

ỦY BAN NHÂN DÂN TỈNH THANH HÓA
TRƯỜNG CAO ĐẲNG Y TẾ



GIÁO TRÌNH LÝ THUYẾT
MÔ ĐUN: VI SINH
NGÀNH: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG LIÊN THÔNG

*Ban hành kèm theo Quyết định số: 549 ngày 09 tháng 8 năm 2021 của
Hiệu trưởng Trường Cao đẳng Y tế Thanh Hóa*

Thanh hóa, năm 2021

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

TaiLieu.vn

LỜI GIỚI THIỆU

Trường Cao đẳng Y tế Thanh Hoá có bề dày lịch sử đào tạo các thể hệ cán bộ Y - Dược, xây dựng và phát triển hơn 60 năm. Hiện nay, Nhà trường đã và đang đổi mới về nội dung, phương pháp và lượng giá học tập của học sinh, sinh viên nhằm không ngừng nâng cao chất lượng đào tạo.

Để có tài liệu giảng dạy thống nhất cho giảng viên và tài liệu học tập cho học sinh, sinh viên; Đảng uỷ - Ban Giám hiệu Nhà trường chủ trương biên soạn tập bài giảng của các chuyên ngành mà Nhà trường đã được cấp phép đào tạo.

Tập bài giảng Vi sinh được các giảng viên Bộ môn Xét nghiệm Y học biên soạn dùng cho hệ Cao đẳng liên thông, ngành Xét nghiệm dựa trên chương trình đào tạo của Trường ban hành năm 2021, Thông tư 03/2017/BLĐTBXH ngày 01 tháng 3 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Lao động thương binh xã hội.

Mô đun Vi sinh giúp cho người học nắm được những nguyên tắc chung nhất về hiện tượng nhiễm khuẩn và quá trình nhiễm khuẩn trên cơ thể con người. Cung cấp cho sinh viên những kiến thức cơ bản về vấn đề nhiễm khuẩn bệnh viện liên quan đến tác nhân, nguồn lây nhiễm và đường truyền nhiễm của một số vi sinh vật gây bệnh.

Mô đun “Vi sinh” giúp học viên sau khi ra trường có thể vận dụng tốt các kiến thức đã học về Vi sinh y học để phòng chống các tác nhân gây nhiễm trùng, đảm bảo công tác vô khuẩn và thực hiện đúng các bước chẩn đoán vi sinh vật gây bệnh trong hoạt động nghề nghiệp.

Tuy nhiên trong quá trình biên soạn tập bài giảng không thể tránh khỏi những thiếu sót. Tập thể biên soạn xin ghi nhận các ý kiến đóng góp xây dựng của các nhà quản lý, đồng nghiệp, độc giả và học sinh, những người sử dụng cuốn sách này để nghiên cứu bổ sung cho tập bài giảng ngày càng hoàn thiện hơn.

Thanh Hóa, năm 2021

Tham gia biên soạn

1. ThS. BS. Mai Văn Bảy *Chủ biên*
2. ThS. Mai Thị Hiếu
3. ThS. Lương Tú Huy
4. CN. Lê Thị Thuờng

MỤC LỤC

LỜI GIỚI THIỆU	1
BÀI 1: ĐẠI CƯƠNG VI SINH Y HỌC	1
BÀI 2: SINH LÝ VI KHUẨN	14
BÀI 3: CÁC PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY, CẤY CHUYÊN VI KHUẨN	21
BÀI 4: CẦU KHUẨN GRAM DƯỠNG	26
BÀI 5: HỌ VI KHUẨN ĐƯỜNG RUỘT	37
BÀI 6: TRỰC KHUẨN MỦ XANH	43
BÀI 7: TRỰC KHUẨN LAO	48
BÀI 8: VIRUS GÂY BỆNH ĐƯỜNG HÔ HẤP	52
BÀI 9: KỸ THUẬT KHÁNG SINH ĐỒ	59
BÀI 10: CÁC TÍNH CHẤT SINH VẬT HÓA HỌC CỦA VI KHUẨN	65
BÀI 11: KỸ THUẬT NHUỘM GRAM, ZIEHL-NEELSEN	81
BÀI 12: KỸ THUẬT CẤY DỊCH NÃO TỦY TÌM VI KHUẨN GÂY BỆNH	95
BÀI 13: KỸ THUẬT CẤY MỦ, NƯỚC TIỂU TÌM VI KHUẨN GÂY BỆNH	102
BÀI 14: KỸ THUẬT CẤY PHÂN TÌM VI KHUẨN GÂY BỆNH	116

GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN

Tên mô đun: Vi sinh

Mã mô đun: MH24

Vị trí, tính chất, ý nghĩa và vai trò của mô đun:

- Vị trí: Thuộc khối kiến thức chuyên ngành
- Tính chất: Môn học này cung cấp những kiến thức cơ bản và một số thông tin cập nhật về tác nhân, đặc điểm sinh học, chẩn đoán, nguyên tắc phòng và điều trị các vi sinh vật gây bệnh thường gặp, hiện tượng nhiễm khuẩn và quá trình nhiễm khuẩn trên cơ thể con người. Cung cấp cho sinh viên những kiến thức cơ bản về vấn đề nhiễm khuẩn bệnh viện liên quan đến tác nhân, nguồn lây nhiễm và đường truyền nhiễm của một số vi sinh vật gây bệnh.
- Ý nghĩa và vai trò của mô đun: Giúp người học biết được đặc điểm phân bố của các vi sinh vật trên cơ thể người và đặc điểm phát triển của một số vi khuẩn trên môi trường nuôi cấy sử dụng trong chẩn đoán xét nghiệm. Giúp người học biết cách phòng chống tác nhân gây bệnh, đảm bảo công tác chống nhiễm trùng.

Mục tiêu học tập của mô đun:

- Kiến thức

- + Trình bày được một số khái niệm về vi sinh y học, các khái niệm về hiện tượng nhiễm khuẩn và quá trình nhiễm khuẩn trên cơ thể con người.
- + Trình bày được các đặc điểm về hình thể, cấu tạo, sinh lý, hoá học, sinh học của một số vi sinh vật gây bệnh thường gặp.
- + Trình bày được đường lây, khả năng gây bệnh của các vi sinh vật y học.
- + Trình bày được các phương pháp chẩn đoán, hướng điều trị và biện pháp phòng bệnh đối với từng loại vi khuẩn, virus.

- Kỹ năng

- + Vận dụng được các kiến thức vi sinh y học để phòng chống các tác nhân gây nhiễm trùng.
- + Vận dụng được các kiến thức đã học để đảm bảo công tác vô khuẩn trong thực hành nghề nghiệp.
- + Phát hiện đề xuất được các biện pháp dự phòng trong y tế cộng đồng.
- + Thực hiện đúng các bước chẩn đoán vi khuẩn, virus

- Năng lực tự chủ và trách nhiệm

Rèn luyện tính nghiêm túc, cẩn thận, tỉ mỉ, gọn gàng trong học tập và làm việc.

Nội dung của môn học/mô đun:

BÀI 1: ĐẠI CƯƠNG VI SINH Y HỌC

Giới thiệu:

Trong tự nhiên có rất nhiều vi sinh vật, chúng có mặt trong đất, nước, không khí, trên cơ thể người, động vật, thực vật, trên tử thi người, xác động vật, thực vật, trên bề mặt các dụng cụ. VSV bao gồm vi khuẩn, virus, nấm và một số nguyên sinh động vật. Nghiên cứu vi sinh vật y học giúp chúng ta hiểu được căn nguyên của các bệnh nhiễm trùng ở người, nắm vững được phương pháp phòng ngừa và tìm ra được phương pháp điều trị thích hợp.

Mục tiêu học tập:

Sau khi học xong bài này người học có khả năng:

- *Kiến thức:* Trình bày được khái niệm và đặc điểm kích thước, hình thể, cấu tạo của vi khuẩn, virus.
- *Kỹ năng:* Vận dụng được kiến thức đã học để giải thích khả năng gây bệnh của vi khuẩn, virus.
- *Năng lực tự chủ và trách nhiệm:* Rèn luyện tính tích cực, nhẹ nhàng, cẩn thận khi làm việc độc lập hoặc làm việc nhóm.

Nội dung

1. CÁC KHÁI NIỆM

Vi sinh vật (VSV) là khái niệm dùng để chỉ những sinh vật nhỏ bé, con người không thể nhìn thấy bằng mắt thường mà phải dùng kính hiển vi phóng đại nhiều lần mới quan sát thấy. Trong tự nhiên VSV có số lượng rất lớn và có mặt ở khắp mọi nơi. Chúng có trong đất, nước, không khí, trên bề mặt các đồ dùng, dụng cụ, cả trong cơ thể người, động vật và thực vật. Đa số chúng không gây bệnh, nhiều loại VSV còn có lợi cho người và môi trường như VSV hoại sinh giúp hoàn thành chu trình carbon và nitơ duy trì tuần hoàn sinh quyển trái đất, các VSV cố định đạm làm giàu dinh dưỡng cho đất, các VSV lên men được ứng dụng trong chế biến rượu, bia, thực phẩm và nhiều ngành công nghiệp khác. Trên cơ thể con người và động vật cũng có những VSV sống cộng sinh, chúng không những không gây bệnh mà còn giúp tổng hợp một số vitamin và ngăn cản sự xâm nhập của VSV gây bệnh. Chỉ có một số ít các VSV có khả năng gây bệnh cho người và đó là đối tượng nghiên cứu của y học.

Như vậy, môn học nghiên cứu về vi sinh vật và tác dụng của chúng với sự sống gọi là vi sinh vật học (microbiology). Khái niệm Vi sinh vật y học hay Vi

sinh y học (medical microbiology) được hiểu là môn học nghiên cứu về các vi sinh vật gây bệnh cho người.

Vi khuẩn cùng với virus, prion, vi nấm... hợp thành vi sinh vật. Vi khuẩn có cấu tạo tế bào rất nhỏ, chỉ nhìn thấy được qua kính hiển vi có độ phóng đại từ hàng trăm đến nghìn lần. Virus không có cấu trúc tế bào (dưới tế bào), ký sinh bắt buộc trong tế bào cảm thụ, sinh sản theo cấp số nhân, kích thước rất bé (từ 10nm - 300nm), và chỉ quan sát dưới kính hiển vi điện tử có độ phóng đại hàng vạn lần.

Một số nhóm vi khuẩn đặc biệt:

- ***Rickettsia*** là một nhóm vi khuẩn đa hình thái, ký sinh trên các loại côn trùng chân đốt (chấy, rận...) đa số không gây bệnh. Trước đây, *Rickettsia* được coi là trung gian giữa vi khuẩn và virus, chúng có đặc điểm ký sinh bắt buộc trong tế bào sống, kích thước tương tự như virus cỡ lớn. Ngày nay, chúng được xếp vào nhóm vi khuẩn vì có cấu tạo tế bào đầy đủ như vi khuẩn và chịu tác dụng của một số kháng sinh. *Rickettsia* gây sốt phát ban và viêm thành mạch dị ứng, đặc biệt ở các nội tạng, tình trạng nặng.

- ***Chlamydia*** là một loại vi khuẩn cũng ký sinh bắt buộc trong tế bào sống, kích thước rất nhỏ (0,3 – 0,5µm). *C. trachomatis* gây bệnh đau mắt hột và bệnh u lympho hạt ở bẹn. *C. psittaci* gây viêm phổi, sốt ở vẹt có thể lây sang người.

- ***Mycoplasma*** được coi là vi khuẩn nhỏ nhất còn có khả năng sinh sản độc lập, không có vách tế bào nên cũng được xếp vào các vi khuẩn ký sinh nội tế bào bắt buộc. Chúng thường ký sinh vô hại cho vật chủ, trên người chúng gây bệnh do bám rất chắc vào biểu mô, các sản phẩm trao đổi chất của chúng (NH₄, H₂O₂) có tác dụng độc lên màng tế bào.

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

Sự phát triển của Vi sinh y học được khái quát như sau:

- Đầu tiên là sự phát hiện ra mối quan hệ giữa các bệnh có tính chất lây lan (sau này được gọi là dịch bệnh). Những phát hiện này có từ xa xưa và được củng cố dựa trên hiện tượng biểu hiện cùng triệu chứng bệnh lan từ người này sang người khác, từ cộng đồng dân cư này sang cộng đồng dân cư khác nếu có sự tiếp xúc gần nhau.

- Sự quan sát đầu tiên hình thể của những vi sinh vật nhỏ bé do Antony Van Leeuwenhock (1632 - 1723) người Hà Lan công bố khi phát hiện thấy chúng bằng kính hiển vi do chính ông tạo ra. Đây cũng là kính hiển vi đầu tiên của loài người, độ phóng đại tối đa khoảng 300 lần. Ông sử dụng kính hiển vi của mình

quan sát các giọt nước và vô cùng ngạc nhiên khi thấy có rất nhiều các sinh vật nhỏ bé với nhiều hình dạng khác nhau đang chuyển động. Năm 1673, lần đầu Leeuwenhock công bố phát hiện của mình nhưng không nhận được sự quan tâm của công chúng.

- Thời kỳ Louis Pasteur (1822 – 1895): là nhà bác học người Pháp, ông được coi là người sáng lập ra ngành vi sinh y học và miễn dịch học.

Khi nghiên cứu về sự phát triển của những VSV, L. Pasteur phát hiện ra chính VSV là nguyên nhân gây hỏng sữa và rượu vang nếu không được bảo quản đúng cách. Quan trọng hơn L. Pasteur đã phát hiện ra VSV chính là nguyên nhân của bệnh truyền nhiễm, phát hiện này được L. Pasteur chứng minh bằng thí nghiệm tiến hành ngày 30 tháng 4 năm 1878 trước sự chứng kiến của nhiều nhà khoa học thuộc viện hàn lâm khoa học Paris và nhiều quan chức cấp cao thời bấy giờ: ông tiến hành thí nghiệm trên những con cừu lành, ông chia số cừu thành lô chứng và lô thực nghiệm. Ông dùng canh khuẩn nuôi cấy từ dịch vết loét của con cừu bị bệnh than đắp lên chỗ da đã cạo lông của các con cừu trong lô thực nghiệm và dùng nước muối sinh lý đắp lên chỗ da lành đã cạo lông của những con cừu lành trong lô chứng. Kết quả, các con cừu trong lô thực nghiệm đều bị bệnh than trong khi các con cừu trong lô chứng vẫn khỏe mạnh bình thường. Bằng thực nghiệm khoa học L. Pasteur đã khám phá ra nguyên nhân của nhiều bệnh truyền nhiễm. Cống hiến quan trọng tiếp theo của Louis Pasteur là việc ông tìm ra nguyên lý phòng bệnh bằng vaccine.

+ Năm 1881, L. Pasteur đã tìm ra vaccine phòng bệnh tả gà, vaccine phòng bệnh than ở trâu bò và vaccine phòng dại cho động vật.

+ Năm 1885, vacxin phòng bệnh dại là vaccine đầu tiên được thử nghiệm thành công trên người.

- Robert Koch (1843-1910), là bác sỹ thú y người Đức, Robert Koch đã nghĩ ra cách chế tạo môi trường đặc, ông đã phân tách (phân lập) được các loại vi khuẩn khác nhau dựa vào đặc tính vi khuẩn mọc trên môi trường đặc tạo thành khuẩn lạc. Robert Koch đã phát hiện ra vi khuẩn lao.

+ 1876 phát hiện ra vi khuẩn than.

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

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

+ 1890 tìm ra cách sử dụng phản ứng Tuberculin và hiện tượng dị ứng lao.

- Dmitriy Ivanovskiy (1864 - 1920), là nhà thực vật người Nga, ông là người có công đầu trong việc phát hiện ra virus khi nghiên cứu về những cây thuốc lá bị bệnh đốm.
- Alexander Fleming (1881 - 1955): là người phát hiện ra penicilline năm 1929, kháng sinh đầu tiên của loài người.
- Staley Ben Prusiner (1942): nhà khoa học người Mỹ, năm 1997 ông đã tìm ra tác nhân gây bệnh hoàn toàn mới không có acid nucleic được gọi là prion, nguyên nhân gây ra bệnh não xốp ở người và động vật (bệnh bò điên).

3. ĐẠI CƯƠNG VI KHUẨN

3.1. Khái niệm vi khuẩn: vi khuẩn là những sinh vật đơn bào rất nhỏ mà mắt thường không nhìn thấy được, muốn quan sát phải nhìn qua kính hiển vi có độ phóng đại hàng trăm đến nghìn lần.

3.2. Kích thước, hình thể và cấu tạo vi khuẩn

3.2.1. Kích thước, hình thể tế bào vi khuẩn

Vi khuẩn có kích thước rất nhỏ, tùy theo từng loại vi khuẩn mà có kích thước khác nhau, đa số các vi khuẩn có kích thước từ 1 - 3 μ m, có loài vi khuẩn có kích thước lớn (vi khuẩn than 6 μ m), có loài vi khuẩn có kích thước bé (vi khuẩn dịch hạch 0,5 μ m). Kích thước của vi khuẩn có thể thay đổi theo môi trường, thời gian nuôi cấy và điều kiện dinh dưỡng. Vi khuẩn có nhiều hình dạng, nhưng có thể xếp vào 3 loại hình cơ bản sau:

- Hình cầu: gọi là cầu khuẩn, tùy theo cách sắp xếp của các vi khuẩn mà có tên gọi khác nhau:
 - + Tụ cầu khuẩn (*Staphylococcus*): sắp xếp tụ thành đám như chùm nho.
 - + Liên cầu khuẩn (*Streptococcus*): các vi khuẩn xếp thành chuỗi dài hoặc ngắn.
 - + Song cầu khuẩn: hai vi khuẩn đứng cạnh nhau thành từng đôi gọi (cầu khuẩn lậu, cầu khuẩn màng não, phế cầu).
- Hình que gọi là trực khuẩn.
- Hình cong như dấu phẩy gọi là phẩy khuẩn như phẩy khuẩn tả, hình cong xoắn nhiều vòng gọi là xoắn khuẩn như xoắn khuẩn giang mai.
- Ý nghĩa của kích thước, hình thể tế bào vi khuẩn: mỗi loài vi khuẩn có kích thước và hình thể riêng nên dựa vào kích thước và hình thể để phân loại sơ bộ thành các nhóm khác nhau từ đó chúng ta có định hướng để tiến hành các bước tiếp theo trong quá trình định danh vi khuẩn. Trong một số trường hợp, dựa vào hình thể và tính chất bắt màu thuốc nhuộm Gram của một số vi khuẩn có thể

chẩn đoán chính xác một số loài vi khuẩn. Ví dụ: từ bệnh phẩm dịch não tủy, nhuộm Gram, khi soi kính hiển vi thấy có các song cầu hình hạt cà phê, Gram âm thì kết luận bệnh nhân bị nhiễm cầu khuẩn màng não.

3.2.2. Cấu tạo tế bào vi khuẩn

Vi khuẩn có cấu tạo tế bào nhưng chưa hoàn chỉnh, bao gồm các phần cấu tạo cơ bản là nhân, bào tương, màng bào tương, vách (thành) tế bào; các thành phần cấu tạo không cơ bản gồm vỏ, lông, pili, nha bào.

3.2.2.1. Nhân: là một phân tử ADN hình sợi, uốn vòng khép kín, không có màng nhân, là thể nhiễm sắc duy nhất của vi khuẩn. Nếu kéo dài ra nhân xấp xỉ 1mm. Trong quá trình nhân lên của vi khuẩn, sợi ADN tự sao chép theo sơ đồ của Watson – Crick. Nhân của vi khuẩn bắt màu thuốc nhuộm kiềm như bào tương nên khó phân biệt nhân với bào tương khi dùng thuốc nhuộm thông thường.

3.2.2.2. Nguyên sinh chất (NSC): NSC của tế bào vi khuẩn đơn giản hơn so với các tế bào sinh vật bậc cao. NSC ở dạng gel, chứa nước và các chất hòa tan, hạt vùi và là nơi diễn ra các hoạt động chuyển hóa của vi khuẩn.

- Chất hòa tan: protid, lipid, glucid, ARN thông tin, ARN vận chuyển, một số enzyme, muối khoáng, sắc tố...

- Hạt vùi: hạt volutin, không bào chứa glycogen, plasmid, ribosom.

3.2.2.3. Màng nguyên tương: chiếm 20% trọng lượng tế bào vi khuẩn. Màng có tác dụng thẩm thấu chọn lọc, là nơi chứa các men chuyển hoá, hô hấp làm nhiệm vụ điều khiển trao đổi chất giữa vi khuẩn và môi trường. Màng còn tham gia chỉ đạo sự phân chia tế bào vi khuẩn, màng còn có mặt thể là chỗ phình ra của màng nguyên tương, mặt thể có hệ thống Permease giúp cho việc điều hoà chất hữu cơ vào trong tế bào vi khuẩn.

3.2.2.4. Vách tế bào: là màng cứng bao bọc xung quanh vi khuẩn ở ngoài màng nguyên tương. Ở vi khuẩn Gram (+) vách dày (15nm) nhưng cấu tạo đơn giản, vi khuẩn Gram (-) vách mỏng (8 – 12nm) nhưng cấu tạo phức tạp. Vách tế bào có chung chất cơ bản là glycoprotein, gọi là peptidoglycan.

- Vách tế bào vi khuẩn Gram (+): có lớp peptidoglycan dày, gồm nhiều lớp, có acid teichoic.

- Vách tế bào vi khuẩn Gram (-): có lớp peptidoglycan mỏng, chỉ có một lớp, có nhiều lipopolysacharid (LPS) và lipoprotein, những chất này tạo nên nội độc tố của vi khuẩn.

Vách tế bào vi khuẩn có chức năng bảo vệ vi khuẩn, giữ cho hình thể không thay đổi và mang tính kháng nguyên của vi khuẩn. Vách tế bào vi khuẩn Gram (+) và Gram (-) khác nhau về độ dày và thành phần hóa học nên khác nhau về tính chất bắt màu, các vi khuẩn Gram (+) nếu mất vách sẽ thành vi khuẩn Gram (-). Ngoài các thành phần cấu trúc cơ bản trên, một số vi khuẩn còn có các phần cấu trúc phụ như vỏ, lông, pili, bào tử (nha bào).

3.2.2.5. *Vỏ*: một số vi khuẩn tiết ra một chất hữu cơ bao bọc bên ngoài vách tế bào được gọi là vỏ, quá trình sinh vỏ phụ thuộc nhiều vào môi trường. Có vi khuẩn có vỏ dày, có loại có vỏ mỏng. Vỏ không trực tiếp tham gia chức năng sinh lý, vỏ có thể mất đi không ảnh hưởng đến sự nhân lên của vi khuẩn. Vỏ của vi khuẩn có liên quan đến độc lực của chúng, khi có vỏ vi khuẩn dễ chống lại sự thực bào. Vỏ còn mang tính kháng nguyên đặc hiệu. Vỏ khó bắt màu thuốc nhuộm, để quan sát vỏ phải nhuộm vỏ theo kỹ thuật đặc biệt hoặc làm phản ứng phình vỏ.

3.2.2.6. *Lông*: một số vi khuẩn có lông giúp cho vi khuẩn di động, đó là những sợi nhỏ bắt nguồn từ bào tương, xuyên qua vách tế bào ra ngoài. Lông được cấu tạo bởi protein gọi là Flagellin. Tùy vi khuẩn mà có số lượng và vị trí lông khác nhau: có một lông hoặc một chùm lông ở một đầu hoặc nhiều lông xung quanh tế bào. Lông mang tính kháng nguyên đặc hiệu (kháng nguyên H). Để nhận biết vi khuẩn có lông, người ta có thể làm theo nhiều cách khác nhau, thông thường người ta cấy vi khuẩn vào ống môi trường thạch mềm rồi quan sát hiện tượng vi khuẩn mọc lan rộng ra xa đường cấy.

2.2.7. *Pili*: Ở vi khuẩn Gram (-) có 1 sợi cứng, nhỏ xuất phát từ vách và ngắn hơn lông gọi là pili. Có 2 loại: pili chung và pili giới tính.

- Pili chung: còn gọi là pili bám, dài 0,5 - 2 μ m. Mỗi vi khuẩn có từ 100 - 200 pili chung, pili này giúp vi khuẩn bám lên các bề mặt mà chúng ký sinh. Nhờ đó vi khuẩn có tính chất gây bệnh, làm ngưng kết hồng cầu.

- Pili giới tính: dài hơn pili chung, có pili dài tới 20 μ m. Mỗi Vi khuẩn có từ 1 - 4 pili giới tính. Pili giới tính được xem như cầu nối để chuyển ADN từ tế bào vi khuẩn cho sang tế bào vi khuẩn nhận.

3.2.2.8. *Nha bào*: trong môi trường bất lợi cho sự sống, một số vi khuẩn Gram (+) có khả năng hình thành những thể có khả năng chống đỡ rất cao gọi là nha bào. Đây là hình thức tồn tại đặc biệt của vi khuẩn. Nha bào vi khuẩn hoàn toàn giữ nguyên tính chất gây bệnh. Nha bào có hình tròn, hình vuông hay bầu dục, nha

bào có cấu tạo vách dày, có nhiều chất calci và acid dipicolinic dưới dạng muối calcidipicolinat, nước ở dạng tự do chiếm tỷ lệ thấp (dưới 40% trọng lượng nha bào). Trong điều kiện môi trường thuận lợi, nha bào nảy mầm và trở thành tế bào vi khuẩn hoạt động bình thường (thể sinh dưỡng).

Do đặc điểm cấu tạo nên bào tử có khả năng chống đỡ được trong điều kiện sống bất lợi, bảo vệ được chất liệu sống bên trong, tồn tại nhiều năm ở ngoại cảnh và chịu được nhiệt độ cao. Để loại bỏ nha bào, người ta thường hấp bằng hơi nước nóng $120^{\circ}\text{C}/30$ phút, hoặc sấy khô bằng không khí nóng $170^{\circ}\text{C}/60$ phút hoặc bằng phương pháp Tyndall.

4. ĐẠI CƯƠNG VIRUS

4.1. Khái niệm virus: là một đại phân tử nucleoprotein mang đặc tính di truyền cơ bản. không có cấu tạo tế bào, không có quá trình trao đổi chất và không tự sinh sản được.

4.2. Kích thước, hình thể, cấu tạo của virus

4.2.1. Kích thước: virus có kích thước rất nhỏ, qua được lọc vi khuẩn, đơn vị đo kích thước của virus là nanomet (nm), hầu hết virus có kích thước trong giới hạn từ 20 - 300nm. Kích thước của các loại virus luôn ổn định, không bị thay đổi theo môi trường nuôi. Dựa vào kích thước, virus được chia làm 3 loại:

- Loại nhỏ: < 100nm
- Loại trung bình: 100 – 200nm
- Loại lớn: > 200nm

4.2.2. Hình thể: mỗi loại virus có hình thể nhất định, virus nói chung có nhiều hình dạng: hình que (virus khảm thuốc lá), hình viên đạn (virus dại), hình sợi (virus cúm nuôi lâu ngày trên phôi gà), hình khối đa diện (virus viêm gan A, Herpes...), hình cầu (virus cúm, sởi...).

4.2.3. Cấu tạo: virus không có cấu tạo tế bào. Tất cả virus đều có cấu trúc chung gồm 2 phần chính: lõi acid nucleic và vỏ protein (capsid). Ngoài ra một số virus còn có cấu trúc riêng.

4.2.3.1. Cấu tạo chung:

- Lõi acid nucleic: lõi virus chỉ chứa ADN hoặc ARN, có thể 1 sợi hoặc 2 sợi (nếu là ADN là 2 sợi, ARN thường 1 sợi), không chứa đồng thời cả 2 như vi khuẩn. Lõi quyết định toàn bộ hoạt động gây bệnh của virus và mang tính kháng nguyên.

- Vỏ (capsid): được cấu tạo bởi những phân tử protein cấu trúc gọi là capsome giống hệt nhau, capsome là đơn vị hình thái học của protein virus. Vỏ có vai trò quan trọng trong việc bảo vệ lõi không bị enzym nuclease phá huỷ và giúp cho các virus bám vào màng tế bào sống cảm thụ. Vỏ là thành phần chính tạo nên kháng nguyên virus, kích thích cơ thể tạo nên miễn dịch đặc hiệu.

4.2.3.2. Cấu tạo riêng:

- Bao ngoài: bao bọc vỏ capsid, có cấu tạo phospholipid hoặc glycoprotein. Bao ngoài thường được tạo nên từ màng bào tương hoặc màng nhân của tế bào chủ. Những virus không có bao ngoài được gọi là virus trần.

- Yếu tố ngưng kết hồng cầu: một số virus có các gai nhú nằm trên bề mặt bao ngoài. Các gai nhú này là những glycoprotein giúp virus bám vào bề mặt tế bào hồng cầu của người và một số loài động vật gây hiện tượng kết dính hồng cầu, chất này là một kháng nguyên mạnh, kích thích cơ thể sinh kháng thể ngăn ngưng kết hồng cầu. Yếu tố ngưng kết hồng cầu được ứng dụng trong chẩn đoán huyết thanh hoặc xác định tên chủng virus mới.

- Một số enzym cấu trúc: virus không có men chuyển hoá, nhưng có enzym cấu trúc, các enzym này mang tính kháng nguyên đặc hiệu, tham gia vào các giai đoạn khác nhau trong quá trình nhân lên của virus. Ví dụ: ADN polymerase, ARN polymerase...

4.3. Sinh lý virus

4.3.1. Tính chất ký sinh bắt buộc trong tế bào sống

Virus không có cấu tạo tế bào, không có nguồn năng lượng độc lập, không có hệ thống enzyme chuyển hóa, nên virus không có quá trình trao đổi chất, không tự phát triển nhân lên được.

Virus chỉ nhân lên khi xâm nhập vào tế bào sống, sử dụng các acid amin, nucleotid, enzyme, năng lượng... của tế bào sống để tổng hợp nên các virus mới. Ở ngoài tế bào sống virus giống như vật vô sinh.

4.3.2. Sự nhân lên của virus

Quá trình nhân lên của virus trong tế bào sống là quá trình virus truyền thông tin di truyền của chúng cho tế bào chủ, bắt tế bào chủ hoạt động theo thông tin của virus và tổng hợp nên các thành phần của virus. Quá trình nhân lên qua 6 giai đoạn:

4.3.2.1. Giai đoạn bám: mỗi loại virus chỉ có thể bám vào điểm tiếp nhận trên bề mặt của một số tế bào cảm thụ với chúng. Trên các tế bào cảm thụ có cơ quan

tiếp nhận đặc hiệu với chúng gọi là các thụ thể. Ví dụ virus HIV bám vào thụ thể CD4 trên bề mặt tế bào lympho T4 của người.

4.3.2.2. *Giai đoạn xâm nhập*: sau khi bám, virus xâm nhập vào bên trong tế bào chủ thông qua các điểm bám. Tế bào chủ sẽ "ăn" (nuốt) virus theo kiểu thực bào hay ẩm bào (hòa màng với màng bào tương tế bào chủ).

4.3.2.3. *Giai đoạn giải phóng lõi của virus*: nhờ enzym phân hủy virus thoát vỏ, giải phóng axít nucleic xâm nhập vào bào tương của tế bào chủ.

4.3.2.4. *Giai đoạn tạo các thành phần của virus*: sau khi xâm nhập vào tế bào, các virus đi vào giai đoạn ẩn, không thấy hạt của virus trong tế bào nữa. Giai đoạn này, thông tin di truyền của virus phân tán vào thông tin di truyền của tế bào chủ và bắt tế bào chủ chuyển hướng hoạt động bộ máy chuyển hóa của tế bào để tổng hợp ra các thành phần của virus mới. Các thành phần của virus mới có thể được tổng hợp ở cùng một vị trí hay ở các vị trí khác nhau (trong nhân hoặc bào tương) của tế bào chủ, tùy theo từng loại virus.

4.3.2.5. *Giai đoạn lắp ráp*: khi những thành phần của virus mới được tạo ra, các protein vỏ sẽ tự lắp ráp với acid nucleic của virus thành những virus mới hoàn chỉnh (có lõi và vỏ capsid) có khả năng gây nhiễm. Quá trình lắp ráp có thể thực hiện ở nhân hoặc bào tương của tế bào chủ.

Nếu quá trình lắp ráp sai, chỉ có vỏ capsid mà không có lõi virus sẽ tạo ra các virus không hoàn chỉnh. Trường hợp trong quá trình lắp ráp, vỏ của virus lắp ráp với acid nhân của tế bào chủ sẽ tạo ra các virus giả hoặc trường hợp lõi acid nhân của virus kết hợp với một đoạn ADN của tế bào chủ sẽ tạo nên một "virus tải nạp".

4.3.2.6. *Giai đoạn thoát ra khỏi tế bào chủ*: những virus hoàn chỉnh tiến tới sát màng tế bào và thoát ra khỏi tế bào bằng cách nảy chồi hoặc ô ạt phá vỡ làm hủy hoại tế bào, virus mới lại tiếp tục xâm nhập vào tế bào cảm thụ mới.

Thời gian nhân lên của virus ngắn hơn vi khuẩn. Từ virus ban đầu có thể tạo ra hàng trăm, hàng ngàn virus sau thời gian khoảng 5 – 6 giờ (virus cúm, đậu mùa), hoặc 1 – 2 ngày (virus sởi, Adeno...).

4.3.3. Hậu quả sự nhân lên của virus

4.3.3.1. Đối với toàn thân

- Virus gây ra một quá trình nhiễm trùng cho cơ thể dưới dạng một nhiễm trùng cấp tính, mạn tính, nhiễm trùng tiềm tàng và nhiễm trùng virus chậm.

- Đối với hệ thống miễn dịch của cơ thể: virus kích thích tạo một đáp ứng miễn dịch đặc hiệu.

- Nhiễm trùng do virus có thể gây ra tình trạng giảm sút miễn dịch tạm thời hay vĩnh viễn, khi đó cơ thể người bệnh thường bị bội nhiễm hoặc nhiễm trùng cơ hội.

4.3.3.2. Đối với các tế bào bị nhiễm virus

- Gây huỷ hoại tế bào: do quá trình tổng hợp các thành phần của virus trong tế bào chủ dẫn tới các chất cần thiết cần cho tế bào không được tổng hợp và quá trình giải phóng virus mới ra khỏi tế bào chủ làm tế bào bị phá huỷ.

- Gây nhiễm trùng virus tiềm tàng (tế bào chủ và virus cùng tồn tại): tế bào không bị phá huỷ và virus vẫn tồn tại, nhân lên trong tế bào.

- Tế bào sinh ra các hạt vùi: sau khi gây tổn thương cho tế bào chủ, virus để lại cho tế bào tiểu thể đặc trưng ở trong nhân hoặc nguyên sinh chất. Ví dụ: tiểu thể Negri chỉ thấy ở trong bào tương ở các tế bào thần kinh bị nhiễm virus dại.

- Gây tổn thương nhiễm sắc thể của tế bào: virus có thể làm đứt đoạn NST, vỡ hoặc đảo lộn về trật tự sắp xếp.

- Tế bào tăng sinh vô hạn tạo khối u và ung thư: một số virus có gen ung thư như Adeno virus, Polyoma, Retrovirus.

- Kích thích tế bào sinh Interferon (IFN): IFN là những glycoprotein do tế bào tiết ra sau khi bị nhiễm virus, interferon có tác dụng ức chế sự nhân lên của virus.

4.3.4. Sức đề kháng của virus

- Hầu hết các virus bị huỷ ở 60°C/30 phút, trừ một số virus như HBV, Papovavirus. Nhiệt độ thấp hoặc ở trạng thái đông khô là điều kiện tốt để bảo quản virus.

- Các kháng sinh không có tác dụng ức chế hoặc diệt virus (trừ một số kháng sinh tác động đến quá trình sinh tổng hợp acid nucleic như rifampicin...).

- Các virus dễ bị huỷ bởi các dung môi hòa tan lipid, các tia xạ, tia cực tím có tác dụng phá huỷ acid nucleic của virus.

5. CÁCH VIẾT TÊN VI KHUẨN, VIRUS

5.1. Vi khuẩn:

- Đơn vị phân loại cơ bản của vi khuẩn là loài. Nhiều loài gần nhau được xếp thành chi, nhiều chi gần nhau được xếp thành họ, các họ gần nhau thành một bộ. Dưới loài là chủng (type), đó là tập hợp con cháu của một khuẩn lạc đơn độc từ một quần thể thuần khiết.

- Giới (kingdom). Ví dụ: giới động vật, giới thực vật.

- Ngành (division) hoặc (phylum).
- Lớp (class), dưới lớp (lớp phụ) thêm tiếp đầu ngữ sub-.
- Bộ (order): bộ vi khuẩn có chữ tận cùng là ales. Ví dụ Pseudomonadales.
- Họ (family): họ vi khuẩn có tận cùng là chữ aceae, ví dụ: Enterobacteriaceae.
- Giống (genus)
- Loài (species)
- Dưới loài: type, chủng.

Trong thực hành còn có cách phân loại sơ bộ hay dùng là phân biệt vi khuẩn thành 2 nhóm Gram (+) và Gram (-). Cách phân loại này dựa vào tính chất bắt màu thuốc nhuộm Gram của vi khuẩn.

- Viết và đọc tên vi khuẩn bằng tiếng la tinh:

+ Tên đầy đủ của một vi khuẩn gồm tên chi và tên loài, chữ cái đầu tên chi viết hoa, chữ sau tên loài viết thường. Cả tên chi và loài đều viết nghiêng hoặc gạch dưới.

Ví dụ: tên vi khuẩn trực khuẩn mủ xanh là *Pseudomonas aeruginosa* hoặc *Pseudomonas aeruginosa*.

+ Cách viết tắt tên vi khuẩn: viết hoa chữ cái đầu tên chi, sau đó đặt dấu chấm, tên loài viết thường và cách ra một ký tự. Ví dụ: *P. aeruginosa*.

+ Trên vi sinh lâm sàng, khi định danh vi khuẩn cần xác định đến mức độ loài, trường hợp chỉ đến được mức độ chi thì sau tên chi viết tắt là "sp" thay cho tên loài, nếu muốn chỉ nhiều loài trong chi đó thì viết "spp".

5.2. Virus

- Bộ: bao gồm nhiều họ virus có chung đặc tính nhưng khác nhau với các bộ khác. Đuôi của bộ có chữ vialis. Ví dụ: Mononegavirales.

- Họ: gồm nhiều giống virus có chung đặc tính, đuôi của bộ có chữ viridae. Ví dụ: Picornaviridae.

- Chi: gồm các virus có chung đặc tính trong một họ, đuôi của chi có chữ virus. Ví dụ: Enterovirus.

- Loài: là một dòng virus từ một virus ban đầu

Trong thực tế, các virus ở người hay dùng tên thường gọi liên quan đến bệnh hoặc nguồn gốc, khi viết không in nghiêng, chỉ in nghiêng tên chi và họ trở lên. Ví dụ: loài Herpes simplex virus thuộc chi simplexvirus, họ Herpesviridae.

Ghi nhớ:

- Vi khuẩn có cấu tạo tế bào chưa hoàn chỉnh, có kích thước nhỏ, quan sát trên kính hiển vi có độ phóng đại hàng trăm đến một nghìn lần, chịu tác động của kháng sinh. Đa số vi khuẩn nuôi được trên môi trường dinh dưỡng nhân tạo, một số ít vi khuẩn chưa nuôi được.

- Virus chưa có cấu tạo tế bào, nhỏ hơn vi khuẩn, quan sát trên kính hiển vi điện tử, không chịu tác động của kháng sinh. Chưa nuôi được virus trên môi trường dinh dưỡng nhân tạo, Virus nhân lên được là nhờ tế bào chủ.

Lượng giá:

Câu 1: Vi khuẩn Gram (+) và Gram (-) khác nhau về tính chất bắt màu do khác nhau về thành phần cấu tạo của:

- A. Nhân
- B. Bào tương
- C. Vách

Câu 2: Để nhận biết vi khuẩn có lông, có thể cấy vi khuẩn vào ống môi trường:

- A. Thạch máu
- B. Thạch chocolate
- C. Thạch mềm.

Câu 3: Vi sinh y học là môn học nghiên cứu về:

- A. Các vi sinh vật gây bệnh cho người và động vật.
- B. Các vi sinh vật và tác dụng của chúng với sự sống.
- C. Các vi sinh vật gây bệnh cho người.

Câu 4: Vi khuẩn có kích thước rất nhỏ, đơn vị đo là nm.

- A. Đúng
- B. Sai

Câu 5: Khi nhuộm Gram, vi khuẩn Gram dương bắt màu đỏ, vi khuẩn Gram âm bắt màu tím.

- A. Đúng
- B. Sai

Câu 6: Vi khuẩn có 3 loại hình cơ bản: cầu, que, khối đa diện.

- A. Đúng
- B. Sai

Câu 7: Tìm ý đúng về pili của vi khuẩn:

- A. Pili có ở những vi khuẩn Gram (+).
- B. Pili giúp vi khuẩn di động.

- C. Pili gồm 2 loại: pili chung và pili giới tính.
- D. Pili chỉ có chức năng giúp vi khuẩn bám vào bề mặt tế bào.
- E. Cả A,B,C,D.

Câu 8: Đặc điểm cấu tạo của virus:

- A. Nhân chứa ADN và ARN.
- B. Chưa có cấu tạo tế bào.
- C. Cấu tạo gồm vách và nhân.
- D. Cả A và B.
- E. Cả B và C.

Câu 9: Đơn vị hình thái học của virus là:

- A. Bao ngoài.
- B. Capsid.
- C. Capsome
- D. Nhân
- E. Cả A,B,C,D.

BÀI 2: SINH LÝ VI KHUẨN

Giới thiệu:

Các vi khuẩn khác nhau có đặc tính sinh lý khác nhau, nắm được các đặc tính đó của vi khuẩn, giúp chúng ta thực hiện nuôi cấy và định danh chính xác tác nhân gây bệnh.

Mục tiêu học tập:

Sau khi học xong bài này người học có khả năng:

- *Kiến thức:* Trình bày được 5 đặc điểm sinh lý của vi khuẩn.
- *Kỹ năng:* Vận dụng được đặc điểm sinh lý của vi khuẩn trong nuôi cấy vi khuẩn.
- *Năng lực tự chủ và trách nhiệm:* Rèn luyện tính tích cực, nhẹ nhàng, cẩn thận khi làm việc độc lập hoặc làm việc nhóm.

Nội dung:

1. DINH DƯỠNG

1.1. Đặc điểm

Vi khuẩn có sức hoạt động trao đổi chất rất mạnh, sức phát triển sinh sản nhanh, vì vậy vi khuẩn cần lượng thức ăn rất lớn. Điều này cho thấy sức gây bệnh nặng nề một khi nó xâm nhập vào cơ thể. Quá trình trao đổi chất tiến hành trên toàn bộ bề mặt tế bào vi khuẩn nhờ có hệ thống enzym đảm bảo:

Màng bán thấm và các men: do sự chênh lệch áp lực giữa trong và ngoài màng tế bào, do sự chọn lọc của màng. Nhờ đó mà những chất dinh dưỡng nhất định được thấm vào trong và chất cặn bã được thải ra ngoài. Những chất phức tạp không thấm qua được thì vi khuẩn phải tiết ra men phân giải thành những chất đơn giản mới hấp thụ được, có 2 loại men:

- *Ngoại men:* là những men do vi khuẩn tiết ra ngoài để phân hủy thức ăn, phân giải các chất phức tạp trong môi trường thành các chất đơn giản để vi khuẩn dễ hấp thụ.
- *Nội men:* là những enzym trong tế bào vi khuẩn có tác dụng tổng hợp những thức ăn đã hấp thụ được thành những chất của vi khuẩn.

Mỗi loại vi khuẩn có những enzym riêng của mình, chuyên trách một quá trình chuyển hoá nhất định. Dựa vào quá trình chuyển hoá các chất mà người ta nuôi cấy, chẩn đoán và phân loại vi khuẩn. Các enzym đặc hiệu của vi khuẩn là những enzym có sẵn, di truyền qua các thế hệ. Ví dụ: trong những cầu khuẩn Gram (+) giống nhau về hình thể thì tụ cầu có men catalase có khả năng phân hủy H_2O_2 thành H_2O và O_2 gây hiện tượng sủi bọt khí, còn liên cầu không có