

Chương 1. Tổng quan về vi sinh vật

Mục lục

Chương 1. Tổng quan về vi sinh vật	1
1.1. Nguồn gốc của sự sống	3
1.2. Cây phát sinh chủng loài	4
1.3. Kích thước, sự phân bố của Vi khuẩn và Cổ khuẩn	4
1.4. Cấu trúc và chức năng của prokaryote	7
1.4.1. Cấu trúc bề mặt - Phụ bộ	7
1.4.2. Vùng bao tế bào	8
1.4.3. Sự quan trọng của các thành phần bề mặt	9
1.4.4. Các thành phần của tế bào chất	10
1.5. Phân loại prokaryote	10
1.6. Xác định vi khuẩn	12
1.6.1. Phương pháp truyền thống	12
1.6.2. Các kỹ thuật phân tử	13
1.7. Sinh sản và di truyền của vi khuẩn	14
1.8. Trao đổi thông tin di truyền ở vi khuẩn	15
1.9. Sự tiến hóa của vi khuẩn và cổ khuẩn	15
1.10.1. Các kiểu dinh dưỡng của vi sinh vật	16
1.10.2. Thích nghi với các điều kiện môi trường	18
1.10.3. Sự cộng sinh	18
1.11. Ứng dụng vi sinh vật vào công nghiệp và công nghệ sinh học	19
1.11.1. Khai phá vi sinh vật	19
1.11.2. Công nghệ sinh học	20
1.12. Vi sinh vật gây bệnh	21
1.13. Lịch sử về bệnh do vi sinh vật gây ra	22
1.14. Vi sinh vật gây bệnh	23

1.14.1. Người đầu tiên quan sát và mô tả vi sinh vật.....	24
1.14.2. Thuyết về sự sinh sản tự sinh.....	24
1.14.3. Cha đẻ của vi sinh vật y học.....	24
1.14.4. Thuyết về mầm bệnh.....	25
1.14.5. Thanh trùng Pasteur	26
1.14.6. Vaccine.....	26
1.14.7. Kiểm soát bệnh ở tằm.....	27
1.14.8. Người tiên phong trong khử trùng	27
1.14.9. Nguyên lý Koch	28
1.14.10. Môi trường rắn để nuôi cấy vi khuẩn	30
1.14.11. Hiện tượng Kock.....	30
1.14.12. Tự thực nghiệm trên cơ thể.....	30
1.14.13. Nghiên cứu về virus.....	31
1.14.14. Nguyên tắc virus học hiện đại	32
1.14.15. Hiện tượng miễn dịch	33
1.14.16. Cơ chế miễn dịch	33
1.14.17. Tính đặc hiệu của phân tử kháng thể	34
1.14.18. Liệu pháp hóa học.....	35
1.14.19. Kháng sinh	35
1.14.20. Các giải Nobel trong lĩnh vực y sinh học	36

1.1. Nguồn gốc của sự sống

Các bằng chứng hóa thạch cho thấy khi sự sống phát sinh trên trái đất cách đây 4 tỷ năm, thì kiểu tế bào đầu tiên để tiến hóa có lẽ là prokaryote. Các dạng đá trầm tích cổ nhất mà loài người biết được từ Greenland thì cách đây khoảng 3,8 tỷ năm; hóa thạch cổ nhất từ các tế bào prokaryote được phát hiện ở Tây Úc và Nam Phi có độ tuổi khoảng 3,5 tỷ năm.



Hình 1.1. Hồ Opalescent ở công viên quốc gia Đá Vàng (Yellow Stone), Hoa Kỳ. Điều kiện môi trường ở đây tương tự như trên trái đất cách đây khoảng 2 tỷ năm. Nơi đây hình thành suối nước nóng có màu cam, vàng và nâu là do các sắc tố của vi khuẩn quang tổng hợp hình thành nên các phiến. Các phiến này tràn ngập vi khuẩn. Một trong số các vi khuẩn này có *Synechococcus* tiến hành quang tổng hợp có oxy, một số khác như *Chloroflexus* tiến hành quang tổng hợp không sinh oxy. Trong suối nước nóng này có cả vi khuẩn không tiến hành quang tổng hợp và cổ khuẩn ưa nhiệt và ưa acid (K. Todar).

Khi phân tích đặc tính tự nhiên của các hóa thạch và thành phần hóa học của đá trầm tích này cho thấy các hình thức biến dưỡng dạng vô cơ dưỡng và lên men là các hình thức tiến hóa sớm nhất ở prokaryote. Kế đến là quang tổng hợp xuất hiện cách nay ít nhất là khoảng 3 tỷ năm. Quang tổng hợp không có oxy có trước quang tổng hợp sinh oxy. Tuy nhiên quang tổng hợp tạo oxy cũng xuất hiện ở prokaryote, đặc biệt ở khuẩn

lam đã tồn tại cách đây nhiều tỷ năm trước khi tiến hóa thành tảo xanh và thực vật. Khoảng 2 tỷ năm trước, hình thức sự sống trên trái đất chỉ là các tế bào dạng prokaryote. Lớn hơn nữa là nhiều dạng tế bào nhân thực phức tạp chỉ xuất hiện cách nay khoảng giữa 1,5 và 2 tỷ năm.

Cổ khuẩn và vi khuẩn khác nhau cơ bản về cấu trúc so với các tế bào nhân thực (eukaryote). Tế bào eukaryote chứa nhân có màng bao, nhiều sợi nhiễm sắc thể và nhiều cơ quan tử có màng như: ty thể, lục thể, thể golgi, không bào, Không giống với thực vật và động vật, cổ khuẩn và vi khuẩn là những sinh vật đơn bào không có khả năng phát triển hoặc tạo ra sự khác biệt trong các hình thức đa bào. Một số vi khuẩn phát triển thành sợi khối tế bào nhưng mỗi tế bào trong khuẩn lạc (cụm khuẩn) thì giống nhau và có khả năng tồn tại độc lập. Các tế bào này có thể nằm gần kề tế bào khác là do chúng không phân tách ra sau khi phân chia hoặc là do chúng vẫn còn dính vào nhau trong cùng vỏ bọc hoặc dính lại với nhau do chất nhót được tế bào tiết ra. Tuy nhiên giữa các tế bào này không có tính liên tục hay không có sự giao tiếp.

1.2. Cây phát sinh chủng loài

Trên cơ sở phân tích tiểu đơn vị nhỏ của RNA ribosome (ssrRNA), khi thiết lập Cây phát sinh Sự sống đã thể hiện ra ba Lĩnh Giới (Domain) tế bào đó là:

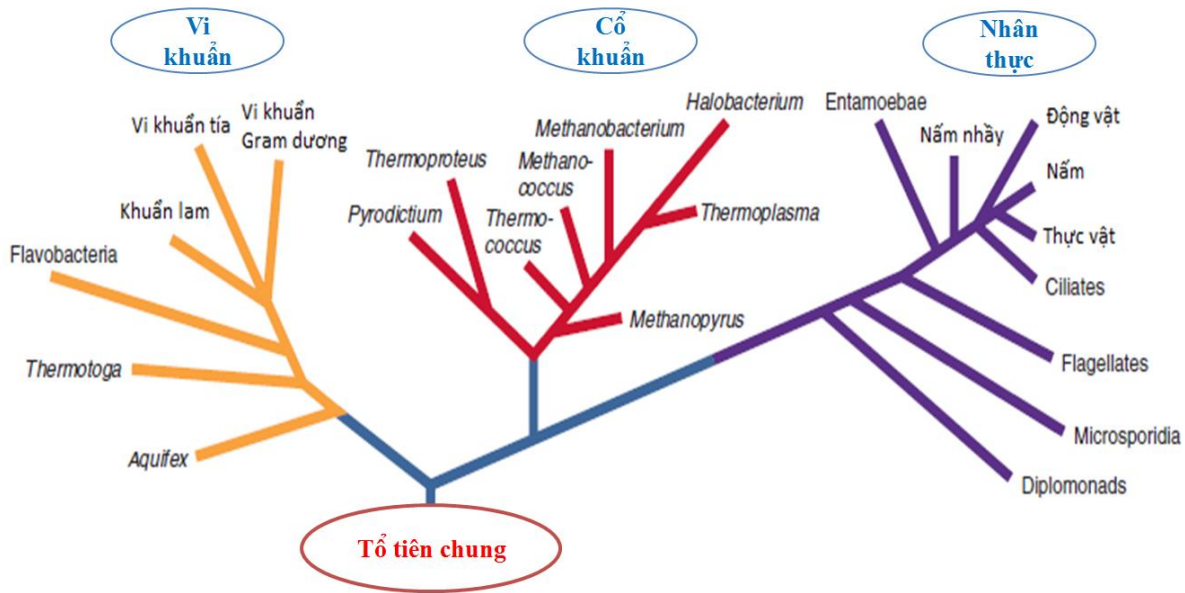
- (1). Cổ khuẩn - Archaea,
- (2). Vi khuẩn - Bacteria và
- (3). Nhân thực - Eukarya.

Vi khuẩn trước đây gọi là Eubacteria và Cổ khuẩn (Archaea) trước đây gọi là Vi khuẩn cổ (Archaeobacteria) cùng chia sẻ một kiểu cấu trúc tế bào dạng prokaryote. Nhưng khác nhau ở chỗ chúng lại không nằm trên cùng một nhánh của cây tiến hóa. Về mặt di truyền, hai Lĩnh Giới này không có quan hệ gần hơn so với quan hệ giữa chúng với Lĩnh Giới Nhân thực - Eukarya. Giữa hai Lĩnh Giới thuộc prokaryote thì Cổ khuẩn có quan hệ gần với Eukarya hơn so với Vi khuẩn (Hình 1.2). Eukarya bao gồm tất cả các tế bào nhân thực gồm protista, nấm, thực vật và động vật.

1.3. Kích thước, sự phân bố của Vi khuẩn và Cổ khuẩn

Hầu hết các tế bào prokaryote rất nhỏ so với các tế bào eukaryote. Một tế bào vi

khuẩn điển hình có kích thước khoảng 1 μm , ngược lại hầu hết các tế bào eukaryote có kích thước từ 10 đến 100 μm . Các tế bào eukaryote có thể có thể tích tế bào chất lớn hơn nhiều và bề mặt thì nhỏ hơn nhiều. Một tế bào prokaryote điển hình có kích thước cỡ tỷ phần của eukaryote. Do prokaryote quá nhỏ để thấy được nên cần công cụ hỗ trợ là kính hiển vi.



Hình 1.2. Cây phát sinh chủng loài của sự sống được thiết lập dựa trên dữ liệu trình tự *ssrRNA*. Theo đó có ba Lĩnh Giới (Domain) chính của sinh vật sống được thiết lập, đó là: Vi Khuẩn (Bacteria), Cổ Khuẩn (Archaea) và Sinh vật Nhân thật (Eukarya). Giữa hai Lĩnh Giới thuộc prokaryote thì Cổ Khuẩn có quan hệ gần với Nhân thật hơn so với Vi Khuẩn.

Có thể nói rằng prokaryote là hình thức sống phong phú nhất trên hành tinh theo hai tiêu chí đó là tổng số lượng loài và sinh khối. Ví dụ ở biển, prokaryote chiếm 90 % tổng khối lượng của tất cả các sinh vật. Trong một gram đất nông nghiệp màu mỡ, tế bào vi khuẩn có thể vượt số lượng 10^9 , đông hơn tất cả tế bào eukaryote khoảng tỷ lệ 10.000 : 1. Có khoảng 3.000 loài vi khuẩn và cổ khuẩn khác biệt được công nhận, tuy nhiên số lượng này có thể nhỏ hơn 1% tất cả các loài trong tự nhiên. Đây là các loài prokaryote chưa biết, chưa được khám phá hoặc chưa được nghiên cứu. Đây cũng là nguồn vật liệu và thông tin di truyền cực kỳ phong phú trong tự nhiên đang chờ đợi khám phá và khai

thác.

Prokaryote được phát hiện trong tất cả các môi trường mà eukaryote sinh sống. Tuy nhiên nhiều môi trường tự nhiên có điều kiện quá cực đoan hoặc không thích hợp cho tế bào eukaryote sinh sống như nóng nhất, lạnh nhất, khô nhất, ... thì thường vẫn có sự tồn tại của prokaryote. Ở những nơi mà eukaryote và prokaryote sống với nhau, có thể có nhiều kiểu kết hợp tương hỗ giữa các sinh vật này cho phép cả hai tồn tại hoặc phát triển. Các cơ quan tử của eukaryote như ty thể và lục thể được cho là những phần còn lại của vi khuẩn xâm nhập vào hoặc do eukaryote nguyên thủy bắt được trong quá trình tiến hóa. Nhiều kiểu tế bào eukaryote tồn tại ngày nay sống được là nhờ prokaryote nội cộng sinh.

Nếu nhìn ở phương diện biến dưỡng, thì prokaryote có kiểu biến dưỡng cực kỳ đa dạng và một số kiểu biến dưỡng hiếm khi hoặc không bao giờ nhìn thấy ở eukaryote. Ví dụ các quá trình sinh học cố định đạm nitrogen hay như sự hình thành khí methan là những kiểu biến dưỡng độc đáo của prokaryote và có tác động to lớn đến các chu trình nitrogen và carbon trong tự nhiên. Các cơ chế độc đáo tạo năng lượng và quang tổng hợp cũng được tìm thấy trong số cổ khuẩn và vi khuẩn.

Đời sống của thực vật và động vật phụ thuộc vào hoạt động của tế bào prokaryote. Vi khuẩn và cổ khuẩn có nhiều kiểu quan hệ cộng sinh với thực vật và động vật nhằm đem lại lợi ích cho cả hai mặc dù một số vi khuẩn là sinh vật gây bệnh.

Các hoạt động biến dưỡng của prokaryote trong môi trường đất có nhiều tác động đáng kể đến sự màu mỡ của đất, có thể tác động đến các hoạt động nông nghiệp và năng suất mùa vụ. Ở phương diện môi trường toàn cầu, prokaryote đóng vai trò thiết yếu để chuyển chu trình các nguyên tố thành các hệ thống sống. Ví dụ các chu trình carbon, oxygen, nitrogen và sulfur. Nguồn gốc của lục lạp ở thực vật quang tổng hợp có sinh oxy là kiểu quang tổng hợp thực vật được phát hiện ở prokaryote. Hầu hết oxy khí quyển của trái đất có thể được tế bào vi khuẩn sinh ra.

Vi khuẩn hoặc các sản phẩm của vi khuẩn kể cả các gen của chúng có thể được sử dụng để tăng năng suất vụ mùa hoặc giúp thực vật kháng được bệnh hoặc phòng ngừa bệnh ở thực vật. Các sản phẩm vi khuẩn kể cả kháng sinh dùng để chống lại các bệnh

xâm nhiễm, cũng như các thành phần của vaccine được sử dụng để ngăn chặn bệnh xâm nhiễm. Do sự đơn giản của vi khuẩn và những hiểu biết tương đối của chúng ta về quy trình sinh học của chúng, nên vi khuẩn được sử dụng để nghiên cứu về sinh học phân tử, di truyền và sinh lý của tất cả các dạng tế bào, bao gồm cả tế bào thực vật và động vật.

1.4. Cấu trúc và chức năng của prokaryote

Tế bào prokaryote có ba vùng kiến trúc chính. Kể từ ngoài vào gồm (1) phụ bộ gồm tiên mao và sợi tơ cùng với đó là capsule; (2) thành tế bào và màng nguyên sinh chất hay còn gọi là màng plasma và (3) vùng nguyên sinh chất chứa bộ gen, ribosome và nhiều dạng thể vùi.

1.4.1. Cấu trúc bề mặt - Phụ bộ

Tiên mao: với hầu hết các tế bào prokaryote di động, tiên mao là những cấu trúc protein dạng sợi dính lên bề mặt tế bào giúp vi khuẩn di chuyển bằng hình thức bơi trong môi trường lỏng. Tiên mao dạng sợi được xoay tròn nhờ thiết bị mô tơ đúc trong màng plasma cho phép tế bào bơi trong môi trường lỏng. Tiên mao tế bào vi khuẩn lấy năng lượng từ động lực proton mà thực chất chính là thể thẩm thấu hóa học được thiết lập trên màng tế bào vi khuẩn. Ngược lại động lực để tiên mao eukaryote và lông mao lấy năng lượng là từ sự thủy giải ATP. Prokaryote có nhiều kiểu tập tính mang tính chiến thuật. Ví dụ như khả năng di chuyển của chúng để phản ứng lại sự kích thích môi trường. Cụ thể trong quá trình hóa hướng động, vi khuẩn có thể cảm nhận về chất lượng và số lượng một số chất hóa học có trong môi trường và chúng bơi về hướng có các hóa chất dùng làm dinh dưỡng và bơi ngược lại nếu các chất đó có hại.

Thể tua và sợi tơ là những thuật ngữ có thể hoán đổi cho nhau, được sử dụng để chỉ các cấu trúc ngắn có dạng tương tự như sợi lông trên bề mặt của tế bào prokaryote. Thể tua thì ngắn và cứng hơn so với tiên mao và có đường kính nhỏ hơn đôi chút. Giống như tiên mao, sợi tơ được cấu tạo từ protein. Một kiểu sợi tơ có tính chuyên biệt nhưng lại có ít chức năng hơn gọi là sợi kiểu F hay sợi tơ giới tính. Trong một số trường hợp, chúng được sử dụng để chuyển DNA giữa hai vi khuẩn đang giao phối. Thể tua hay sợi tơ thường có liên quan đến sự bám dính của prokaryote lên các bề mặt trong tự nhiên. Chúng được xem là các yếu tố chính quyết định độc tính của vi khuẩn vì chúng cho phép

vi khuẩn gây bệnh đánh lên mô và kháng lại sự tấn công theo lối thực bào của các tế bào máu trắng.

1.4.2. Vùng bao tế bào

Hầu hết prokaryote có thành (còn gọi là vách) tế bào cứng. Thành tế bào là một cấu trúc quan trọng để bảo vệ thể nguyên sinh mỏng manh khỏi sự ly giải do thẩm thấu. Thành tế bào vi khuẩn gồm một polymer đường đôi disaccharide, liên kết chéo qua các chuỗi amino acid (peptide). Phân tử này là một dạng của peptidoglycan, được gọi là murein. Ở vi khuẩn Gram dương, thành tế bào là một lớp murein dày. Ở vi khuẩn Gram âm, thành tế bào tương đối mỏng và được cấu tạo bởi một lớp murein mỏng, bao xung quanh là cấu trúc màng được gọi là màng ngoài. Murein là một chất tự nhiên độc đáo của thành tế bào vi khuẩn. Màng ngoài của vi khuẩn Gram âm luôn chứa một thành phần duy nhất đó là lipopolysaccharide (LPS). Chất này gây độc cho động vật nên được gọi là nội độc tố. Thành tế bào của cổ khuẩn có thể được cấu tạo bằng protein, polysaccharide hoặc phân tử tương tự như peptidoglycan nhưng không bao giờ có murein. Đặc điểm này dùng để phân biệt vi khuẩn với cổ khuẩn.

Hầu hết prokaryote thiếu các cơ quan tử nội bào dành cho quá trình hô hấp hoặc quang tổng hợp, nhưng nhiều loài lại có khả năng tiến hành các quá trình này trên màng plasma. Ví dụ, hệ chuyển điện tử cùng với hô hấp hiếu khí và tổng hợp ATP được tìm thấy trong màng tế bào chất còn gọi là màng plasma. Các phân tử sắc tố (chromophore) quang tổng hợp định vị trên màng sẽ thu nhận năng lượng ánh sáng để biến đổi thành năng lượng hóa học. Vì thế màng plasma là vị trí của quang phosphoryl hóa oxi hóa và quang phosphoryl hóa ở prokaryote, tương tự như các chức năng của ty thể và lục lạp ở tế bào eukaryote. Màng plasma của prokaryote cũng là màng bảo vệ có tính thấm được và chứa nhiều hệ vận chuyển khác nhau nhằm chuyển các chất vào và ra khỏi tế bào một cách có chọn lọc.

Màng vi khuẩn có cấu trúc tương tự như màng tế bào eukaryote, ngoại trừ màng vi khuẩn chứa các acid béo bão hòa hoặc có một nối đôi, hiếm khi là acid béo chứa nhiều nối đôi và thường không chứa sterol.

Màng cổ khuẩn hình thành lớp đôi phospholipid có chức năng tương đương với

màng vi khuẩn, nhưng lipid của cổ khuẩn là những tiểu đơn vị isoprenoid bảo hòa, phân nhánh và lặp lại, đính vào glycerol nhờ liên kết ether. Ngược lại liên kết ester được tìm thấy ở glyceride của lipid màng vi khuẩn và eukaryote. Cấu trúc của màng cổ khuẩn được cho là đáp ứng cho sự tồn tại của chúng trong những môi trường cực đoan.

Hầu hết vi khuẩn chứa một số kiểu polysaccharide lớp ngoài của thành tế bào hoặc màng ngoài. Nhìn chung lớp này được gọi là capsule hoặc glycocalyx. Vi khuẩn và cổ khuẩn cũng có thể có lớp bao protein ngoài gọi là lớp S. Capsule, lớp nhầy, glycocalyx và lớp S được biết là những công cụ bám dính trung gian của tế bào vi khuẩn lên các bề mặt cụ thể. Capsule cũng bảo vệ vi khuẩn khỏi sự nhúng chìm do protozoa ăn thịt hoặc các tế bào máu trắng (thực bào) và thoát khỏi sự tấn công của các yếu tố kháng khuẩn có nguồn gốc từ thực vật hoặc động vật. Capsule ở một số vi khuẩn đất giúp bảo vệ tế bào khỏi sự tác động do làm khô hoặc sấy khô.

1.4.3. Sự quan trọng của các thành phần bề mặt

Tất cả các thành phần bề mặt đa dạng của tế bào prokaryote thì quan trọng về sinh thái của chính prokaryote do chúng đóng vai trò trung gian để vi khuẩn tiếp xúc với môi trường. Vi khuẩn phải sử dụng các thành phần bề mặt của nó để tiếp cận môi trường và phản ứng theo cách hỗ trợ cho chính vi khuẩn đó tồn tại và sống sót trong môi trường. Các đặc tính bề mặt của prokaryote được xác định bằng thành phần phân tử chính xác của màng plasma, thành tế bào bao gồm cả LPS và chức năng của cấu trúc bề mặt như tiên mao, thể tua và capsule. Một số phương thức quan trọng mà prokaryote sử dụng các thành phần bề mặt là: (i) đóng vai trò như là màng bảo vệ có tính thấm được cho phép có chọn lọc các chất dinh dưỡng đi vào tế bào và ngăn chặn các chất gây hại; (ii) có vai trò như là các yếu tố dính dùng để dính hoặc dính lên bề mặt hoặc mô chuyên biệt; (iii) dùng để bảo vệ vi khuẩn chống lại sự nhúng chìm do các tế bào máu trắng hoặc protozoa ăn thịt, (iv) đóng vai trò như là các enzyme cho phản ứng trung gian trên bề mặt tế bào để đảm bảo cho sự tồn tại của prokaryote và (v) đóng vai trò như là các protein giác quan có thể phản ứng với nhiệt độ, tính thấm thấu, độ mặn, ánh sáng, oxygen, các chất dinh dưỡng,... . Các tín hiệu này được truyền đến bộ gen tế bào, từ đó tế bào đưa ra các phản ứng sinh học thích nghi với sự thay đổi của môi trường.

1.4.4. Các thành phần của tế bào chất

Các thành phần tế bào chất của vi khuẩn bao gồm cả nhiễm sắc thể và ribosome. Nhiễm sắc thể thường là một phân tử DNA vòng có kích thước lớn, có tính tự do nhiều hoặc ít hơn trong tế bào chất. Đôi khi prokaryote sở hữu các mảnh DNA ngoài nhiễm sắc thể gọi là plasmid. Tổng thành phần DNA của tế bào được xem như là bộ gen của tế bào. Trong quá trình tăng trưởng và phân đôi tế bào, nhiễm sắc thể prokaryote được sao chép theo cách bảo tồn một nửa trước khi phân bố vào tế bào con. Tuy nhiên các quá trình giảm phân (meiosis) và nguyên phân (mitosis) ở eukaryote thì không xuất hiện ở prokaryote. Sự sao chép và phân tách DNA của prokaryote có sự phối hợp của màng plasma.

Các dạng hạt khác biệt xuất hiện trong tế bào chất prokaryote là do sự hiện diện và phân bố của ribosome. Các ribosome của prokaryote thì nhỏ hơn các ribosome của eukaryote. Ribosome của prokaryote có kích thước 70S, được cấu tạo từ các tiểu đơn vị 30S và 50S. Ribosome 80S của eukaryote được cấu tạo từ các tiểu đơn vị 40S và 60S. Ribosome liên quan đến quá trình dịch mã để tổng hợp protein, nhưng một số chi tiết về hoạt động của chúng có sự khác biệt ở eukaryote, vi khuẩn và cổ khuẩn. Sự tổng hợp protein sử dụng ribosome 70S của vi khuẩn xuất hiện ở ty thể và lạp thể của eukaryote. Đây chính là bằng chứng quan trọng để nói rằng các cơ quan tử này có nguồn gốc từ vi khuẩn.

Một số kiểu thể vùi dạng hạt, thường có trong nguyên sinh chất của tế bào prokaryote. Các thể vùi này là các hạt khác biệt có thể chiếm giữ một phần tế bào chất. Thể vùi dạng hạt thường lưu giữ một số vật chất. Ví dụ carbon và năng lượng có thể được lưu trữ ở dạng các hạt glycogen (một polymer của glucose) hoặc ở dạng hạt polybetahydroxybutyric acid (một kiểu chất béo). Thể vùi polyphosphate lưu giữ PO_4 và có thể có năng lượng; nguyên tố sulfur (các giọt sulfur) được một số prokaryote quang dưỡng và vô cơ dưỡng lưu trữ làm nguồn năng lượng hay điện tử. Một số thể vùi thực tế là túi bong hay nếp gấp của màng hướng vào bên trong tế bào chất, chứa các sắc tố quang tổng hợp hoặc các phức hợp enzyme chuyên biệt.

1.5. Phân loại prokaryote

Năm 1886, Ernst Heinrich Philipp August Haeckel (1834 - 1919) là người đầu tiên đề xuất ra Giới (Kingdom) vi sinh vật. Trước đó gần hai thế kỷ, Antonie Van Leeuwenhoek (1632 - 1723) đã khám phá điều này. Haeckel đã đặt tất cả các sinh vật đơn bào có kích thước cực nhỏ trong một giới mới gọi là "Protista", tách ra khỏi Thực vật (Plantae) và Động vật (Animalia) là những sinh vật đa bào có kích thước lớn. Sự phát triển của kính hiển vi điện tử vào những năm của thập niên 1950 đã cho thấy có sự phân đôi cơ bản trong giới Protista của Haeckel. Đó là một số tế bào có màng nhân và một số tế bào thiếu cấu trúc nội bào này. Sau đó xuất hiện tạm thời giới thứ tư gọi là Monera (hay Moneres), prokaryote (gọi là Procaryotae). Protista vẫn còn là giới vi sinh vật eukaryote đơn bào. Vào năm 1967, Whittaker đã tinh chỉnh hệ thống này thành năm giới, bằng cách xác định Năm là giới sinh vật eukaryote đa bào, phân biệt nhờ kiểu hấp thu dinh dưỡng dị dưỡng.

Vào những năm thập niên 1980, Woese bắt đầu phân tích tiến hóa tất cả các hình thức sự sống dạng tế bào dựa trên so sánh trình tự của tiểu đơn vị nhỏ của RNA ribosome (ssrRNA). Phân tử này có trong tất cả các sinh vật. Một sự phân tách mới đã được lộ ra, theo đó prokaryote tồn tại hai kiểu cơ bản, không liên quan với nhau. Vì vậy Woese đã xác định được ba Lĩnh giới của sự sống tế bào đó là: Sinh vật Nhân thật (Eukarya), Vi khuẩn (Bacteria) và Cổ khuẩn (Archaea) (Hình 1.2). Eukaryote đa bào như thực vật, động vật và nấm của Whittaker thì nằm ở nhánh rất nhỏ trên cây phát sinh sự sống và tất cả các nhánh khác điều là vi sinh vật hay prokaryote được phân tách thành Vi khuẩn và Cổ khuẩn hoặc là protist gồm tảo đơn bào và protozoa. Theo cách phân tích này rõ ràng cho thấy đời sống vi sinh vật chiếm ưu thế trên hành tinh của chúng ta (Hình 1.2).

Phân tích trình tự các đại phân tử như tiểu đơn vị nhỏ của RNA ribosome có trong tất cả các dạng tế bào cho phép các nhà vi khuẩn học phân nhóm vi khuẩn trong một sơ đồ phân cấp kiểu mẫu dựa trên mối quan hệ di truyền. Tài liệu hiện tại về phân loại học là Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2001) thiết lập ra 24 ngành vi khuẩn, phân chia hệ thống cấp bậc thành lớp (class), bộ (order), họ (family), giống (genus) và loài (species). Ví dụ, *E.coli* thuộc Lĩnh giới Vi khuẩn (Domain Bacteria), Ngành *Proteobacteria*, Lớp *Gamma Proteobacteria*, Bộ *Enterobacteriales*, Họ

Chương 1. Tổng quan về vi sinh vật

Enterobacteriaceae, Giống *Escherichia*, Loài *Escherichia coli*.

Bảng 1.1. Đặc điểm kiểu hình của vi khuẩn và cổ khuẩn so với sinh vật nhân thật.

Đặc điểm	Giới sinh học		
	Sinh vật nhân thật	Vi khuẩn	Cổ khuẩn
Kiểu hình tế bào	Nhân thật	Tiền nhân	Tiền nhân
Màng nhân	Có	Không	Không
Số nhiễm sắc thể	> 1	1	1
Hình dạng nhiễm sắc thể	Dạng thẳng	Dạng vòng	Dạng vòng
Murein trong thành tế bào	Không	Có	Không
Lipid màng	Glyceride liên kết với ester, không phân nhánh, nhiều nối đôi	Ester liên kết với glyceride, không phân nhánh, bảo hòa hoặc có một nối đôi	Liên kết ether phân nhánh, bảo hòa
Sterol màng	Có	Không	Không
Ty thể và lạp thể	Có	Không	Không
Ribosome	80S	70S	70S
Dòng chảy trong tế bào chất	Có	Không	Không
Giảm phân và nguyên phân	Có	Không	Không
Phiên mã và dịch mã bắt cặp nhau	Không	Có	Có
Amino acid bắt đầu để tổng hợp protein	Methionine	N-formyl methionine	Methionine
Tổng hợp protein bị streptomycin và chloramphenicol ức chế	Không	Có	Không
Tổng hợp protein bị độc tố gây bệnh bạch hầu ức chế bởi	Có	Không	Có

1.6. Xác định vi khuẩn

1.6.1. Phương pháp truyền thống

Các tiêu chí dùng để định danh prokaryote gồm hình dạng tế bào và phân nhóm, phản ứng nhuộm Gram và tính di động. Hầu hết các tế bào vi khuẩn luôn có ba kiểu hình cơ bản đó là: (a) hình que còn gọi là trực khuẩn (bacillus), (b) hình cầu hay cầu khuẩn

(coccus) và (c) hình xoắn gọi là xoắn khuẩn. Hình que cong được gọi là vibrio. Các tế bào vi khuẩn qua nhuộm Gram có màu tím gọi là Gram dương, có màu hồng gọi là Gram âm; tính di động dễ dàng xác định được bằng cách quan sát các mẫu vật sống. Trục khuẩn có thể xuất hiện ở dạng tế bào đơn hay dạng chuỗi; cầu khuẩn có thể ở dạng chuỗi liên cầu khuẩn (streptococcus) hoặc chùm giống chùm nho (staphylococcus). Tế bào dạng xoắn luôn luôn di động nhưng dạng hình cầu không bao giờ di động. Kiểu định danh này bỏ qua xạ khuẩn (actinomycetes), một nhóm chiếm ưu thế trong nhánh vi khuẩn và xuất hiện nhiều trong đất. Tuy nhiên nhóm này dễ dàng nhận biết nhờ hình dạng khuẩn lạc và hình dạng của chúng dưới kính hiển vi.

Các quan sát được thực hiện dễ dàng dưới kính hiển vi, kết hợp với hiểu biết về môi trường tự nhiên của vi sinh vật cùng với tài liệu hướng dẫn là những thông tin quan trọng để giúp xác định nhóm vi sinh vật. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology là tài liệu hướng dẫn giúp định danh vi sinh vật. Bergey's Manual mô tả các nhóm phân nhánh của vi khuẩn và cổ khuẩn dựa trên một số quan sát dễ dàng thấy được dưới kính hiển vi và đặc điểm sinh lý của chúng. Các xác định sâu hơn cần đòi hỏi các thử nghiệm sinh hóa giúp phân biệt các giống trong cùng một họ và các loài trong cùng một giống. Các chủng trong cùng một loài thường được phân biệt nhờ các tiêu chí về di truyền hay miễn dịch.

1.6.2. Các kỹ thuật phân tử

Khoa học về nghiên cứu bộ gen (genomics) và tin sinh (bioinformatics) cho phép phân loại lại một cách triệt để prokaryote dựa trên phân tích so sánh DNA. Khoa học bộ gen có liên quan đến nghiên cứu tất cả các trình tự nucleotide bao gồm cả gen cấu trúc, trình tự điều hòa và các đoạn DNA không mã hóa trong các nhiễm sắc thể của sinh vật. Ngày nay trên 200 bộ gen vi khuẩn đã được giải trình tự. Chúng ta đã nhìn thấy các trình tự bảo tồn về di truyền như trình tự mã hóa cho tiểu đơn vị nhỏ RNA ribosome (16S rRNA) của sinh vật. Các trình tự này có thể được sử dụng để phân tích mối quan hệ đặc trưng giữa hai sinh vật. Cũng có thể xác định một số gen nhằm cung cấp thông tin về các đặc điểm chuyên biệt của sinh vật. Các trình tự nucleotide đặc trưng có thể được sử dụng để phân tích nhằm xác định mức độ liên quan về mặt di truyền của các sinh vật đang so

sánh.

Tài liệu Bergey's Manual tái bản mới nhất đã cập nhật cách phân loại mới về tiến hóa. Cách tiếp cận này dẫn đến hình thành một số đơn vị phân loại (taxon) mới về vi khuẩn và cổ khuẩn ở mỗi cấp phân cấp. Đôi khi các sinh vật được cho là có mối quan hệ về khoảng cách gần hơn hoặc ít gần hơn trở nên hợp nhất. Nhưng nhiều khi các sinh vật được cho là gần gũi với nhau do có đặc điểm tương tự về kiểu hình nhưng lại khác biệt về di truyền và tách biệt trong một đơn vị phân loại mới.

Nghiên cứu về đa hệ gen (metagenomics): tiến hành giải trình tự các gen rRNA 16S thu nhận từ các mẫu môi trường để xây dựng hồ sơ về sự đa dạng của vi sinh vật, từ đó khám phá ra một lượng lớn vi sinh vật hiện diện trong mẫu cần khảo sát mà phương pháp nuôi cấy không phát hiện được. Metagenomics còn gọi là nghiên cứu các hệ gen môi trường, áp dụng các kỹ thuật nghiên cứu bộ gen hiện đại để nghiên cứu cộng đồng vi sinh vật trực tiếp từ môi trường tự nhiên của chúng, bỏ qua các bước phân lập và nuôi cấy ở phòng thí nghiệm. Metagenomics cung cấp phương tiện để xác định số lượng vi sinh vật có trong các mẫu môi trường nhờ sự hiện diện của các gen riêng biệt. Phương pháp này có thể nghiên cứu các vi sinh vật không dễ nuôi cấy được trong phòng thí nghiệm cũng như nghiên cứu các vi sinh vật trong môi trường tự nhiên.

1.7. Sinh sản và di truyền của vi khuẩn

Hầu hết vi khuẩn sinh sản bằng quá trình vô tính tương đối đơn giản gọi là trực phân: mỗi tế bào gia tăng kích cỡ và phân đôi thành hai tế bào. Trong suốt quá trình này, có sự gia tăng trình tự về các cấu trúc và thành phần của tế bào, sao chép và phân tách DNA vi khuẩn, tiếp theo đó là sự hình thành vách ngăn giúp phân đôi tế bào thành hai. Quá trình này hiển nhiên có sự phối hợp của màng tế bào. Phân tử DNA được cho là dính vào một điểm của màng để sao chép. Hai phân tử DNA vẫn còn dính tại các điểm cạnh nhau trên màng trong lúc vật liệu màng được tổng hợp giữa hai điểm này. Điều này làm cho các phân tử DNA nằm theo hướng đối diện trong lúc thành tế bào mới bắt đầu hình thành như là vách ngăn giữa hai phần nhiễm sắc thể. Khi sự hình thành vách ngăn hoàn thành thì tế bào mẹ được phân chia thành hai tế bào con. Thời gian cần thiết để cho tế bào phân đôi gọi là thời gian thế hệ. Thời gian thế hệ đối với các loài vi khuẩn tăng trưởng

trong tự nhiên có thể rất ngắn khoảng 15 phút hoặc có thể kéo dài trong một số ngày.

1.8. Trao đổi thông tin di truyền ở vi khuẩn

Mặc dù prokaryote không sinh sản theo đường tình dục, nhưng chúng có khả năng trao đổi các gen và tiến hành tái tổ hợp di truyền. Sự trao đổi vật liệu di truyền ở vi khuẩn trong tự nhiên diễn ra trong ba quá trình cơ bản: tiếp hợp, tải nạp và biến nạp. Tiếp hợp đòi hỏi có sự tiếp xúc giữa tế bào với tế bào để DNA được chuyển từ tế bào cho sang tế bào nhận. Trong quá trình tải nạp, virus chuyển các gen giữa các vi khuẩn đang giao phối. Trong sự biến nạp, DNA được thu nhận trực tiếp từ môi trường do tế bào khác phóng thích ra. Sự tái tổ hợp di truyền là quá trình chuyển DNA từ một tế bào này sang tế bào kia làm nổi lên một kiểu gen mới đó là gen tái tổ hợp. DNA phổ biến được chuyển chính là các plasmid giữa hai vi khuẩn đang giao phối. Do vi khuẩn thường phát triển các gen kháng thuốc trên plasmid, còn gọi là các yếu tố chuyển có khả năng kháng (RTFs). Vì vậy trong quá trình trao đổi di truyền, các gen này có thể làm lan rộng khả năng kháng thuốc sang các chủng khác và các loài khác. Kỹ thuật di truyền của tế bào vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu hay công nghệ sinh học thường dựa trên việc sử dụng các plasmid làm vật chuyển gen (vector). Các hệ thống di truyền của cổ khuẩn ít được mô tả về điểm này, mặc dù toàn bộ bộ gen của *Methanosarcina* đã được giải trình tự, mở ra khả năng phân tích di truyền về cổ khuẩn.

1.9. Sự tiến hóa của vi khuẩn và cổ khuẩn

Đối với hầu hết prokaryote, đột biến là nguồn chủ yếu của sự biến dị, cho phép các loài thích nghi với các điều kiện mới. Tỷ lệ đột biến của hầu hết các gen của prokaryote là 10^{-8} . Điều này có nghĩa là nếu một quần thể vi khuẩn tăng lên gấp đôi từ 10^8 tế bào lên 2×10^8 tế bào thì có khả năng xuất hiện một thể đột biến của một gen. Do prokaryote phát triển đạt mật độ quần thể vượt 10^9 tế bào, nên một thể đột biến có thể phát triển từ một thể hệ trong 15 chu kỳ tăng trưởng. Sự tiến hóa của prokaryote xuất phát từ các nguyên tắc tiến hóa của Darwin như đột biến và chọn lọc được gọi là tiến hóa theo chiều dọc.

Tuy nhiên kết quả của các quá trình trao đổi di truyền, vi khuẩn và cổ khuẩn có thể cũng tiến hành theo một quá trình khác được gọi là sự chuyển gen theo chiều ngang

(HGT). Trong trường hợp này, các gen được chuyển ngang từ một sinh vật này sang một vi khuẩn khác, bao gồm giữa các thành viên trong các giới khác nhau. Điều này cho phép sinh vật tiếp nhận tiến hành trải nghiệm đặc điểm di truyền mới. Chuyển gen theo chiều ngang được xem là lực dẫn động đáng kể trong tiến trình tiến hóa tế bào.

Cùng với các tác động về tốc độ tăng trưởng nhanh, số lượng tế bào đông đảo, các quá trình đột biến, chọn lọc di truyền và khả năng trao đổi giữa các gen cho thấy sự thích nghi và tiến hóa của prokaryote chiếm tỷ lệ đáng kinh ngạc.

1.10. Sinh thái học của vi khuẩn và cổ khuẩn

Vi khuẩn và cổ khuẩn hiện diện trong tất cả các môi trường có sự hỗ trợ sự sống. Chúng sống tự do hoặc kết hợp với các hình thức cao cấp hơn của sự sống như thực vật và động vật. Chúng cũng được tìm thấy trong những môi trường không có sự hỗ trợ cho các hình thức sống khác. Prokaryote thường đòi hỏi dinh dưỡng để tế bào tăng trưởng, nhưng trong nhiều trường hợp chúng sử dụng và chuyển hóa các chất dinh dưỡng theo phương cách rất độc đáo. Điều này là do môi trường sống và sinh thái của chúng trực tiếp mang lại.

1.10.1. Các kiểu dinh dưỡng của vi sinh vật

Thuật ngữ về việc sử dụng carbon của tế bào gọi là dị dưỡng hoặc tự dưỡng. Sinh vật dị dưỡng (Heterotroph) thu nhận carbon và năng lượng từ các chất hữu cơ trong tự nhiên cho sự tăng trưởng của chúng. Sinh vật tự dưỡng (Autotroph) sử dụng CO_2 làm nguồn carbon cho sự tăng trưởng và thu nhận ánh sáng như sinh vật quang tự dưỡng (photoautotroph) hoặc từ sự oxi hóa các hợp chất vô cơ như sinh vật vô cơ tự dưỡng (lithoautotroph).

Hầu hết các vi khuẩn dị dưỡng là những sinh vật hoại sinh (saprophyte), nghĩa là chúng thu nhận thức ăn là vật chất hữu cơ từ sinh vật đã chết. Trong đất, vi khuẩn hoại sinh và nấm chịu trách nhiệm phân giải vật chất hữu cơ. Cuối cùng các phân tử hữu cơ có thể được phân giải thành CO_2 cùng với đó là H_2 và H_2O . Có lẽ không có chất hữu cơ nào xuất hiện trong tự nhiên lại không bị phân hủy do các hoạt động kết hợp giữa vi khuẩn và nấm. Vì vậy hầu hết các hợp chất hữu cơ trong tự nhiên được biến đổi nhờ sinh vật dị dưỡng để chuyển thành CO_2 . Vật chất hữu cơ chỉ được chuyển đổi trở lại nhờ sinh vật tự

đường. Khi chúng chết đi sẽ cung cấp nguồn thực phẩm cho sinh vật dị dưỡng để hoàn thành chu trình carbon.

Prokaryote vô cơ dưỡng có kiểu biến dưỡng tạo năng lượng độc đáo. Sinh vật vô cơ dưỡng (Lithotroph) còn gọi là vô cơ tự dưỡng (lithoautotroph) hay vô cơ hóa tự dưỡng (chemoautotroph) sử dụng các hợp chất vô cơ như là nguồn năng lượng, ví dụ chúng oxy hóa các hợp chất như H_2 hoặc H_2S hoặc NH_3 để thu nhận các điện tử rồi đưa vào hệ chuyển điện tử và tạo ATP (năng lượng). Vi sinh vật vô cơ dưỡng được tìm thấy trong đất và môi trường nước ở bất cứ nơi nào mà nguồn năng lượng của chúng hiện diện. Hầu hết vi sinh vật vô cơ dưỡng là sinh vật tự dưỡng. Vì vậy chúng có thể tăng trưởng khi không có mặt của bất kỳ vật chất hữu cơ nào. Các loài vô cơ dưỡng được tìm thấy trong số các vi khuẩn và cổ khuẩn. Vi khuẩn vô cơ dưỡng oxy hóa sulfur chuyển đổi H_2S thành S^0 và S^0 thành SO_4 . Vi khuẩn nitrate hóa (Nitrifying bacteria) chuyển NH_3 thành NO_2 và NO_2 thành NO_3 ; cổ khuẩn sinh khí methane lấy điện tử từ H_2 làm nguồn năng lượng và thêm hydro vào CO_2 để hình thành CH_4 (methane). Vi sinh vật vô cơ dưỡng hiển nhiên tác động vào các chu trình sulfur, nitrogen và carbon trong sinh quyển.

Vi khuẩn quang tổng hợp chuyển đổi năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học cần thiết cho sự tăng trưởng. Hầu hết vi khuẩn quang dưỡng là sinh vật tự dưỡng vì vậy vai trò của chúng trong chu trình carbon thì tương tự như ở thực vật. Khuẩn lam phù du được xem như là "cỏ biển" và hình thức quang tổng hợp sinh oxygen (oxygenic photosynthesis) của chúng tạo ra một lượng O_2 đáng kể cho sinh quyển. Tuy nhiên trong số vi khuẩn quang tổng hợp thì các kiểu biến dưỡng quang tổng hợp không được nhìn thấy ở eukaryote, kể cả quang dị dưỡng (photoheterotrophy) sử dụng ánh sáng làm nguồn năng lượng trong khi các hợp chất từ quá trình đồng hóa được sử dụng làm nguồn carbon, quang tổng hợp không có oxygen (anoxygenic photosynthesis) và quá trình tự dưỡng là những cơ chế độc đáo về cố định CO_2 .

Quang tổng hợp không được tìm thấy ở Cổ khuẩn, nhưng một loài cổ khuẩn tiến hành quang tổng hợp nhưng không thu nhận ánh sáng để tạo năng lượng. Điều này là do loài cổ khuẩn này sử dụng sắc tố (chromophore) gọi là sắc tố vi khuẩn (bacteriorhodopsin).

1.10.2. Thích nghi với các điều kiện môi trường

Hầu hết prokaryote hoặc là được nuôi cấy, nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, hoặc là được quan sát đang tăng trưởng trong môi trường tự nhiên. Chúng dường như thích nghi cao với môi trường đặc biệt là nhờ cấu trúc đại phân tử dùng làm phương tiện và/hoặc khả năng sinh lý của chúng. Chất lượng dinh dưỡng của môi trường sẽ quyết định sự hiện diện vi sinh vật cụ thể, nhưng cũng chịu được sự biến động mạnh của các thông số vật lý như: ánh sáng, O_2 , pH, nhiệt độ và độ mặn của môi trường.

Prokaryote có khả năng thay đổi rất rộng về phản ứng của chúng đối với phân tử O_2 . Vi khuẩn đòi hỏi O_2 cho sự tăng trưởng được gọi là vi khuẩn hiếu khí bắt buộc. Vi sinh vật thuộc nhóm kỵ khí này sẽ bị O_2 ức chế hoặc tiêu diệt. Vi sinh vật chỉ phát triển trong điều kiện không có O_2 gọi là vi sinh vật kỵ khí bắt buộc. Vi sinh vật tăng trưởng hoặc có mặt oxygen hoặc không có mặt của phân tử này được gọi là kỵ khí tùy nghi. Dù gì đi chăng nữa một sinh vật cụ thể có thể tồn tại trong sự có mặt của O_2 thì phụ thuộc vào sự phân bố của một số enzyme như superoxide dismutase và catalase. Các enzyme này cần thiết để khử độc các gốc oxygen gây chết luôn được các hệ thống sống tạo ra khi có O_2 .

Prokaryote cũng có khả năng thay đổi rất rộng về phản ứng với nhiệt độ. Vi sinh vật sống được ở nhiệt độ rất lạnh ($0^{\circ}C$ hoặc thấp hơn) gọi là nhóm vi sinh vật ưa nhiệt lạnh (psychrophile); những vi sinh vật phát triển mạnh ở nhiệt độ phòng ($25^{\circ}C$) hoặc ở nhiệt độ của động vật máu nóng ($37^{\circ}C$) gọi là nhóm vi sinh vật ưa nhiệt vừa (mesophile). Vi sinh vật sống ở nhiệt độ cao (lớn hơn $45^{\circ}C$) được gọi là nhóm vi sinh vật ưa nhiệt (thermophile). Chỉ một số prokaryote có khả năng tăng trưởng trong tự nhiên ở điều kiện nhiệt độ gắn liền với nước dạng thể lỏng. Các tế bào prokaryote này có khả năng tăng trưởng trong các môi trường siêu lạnh ở $-20^{\circ}C$ nhưng không có thể đá hình thành và môi trường siêu nóng ở $120^{\circ}C$ nhưng không hình thành hơi nước. Cổ khuẩn đã được phát hiện ở các lỗ nhiệt trên các nền đáy dưới đại dương nơi mà nhiệt độ cao đến $320^{\circ}C$.

1.10.3. Sự cộng sinh

Trong sinh quyển, prokaryote chiếm một lượng sinh khối lớn đáng kể, cùng với đó sự đa dạng về biến dưỡng và bền vững của chúng trong tất cả các môi trường hỗ trợ sự

sống làm cho prokaryote đóng vai trò cốt yếu trong chu trình của các nguyên tố và chức năng của hệ sinh thái trên thế giới. Tuy nhiên prokaryote còn có kiểu tác động đến sinh thái thế giới theo cách quan trọng khác đó là thông qua những tương tác với côn trùng, thực vật và động vật. Côn trùng, động vật hay thực vật đòi hỏi cần kết hợp với một số vi khuẩn để tồn tại. Ví dụ hoạt động giới tính để duy trì nòi giống của một số côn trùng được xác định là nhờ sự cộng sinh của vi khuẩn. Động vật nhai lại chủ yếu tiêu thụ cellulose nhưng chất này phải được vi sinh vật tiêu hóa cellulose có trong đường ruột chuyển đổi thành một dạng carbon để động vật nhai lại có thể đồng hóa được. Thực vật họ đậu tăng trưởng kém trên đất thiếu nitrogen trừ khi chúng được vi khuẩn cố định đạm tập kết và cung cấp nitrogen ở dạng sinh học hữu dụng.

1.11. Ứng dụng vi sinh vật vào công nghiệp và công nghệ sinh học

1.11.1. Khai phá vi sinh vật

Vi khuẩn được sử dụng trong công nghiệp theo nhiều cách, chủ yếu khai thác khả năng biến dưỡng tự nhiên của chúng. Chúng được sử dụng trong sản xuất thực phẩm và sản xuất kháng sinh, probiotics, thuốc, vaccine, sử dụng làm chủng mẹ (starter culture), thuốc tiêu diệt côn trùng, sản xuất enzyme, sản xuất nhiên liệu và dung môi. Hơn nữa với sự hỗ trợ của kỹ thuật di truyền, vi khuẩn có thể được lập trình để tạo ra nhiều hợp chất được sử dụng trong các ngành khoa học như: thực phẩm, nông nghiệp và y dược. Các hệ thống di truyền của vi khuẩn là nền tảng cho ngành công nghệ sinh học.

Trong công nghiệp thực phẩm, các vi khuẩn lactic như *Lactobacillus*, *Lactococcus* và *Streptococcus* được sử dụng trong sản xuất các sản phẩm từ sữa như phô mai, bơ lên men, kem chua, bơ từ sữa, sữa chua và kefir. Vi khuẩn lactic và vi khuẩn acetic được sử dụng trong các quá trình làm chua như dưa ngâm giấm có dầu ô liu và dưa cải ngâm giấm. Lên men vi khuẩn được sử dụng trong các quá trình sản xuất trà, cà phê, cô ca, nước tương, nước mắm, xúc xích và nhiều loại thực phẩm trong đời sống hàng ngày của chúng ta.

Trong công nghiệp dược phẩm, vi khuẩn được sử dụng để sản xuất kháng sinh, vaccine và các enzyme hữu dụng trong y dược. Hầu hết các kháng sinh được làm từ vi khuẩn sống trong đất. Xạ khuẩn như *Streptomyces* sản sinh ra các kháng sinh như

tetracycline, erythromycin, streptomycin, rifamycin và ivermectin. Các loài vi khuẩn *Bacillus* và *Paenibacillus* sản sinh bacitracin và polymyxin. Các sản phẩm của vi khuẩn được sử dụng trong sản xuất vaccine để ngăn ngừa các bệnh truyền nhiễm. Các vaccine chống lại các bệnh bạch hầu, ho gà, uốn ván, sốt thương hàn và tả được làm từ các thành phần vi khuẩn gây các bệnh tương ứng. Điều đáng chú ý ở đây đó là việc sử dụng kháng sinh và việc sử dụng vaccine để kiểm soát các bệnh truyền nhiễm là hai thành tựu quan trọng đạt được trong thế kỷ hai mươi. Thành tựu này đã làm tăng chất lượng cuộc sống cũng như làm tăng tuổi thọ trung bình dân số ở các nước trên thế giới.

1.11.2. Công nghệ sinh học

Công nghệ sinh học sử dụng các tế bào vi khuẩn để sản xuất các chế phẩm sinh học hữu dụng cho sự tồn tại của con người bao gồm nhiên liệu, thực phẩm, dược phẩm, hormone, enzyme, protein và nucleic acid. Khả năng công nghệ sinh học là vô tận trong việc xem xét các nguồn gen và khả năng di truyền của vi khuẩn. Pasteur đã từng nói một câu nói nổi tiếng: "Đừng bao giờ đánh giá thấp sức mạnh của vi khuẩn".

Công nghệ sinh học đã sản xuất ra các hormone của con người như insulin, các enzyme như streptokinase và các protein cho người như interferon và yếu tố gây hoại tử khối u (TNF). Những sản phẩm này được sử dụng để điều trị các bệnh trong y học và kiểm soát bệnh tật gồm: đái tháo đường, trụy tim, bệnh lao, AIDS và bệnh ban đỏ toàn thân (SLE). Độc tố botulin và thuốc trừ sâu BT là những sản phẩm của vi khuẩn được sử dụng trong y học và kiểm soát côn trùng tương ứng.

Một ứng dụng của công nghệ sinh học vi khuẩn có liên quan đến cấu trúc di truyền của siêu chủng vi sinh vật để tiến hành các nhiệm vụ biến dưỡng cụ thể trong môi trường. Ví dụ vi khuẩn được biến đổi di truyền để phân hủy các sản phẩm dầu mỏ. Các chủng này được sử dụng để làm sạch các vụ tràn dầu và các nỗ lực phục hồi môi trường.

Một lĩnh vực khác của công nghệ sinh học liên quan đến việc cải thiện chất lượng thực vật thông qua kỹ thuật di truyền. Các gen có thể được đưa vào thực vật nhờ vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*. Khi sử dụng *A. tumefaciens*, thực vật được biến đổi di truyền vì vậy chúng có khả năng kháng lại một số động vật gây hại, côn trùng và bệnh tật.

Có thể nói con người chúng ta không thể xem nhẹ ứng dụng của công nghệ sinh

học trong công nghiệp, dược phẩm và vi sinh thực phẩm. Cổ khuẩn và vi khuẩn có liên quan đến việc sản xuất nhiên liệu sinh học. Vi khuẩn là đối tượng sản xuất chính các kháng sinh hữu dụng trong điều trị. Chúng cũng là nguồn vaccine giúp kiểm soát các căn bệnh tác động khủng khiếp đến loài người; được sử dụng làm probiotic để tăng cường sức khỏe con người và vật nuôi cũng như cải thiện môi trường đất cho cây trồng. Chúng cũng được sử dụng để lên men các sản phẩm sữa và nhiều loại thực phẩm khác.

1.12. Vi sinh vật gây bệnh

Ngược lại vi sinh vật có lợi là nhóm vi sinh vật có hại mà trong đó vi sinh vật gây bệnh tác động đáng kể đến đời sống động vật, thực vật và con người.

Vi sinh vật gây bệnh gồm các nhóm vi khuẩn, virus và ký sinh trùng có khả năng gây bệnh cho người, động vật và thực vật. Nghiên cứu về vi sinh vật gây bệnh ở người là đề cập đến các khía cạnh nghiên cứu về sự phát sinh bệnh của vi sinh vật, bệnh lý của bệnh, miễn dịch học và dịch tễ học.

Vi sinh vật gây bệnh ở người hay vi sinh vật y học là một nhánh nghiên cứu sâu rộng nhất trong lĩnh vực nghiên cứu về vi sinh vật học. Lĩnh vực nghiên cứu này đã giúp loài người có cơ hội chống lại sự gây bệnh của vi sinh vật; cung cấp kiến thức sâu rộng và giúp hiểu biết về đặc tính tự nhiên của vi sinh vật gây bệnh ở người. Nghiên cứu về vi sinh vật gây bệnh đã đi tiên phong trong việc phát hiện miễn dịch học trong lĩnh vực khoa học y học. Lĩnh vực nghiên cứu này những giúp phát triển vaccine chống lại nhiều sự xâm lấn của vi sinh vật.

Các bệnh gây chết và làm cơ thể người suy yếu như bệnh đậu mùa, bại liệt, bệnh dại, dịch hạch,... đã được loại bỏ hoặc hiện nay có thể điều trị được nhờ những nỗ lực nghiên cứu trong lĩnh vực vi sinh vật học y học.

Vi sinh vật là hình thức sống quan trọng nhất cùng chia sẻ hành tinh này với loài người bởi vì sự hiện diện khắp nơi của chúng. Phụ thuộc vào nguồn dinh dưỡng của chúng, vi sinh vật có thể mang lại những lợi ích trong duy trì đời sống hoặc đóng vai trò không mong muốn trong gây bệnh cho người, động vật và thực vật. Những vi sinh vật này thường gây các bệnh như AIDS, tả, lao, dại, sốt rét, Do vi sinh vật gây bệnh là phong phú nên làm xuất hiện nhiều thể đột biến, góp phần làm nổi lên một số bệnh như

AIDS, sốt xuất huyết Ebola, vi sinh vật gây bệnh kháng thuốc và lao đa kháng thuốc.

Một số vi khuẩn là đối tượng ký sinh của thực vật hay động vật, nghĩa là chúng phát triển làm tiêu hao, gây tổn hại hoặc thậm chí làm chết sinh vật chủ. Vi khuẩn gây bệnh cho thực vật hoặc động vật được gọi là vi khuẩn gây bệnh. Bệnh ở người do vi khuẩn gây bệnh gây nên như bệnh lao, bệnh ho gà, bệnh bạch hầu, bệnh uốn ván, bệnh lậu, bệnh giang mai, viêm phổi, bệnh tả, sốt thương hàn, tiêu chảy, lỵ Vi khuẩn gây ra các bệnh này là do chúng có các đặc điểm về cấu trúc hoặc sinh hóa được xác định là yếu tố gây bệnh hay phát sự sinh bệnh của chúng. Bao gồm các đặc điểm sau: (1) khả năng tập kết và xâm lấn vào sinh vật chủ; (2) khả năng kháng lại hoặc trụ vững trước sự phòng vệ của sinh vật chủ; (3) khả năng sản sinh nhiều độc tố gây hại cho sinh vật chủ. Các bệnh ở thực vật có thể là do vi khuẩn gây bệnh gây nên. Hơn 200 loài vi khuẩn liên quan đến bệnh ở thực vật, nhưng chỉ có một số rất nhỏ các giống vi khuẩn có liên quan.

1.13. Lịch sử về bệnh do vi sinh vật gây ra

Bệnh do vi sinh vật có một vai trò đáng kể trong các sự kiện lịch sử như làm giảm Đế quốc La Mã và xâm chiếm Thế Giới Mới. Năm 1347, dịch hạch hay Cái Chết Đen đã tấn công Châu Âu. Đến năm 1351, dịch hạch đã giết khoảng 25 triệu người. Hơn 80 năm sau, bệnh này đã tấn công lặp lại, thậm chí làm chết 75% dân số Châu Âu. Một số nhà lịch sử tin rằng thảm họa này đã làm thay đổi văn hoá Châu Âu và chuẩn bị cho thời kỳ Phục hưng.

Bên cạnh dịch hạch, sởi và đậu mùa cũng đóng vai trò như là bệnh dịch gây chết người và gây bệnh cho người với tỷ lệ cao. Trong ba căn bệnh này dịch đậu mùa được ghi nhận nhiều nhất, theo đó bệnh này được ghi nhận đầu tiên ở Ai Cập vào năm 1350 trước Công Nguyên. Bệnh này được các nhà khám phá Bồ Đào Nha và Tây Ban Nha phát hiện. Sau đó bệnh đậu mùa lan đến Mỹ, tàn phá cộng đồng dân cư không được phơi nhiễm trước đó. Thời điểm đó bệnh lan ra theo bệnh ngoài da và ghẻ lở. Những người sống sót phát triển miễn dịch khi bị tái nhiễm. Mặc dù sau đó rất lâu mới được chấp nhận ở Mỹ và Châu Âu, nhưng thực nghiệm cấy vi khuẩn gây bệnh hay chủng virus đậu mùa theo đó cơ thể người được phơi nhiễm chủ ý với đậu mùa (smallpox) để làm cho cơ thể phát có miễn dịch, được thực nghiệm tại Ấn Độ, Trung Quốc và Châu Phi trong nhiều thế

kỷ. Đại dịch do Covid-19 (coronavirus mới - nCovi) gây ra vào cuối năm 2019 bắt đầu từ Vũ Hán – Trung Quốc lan ra trên toàn thế giới, gây nhiễm trên 50 triệu người và làm chết trên triệu người.

1.14. Vi sinh vật gây bệnh

Trong số nhiều nguyên nhân, có một số đề nghị cho rằng sự xuất hiện bệnh là do sự tác động đến từ hiện tượng siêu nhiên gắn liền với trái đất và tác động làm gây bệnh ở người cũng như ảnh hưởng xấu đến môi trường. Thậm chí trước khi vi sinh vật được nhìn thấy, một số nhà khảo sát đã đưa ra bằng chứng về sự tồn tại và khả năng gây bệnh của vi sinh vật. Trong số đó phải kể đến Roman philosopher Lucretius, khoảng 98 - 55 trước Công nguyên và nhà vật lý Girolamo Fracastoro, 1478 - 1553 sau Công nguyên đã cho rằng bệnh là do tạo hoá sống không thấy được gây ra. Fracastoro đã sáng tác bài thơ về bệnh giang mai được nhiều người biết. Trong cuốn sách của mình "*De contagione, contagiosis morbis et curatione*" (về sự lây bệnh, bệnh lây và cách điều trị chúng) công bố

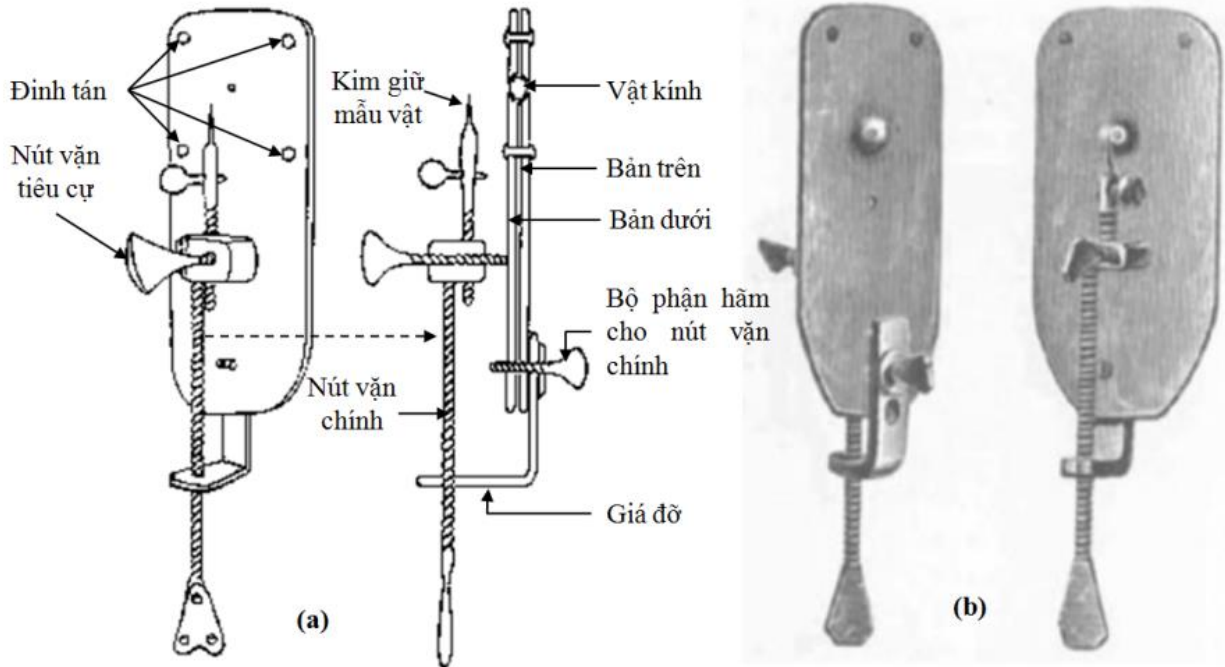


năm 1546, Girolamo Fracastoro đã đề xuất giả thuyết mang tính cách mạng đó là bệnh xâm nhiễm được lan truyền từ người sang người là do các hạt không thấy được. Ông cũng đề xuất rằng bệnh xâm nhiễm lan từ người sang người là do các hạt nhỏ không thấy được, các hạt này tự sao chép và tấn công lên dịch thể của cơ thể người để gây bệnh. Giả thuyết của ông ta đã đi trước thời đại khoảng 200 năm. Sau đó kính hiển vi được phát minh ra và giả thuyết của Girolamo Fracastoro đã được chứng minh.

Chân dung Girolamo Fracastoro (1478-1553)

1.14.1. Người đầu tiên quan sát và mô tả vi sinh vật

Người đầu tiên quan sát và mô tả vi sinh vật một cách chính xác là người Hà Lan Antony van Leeuwenhoek (1632 - 1723), ông là nhà nghiên cứu về kính hiển vi. Leeuwenhoek đã chế tạo ra kính hiển vi có độ phóng đại gấp từ 50 - 300 lần. Kính hiển vi của Leeuwenhoek đã thấy được cả vi khuẩn và protozoa.



Hình 1.3. Kính hiển vi do Antony van Leeuwenhoek thiết kế, (a). Bản thiết kế kính hiển vi của Leeuwenhoek và (b). Sản phẩm kính hiển vi hoàn chỉnh.

1.14.2. Thuyết về sự sinh sản tự sinh

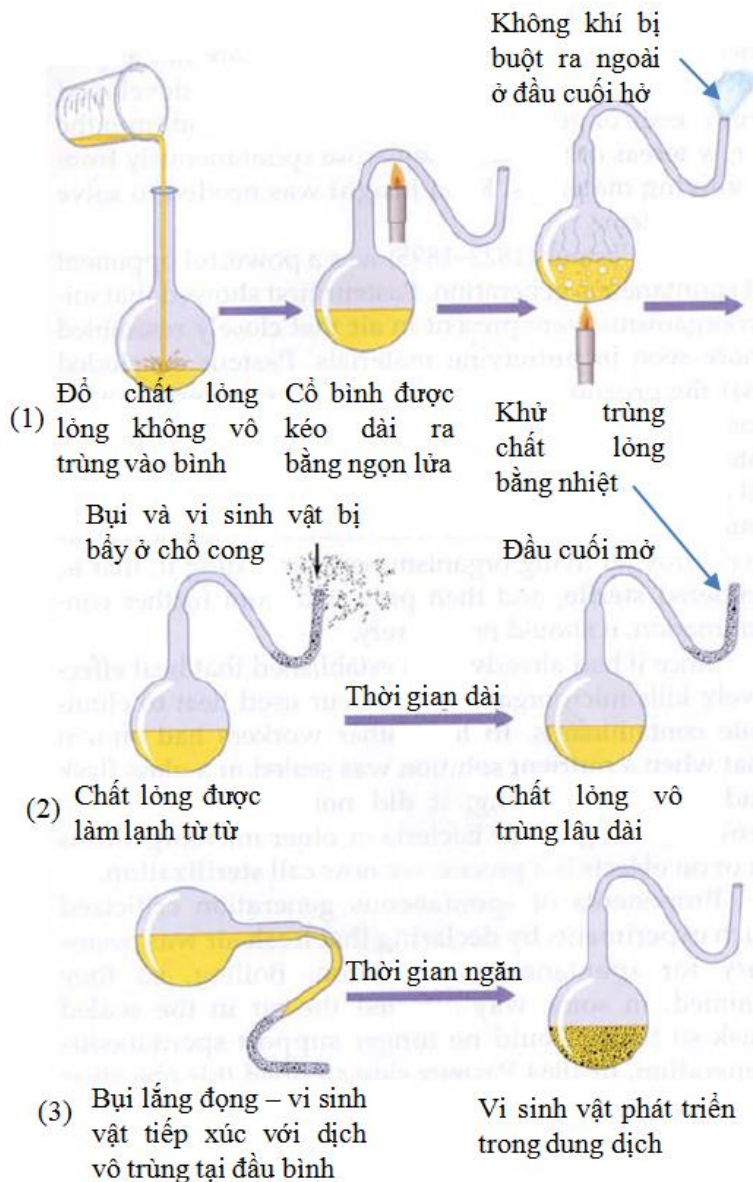
Trước đây có sự tranh cãi xung quanh nguồn gốc của vi khuẩn gây bệnh. Một số đề nghị cho rằng vi sinh vật có nguồn gốc từ vật không có sự sống bằng cách sinh sản tự sinh mặc dù các sinh vật lớn hơn thì không thể có điều này. Họ đã chỉ ra rằng dịch chiết của cỏ khô hay thịt qua lược sẽ xuất hiện vi sinh vật sau một thời gian nào đó. Dựa trên thực nghiệm của mình, Needham (1713 - 1781) đã đề xuất rằng tất cả vật chất hữu cơ đều có sinh lực. Sinh lực đó có thể là đặc điểm của sự sống đối với vật chất không có sự sống.

1.14.3. Cha đẻ của vi sinh vật y học

Nhà vi sinh vật học người Pháp Louis Pasteur (1822 - 1895) được biết là cha đẻ

của vi sinh vật y học vì sự đóng góp to lớn của ông về lĩnh vực vi sinh vật trong y học. Ông là người đầu tiên đặt ra thuật ngữ vi sinh vật học là lĩnh vực nghiên cứu về các sinh vật có kích thước thấy được dưới kính hiển vi. Ông đã đóng góp nhiều công trình nghiên cứu quan trọng và có giá trị như sau:

1.14.4. Thuyết về mầm bệnh



Nhiều nhà khoa học trước đó đã có đóng góp về thuyết sinh sản tự sinh cùng với đó là những thực nghiệm của họ. Tuy nhiên những đề xuất của họ vẫn chưa hoàn chỉnh và còn nhiều tranh cãi. Các vấn đề này cuối cùng đã được Louis Pasteur giải quyết. Trước tiên Pasteur đã lọc không khí qua bông vải và ông đã bắt được các vật giống như bào tử thực vật. Nếu một miếng bông vải đã qua lọc không khí, được đặt trong môi trường vô trùng, thì sự tăng trưởng của vi sinh vật sẽ xuất hiện.

Hình 1.4. Minh họa thí nghiệm bình có cổ thiên nga của Pastuer. (1). Thanh

trùng các thành phần của bình; (2). Nếu bình vẫn úp ngược, thì sẽ không có vi sinh vật xuất hiện; (3). Nếu vi sinh vật được bắt tại cổ bình tiếp xúc với dịch vô trùng, đảm bảo vi sinh vật sẽ phát triển.

Kế tiếp ông đã đặt dung dịch dinh dưỡng trong bình thủy tinh có cổ, đun nóng cổ bình trong ngọn lửa và kéo chúng thành đường cong ngoằn ngoèo, nhưng vẫn giữ đầu cuối của cổ bình mở ra tiếp xúc với không khí. Sau đó Pasteur lại đun sôi dung dịch trong vài phút và làm lạnh chúng. Ông nhận thấy rằng không có sự tăng trưởng xuất hiện ngay cả khi dung dịch trong bình được phơi nhiễm với không khí qua cổ bình mở ngoằn ngoèo. Pasteur đã chỉ ra rằng sự tăng trưởng không xuất hiện là do bụi và mầm vi sinh vật đã được bẫy dính lên thành ống cổ bình dạng cong. Nếu cổ bình vỡ ra thì sự tăng trưởng sẽ bắt đầu ngay lập tức. Bằng cách này Pasteur đã chứng minh rằng tất cả sự sống trên trái đất này kể cả vi sinh vật xuất hiện theo cách của chúng và không phải bắt đầu lại từ đầu (*de novo*). Đây chính là thuyết về mầm bệnh. Như vậy Pasteur không những đã giải quyết được vấn đề tranh cãi vào năm 1861 mà còn chỉ ra rằng làm thế nào để giữ được dung dịch vô trùng.

Sự cổ vũ cho học thuyết về mầm bệnh bắt đầu tăng lên từ đầu thế kỷ 19. Năm 1835, Agostino Bassi (1773 - 1856) là người đầu tiên đã chỉ ra rằng vi sinh vật có thể gây bệnh bằng cách chứng minh bệnh ở tằm là do bị nhiễm nấm. Ông cũng cho rằng nhiều bệnh là do nhiễm vi sinh vật. Năm 1845, MJ Berkeley đã chứng minh rằng bệnh tàn rụi ở khoai tây diễn ra trên diện rộng tại Ireland là do nấm sợi gây ra.

1.14.5. Thanh trùng Pasteur

Pasteur là người đầu tiên chứng minh ông có thể tiêu diệt nhiều vi sinh vật trong rượu vang bằng cách đun nóng và nhanh chóng làm lạnh rượu vang, đây là một quá trình mà ngày nay được gọi là thanh trùng kiểu Pasteur hay thanh trùng Pasteur. Khi phát triển phương pháp nuôi cấy vi sinh vật trong môi trường lỏng đặc biệt, Pasteur đã khám phá ra một số vi sinh vật đòi hỏi không khí để chúng tăng trưởng đặc biệt là oxygen, trong khi đó các vi khuẩn khác lại hoạt động khi không có oxygen. Ông đã gọi các vi sinh vật cần oxygen là vi sinh vật hiếu khí và vi sinh vật không cần oxygen là vi sinh vật kỵ khí.

1.14.6. Vaccine

Năm 1877, Pasteur đã nghiên cứu về bệnh than, bệnh chủ yếu ở gia súc và cừu. Ông đã sử dụng các chủng bacillus gây bệnh than là *Bacillus anthracis* đã được làm yếu

để phát triển vaccine. Ông đã làm giảm độc lực của chủng bacillus gây bệnh than bằng cách ủ chúng ở nhiệt độ cao từ 42 - 43°C và sau đó cấy bacillus đã làm yếu này vào động vật. Bằng cách đó, ông đã chứng minh rằng động vật được cấy các chủng đã làm yếu này đã phát triển được sự bảo vệ chuyên biệt chống lại bệnh than. Sự thành công của khái niệm về sự tiêm chủng này đã được chứng minh bằng thực nghiệm diễn ra trên một nông trại ở Pouilly-le-Fort vào năm 1881. Trong thực nghiệm chứng minh đó, ông đã tiêm các chủng bacillus gây bệnh than đã được làm yếu vào cừu, dê và bò với một số lượng tương đương với số lượng động vật không tiêm vaccine. Sau thí nghiệm này chỉ có động vật được tiêm chủng còn sống sót ngược lại nhóm động vật không tiêm chủng bị chết do bệnh than. Năm 1885, Pasteur cũng đã phát triển vaccine đầu tiên chống lại bệnh dại ở người. Vaccine này đã cứu hàng triệu người trên thế giới.

Pasteur đã đặt ra thuật ngữ vaccine để tưởng nhớ Edward Jenner người đã sử dụng các chế phẩm được điều chế theo cách như vậy để chống lại bệnh đậu mùa. Viện Pasteur ở Paris và kể đến là các viện tương tự như vậy được thiết lập ở nhiều nước trên thế giới dùng để điều chế vaccine và nghiên cứu bệnh xâm nhiễm. Ở Việt Nam có 3 viện Pasteur như vậy đã được thành lập, đó là một ở Sài Gòn, một ở Nha Trang và một ở Hà Nội.

1.14.7. Kiểm soát bệnh ở tằm

Sau sự thành công của Pasteur trong nghiên cứu về sự lên men, chính phủ Pháp đã đề nghị ông tìm kiếm nguyên nhân của bệnh pébrine ở tằm đang phá vỡ ngành tơ lụa nước này. Sau một vài năm nghiên cứu, ông đã chỉ ra rằng bệnh này là do ký sinh trùng đơn bào và bệnh đã được kiểm soát bằng cách nuôi ấu trùng sâu bướm từ trứng do bướm khoẻ mạnh sinh ra.

1.14.8. Người tiên phong trong khử trùng

Bằng chứng gián tiếp cho thấy vi sinh vật là yếu tố gây bệnh cho người xuất phát từ nghiên cứu của nhà giải phẫu người Anh Joseph Lister (1827 - 1912) để ngăn chặn nhiễm trùng vết thương. Lister rất ấn tượng với các nghiên cứu của Pasteur liên quan vi sinh vật trong lên men và phân huỷ. Ông đã phát triển một hệ thống giải phẫu trong điều kiện vô trùng được thiết kế để ngăn chặn vi sinh vật xâm nhập vào vết thương. Thiết bị được gia nhiệt vô trùng và phenol được sử dụng để khử trùng áo giải phẫu và được phun

lên khu vực giải phẫu. Cách tiếp cận này đã mang lại thành công đáng kể và được chuyển cho ngành phẫu thuật sau công bố của Lister vào năm 1867. Nghiên cứu này cũng đã cung cấp bằng chứng gián tiếp mạnh mẽ về vai trò của vi sinh vật trong gây bệnh bởi vì phenol là chất tiêu diệt vi khuẩn và chất này cũng ngăn chặn được sự nhiễm trùng vết thương.

1.14.9. Nguyên lý Koch

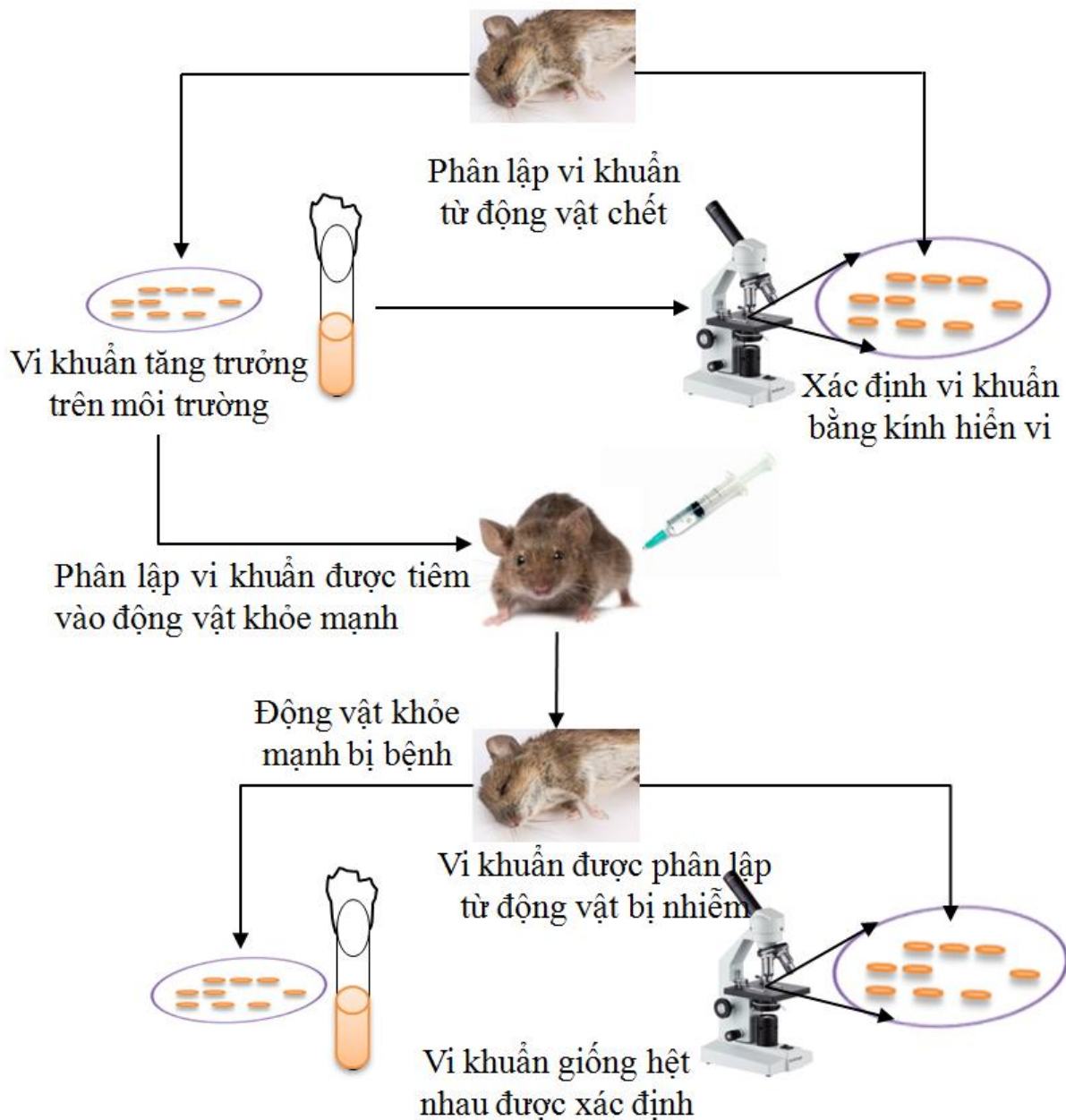
Lần đầu tiên trực tiếp chứng minh về vai trò của vi khuẩn trong gây bệnh đến từ nghiên cứu về bệnh than của bác sỹ người Đức Robert Koch (1843 - 1910). Koch đã sử dụng các tiêu chí được người thầy trước đây của mình là Jacob Henle (1809 - 1885) đề xuất để thiết lập mối quan hệ giữa *B. anthracis* và bệnh than, ông công bố những phát hiện của mình trong năm 1876 và đã mô tả tóm tắt phương pháp khoa học mà ông đã tuân theo. Trong thực nghiệm này của mình, Koch đã tiêm vật liệu được lấy từ động vật bị bệnh vào chuột khỏe mạnh và nhận thấy chuột sau khi tiêm bị bệnh. Sau đó chuyển bệnh than bằng cách cấy qua một loạt 20 con chuột, ông đã ủ một miếng lá lách có chứa trực khuẩn bệnh than trong huyết thanh bò. Trực khuẩn này phát triển, sinh sản và tạo bào tử. Khi trực khuẩn hay bào tử được phân lập này tiêm vào chuột thì bệnh than xuất hiện.

Trong nghiên cứu của Koch về các bệnh do vi khuẩn, điều quan trọng là phải phân lập cho được đối tượng vi khuẩn gây bệnh nghi ngờ. Các tiêu chí của Koch để chứng minh mối quan hệ nhân quả giữa vi sinh vật và một bệnh đặc trưng được gọi là nguyên lý Koch.

Nội dung của nguyên lý Koch: nguyên lý Koch dùng để chứng minh vi sinh vật phân lập từ một bệnh có thật sự là nguyên nhân gây ra bệnh đó hay không. Một vi sinh vật được chấp nhận là yếu tố gây ra bệnh xâm nhiễm chỉ khi nào nó thỏa mãn tất cả các tiêu chí sau:

1. Vi sinh vật này phải có trong cơ thể bị bệnh nhưng không có mặt trong cơ thể khỏe mạnh.
2. Vi sinh vật nghi ngờ từ tổn thương của bệnh phải được phân lập và tăng trưởng trong nuôi cấy thuần.
3. Vi sinh vật phân lập ở dạng chủng thuần gây bệnh cho vật thí nghiệm khi cấy

vào.



Hình 1.5. Sơ đồ minh họa nguyên lý Koch.

4. Vi sinh vật tương tự phải được phân lập lại một lần nữa trong nuôi cấy thuần từ những tổn thương được tạo ra trong động vật thí nghiệm.

5. Kháng thể đặc hiệu cho vi khuẩn đó phải được chứng minh có trong huyết thanh của bệnh nhân bị bệnh. Đây là tiêu chí bổ sung được đưa vào kế tiếp.

Hầu hết các vi khuẩn gây bệnh đều đáp ứng nguyên lý Koch ngoại trừ vi khuẩn

Mycobacterium leprae gây bệnh phong và *Treponema pallidum* gây bệnh giang mai. Vì cả hai vi khuẩn này không tăng trưởng được trên môi trường nuôi cấy không có tế bào.

1.14.10. Môi trường rắn để nuôi cấy vi khuẩn

Koch là người tiên phong sử dụng thạch (agar) làm chất cơ bản cho môi trường nuôi cấy. Ông đã phát triển phương pháp đổ đĩa và cũng là người đầu tiên sử dụng môi trường rắn để nuôi cấy vi khuẩn. Điều này có thể giúp phân lập các chủng thuần chỉ có một kiểu vi khuẩn và trực tiếp kích thích tiến trình trong tất cả phạm vi khuẩn học. Koch cũng là người phát triển ra môi trường phù hợp cho vi khuẩn để phân lập vi khuẩn từ cơ thể người. Bởi vì các môi trường mà ông phát triển tương đồng với dịch cơ thể, do sử dụng chiết xuất từ thịt và protein qua phân cắt làm nguồn dinh dưỡng. Các môi trường dinh dưỡng lỏng và môi trường thạch dinh dưỡng ngày nay vẫn còn được sử dụng rộng rãi.

Đến năm 1882 Koch đã sử dụng các kỹ thuật này để phân lập trực khuẩn gây bệnh lao ở người. Koch cũng khám phá ra rằng bệnh tả là do *Vibrio cholerae*. Ông cũng đã phát minh ra lò nung không khí nóng và thiết bị thanh trùng bằng hơi nước và cũng là người đưa ra phương pháp để tìm kiếm chất khử trùng hiệu quả.

1.14.11. Hiện tượng Kock

Hiện tượng Kock là một phản ứng quá mẫn cảm chống lại trực khuẩn lao được chứng minh trong chuột lang. Hiện tượng quá mẫn cảm này được Koch chứng minh đầu tiên trên chuột lang bị nhiễm trực khuẩn lao hoặc protein của nó, làm phát triển phản ứng viêm đáng kể.

1.14.12. Tự thực nghiệm trên cơ thể

Để nghiên cứu về tính phức tạp và cách thức kiểm soát bệnh, một số nhà nghiên cứu tận tụy đã sử dụng chính cơ thể của họ để tiến hành thực nghiệm nghiên cứu về bệnh do đối tượng nghiên cứu gây ra. Năm 1898, Arthur Loos là người đầu tiên khám phá sự xâm nhiễm của giun móc lây lan qua đường phân - miệng. Trong nghiên cứu của mình về loài giun *Strongyloides stercoralis* ông đã nuốt ấu trùng của giun tròn này.

Những nỗ lực này không phải lúc nào cũng đem lại kết quả hài lòng và kết thúc có hậu như trường hợp của Daniel Carrion (1858 - 1895), một sinh viên y khoa ở Lima,

Peru. Ông ta đã xoay sở chứng minh trên cùng vi khuẩn tương tự (sau này được định danh là *Bartonella bacilliformis*) gây bệnh da mạn tính gọi là chứng mụn cóc Peru (*verrugaperuana*) và bệnh nghiêm trọng khác gọi là *Oroya fever*. Trong nghiên cứu này ông đã tự cấy vào cơ thể của chính mình vật liệu lấy từ chứng mụn cóc làm tổn thương da. Ông đã cho *Oroya fever* phát triển, nhưng thực nghiệm này đã trả giá bằng cả sinh mạng của mình khi cơ thể của ông không chống đỡ nổi bệnh. 50 năm sau đó, nhiều vi khuẩn đã được định danh là nguyên nhân gây bệnh quan trọng ở người và những khám phá về chúng đã được làm sáng tỏ. Chi tiết một số vi khuẩn gây bệnh ở người, thời điểm và khoa học gia phát hiện được trình bày tại Bảng 1.2.

Bảng 1.2. Những khám phá vi khuẩn gây bệnh quan trọng ở người

Năm	Vi khuẩn	Khoa học gia
1874	<i>Mycobacterium leprae</i>	Hansen
1876	<i>Bacillus anthracis</i>	Koch
1879	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Neisser
1880	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ogston
1884	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Loeffler
1886	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Fraenkel
1887	<i>Neisseria meningitidis</i>	Weichselbaum
1887	<i>Brucella melitensis</i>	Bruce
1889	<i>Clostridium tetani</i>	Kitasato
1890	<i>Yersinia pestis</i>	Yersin

1.14.13. Nghiên cứu về virus

Năm 1892, Dmitri Ivanovsky nhà khoa học người Nga làm việc ở St. Petersburg, đã chứng minh rằng nhựa (sap) lá cây bị nhiễm bệnh khảm trên thuốc lá vẫn còn lưu lại đặc tính nhiễm của nó ngay cả khi được lọc qua lọc Chamberland. Đây là quan sát quan trọng bởi vì nó cung cấp định nghĩa về hoạt động của virus và cũng như kỹ thuật thực nghiệm để xem xét đánh giá yếu tố là virus.

Beijerinck, khoa học gia vi sinh vật đất người Đức cho thấy rằng nhựa lá cây qua lọc được pha loãng nhưng sau đó sức mạnh của nó hồi lại sau khi chúng sao chép trong

mô thực vật sống đang tăng trưởng. Yếu tố này có thể tự sinh sản nhưng chỉ diễn ra trong các mô đang sống, chứ không phải trong nhựa sáp không có tế bào của thực vật.

Điều này diễn giải lý do cho sự nuôi cấy bất thành của đối tượng gây bệnh ngoài vật chủ của chúng. Tất cả các quan sát này góp phần to lớn để khám phá ra sinh vật qua lọc, có kích thước nhỏ hơn vi khuẩn, không thể quan sát được dưới kính hiển vi quang học và có thể chỉ có khả năng tự sinh sản trong các tế bào hay các mô đang sống. Beijerinck gọi yếu tố này là dịch sống lây (*contagium vivum fluidum*).

Quan điểm về dịch sống lây bắt đầu tranh cãi về đặc tính của virus trong 25 năm sau đó; bản chất của chúng là chất lỏng hay hạt (?). Tranh cãi này được sáng tỏ khi d'Herelle phát triển phương pháp mảng (plaque assay) vào năm 1917 và tiếp theo đó Ruska phát minh ra kính hiển vi điện tử vào năm 1934. Khi vi ảnh điện tử của virus khảm trên thuốc lá (TMV) được công bố vào năm 1939, virus được chấp nhận là hạt.

Năm 1898, Loeffler và Frosch đã mô tả và phân lập được yếu tố qua lọc từ động vật, đó là virus gây bệnh chân - miệng ở gia súc. Năm 1902, Walter Reed và đội nghiên cứu của ông ở Cuba đã nhận diện được virus qua lọc ở người đó là virus gây bệnh sốt vàng (yellow fever virus). Đến năm 1909, Landsteiner và Popper đã chứng minh được bệnh sốt bại liệt là do virus qua lọc và cũng xâm nhiễm thành công vào khỉ. Năm 1930 hội chứng Goodpasture sử dụng phôi gà để nuôi cấy virus.

1.14.14. Nguyên tắc virus học hiện đại

Năm 1915, Twort và d'Herelle là hai nhà khoa học đã quan sát độc lập về hiện tượng làm tan ở các chủng vi khuẩn nuôi cấy, hiện tượng này được cho là thuộc tính của virus. d'Herelle đặt tên các virus này là thực khuẩn thể (bacteriophage). Ông đã phát triển kỹ thuật pha loãng giới hạn cùng với đó là phương pháp đếm tan để chuẩn độ virus. Ông đã đề xuất hình dạng của các mảng trong phương pháp đếm tan do virus là hạt hoặc thuộc hạt. d'Herelle cũng chứng minh rằng sự bám dính (hay hấp phụ) của virus lên tế bào chủ là bước đầu tiên của sự phát sinh bệnh do virus. Sự bám dính của virus chỉ xảy ra khi vi khuẩn nhạy cảm với virus được trộn với virus, chứng minh tính chuyên biệt của tế bào chủ đối với một virus tại bước hấp phụ. Ông đã mô tả tiến trình làm tan tế bào và sau đó là sự phóng thích các hạt virus. d'Herelle đã phát triển nhiều kỹ thuật khác mà ngày nay

vẫn được sử dụng trong virus học. d'Herelle là người đã tìm ra nhiều nguyên tắc của virus học hiện đại.

1.14.15. Hiện tượng miễn dịch

Khi viết về hiện tượng miễn dịch có lẽ chúng ta nên trở lại về quá khứ để xem những gì mà Thucydides, sử gia của chiến tranh Peloponnesus (431 - 404 trước Công nguyên) đã viết. Khi mô tả về bệnh dịch hạch xảy ra tại Athens, Hy Lạp vào năm 430 trước Công nguyên, ông đã viết như sau: "chỉ có những người được phục hồi từ bệnh dịch hạch có thể chăm sóc bệnh vì họ sẽ không bị mắc phải bệnh dịch hạch vào lần thứ hai".

Bệnh đậu mùa được biết sớm nhất có lẽ vào khoảng thế kỷ thứ 5 sau Công Nguyên. Bệnh diễn ra ở Trung Quốc. Phương pháp chữa bệnh của người Trung Quốc đã được một dân buôn người Anh có tên John Lister báo cáo lên Hoàng Gia trong những năm đầu của thập niên 1900. Theo linh mục dòng Jesuit, Cha d'Entrecolles phương pháp này được thực hiện như sau: thu thập vảy từ mụn mủ và bột làm từ vảy này được thổi vào mũi của trẻ nhỏ sẽ ngăn ngừa được bệnh. Vảy từ mụn mủ hoặc sợi có phủ mủ xanh có thể bảo quản dự trữ được, nhưng người thao tác thường phải đối mặt với người bệnh. Phương pháp tương tự cũng được người Nhật áp dụng bắt đầu vào năm 1747.

Năm 1798, phương pháp này đã được một thầy thuốc người Anh tên là Edward Jenner cải tiến đáng kể. Jenner bị kích thích trí tò mò do thực tế ông thấy rằng cô gái vắt sữa tiếp xúc với bệnh đậu mùa bò nhẹ thì sau đó miễn dịch với bệnh đậu mùa, một bệnh làm xấu xí mặt mày. Ông tin rằng dịch lấy từ mủ của bệnh đậu mùa được đưa vào cơ thể người có thể sẽ bảo vệ người đó thoát khỏi bệnh đậu mùa. Để kiểm tra ý tưởng này, ông đã cấy dịch lấy từ mủ bệnh đậu mùa vào đùi bé trai 8 tuổi và sau đó cho trẻ nhiễm bệnh đậu mùa. Như đã được dự đoán, trẻ đó không phát triển bệnh đậu mùa. Pasteur kế thừa ý tưởng này phát triển các vaccine chống lại bệnh tả ở gà, bệnh than và bệnh dại. Mặc dù Pasteur đã chứng minh vaccine được làm ra nhưng ông đã không hiểu cơ chế như thế nào để tạo ra chúng.

1.14.16. Cơ chế miễn dịch

Thực nghiệm của Emil von Behring và Shibasaburo Kitasato vào năm 1890 lần

đầu tiên đã giúp hiểu thấu cơ chế miễn dịch bên trong. Họ đã chứng minh huyết thanh chứa các yếu tố bảo vệ chống lại sự xâm nhiễm, nhờ đó đặt nền móng cho việc xác định miễn dịch dịch thể. Nhờ công trình nghiên cứu này Emil von Behring đã thắng giải Nobel Y học vào năm 1901.

Năm 1884 ngay trước khi khám phá ra phân tử huyết thanh có thể truyền miễn dịch, Elie Metchnikoff đã chứng minh rằng các tế bào cũng góp phần vào trạng thái miễn dịch của động vật. Ông đã quan sát thấy một số tế bào máu trắng được gọi là các thực bào, có khả năng ăn vi sinh vật và các chất ngoại lai khác, điều này được gọi là sự thực bào. Điều đáng chú ý là các tế bào thực bào này hoạt động tích cực hơn ở những động vật đã được tiêm chủng, Metchnikoff giả thuyết rằng chính các tế bào hơn là các thành phần của huyết thanh, là yếu tố tác động chính của miễn dịch. Các tế bào có tính thực bào chủ động được Metchnikoff xác định hầu hết là bạch cầu đơn và bạch cầu trung tính.

1.14.17. Tính đặc hiệu của phân tử kháng thể

Một trong những điều bí ẩn lớn nhất mà các nhà miễn dịch học phải đối mặt đó là tính đặc hiệu của phân tử kháng thể đối với vật chất lạ hay kháng nguyên. Sau đây là những học thuyết được đề xuất để diễn giải về tính đặc hiệu của cơ chế này:

(1). Học thuyết về chọn lọc: quan niệm sớm nhất về thuyết chọn lọc do Paul Ehrlich đưa ra vào năm 1900. Trong những thập niên 1930 và 1940, thuyết chọn lọc bị thử thách bởi nhiều thuyết khác, trong đó kháng nguyên đóng vai trò trung tâm trong xác định tính chuyên biệt của phân tử kháng thể.

(2). Thuyết về khuôn chọn lọc: theo thuyết này, một kháng nguyên cụ thể sẽ hoạt động như là khuôn xung quanh khuôn là kháng thể cuộn gấp lại. Quan điểm này được Friedrich Breinl và Felix Haurowitz đưa ra đầu tiên vào những năm thập niên 1930 và sau đó được Linus Pauling định nghĩa lại vào thập niên 1940, gọi là sự cuộn gấp của protein (protein folding).

(3). Thuyết về dòng chọn lọc: thuyết về dòng chọn lọc được chính thức chứng minh sai vào những năm của thập niên 1960, trong suốt quá trình hình thành về thuyết này thì bắt đầu xuất hiện mối quan tâm về cấu trúc DNA, RNA và protein. Những thông tin này đã đưa ra những hiểu biết mới xuyên thấu bên trong về vấn đề chưa còn ngã ngũ;

đó là làm thế nào mà một cá thể có thể tạo ra kháng thể chống lại hầu hết bất kỳ thứ gì. Trong những năm của thập niên 1950, lý thuyết về sự chọn lọc lại nổi lên là do dữ liệu thực nghiệm mới và thông qua những đóng góp tiên phong của Niels Jerne, David Talmadge và F MacfarlaneBurnet, là những người tinh sửa thành thuyết về sự chọn lọc dòng (*clonal selection theory*).

1.14.18. Liệu pháp hóa học

Mãi cho đến những năm thập niên 1930, nhìn chung vẫn chưa có điều trị hóa học để chống lại bệnh xâm nhiễm do vi khuẩn gây ra. Ngăn chặn phòng ngừa là biện pháp chính để bảo vệ bệnh nhân và nỗi ám ảnh về sự đe dọa của mầm bệnh và làm thế nào để tránh được bệnh xâm nhiễm vẫn còn ăn sâu vào văn hóa của những người phương tây. Tại cùng thời điểm này, xuất hiện những hy vọng về một loại thuốc kỳ diệu. Năm 1889 người học trò của Louis Pasteur là Paul Vuillemin đã sử dụng thuật ngữ "sự đối kháng vi khuẩn - *antibiosis*" để biểu thị cho quá trình mà theo đó sự sống có thể được sử dụng để tiêu diệt sự sống.

Paul Ehrlich đã chứng minh rằng chất màu phản ứng một cách chuyên biệt với nhiều thành phần của tế bào máu thuộc các mô khác nhau. Ông đã bắt đầu thử nghiệm các chất nhuộm về đặc điểm điều trị để xác định chúng có thể tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh hay không. Năm 1909, ông đã phát triển chất *Salvarsan*, một hợp chất arsen. Phức này được biết như là viên ảo thuật có khả năng tiêu diệt *T. pallidum*, vi khuẩn gây bệnh giang mai. Các điều trị theo cách này đã được chứng minh là hiệu quả chống lại bệnh giang mai. Điều này đã mở ra một điều quan trọng, kích thích nghiên cứu dẫn đến phát hiện nhóm sulfa, penicillin và các kháng sinh khác. Vì vậy Paul Ehrlich được xem như là cha đẻ của liệu pháp hóa học.

1.14.19. Kháng sinh

Thuật ngữ "kháng sinh - *antibiotic*" không xuất hiện ngay sau đó, nhưng thuốc pyocyanase, một kháng sinh yếu, được đưa ra thị trường từ những năm cuối thế kỷ 19 đến những năm của thập niên 1930. Vào những năm đầu của thập niên 1920, việc xác định các phage virus mới, có khả năng tiêu diệt vi khuẩn là vấn đề hấp dẫn được quan tâm. Vì vậy việc khám phá ra yếu tố kháng khuẩn từ chất tiết của nấm *Penicillium* do

Alexander Fleming khám phá tại bệnh viện St. Mary vào năm 1928 là kết quả ngoài mong đợi. Ông đã tình cờ khám phá ra một chất do nấm sinh ra tiêu diệt được vi khuẩn sinh mủ *Staphylococcus*. Chính khám phá này đã khởi đầu cho kỷ nguyên kháng sinh. Tiếp theo đó các kháng sinh tương tự khác nhanh chóng được khám phá. Nhóm sulfonamide lần lượt được khám phá sau đó có khả năng tiêu diệt được nhiều vi khuẩn xâm nhiễm. Việc sử dụng kháng sinh trong y tế đã đem lại kết quả rất tốt cho cả bác sỹ và bệnh nhân. Tuy nhiên việc lạm dụng sử dụng quá mức trong chăm sóc sức khỏe vật nuôi và con người đã làm nổi lên vấn đề toàn cầu đang quan tâm hiện nay đó chính là kháng kháng sinh.

1.14.20. Các giải Nobel trong lĩnh vực y sinh học

Nhiều công trình nghiên cứu hay khám phá trong lĩnh vực này đã được công nhận trên toàn thế giới mà trong đó là sự ghi nhận ở tầm giải Nobel. Một số công trình tiêu biểu thắng giải Nobel được trình bày ở Bảng 1.3.

Bảng 1.3. Danh sách công trình và tác giả thắng giải Nobel trong lĩnh vực y sinh học.

Năm	Công trình nghiên cứu	Tên khoa học gia
1901	Liệu pháp huyết thanh và ứng dụng để chống lại bệnh bạch hầu, công trình này đã mở đường cho khoa học y học nghiên cứu chống lại bệnh gây chết người	Emil Adolf von Behring
1902	Công trình nghiên cứu về sốt xuất huyết	Ronald Ross
1905	Khảo sát và khám phá về bệnh lao	Robert Koch
1907	Vai trò gây bệnh của protozoa	Charles Louis Alphonse Laveran
1907	Nghiên cứu sinh hóa và khám phá về lên men không có tế bào (cell-free fermentation)	Eduard Buchner
1908	Nghiên cứu về sự miễn dịch	Ilya Ilyich Mechnikov, Paul Ehrlich
2019	Khám phá liên quan đến sự miễn dịch	Jules Bordet

Chương 1. Tổng quan về vi sinh vật

1993	Polymerase chain reaction	Kary Mullis
1996	Phòng vệ miễn dịch qua trung gian tế bào	Peter C Doherty và Rolf M Zinkernagel
1997	Khám phá ra prion	Stanley B Prusiner
2005	Khám phá ra <i>Helicobacter pylori</i> và vai trò của nó trong bệnh loét dạ dày và tiêu hoá	Barry J Marshall, J Robin Warren
2008	Khám phá ra Human Papilloma virus gây ung thư tử cung	Herald Zur Hausen
2008	Khám phá ra gây suy giảm miễn dịch ở người	Francoise Barre Sinoussi, Luc Montagnier
2011	Khám phá ra tế bào tua và vai trò của nó trong phản ứng miễn dịch đáp ứng	Ralph M. Steinman
2011	Khám phá sự hoạt hoá đáng quan tâm của miễn dịch bẩm sinh	Bruce A. Beutler, Jules A. Hoffmann
2012	Nghiên cứu thụ thể cặp đôi protein G	Robert J. Lefkowitz, Brian K. Kobilka
2013	Khám phá cơ chế điều hoà kênh giao thông, hệ thống vận chuyển chính trong tế bào người	James E. Rothman, Randy W. Schekman, Randy W. Schekman
2014	Khám phá tế bào tạo thành hệ điều chỉnh trong não bộ (discoveries of cells that constitute a positioning system in the brain)	John O'Keefe, May-Britt Moser, Edvard I. Moser
2014	Phát triển kính hiển vi huỳnh quang siêu phân giải	Eric Betzig, Stefan W. Hell, William E. Moerner
2015	Nghiên cứu cơ chế sửa sai của DNA	Tomas Lindahl, Paul Modrich, Aziz Sancar

Chương 1. Tổng quan về vi sinh vật

2015	Khám phá liệu pháp chống lại bệnh do ký sinh trùng giun tròn và liệu pháp chống lại bệnh sốt rét	William C. Campbell, Satoshi Ōmura, Youyou Tu
2016	Thiết kế và tổng hợp của các cơ chế phân tử	Jean-Pierre Sauvage, Sir J. Fraser Stoddart, Bernard L. Feringa
2017	Phát triển kính hiển vi điện tử cryo (cryo-electron) nhằm xác định cấu trúc phân giải cao của phân tử sinh học trong dung dịch	Jacques Dubochet, Joachim Frank, Richard Henderson
2018	Điều trị ung thư bằng cách ức chế điều hòa miễn dịch âm	James Allison, Tasuku Honjo
2019	Khám phá ra cách tế bào cảm nhận lượng oxy và thích ứng với điều đó	Peter Ratcliffe, William G Kaelin và Gregg L Semenza
2020	Nghiên cứu về virus gây viêm gan C	Harvey J. Alter, Michael Houghton, Charles M. Rice.
