình cầu. Nhưng sóng siêu âm hầu như không có tác dụng với các bào tử và các tế bào vi khuẩn kháng acid.

Do tác dụng của siêu âm mà độ nhớt của môi trường tăng lên, xuất hiện các chất nâng cao sức căng bề mặt và trong nguyên sinh chất hình thành bọt khí nhỏ. Kết quả là tế bào bị hủy hoại.

Hiện nay người ta ứng dụng siêu âm để thu nhận các chế phẩm vô bào hoặc để tách các enzym nội bào, phân lập một số thành phần của tế bào, riboxom, thành tế bào và màng tế bào chất.

1.5. Tia bức xạ

Đa số các vi sinh vật sinh trưởng không cần ánh sáng, trừ nhóm vi sinh vật có sắc tố quang hợp. Các tia sáng có chiều dài bước sóng từ $10.000\text{\AA}$ trở xuống đều gây tác hại cho vi sinh vật. Đó là ánh sáng mặt trời, tia UV, tia B, tia alpha, tia gama và tia X. Năng lượng của tia tỷ lệ nghịch với chiều dài bước sóng nên tia có bước sóng càng ngắn thì tác dụng càng mạnh.

+ Tia tử ngoại: UV có bước sóng $100 - 3.000\text{\AA}$, tác dụng của tia này là gây kìm hãm sự sinh trưởng, đột biến gen đối với vi sinh vật.

Tia tử ngoại gây quang oxy hoá trong nguyên sinh chất, tác động đến axit nucleic, protein, nucleoprotein, gây chuyển hoá các bazơ pyrimidin tạo ra hydrat pyrimidin hoặc dime pyrimidin do đó gây đột biến hoặc giết chết tế bào.

Tia tử ngoại chỉ xuyên qua được lớp nước trong hoặc thuỷ tinh mỏng nên được sử dụng để khử trùng không khí buồng cấy vi sinh vật, buồng mổ.

+ Ánh sáng mặt trời: đa số vi sinh vật bị ánh sáng mặt trời ức chế hoặc tiêu diệt do ánh sáng mặt trời giàu tia tử ngoại.

Người ta sử dụng ánh sáng mặt trời để làm khô hoặc tiêu độc vật dụng nguyên liệu bằng cách phơi nắng.

2. Yếu tố hóa học

2.1. pH môi trường

Độ pH rất cần cho sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật do ảnh hưởng trực tiếp tới quá trình trao đổi chất của tế bào, do sự ảnh hưởng đến sự hoạt động của enzyme, nồng độ của ion H^+ ảnh hưởng đến diện tích bề mặt, sự phân ly của muối khoáng do đó ảnh hưởng đến độ thẩm thấu, sự vận chuyển các chất qua màng tế bào trong quá trình trao đổi chất.

Mỗi loại vi sinh vật có một giới hạn pH sinh trưởng đó là giới hạn pH từ cực tiểu đến pH cực đại, trong đó có độ pH tối thích hợp, dựa vào giới hạn pH sinh trưởng vi sinh vật lại chia làm các nhóm:

-Vi sinh vật ưa pH trung bình pH từ 6,5 – 7,5.

-Vi sinh vật ưa kiềm pH từ 7,5 – 8,5.

-Vi sinh vật chịu kiềm pH tối thích > 9,5.

Ví dụ: *Vibrio cholera* pH thích ứng = 9.

-Vi sinh vật ưa axit nhẹ pH từ 6 – 6,5.

-Vi sinh vật ưa axit pH từ 5 – 6.

-Vi sinh vật chịu axit pH từ 1 – 5.

Ứng dụng: điều hoà độ pH trong môi trường nuôi cấy vi sinh vật.

2.2. Oxy

Oxy là chất có vai trò quan trọng trong sinh trưởng của vi sinh vật. oxy cần cho một số nhóm vi sinh vật nhưng lại gây độc cho các nhóm khác. Xét trên cơ sở thích ứng với oxy, vi sinh vật được chia làm 3 nhóm:

- Vi sinh vật hiếu khí: cần oxy trong quá trình sinh trưởng.

- Vi sinh vật kỵ khí: không cần oxy trong quá trình sống, thậm chí oxy còn gây độc cho chúng.

Bởi vì trong quá trình khai thác năng lượng từ cơ chất (thức ăn) nếu có mặt O_2 , sản phẩm cuối cùng sẽ cho ra H_2O_2 . Đây là chất oxy hoá mạnh có thể giết chết vi sinh vật..

Ở vi khuẩn hiếu khí, trong hệ enzyme của chúng có enzyme catalaza và peroxydaza phân huỷ H_2O_2 , vi khuẩn yếm khí không có 2 enzyme này nên nếu có oxy, lập tức H_2O_2 được tạo thành và giết chết chúng.

-Vi sinh vật tuỳ nghi: có thể sinh trưởng ở điều kiện đủ oxy, thiếu hoặc không có oxy. Trong điều kiện không có oxy, chúng khai thác năng lượng bằng phương thức lên men.

2.3. Các chất diệt khuẩn (sát trùng)

Các chất khử trùng tiêu độc gồm tất cả các chất hoá học gây hại cho vi sinh vật nhưng cũng gây hại cho động vật. Chúng bao gồm nhiều chất, từ nhiều nguồn gốc có thành phần hoạt chất và cơ chế tác dụng khác nhau.

Căn cứ vào mức độ tác dụng của chúng với vi sinh vật để phân biệt tên gọi của các chất sau:

- Chất sát trùng hay chất tiêu độc: Chỉ các chất có tác dụng tiêu diệt được vi sinh vật nhưng không giết được nha bào của chúng.

- Chất diệt khuẩn: Là những chất có thể tiêu diệt được toàn bộ vi sinh vật, kể cả nha bào.

- Chất ức chế: Là những chất chỉ làm ngừng quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật, tế bào vi sinh vật không bị diệt mà ở trạng thái tiềm tàng.

- Chất kháng khuẩn: Là những chất làm ngừng quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật nhưng tế bào vi sinh vật có thể bị tiêu diệt.

Một chất hoá học có thể là chất sát trùng, ức chế, diệt khuẩn tùy thuộc vào nồng độ, thời gian tác dụng, loại hình vi sinh vật bị tác động và các yếu tố khác.

3. Ảnh hưởng của các yếu tố sinh học

Năm 1928 A. Fleming phát hiện thấy sự ức chế của nấm penicilium đối với Staphylococcus aureus khi chúng mọc cạnh nhau. Ông đã nghiên cứu kỹ về nấm này và chất tiết của nó, phát hiện ra kháng sinh penicilin đầu tiên vào 1940. Các nhà khoa học đã tách chiết penicillin và dùng chữa bệnh do vi trùng gây ra, ngày nay có nhiều kháng sinh mới được chiết xuất để chữa bệnh.

3.1. Chất kháng sinh

Chất kháng sinh là những hợp chất hoá học chủ yếu do vi sinh vật sinh ra trong quá trình sống, ngay ở nồng độ thấp cũng có khả năng ức chế hoặc tiêu diệt vi sinh vật một cách chọn lọc.

Mỗi loại kháng sinh chỉ tác động lên một vi khuẩn hoặc một nhóm vi khuẩn nhất định.

Cơ chế tác dụng: kháng sinh tác động lên vi khuẩn ở 3 hướng chủ yếu:

+ Làm ngừng quá trình tổng hợp màng tế bào hoặc phá huỷ tế bào, gây rối loạn chức năng của màng nguyên sinh chất, đặc biệt là chức năng thẩm thấu chọn lọc do đó làm ngừng quá trình trao đổi chất. thuộc về hướng tác động này có: penicillin, bacitracin, vancomycin.

+ Làm ngừng quá trình tổng hợp protein của tế bào vi sinh vật hoặc xúc tiến việc tổng hợp lên protein không có quan hệ đến tế bào. Thuộc về hướng tác động này có: streptomycin, kanamycin, tetracycline....

+ Ức chế tổng hợp axit nucleic, ngăn cản sự sao chép AND, ngăn cản sự tổng hợp ARN polymeaza. Các kháng sinh này gồm có: actinomycin, novobiocin...

3.1.1. Kháng sinh từ vi sinh vật

- Kháng sinh từ vi khuẩn: kháng sinh có nguồn gốc từ vi khuẩn không nhiều:

Vi khuẩn	Kháng sinh	Phổ tác dụng
<i>Bacillus licheniformis</i>	Bacitdraxin	Gram +
<i>Ba. polymixa</i>	Polimycin	Gram- và Gram+
<i>Bac. brevis</i>	Tirotricin	Tụ cầu, liên cầu

+ Baxitraxin: thu được từ *Bacillus licheniformi*. Là chất màu trắng tan trong nước, rượu. Có tác dụng mạnh với vi khuẩn gram dương. Dùng chữa các bệnh nhiễm trùng, viêm và dùng trong chăn nuôi, bảo quản chế biến thực phẩm.

+ Polimixin: thu được từ *Bac. Polymixa*. Là chất kết tinh màu trắng tan trong nước, rượu. Có tác dụng mạnh trên vi khuẩn gram dương và gram âm. Dùng chữa các bệnh nung mủ, và bệnh ngoài da.

- Kháng sinh từ xạ khuẩn: kháng sinh từ xạ khuẩn chiếm một số lượng lớn trong đó có nhiều kháng sinh quan trọng:

Xạ khuẩn	Kháng sinh	Phổ tác dụng
<i>Streptomyces griceus</i>	<i>Strepstomycin (A, B, C)</i>	Gram âm
<i>Actinomyces fradiae</i>	<i>Neomycin</i>	Gram ⁺ và Gram ⁻
<i>Act. kanamyceticus</i>	<i>Kanamycin</i>	Gram -

+ Streptomycin: thu được từ *streptomyces griceus (Actinomyces streptomycin)*: chất kiềm tan trong nước, khó tan trong dung môi hữu cơ. Chống vi khuẩn gram âm mạnh (*Bacilus, Brucella, Mycobacterium, Pasteurella, Salmonella*). Ít độc nhưng dùng kéo dài sẽ ảnh hưởng đến thần kinh thính giác.

+ Neomycin: thu được từ *Actinomyces fradiae* hay một số khác, là chất kiềm không màu, muối của nó tan trong nước không tan trong dung môi hữu cơ. Chống vi khuẩn gram dương và âm, đặc biệt với các vi khuẩn đã quen với kháng sinh khác. Dùng để chữa viêm, nhiễm trùng, ít độc nhưng có thể gây dị ứng do dùng lâu.

+ Kanamycin: thu được từ *Actinomyces kanamyceticus*. Dùng trị đường ruột do vi khuẩn gram âm, các bệnh do tụ cầu, bệnh lao

+ Tetraxilin: nhóm này bao gồm clotetraxin, oxytetraxilin, tetraxilin.

- Kháng sinh từ nấm mốc: kháng sinh từ nấm mốc có số lượng lớn, nhưng do độc lực cao nên ít được dùng trong thực tiễn, ngoài một số loài:

Xạ khuẩn	Kháng sinh	Phổ tác dụng
<i>Penicillium</i> <i>Chrysogenum</i>	Penicilin, G, F, K, X, V, O	Gram +

+ Penicilin: thu được từ nấm mốc *Penicillium chrysogenum*. Có hoạt tính mạnh đối với vi khuẩn gram dương. Thường được sử dụng để chữa các bệnh nhiễm trùng, vết thương có mủ. Ít độc nhưng dễ gây dị ứng nên khi dùng phải thử.

3.1.2. *Kháng sinh từ thực vật*: có trong thân, lá, quả của nhiều loại thực vật trong tự nhiên có chứa những chất có khả năng gây ức chế hoặc tiêu diệt vi sinh vật được gọi chung là Phytonxit – kháng sinh thực vật

+ Alixin: là hoạt chất có tính kháng sinh tìm thấy trong tỏi. Có tác dụng với nhiều vi sinh vật như *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonella*, *E.coli*, *Shigella*. Dùng chữa một số bệnh như nhiệt thán, bạch hầu, lao, cúm.

Còn thấy ở các loại khác:

Saponin (bồ kết): tiêu độc, chữa nhọt

Ocubin (lá mã đề): trị viêm khí quản, đau mắt đỏ

3.1.3. *Kháng sinh từ động vật*: cơ thể động vật cũng cho những chất kháng sinh như:

+ Lysozyme: có trong nước bọt, nước mắt, dịch niêm mạc, huyết thanh có tác dụng làm dung giải vi khuẩn

+ Kháng thể: trong huyết thanh hay trong sữa đầu của động vật

+ Exitrin: chiết từ hồng cầu động vật, có tác dụng chống lại các liên, tụ cầu khuẩn.

3.1.4. *Tính kháng thuốc của vi sinh vật*

+ Sau khi sử dụng rộng rãi một loại kháng sinh nào đó trong một thời gian dài, người ta phát hiện ngày càng nhiều loại vi khuẩn có khả năng chống lại tác dụng trị liệu của loại kháng sinh đó. Hiện tượng này gọi là sự kháng thuốc của vi sinh vật.

+ Quá trình hình thành tính kháng thuốc của vi sinh vật phụ thuộc vào nhiều yếu tố:

Nồng độ và bản chất của chất kháng sinh

Cách sử dụng và thời gian tác động

Cơ chế tác dụng của kháng sinh

Đặc tính của vi sinh vật

3.2. Kháng thể

Kháng thể là những phân tử được sản xuất bởi tế bào lympho B, một loại tế bào của hệ thống miễn dịch thu được. Kháng thể hoạt động với tư cách là cầu nối giữa vi sinh vật gây bệnh với tế bào thực bào.

Từ đó chúng ta có định nghĩa kháng thể: Kháng thể là các globulin trong máu của động vật, có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đã kích thích sinh ra nó. Kháng thể chủ yếu được tìm thấy trong huyết thanh của động vật, do vậy huyết thanh chứa kháng thể đặc hiệu kháng nguyên được gọi là kháng huyết thanh.

Kháng thể cũng có thể được tìm thấy trong các dịch thể khác của cơ thể, như sữa. Những kháng thể có sẵn trong sữa hay huyết tương của người, động vật từ trước khi có sự tiếp xúc với kháng nguyên gọi là kháng thể tự nhiên hay kháng thể không đặc hiệu.

Kháng thể đặc hiệu là kháng thể được sinh ra do kích thích của kháng nguyên (vi sinh vật) và kết hợp đặc hiệu với kháng nguyên ấy. Khi kháng nguyên và kháng thể tương ứng kết hợp với nhau sẽ xảy ra phản ứng ngưng kết.

3.3. Các chất tiêu độc và khử trùng

Các chất khử trùng tiêu độc gồm tất cả các chất hoá học gây hại cho vi sinh vật nhưng cũng gây hại cho động vật. Chúng bao gồm nhiều chất, từ nhiều nguồn gốc có thành phần hoạt chất và cơ chế tác dụng khác nhau.

Căn cứ vào mức độ tác dụng của chúng với vi sinh vật để phân biệt tên gọi của các chất sau:

- Chất sát trùng hay chất tiêu độc: chỉ các chất có tác dụng tiêu diệt được vi sinh vật nhưng không giết được nha bào của chúng.

- Chất diệt khuẩn: là những chất có thể tiêu diệt được toàn bộ vi sinh vật, kể cả nha bào.

- Chất ức chế: là những chất chỉ làm ngừng quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật, tế bào vi sinh vật không bị diệt mà ở trạng thái tiềm tàng.

- Chất kháng khuẩn: là những chất làm ngừng quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật nhưng tế bào vi sinh vật có thể bị tiêu diệt.

Một chất hoá học có thể là chất sát trùng, ức chế, diệt khuẩn tùy thuộc vào nồng độ, thời gian tác dụng, loại hình vi sinh vật bị tác động và các yếu tố khác.

Tiêu độc khử trùng đặc biệt quan trọng trong nhiều lĩnh vực như công nghệ sinh học, bảo quản, chế biến, dự trữ thức ăn, y học, thú y học, phòng trừ dịch bệnh và nhiều lĩnh vực nghiên cứu khác.

Ý nghĩa của tiêu độc, khử trùng

- Tránh sự lây nhiễm, gây nhiễm vi sinh vật từ nơi này sang nơi khác, từ vật này sang vật khác, từ vật thể nào đó sang cơ thể động vật

- Đảm bảo độ chính xác của thí nghiệm, sự thuần khiết trong công tác vi sinh vật như nuôi cấy, phân lập, giữ giống

- Đảm bảo sự bảo quản lâu dài, môi trường dinh dưỡng, thuốc, thực phẩm và các dụng cụ tinh xảo khác

Những nhân tố có quan hệ đến tiêu độc, khử trùng có nhiều, vì vậy cần lưu ý đến mối quan hệ giữa cường độ, nồng độ của các chất sử dụng, thời gian tác dụng và đối tượng cần được tiêu độc, khử trùng.

Phương pháp tiêu độc, khử trùng

- Phương pháp cơ giới: bao gồm quét dọn, lau chùi, rửa, cạo, nạo vết,..

- Phương pháp vật lý: dùng sức nóng khô (hơ nóng, đốt, phơi, sấy, hấp khô), sức nóng ướt (đun sôi, hấp ướt có áp lực), dùng các tia bức xạ

- Phương pháp hóa học: là biện pháp hay sử dụng, mục đích làm đông vón protein hoặc phá hủy protein của vi sinh vật, các hóa chất thường dùng dưới 3 dạng: bột, khí, dung dịch

- Phương pháp sinh vật học: trong phân, nước tiểu và các chất thải có nhiều vi sinh vật lên men, nên có thể dùng phương pháp ủ kín các chất này làm cho nhiệt độ lên cao tới 75°C và kéo dài trong nhiều ngày nên có thể tiêu diệt được nhiều loại vi sinh vật gây bệnh.

- Tiệt trùng: là tiêu diệt hoàn toàn vi sinh vật kể cả nha bào và bất hoạt virus hoặc tách bỏ chúng hoàn toàn ra khỏi vật cần tiệt trùng

Biện pháp

- Khí nóng khô: sử dụng tủ sấy 170 – 180° C trong 1 – 2 giờ. Áp dụng cho các vật thủy tinh, kim loại, đồ gốm

- Hơi nóng căng: sử dụng lò hấp ướt. Áp dụng cho các dụng cụ kim loại, đồ vải, cao su và dung dịch lỏng

- Tia gama

- Lọc vô trùng: chất lỏng chất khí nếu không thể dùng nhiệt độ được thì phải dùng lọc vô trùng như vacxin, huyết thanh, không khí, nước uống,...

4. Thực hành (xem bài 2 và bài 6 phần hướng dẫn thực hành)

Câu hỏi ôn tập

1. Nêu các yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển vi sinh vật. Giải thích?
2. Trình bày phương pháp khử trùng bằng tác nhân vật lý?
3. Trình bày phương pháp khử trùng bằng tác nhân hóa học?
4. Trình bày phương pháp khử trùng bằng pháp sinh học?

Tailieu.vn

CHƯƠNG 5

VIRUS HỌC

MH11-05

Giới thiệu: Virus cũng thuộc nhóm vi sinh vật, có cấu tạo tế bào đơn giản. Virus sống ký sinh trên cơ thể sống. Các đặc điểm về hình thái, cấu tạo và tính gây bệnh của mỗi virus khác nhau

Mục tiêu:

- Kiến thức: Nắm được hình dạng, cấu tạo, sinh sản và ứng dụng của virus trong chăn nuôi thú y thường gặp.
- Kỹ năng: Nêu được đặc điểm hình thái, cấu tạo của virus. Ứng dụng của virus trong đời sống.
- Năng lực tự chủ và trách nhiệm: Có ý thức về lợi ích của việc học tập, từ đó có thái độ học tập đúng đắn; ý thức tự học hỏi nâng cao trình độ.

1. Đặc tính chung của virus

Virus là nhóm vi sinh vật chưa có cấu tạo tế bào, có kích thước vô cùng nhỏ bé, có thể chui qua màng lọc vi khuẩn. Nhờ có sự phát triển nhanh chóng của kỹ thuật hiển vi điện tử, siêu ly tâm, nuôi cấy tế bào ... những thành tựu nghiên cứu về virus đã được đẩy mạnh, phát triển thành một ngành khoa học gọi là virus học.

Virus không có khả năng sống độc lập mà phải sống ký sinh trong các tế bào khác từ vi khuẩn cho đến tế bào động vật, thực vật và người, gây các loại bệnh hiểm nghèo cho các đối tượng mà chúng ký sinh. Ví dụ như bệnh AIDS.

Virus là nhóm vi sinh vật được phát hiện ra sau cùng trong các nhóm vi sinh vật chính vì kích thước nhỏ bé và cách sống ký sinh của chúng. Người phát hiện ra virus lần đầu tiên là nhà bác học người Nga - Ivanôpski. Ông là một chuyên gia nghiên cứu về bệnh khảm cây thuốc lá.

Khi nghiên cứu về bệnh này ông đã phát hiện ra rằng: Dịch lọc của lá cây bị bệnh khi cho qua màng lọc vi khuẩn vẫn có khả năng gây bệnh. Từ đó ông rút ra kết luận: Nguyên nhân gây bệnh đốm thuốc lá phải là một loại sinh vật nhỏ hơn vi khuẩn. Phát hiện này được công bố năm 1892, 6 năm sau, năm 1898, nhà khoa học người Hà Lan Beijerinck cũng nghiên cứu về bệnh khảm thuốc lá và có những kết quả tương tự, ông đặt tên mầm gây bệnh khảm thuốc lá là virus. Tiếp đó người ta phát hiện ra một số virus khác gây bệnh cho động vật và người. Đến năm 1915 đã phát hiện ra virus ký sinh trên vi khuẩn, gọi là thực khuẩn thể (Bacteriophage).

Các tính chất chung của virus

+ Có kích thước vô cùng nhỏ bé, chỉ từ hàng chục đến hàng trăm nanomet, nhưng vẫn có khả năng biểu hiện những tính chất cơ bản của sự sống

+ Không có cấu tạo tế bào, chỉ là vật chất sống đơn giản chứa một loại axit nucleic và được bao bọc bằng một lớp protein, lớp này có nhiệm vụ bảo vệ axit nucleic với ngưỡng tác động bên ngoài và giúp cho virus bám vào tế bào.

+ Khi virus đã xâm nhập vào trong các tế bào, hệ thống thông tin di truyền ở trong axit nucleic của virus điều hành sự tổng hợp các thành phần cấu tạo nên virus.

+ Virus không có trao đổi chất, không có enzyme hô hấp và enzyme chuyển hoá, vì vậy virus bắt buộc kí sinh nội bào tuyệt đối, tách khỏi tế bào chủ, virus không tồn tại được.

+ Virus không nhân lên trong môi trường dinh dưỡng bình thường, môi trường dinh dưỡng của virus là: các hợp chất của axit amin, môi trường tổng hợp nhân tạo, môi trường tế bào tổ chức sống. Trong tế bào virus nhân lên theo cấp số nhân.

Thành phần hoá học rất đơn giản chỉ bao gồm protein và acid nucleic

Virus có khả năng tạo thành tinh thể: virus là tên chung chỉ loài vi sinh vật gây bệnh, tùy từng lúc, tùy từng giai đoạn, chức năng của virus mà virus có thể chia ra:

+ Viron (hạt virus) là hạt virus hoàn chỉnh, có cấu trúc thành phần hoá học và những đặc tính cơ bản của virus, có khả năng gây bệnh.

+ Vegetative virus (virus dinh dưỡng) là dạng axit nucleic của virus sau khi đã xâm nhập vào tế bào cảm nhiễm, đây là dạng virus sinh sản, nó làm khởi phát quá trình tái tạo lại virus để tạo nên các hạt virus mới.

+ Viroit (sợi virus) là virus không hoàn chỉnh chỉ có axit nucleic, không có protein bao bọc, còn gọi là sợi axit nucleic có khả năng gây bệnh.

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

2. Hình dạng và cấu tạo của virus

2.1. Hình dạng và kích thước của virus

Virus có kích thước rất nhỏ bé, có thể lọt qua màng lọc vi khuẩn, chỉ có thể quan sát chúng qua kính hiển vi điện tử. Kích thước từ 20 x 30 đến 150 x 300 nanomet.

Nhờ kỹ thuật hiển vi điện tử, người ta phát hiện ra 3 loại hình thái chung nhất của virus. Đó là hình cầu, hình que và hình tinh trùng.

Hình que điển hình là virus đốm thuốc lá (virus TMV), chúng có hình que dài với cấu trúc đối xứng xoắn. Các đơn vị cấu trúc xếp theo hình xoắn quanh 1 trục, mỗi đơn vị gọi là capsome.

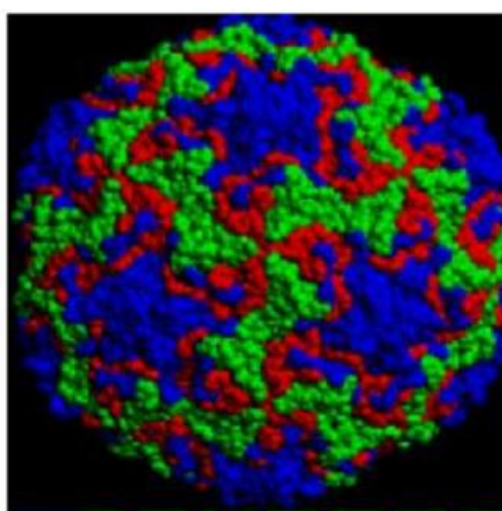
Loại hình cầu điển hình là một số virus động vật. Các đơn vị cấu trúc xếp theo kiểu đối xứng 4 mặt, 8 mặt hoặc 20 mặt.

Bảng 5.1: Đặc điểm kích thước và cấu trúc của một số virus điển hình

Virus	Axit nucleic	Kiểu đối xứng	Kích thước (nm)
VR đậu mùa	DNA	Khối	230 x 300
VR cúm	RNA	Xoắn	80 x 200
VR đốm thuốc lá	RNA	Xoắn	200 x 300
VR khoai tây	RNA	Xoắn	480 x 500
TKT T4	DNA	Khối và xoắn	Đầu : 65 x 95 Đuôi : 8 x 95

Virus chưa có cấu tạo tế bào, mỗi virus không thể gọi là một tế bào mà được gọi là hạt virus hay virion. Một virus thành thực có cấu trúc hoàn chỉnh, Virus có nhiều hình dạng khác nhau

* *Dạng hình cầu đối xứng xoắn*: là dạng thường hay gặp đa số các virus gây bệnh cho người và động vật như virus cúm, virus quai bị, virus gây bệnh tăng bạch cầu của gia cầm, các arbovirus. Loại này có kích thước trung bình khoảng 108 – 158 nm.



Hình 5.1: Virus hình cầu

* *Dạng hình que đối xứng xoắn*

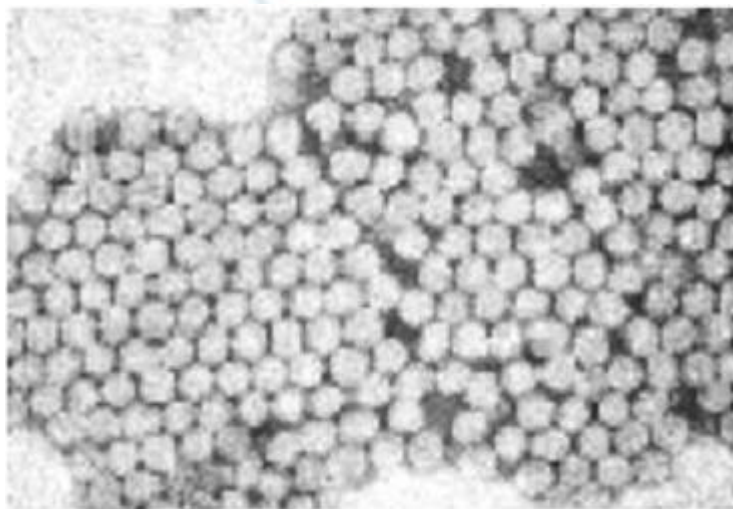
Bao gồm các virus đốm thuốc lá, đốm khoai tây, loài này có kích thước chiều rộng khoảng 15 nm và chiều dài 250 nm



Hình 5.2: Virus hình que

** Dạng hình khối đối xứng xoắn*

Gồm các virus hình khối đa diện có nhiều cạnh như virus đậu, các enterovirus, adenovirus, reovirus, papillomavirus ở người và động vật. kích thước vào khoảng 30 – 358 nm

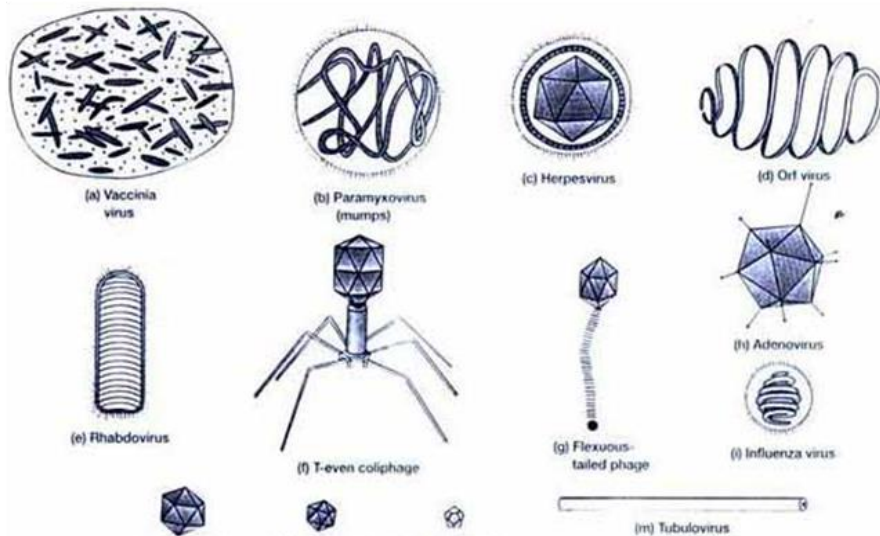
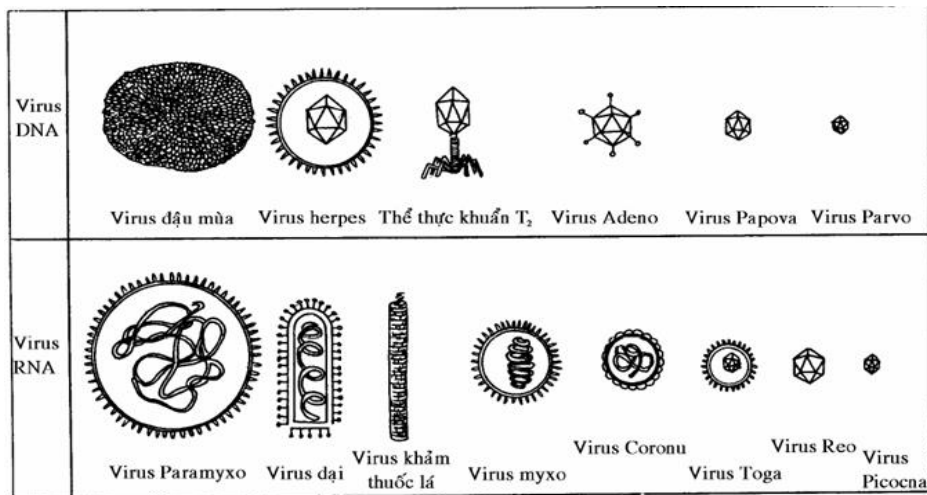


Hình 5.3: Virus hình khối

** Dạng đặc biệt*

Có hình giống một tế bào sinh dục đực (tinh trùng), đặc trưng cho các virus ký sinh trong các tế bào vi khuẩn và được gọi là thực khuẩn thể hay bacteriophage kích thước biến động trong khoảng 47 – 104nm đến 10 – 225nm

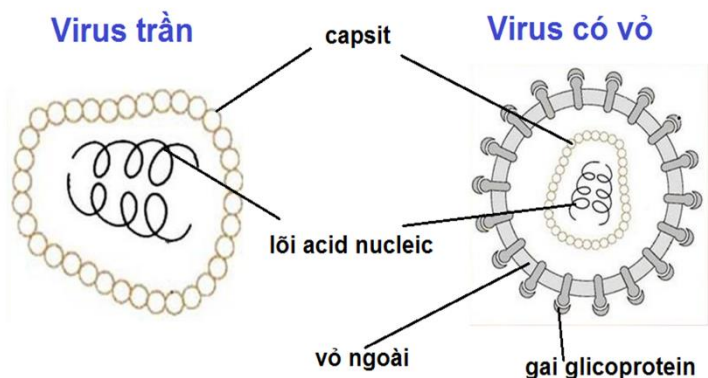
Trừ virus đậu mùa có thể quan sát được dưới kính hiển vi quang học còn các loại virus khác đều không quan sát được do kích thước quá nhỏ, nhiều virus có kích thước chỉ ngang hàng với các phân tử. Ví dụ: virus lở mồm long móng 10nm, Virus viêm não Nhật Bản B 22nm, Virus dại 250nm.....



Hình 5.4: Hình thái của một số virus điển hình

2.2. Cấu tạo virus

Tất cả các virus đều có cấu tạo gồm hai thành phần cơ bản: lõi là acid nucleic (tức genom) và vỏ là protein gọi là capsid, bao bọc bên ngoài để bảo vệ acid nucleic. Phức hợp bao gồm acid nucleic và vỏ capsid gọi là nucleocapsid gọi là nucleoprotein. Đối với virus RNA thì còn gọi là ribonucleoprotein. Genom của virus có thể là DNA hoặc RNA, chuỗi đơn hoặc chuỗi kép, trong khi genom của tế bào luôn là DNA chuỗi kép, và trong tế bào luôn chứa hai loại acid nucleic, DNA và RNA.



Hình 5.5: Cấu trúc của virus

2.2.1. Vỏ capsid

Capsid là vỏ protein được cấu tạo bởi các đơn vị hình thái gọi là capsome. Capsome lại được cấu tạo từ 5 hoặc 6 đơn vị cấu trúc gọi là protome. Protome có thể là monome (chỉ có một phân tử protein) hoặc polyme (có nhiều phân tử protein)

- Pentame (penton) có 5 protome nằm trên các đỉnh của khối đa diện, còn hexame (hexon) tạo thành các cạnh và bề mặt hình tam giác.

- Capsid có khả năng chịu nhiệt, pH và các yếu tố ngoại cảnh nên có chức năng bảo vệ lõi acid nucleic

- Trên mặt capsid chứa các thụ thể đặc hiệu, hay là các gai glycoprotein, giúp cho virus bám vào các thụ thể trên bề mặt tế bào. Đây cũng chính là các kháng nguyên (KN) kích thích cơ thể tạo đáp ứng miễn dịch (ĐUMD).

Chức năng của CAPSID

- Bảo vệ nucleic acid của virus không chịu sự tác động của các enzyme
- Các vị trí đặc biệt trên lớp vỏ cho phép các virion gắn vào tế bào chủ
- Cung cấp các protein tạo điều kiện để virion thâm nhập qua màng tế bào chủ.

Trong một số trường hợp, lớp vỏ có tác dụng đưa nucleic acid của virus vào tế bào chủ

Vỏ capsid có kích thước và cách sắp xếp khác nhau khiến cho virus có hình dạng khác nhau. Có thể chia ra ba loại cấu trúc: đối xứng xoắn, đối xứng hình khối và cấu trúc phức tạp.

2.2.2. Vỏ ngoài (vỏ envelop)

Một số virus có vỏ ngoài (envelope) bao bọc vỏ capsid. Vỏ ngoài có nguồn gốc từ màng sinh chất của tế bào được virus cuốn theo khi nảy chồi. Vỏ ngoài có cấu tạo gồm 2 lớp lipid và protein. Lipid gồm phospholipid và glycolipid, hầu hết bắt nguồn từ màng sinh chất (trừ virus pox từ màng Golgi) với chức năng chính là ổn định cấu trúc của virus.

Protein vỏ ngoài thường là glycoprotein cũng có nguồn gốc từ màng sinh chất của tế bào ký chủ, tuy nhiên trên mặt vỏ ngoài cũng có các glycoprotein do virus mã hóa được gắn trước vào các vị trí chuyên biệt trên màng sinh chất của tế bào, rồi về sau trở thành cấu trúc bề mặt của virus. Ví dụ các gai gp 120 của HIV hay hemagglutinin của virus cúm, chúng tương tác với receptor của tế bào để mở đầu sự xâm nhập của virus vào tế bào.

Vỏ ngoài cũng có nguồn gốc từ màng nhân do virus lắp ráp và nảy chồi qua màng nhân (virus herpes)

Dưới tác động của một số yếu tố như dung môi hoà tan lipid, enzyme, vỏ ngoài có thể bị biến tính và khi đó virus không còn khả năng gây nhiễm nữa

2.2.3. Acid nucleic của virus

Có thể là DNA hoặc RNA, chuỗi đơn hoặc kép, thẳng hoặc khép vòng. Kích thước genom có thể từ 3500 nucleotid (ở phage nhỏ) đến 560000 nucleotid (ở virus herpes). Các trình tự genom virus phải được đọc mã bởi tế bào chủ, cho nên các tín hiệu điều khiển phải được các yếu tố của tế bào chủ nhận biết. Các yếu tố này thường liên kết với protein virus. Do có kích thước nhỏ nên genom virus đã tiến hoá để sử dụng tối đa tiềm năng mã hóa của mình. Vì thế hiện tượng gen chồng lớp và hiện tượng cắt nối (splicing) mRNA ở virus là rất phổ biến.

Genom của virus được xác định dựa theo các thông số sau:

- * Thành phần acid nucleic (DNA hay RNA).
- * Kích thước genom, chuỗi đơn hay kép.
- * Cấu trúc đầu chuỗi
- * Trình tự nucleotid
- * Khả năng mã hoá
- * Các yếu tố điều hoà, promoter, enhancer và terminator

Bảng 5.2: Các loại acid nucleic của virus

Loại acid nucleic	Cấu trúc	Ví dụ
DNA đơn	Chuỗi đơn, dạng thẳng Chuỗi đơn, khép vòng	Virus parvo Phage jX174, M13, fd Herpes, adeno, coliphage T, phage l.
DNA kép	Chuỗi kép, dạng thẳng Chuỗi kép, dạng thẳng, trên một mạch có những chỗ đứt ở cầu nối phosphodiester. Chuỗi kép với hai đầu khép kín Chuỗi kép khép vòng kín	Coliphage T5 Vaccinia, Smallpox Polioma (SV40), papiloma, phage PM2, virus đốm hoa lơ
RNA đơn	Chuỗi đơn, dạng thẳng Chuỗi đơn, âm, dạng thẳng Chuỗi đơn, dương, dạng thẳng, nhiều đoạn. Chuỗi đơn, dương dạng thẳng gồm hai đoạn gắn với nhau. Chuỗi đơn, âm dạng thẳng, phân đoạn	Picornas (polio, rhino), toga, phage RNA, MTV và hầu hết virus thực vật. Rhabdo, paramyxo, (sởi, quai bị) Virus đốm cây tước mạch (Bromus) (các đoạn được bao gói trong các virion tách biệt). Retro (HIV, Sarcoma Rous)

RNA kép	Chuỗi kép, dạng thẳng, phân đoạn	Orthomyxo (cúm) Reo (rota), một số virus gây u ở thực vật, NPV ở côn trùng, phage j6 và nhiều virus ở nấm (mycovirus).
---------	----------------------------------	---

(Nguyễn Lâm Dũng, 2006)

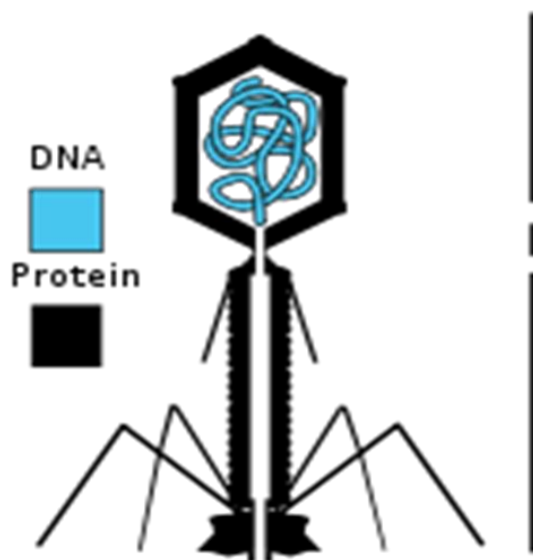
2.2.4. Cấu tạo của thể thực khuẩn

Loại có hình dạng tinh trùng phổ biến hơn cả là các virus ký sinh trên vi khuẩn gọi là thực khuẩn thể hoặc Phage. Loại hình dạng này phần đầu có cấu trúc đối xứng khối phần đuôi là có cấu trúc đối xứng xoắn. Kiểu cấu trúc phức tạp nhất của virus là cấu trúc của thực khuẩn thể (Phage).

Cấu trúc của thực khuẩn thể T4 ký sinh trên vi khuẩn E. Coli. Thực khuẩn thể T4 có 3 phần: đầu, cổ và đuôi.

Đầu có dạng lăng kính 6 cạnh, đường kính 65 nm dài 95 nm, cấu tạo bởi protein tạo thành vỏ capsid, vỏ capsid được cấu tạo bởi 212 đơn vị capsome. Bên trong phần đầu có chứa một phân tử DNA 2 sợi.

Cổ là một đĩa 6 cạnh đường kính 37,5 nm có 6 sợi tua gọi là tua cổ. Đuôi là một ống rỗng được bao bọc bởi bao đuôi, bao đuôi có cấu tạo protein tạo thành vỏ capsid, kích thước 8 x 95 nm. Phần rỗng trong đuôi gọi là trụ có đường kính 2,5 - 3,5 nm. Phần cuối cùng của đuôi là một đĩa gốc hình 6 cạnh giống như đĩa cổ từ đó mọc ra 6 sợi gai gọi là chân bám.



Hình 5.6: Cấu trúc đơn của thực khuẩn thể T4 (Phage),

Dựa trên cấu trúc cơ bản đó, thiên nhiên đã tạo ra hàng trăm hàng nghìn loại virus khác nhau. Ví dụ như phần lõi không phải là tất cả các virus đều chứa DNA,

có rất nhiều loại chứa RNA, chủ yếu là các virus thực vật. Chính từ loại này người ta đã phát hiện ra quá trình sao chép ngược thông tin di truyền: RNA - DNA.

2.3. Các dạng đối xứng của virus

2.3.1. Cấu trúc đối xứng xoắn

Các virus có cấu trúc này là do capsome sắp xếp theo chiều xoắn của acid nucleic. Tùy loại mà có chiều dài, đường kính và chu kỳ lặp lại của các nucleocapsid khác nhau. Cấu trúc xoắn thường làm cho virus có dạng hình que hay hình sợi ví dụ virus đốm thuốc lá (TMV), virus dại (Rhabdo), virus quai bị, virus sởi (Paramyxo), virus cúm (Orthomyxo). ở virus cúm các nucleocapsid được bao bởi vỏ ngoài nên khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử thấy chúng có dạng cầu.



Hình 5.7: Cấu trúc đối xứng xoắn, cấu trúc đa diện nhiều mặt

2.3.2. Cấu trúc đối xứng dạng khối đa diện nhiều mặt

Ở các virus loại này, capsome sắp xếp tạo vỏ capsid hình khối đa diện với 20 mặt tam giác đều, có 30 cạnh và 12 đỉnh. Đỉnh là nơi gặp nhau của 5 cạnh thuộc loại này gồm các virus adeno, reo, herpes và picorna. Gọi là đối xứng vì khi so sánh sự sắp xếp của capsome theo trục. Ví dụ đối xứng bậc 2, bậc 3, bậc 5, vì khi ta xoay với 1 góc 180 (bậc 2), 1200 (bậc 3) và 720 (bậc 5) thì thấy vẫn như cũ.

Các virus khác nhau có số lượng capsome khác nhau. Virus càng lớn, số lượng capsome càng nhiều. Dựa vào số lượng capsome trên mỗi cạnh có thể tính được tổng số capsome của vỏ capsid theo công thức sau: $N = 10(n-1)^2 + 2$ Trong đó N- tổng số capsome của vỏ capsid, n-số capsome trên mỗi cạnh.