

Chương 29. Cơ chế gây bệnh ở vi khuẩn

Mục lục

Chương 29. Cơ chế gây bệnh ở vi khuẩn	1
29.1. Giới thiệu	3
29.2. Cơ chế gây bệnh của vi khuẩn	3
29.2.1. Cơ chế gây bệnh thông qua sự xâm nhiễm	3
29.2.2. Cơ chế gây bệnh thông qua tạo độc tố	3
29.3. Sự hình thành cụm khuẩn	4
29.4. Sự bám dính của vi khuẩn trên bề mặt nhầy	4
29.5. Bám dính chuyên biệt của vi khuẩn lên bề mặt tế bào hoặc mô	6
29.5.1. Tính hướng kích thích của mô	6
29.5.2. Tính chuyên biệt của loài	6
29.5.3. Tính chuyên biệt về di truyền trong phạm vi loài	6
29.6. Cơ chế dính vào tế bào hoặc bề mặt mô	7
29.6.1. Sự bám dính không chuyên biệt	7
29.6.2. Sự bám dính chuyên biệt	7
29.7. Yếu tố dính chuyên biệt ở vi khuẩn và thụ thể của chúng	8
29.8. Sự xâm lấn	12
29.9. Yếu tố xâm lấn của vi khuẩn	13
29.9.1. Yếu tố lan rộng	13
29.9.2. Các enzyme gây tiêu máu và hoặc phân giải bạch cầu (Leucolysis)	14
29.9.3. Coagulase của vi khuẩn Staphylococcus	15
29.10. Enzyme tiêu hóa ngoại bào	15
29.11. Lẩn tránh cơ chế đề kháng của vật chủ	16
29.12. Vượt qua cơ chế đề kháng thực bào của vật chủ	16
29.13. Tránh tiếp xúc với thực bào	17
29.14. Ước chế sự nhúng chìm của thực bào	18

29.15. Sống sót bên trong thực bào	18
29.15.1. Ức chế sự dung hợp thể thực bào – tiêu thể.....	19
29.15.2. Sống sót bệnh trong thể thực bào sinh tan	19
29.15.3. Trốn thoát khỏi thể thực bào	19
29.16. Sản phẩm của vi khuẩn dùng để tiêu diệt hoặc gây tổn hại cho thực bào	20
29.17. Tiêu diệt thực bào trước khi bị nuốt vào.....	20
29.18. Tiêu diệt thực bào sau khi bị nuốt vào.....	20
29.19. Lẩn tránh bổ thể	21
29.30. Tránh phản ứng miễn dịch của động vật chủ.....	22
29.31. Sự dung nạp miễn dịch đối với kháng nguyên vi khuẩn	22
29.32. Trá hình kháng nguyên	23
29.33. Ức chế miễn dịch	23
29.34. Sự kiên trì của vi khuẩn gây bệnh tại vị trí cơ thể không tiếp cận với phản ứng miễn dịch.....	23
29.35. Cảm ứng kháng thể không hiệu quả	24
29.36. Kháng thể được hấp thu bởi kháng thể vi khuẩn tan được	24
29.37. Sự biến đổi kháng nguyên	24
29.38. Sự thay đổi kháng nguyên trong giai đoạn nhiễm bệnh	25
29.39. Sự thay đổi kháng nguyên giữa các lần xâm nhiễm	25
29.40. Sự tạo độc tố	25
29.40.1. Hai loại độc tố vi khuẩn	25
29.40.2. Độc tố protein của vi khuẩn	26
29.40.3. Sự sắp xếp tiểu đơn vị A + B của độc tố protein	27
29.40.4. Sự bám dính và xâm nhập của độc tố	28
29.40. 5. Các vấn đề khác	29
29.40.6. Nội độc tố.....	31
29.40.7. LPS và độc tính của vi khuẩn Gram âm.....	33
29.40.8. Vai trò của Lipid A	34
29.40.9. Vai trò của polysaccharide O	34
29.41. Vùng gen gây bệnh	35

29.1. Giới thiệu

Vi sinh vật gây bệnh là vi sinh vật có khả năng gây bệnh cho thực vật, động vật và con người. Khả năng gây bệnh là khả năng tạo ra bệnh cho vật chủ. Khả năng gây bệnh của vi sinh vật thường được biểu hiện qua độc lực. Độc lực là thuật ngữ để chỉ mức độ gây bệnh của vi sinh vật. Theo đó yếu tố xác định độc lực của đối tượng gây bệnh chính là đặc tính hoặc là về mặt di truyền hoặc là về mặt sinh hóa hay là về mặt cấu trúc của vi sinh vật có thể gây bệnh cho cơ thể chủ.

Mối quan hệ giữa cơ thể chủ và đối tượng gây bệnh là mối quan hệ mang tính động lực, vì khi có bất kỳ sự thay đổi nào về chức năng và hoạt động của bên này thì sẽ tác động đến bên kia và ngược lại. Vì vậy mối quan hệ này phụ thuộc vào độc lực của đối tượng gây bệnh và khả năng kháng lại hoặc mức độ nhạy cảm của cơ thể chủ, đồng thời còn phụ thuộc chủ yếu vào cơ chế phòng vệ hiệu quả của cơ thể chủ.

29.2. Cơ chế gây bệnh của vi khuẩn

Ở vi khuẩn thường có hai cơ chế gây bệnh cơ bản sau: (a) gây bệnh thông qua sự xâm nhiễm và (b) gây bệnh thông qua tạo độc tố.

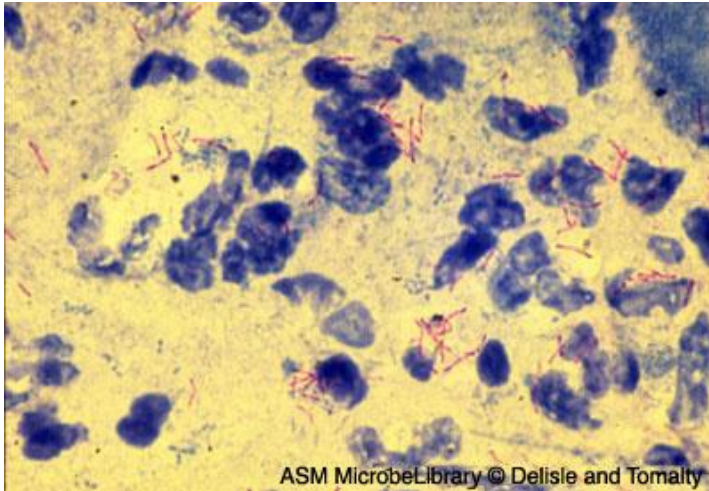
29.2.1. Cơ chế gây bệnh thông qua sự xâm nhiễm

Sự xâm nhiễm là khả năng vi khuẩn xâm nhiễm vào mô nhờ kết dính và phân chia tế bào để hình thành cụm khuẩn. Đồng thời vi khuẩn sản xuất ra các chất ngoại bào dùng làm phương tiện cho xâm nhiễm và khả năng đi đường vòng để lẩn tránh cơ chế phòng vệ của cơ thể chủ.

29.2.2. Cơ chế gây bệnh thông qua tạo độc tố

Vi khuẩn có thể sinh ra hai loại độc tố là nội độc tố và ngoại độc tố. Ngoại độc tố được tế bào phóng thích ra bên ngoài môi trường. Nội độc tố là các chất có liên quan đến tế bào, là thành phần lipopolysaccharide thuộc màng ngoài của vi khuẩn Gram âm. Tuy nhiên nội độc tố cũng có thể được phóng thích từ các tế bào vi khuẩn đang tăng trưởng và các tế bào bị ly giải do sự phòng vệ hiệu quả của động vật chủ như bị ly giải do hoạt động của lysozyme hoặc là do hoạt động của một số kháng sinh như penicillin và cephalosporin, Do đó các nội độc tố vi khuẩn bao gồm cả độc tố tan được và độc tố liên quan đến tế bào có thể được vận chuyển qua đường máu, bạch huyết và gây độc cho

các tế bào chủ tại các vị trí cách xa vị trí mà chúng xâm nhiễm. Một số nội độc tố vi khuẩn cũng có thể tác động tại vị trí mà chúng hình thành cụm khuẩn và khi đó các nội độc tố này đóng vai trò là chất xâm lấn cho quá trình xâm nhiễm.



Hình 29.1. Ảnh nhuộm acid béo của vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis* (ASM). Khuẩn này có hình que nhỏ, khi nhuộm có màu hồng. Hơn 1/3 dân số thế giới bị nhiễm vi khuẩn này. Trong lịch sử loài người, khuẩn này là nguyên nhân gây chết người chiếm tỷ lệ cao hơn bất kỳ vi khuẩn nào khác.

29.3. Hình thành cụm khuẩn

Giai đoạn đầu của quá trình xâm nhiễm là sự hình thành cụm khuẩn hay nói cách khác đó chính là sự tập kết của vi khuẩn. Tập kết chính là sự thiết lập của vi khuẩn gây bệnh tại vị trí mà chúng có thể xâm nhập. Các đối tượng gây bệnh thường tập kết ở các mô của vật chủ, đó là vị trí có thể tiếp xúc với môi trường bên ngoài. Các vị trí mà vi khuẩn có thể xâm nhập vào người bao gồm tuyến niệu dục, tuyến tiêu hóa, tuyến hô hấp và kết mạc. Vi khuẩn xâm nhiễm vào các vùng này thường phát triển cơ chế dính vào mô và một số vi khuẩn có khả năng vượt qua hoặc chịu đựng được áp suất tại bề mặt do hoạt động phòng vệ của vật chủ.

29.4. Bám dính của vi khuẩn trên bề mặt nhầy

Ở hình thức đơn giản nhất, sự bám dính của vi khuẩn lên tế bào hoặc bề mặt mô eukaryote đòi hỏi phải có sự tham gia của hai yếu tố đó là thụ thể (receptor) và phối tử (ligand). Thụ thể thường là carbohydrate hoặc các nhóm chức peptide chuyên biệt có trên bề mặt tế bào eukaryote. Phối tử của vi khuẩn được gọi là yếu tố dính, là một đại phân tử của bề mặt tế bào vi khuẩn. Phối tử này tương tác với thụ thể của tế bào chủ. Yếu tố dính và thụ thể thường tương tác với nhau theo kiểu bổ sung và chuyên biệt. Bảng 29.1 danh sách các thuật ngữ thường được sử dụng để mô tả về sự bám dính của vi sinh vật lên bề mặt trong tự nhiên hoặc mô.

Bảng 29.1. Thuật ngữ thường sử dụng để mô tả yếu tố dính trong tương tác giữa vật chủ và ký sinh.

Yếu tố dính	Mô tả
Yếu tố dính (Adhesin)	Là cấu trúc bề mặt hoặc đại phân tử liên kết tại vị trí chuyên biệt trên bề mặt.
Thụ thể (Receptor)	Là đại phân tử hỗ trợ kết nối với một điểm trên bề mặt tế bào eukaryote, đó là yếu tố dính hoặc phối tử chuyên biệt.
Lectin	Protein nối với carbohydrate
Phối tử (Ligand)	Là phân tử bề mặt nối một cách chuyên biệt với phân tử thụ thể trên bề mặt khác
Dịch nhầy (niêm dịch)	Là lớp mucopolysaccharide hoặc glucosaminoglycan phủ trên bề mặt niêm mạc của tế bào động vật
Thể tua (Fimbriae)	Là các protein dạng sợi trên bề mặt tế bào vi khuẩn hoạt động như là yếu tố dính
Sợi tơ (pilus)	Tương tự như thể tua
Sợi tơ giới tính (Sex pilus)	Là sợi tơ chuyên biệt dùng để nối các tế bào prokaryote đang giao phối với nhau nhằm mục đích chuyển DNA
Thể tua kiểu 1 (Fimbriae type 1)	Là các sợi tơ ở vi khuẩn đường ruột <i>Enterobacteriaceae</i> liên kết chuyên biệt với đường mannose là nhóm chức ở đầu cuối của phân tử glycoprotein có trên bề mặt tế bào eukaryote.
Thể tua kiểu 4 (Fimbriae type 4)	Là các sợi tơ có trong một số vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Ở <i>Pseudomonas</i> , thể tua kiểu 4 được cho là đóng vai trò bám dính và hình thành màng sinh học (biofilm).
Lớp S	Là protein hình thành ở lớp ngoài cùng của thành tế bào vi khuẩn, giúp vi khuẩn có khả năng dính vào màng tế bào chủ và dính lên các bề mặt môi trường để hình thành cụm khuẩn.
Glycocalyx	Là lớp gồm có các sợi exopolysaccharide trên bề mặt tế bào vi khuẩn có thể liên quan đến sự bám dính. Thuật ngữ này đôi khi còn được gọi là capsule.

Capsule	Là lớp polysaccharide (hiếm khi là polypeptide) trên bề mặt của tế bào vi khuẩn. Lớp này có thể dàn xếp cho quá trình dính chuyên biệt và không chuyên biệt.
Lipopolysaccharide (LPS)	Là thành phần màng ngoài của thành tế bào vi khuẩn Gram âm, có cấu trúc đa dạng để sắp xếp cho sự bám dính chuyên biệt. Có lẽ chúng có chức năng như là chất dính.
Teichoic acid và lipoteichoic acid (LTA)	Là thành phần của thành tế bào vi khuẩn Gram dương có liên quan đến quá trình dính chuyên biệt hoặc không chuyên biệt.

29.5. Bám dính chuyên biệt của vi khuẩn lên bề mặt tế bào hoặc mô

Bằng chứng trực tiếp về sự bám dính chuyên biệt của vi khuẩn lên các bề mặt mô và tế bào được quan sát như sau: (1). Tính hướng kích thích của mô, (2). Tính chuyên biệt của loài và (3). Tính chuyên biệt về di truyền trong phạm vi loài.

29.5.1. Tính hướng kích thích của mô

Rõ ràng như chúng ta đã thấy, vi khuẩn có sở thích về một số mô nhất định. Ví dụ *Staphylococcus mutans* thường được phát hiện ở bựa răng nhưng lại không bao giờ xuất hiện ở bề mặt biểu bì của lưỡi; ngược lại vi khuẩn *S. salivarius* lại bám dính nhiều ở các tế bào biểu bì lưỡi nhưng lại không có mặt ở bựa răng.

29.5.2. Tính chuyên biệt của loài

Một số vi khuẩn gây bệnh chỉ xâm nhiễm vào một số loài động vật. Ví dụ *N. gonorrhoeae* chỉ xâm nhiễm giới hạn ở người. Sự xâm nhiễm của vi khuẩn gây bệnh đường ruột *E. coli* K-88 thường bị giới hạn ở heo. Các chủng *E. coli* CFA I và CFA II chỉ xâm nhiễm ở người. Chủng *E. coli* K-99 xâm nhiễm ở bê. Vi khuẩn streptococcus nhóm A chỉ xâm nhiễm ở người.

29.5.3. Tính chuyên biệt về di truyền trong phạm vi loài

Một số chủng trong phạm vi loài có miễn dịch di truyền với một đối tượng gây bệnh. Ví dụ một số chủng heo không nhạy cảm với sự xâm nhiễm của chủng *E. coli* K-88.

Sự nhạy cảm với *Plasmodium vivax* gây bệnh sốt rét thì phụ thuộc vào sự hiện diện của kháng nguyên Duffy ở các tế bào máu (hồng cầu) của vật chủ.

Mặc dù có thể có các lý giải khác nhau nhưng các quan sát trên có thể giải thích được thông qua hiện tượng tương tác chuyên biệt giữa vi sinh vật với bề mặt mô eukaryote. Điều này cho phép vi sinh vật bắt đầu thiết lập (kết cụm) trên bề mặt cụ thể.

29.6. Cơ chế dính vào tế bào hoặc bề mặt mô

Cơ chế dính có thể gồm hai bước: (1). Sự bám dính không chuyên biệt và (2). Sự bám dính chuyên biệt.

29.6.1. Bám dính không chuyên biệt

Bám dính không chuyên biệt là sự đeo bám của vi khuẩn lên bề mặt eukaryote có thể bị đảo ngược. Thông thường bám dính thuận nghịch có trước bám dính không thuận nghịch nhưng trong một số trường hợp xuất hiện tình huống đảo ngược lại hoặc bám dính chuyên biệt không bao giờ xảy ra.

Bám dính không chuyên biệt có liên quan đến lực hấp dẫn không chuyên biệt, cho phép vi khuẩn tiếp cận lên bề mặt tế bào eukaryote. Các tương tác và lực này có thể liên quan đến các yếu tố sau:

- (a). Tương tác kỵ nước,
- (b). Hấp dẫn tĩnh điện,
- (c). Sự dao động của nguyên tử và phân tử do sự dao động lưỡng cực,
- (d). Chuyển động Brown và
- (e). Tuyển chọn (recruitment) và bẫy (trapping) nhờ các hợp chất cao phân tử của màng sinh học (biofilm) tương tác với glycocalyx (capsule) của vi khuẩn

29.6.2. Bám dính chuyên biệt

Bám dính chuyên biệt là bám dính lâu dài của vi sinh vật lên bề mặt, đôi khi còn gọi là "thả neo". Bám dính chuyên biệt có liên quan đến sự hình thành lâu dài cầu nối chuyên biệt dạng ổ khóa và chìa khóa giữa phân tử hỗ trợ trên mỗi bề mặt tế bào. Thụ thể hỗ trợ và phân tử dính phải tiếp cận được với nhau và sắp xếp theo cách chìa khóa và ổ khóa, nhiều cầu nối được hình thành trên khu vực tiếp xúc giữa hai tế bào. Một khi các cầu nối được hình thành thì sự bám dính dưới các điều kiện vật lý trở nên không thể đảo ngược.

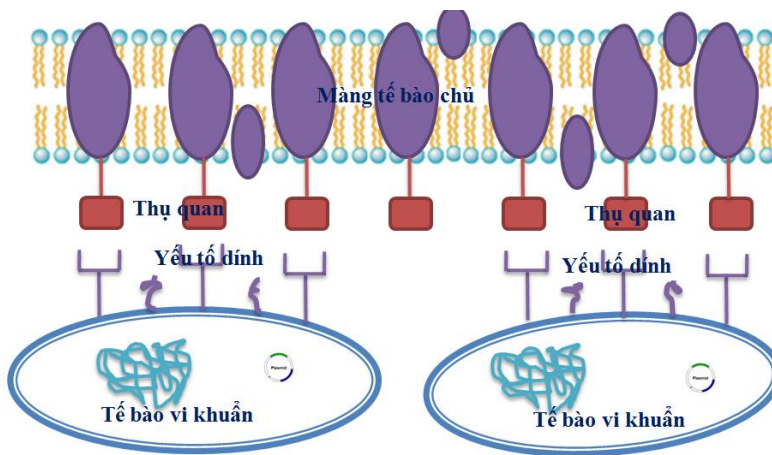
Một số bước thực nghiệm đã đưa ra chứng cứ trực tiếp là thụ thể và hoặc phân tử dính dàn xếp một cách chuyên biệt cho sự kết dính của vi khuẩn vào mô hoặc lên tế bào

vật chủ. Quá trình này bao gồm các bước sau:

(a). Vi khuẩn sẽ tạo cầu nối với thụ thể riêng biệt hoặc vị trí tương tự như thụ thể (receptor analog),

(b). Yếu tố dính riêng biệt hoặc yếu tố tương tự yếu tố dính (adhesin analog) sẽ tạo cầu nối với bề mặt tế bào eukaryote,

(c). Sự bám dính của tế bào vi khuẩn vào bề mặt tế bào eukaryote để các yếu tố sau ức chế: (i). Yếu tố dính riêng biệt hoặc các phân tử thụ quan, (ii). Yếu tố dính hoặc chất tương tự như thụ thể (receptor analog), (ii). Enzyme và hóa chất phá hủy tính đặc hiệu của yếu tố dính hay thụ thể và (iv). Kháng thể chuyên biệt đối với thành phần bề mặt (ví dụ yếu tố dính, thụ thể)



Hình 29.2. Hình minh họa sự bám dính chuyên biệt liên quan đến tương tác hóa học bổ sung giữa tế bào hoặc bề mặt mô của vật chủ với bề mặt vi khuẩn. Yếu tố dính của vi khuẩn liên kết cộng hóa trị với thụ thể của vật chủ vì vậy

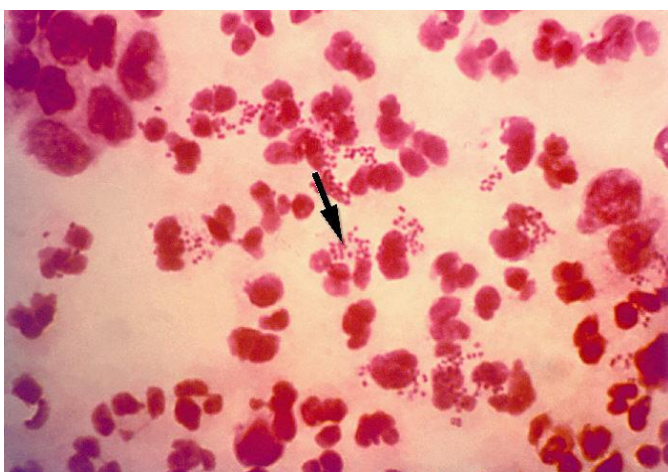
vi khuẩn tự nó đậu trên bề mặt vật chủ. Yếu tố dính của tế bào vi khuẩn là thành phần hóa học của capsule, thành tế bào, sợi tơ hay thể tua. Thụ thể của vật chủ thường là glycoprotein định vị trên màng tế bào hoặc bề mặt mô.

29.7. Yếu tố dính chuyên biệt ở vi khuẩn và thụ thể của chúng

Yếu tố dính của *E. coli* là những sợi tơ thông thường hoặc là thể tua. Một chủng *E. coli* riêng lẻ có khả năng biểu hiện một số dạng thể tua khác biệt. Các kiểu biểu hiện này được các vùng DNA riêng biệt có trong nhiễm sắc thể hoặc plasmid mã hóa. Chính sự đa dạng về mặt di truyền này cho phép vi khuẩn *E.coli* thích nghi được với những thay đổi của môi trường và từ đó chúng có thể khai thác những cơ hội mới để bám dính lên các bề mặt vật chủ khác nhau. Nhiều thể tua dính của *E. coli* có lẽ đã tiến hóa từ tổ tiên của thể tua vì chúng giống với thể tua kiểu I và IV.

Thể tua kiểu I có thể giúp *E. coli* tạo cầu nối với các nhóm chức D-mannose trên

bề mặt tế bào eukaryote. Vì vậy thể tua kiểu I được gọi là “kiểu nhạy cảm với mannose”, chúng ngăn chặn mannose ngoại bào hình thành cầu nối với các thụ thể ở tế bào máu. Mặc dù tiểu đơn vị 17 kDa là thành phần protein chính của thể tua kiểu I, nhưng vị trí cầu nối mannose lại không có trên tiểu đơn vị này mà chúng lại nằm trên protein thứ yếu (28-31 kDa), tại các đỉnh đầu hoặc chèn dọc theo chiều dài của thể tua. Nhờ sự biến đổi di truyền về protein đỉnh thứ cấp này, mà vi khuẩn có thể dính vào các thụ thể khác nhau. Ví dụ, các protein đỉnh trên sợi tơ liên quan đến bệnh viêm thận (pyelonephritis-associated pili - pap) là đường đôi galactose-galactose, ngược lại các protein đỉnh trên thể tua kiểu S là sialic acid.



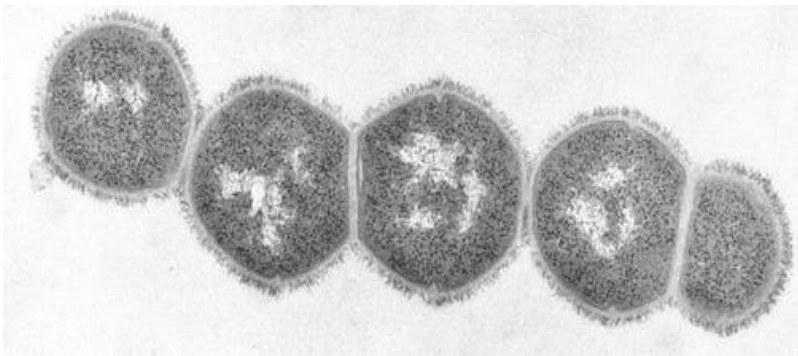
Hình 29.3. Ảnh nhuộm Gram vi khuẩn *Neisseria gonorrhoeae* gây bệnh lậu (CDC), bệnh lây lan qua đường tình dục. Vi khuẩn này có hình cầu đôi (mũi tên), phối hợp với các bạch cầu đa nhân. *N. gonorrhoeae* có nhiều yếu tố quyết định độc tính gồm khả năng bám

đính và xâm nhập vào tế bào chủ, khả năng kháng lại sự tiêu diệt của thực bào và hình thành nội độc tố làm tăng cường phản ứng viêm nhiễm. Trong các bệnh lây lan qua đường tình dục, bệnh lậu là bệnh phổ biến thứ hai chỉ sau bệnh do nấm chlamydia.

Pseudomonas, *Vibrio* và *Neisseria* có sợi tơ kiểu IV. Kiểu sợi tơ này có chứa tiểu đơn vị protein có một amino acid bị methyl hóa là phenylalanine tại vị trí đầu cuối hoặc gần đầu cuối của chuỗi amino acid. Các sợi tơ dạng N-methylphenylalanine đóng vai trò như là yếu tố quyết định độc tính ở các bệnh nhân bị chứng xơ hóa nang phổi do *Pseudomonas aeruginosa* xâm nhiễm gây ra. Các kiểu thể tua này xuất hiện ở *Neisseria gonorrhoeae* và các thụ thể của thể tua này là một oligosaccharide. Sợi tơ kiểu IV là sợi tơ dạng tcp - sợi tơ phối hợp điều hòa độc tố (toxin coregulated pili) được sử dụng để dính *Vibrio cholerae* lên lớp biểu mô dạ dày ruột.

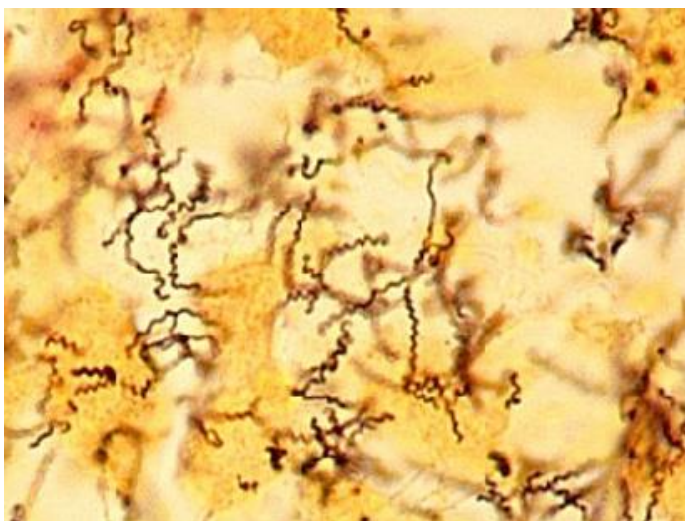
Yếu tố dính của *Streptococcus pyogenes* hiện nay còn đang tranh cãi. Năm 1972,

Gibbons và cộng sự đã chứng minh rằng sự bám dính của streptococcus lên lớp nhầy ở miệng chuột thì phụ thuộc vào protein M. Nhưng Olfek và Beachey lại cho rằng chính acid lipoteichoic (LTA) đóng vai trò giúp streptococcus bám dính lên các tế bào biểu mô ở miệng của chuột chứ không phải là protein M. Năm 1996, Hasty và Courtney đã đề xuất quy trình dính gồm hai bước, đó là liên quan đến cả protein M và các acid teichoic. Các tác giả này cho rằng LTA gắn streptococcus một cách lỏng lẻo lên các tế bào biểu mô và sau đó protein M cũng cố quá trình dính này. Năm 1992, protein F được khám phá, là protein liên kết với fibronectin. Vào năm 1998, các protein M1 và M2 cũng được tìm thấy có liên kết với fibronectin. Điều này cho thấy *S. pyogenes* sản sinh nhiều yếu tố dính có tính chuyên biệt khác nhau.



Hình 29.4. Ảnh *S. pyogenes* Nhóm A dưới kính hiển vi điện tử. (Maria Fazio và Vincent A. Fischetti; Đại học Rockefeller). Các sợi bề mặt tế bào chủ yếu là

protein M, đây là bằng chứng rõ ràng nhất. Protein M có thể liên quan đến một số vai trò nhất định về khả năng gây bệnh như liên quan đến sự bám dính, kháng lại sự thực bào và có vai trò trong sự đa dạng kháng nguyên ở vi khuẩn gây bệnh.



Hình 29.5. Ảnh nhuộm bạc *Treponema pallidum*, khuẩn xoắn gây bệnh giang mai, (CDC).

Staphylococcus aureus cũng tạo cầu nối với amino đầu cuối của sợi fibronectin đó là liên kết giữa fibronectin với protein xảy ra ở bề mặt vi khuẩn. Rõ ràng *S. aureus* và Streptococcus nhóm A sử dụng các cơ chế khác nhau nhưng đều có cùng mục đích là bám dính trên cùng thụ thể ở các bề mặt biểu mô. *Treponema pallidum* có ba yếu tố dính liên quan đến bề mặt là P1, P2 và P3.

Các yếu tố này tạo cầu nối với trình tự gồm bốn amino acid là Arginine-Glycine-Asparagine-Serine của vùng (domain) nối tế bào thuộc fibronectin. Điều không rõ là *T. pallidum* sử dụng fibronectin để bám dính lên bề mặt vật chủ hay tự nó phủ fibronectin để tránh sự phòng vệ của vật chủ như quá trình thực bào và các phản ứng miễn dịch.

Bảng 29.2. Ví dụ về quá trình dính chuyên biệt của vi khuẩn lên tế bào chủ hoặc bề mặt mô của vật chủ.

Vi khuẩn	Yếu tố dính	Thụ thể	Vị trí dính	Gây bệnh
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Protein F	Amino đầu cuối của sợi fibronectin	Biểu mô yết hầu	Đau họng
<i>Streptococcus mutans</i>	Enzyme glycosyl transferase	Glycoprotein thuộc tuyến nước bọt	Màng răng	Sâu răng
<i>Streptococcus salivarius</i>	Lipoteichoic acid	Chưa biết	Biểu mô miệng lưỡi	Không
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Protein bao tế bào	N-acetylhexosamine-galactose disaccharide	Biểu mô niêm mạc	Viêm phổi
<i>Staphylococcus aureus</i>	Protein bao tế bào	Amino đầu cuối của sợi fibronectin	Biểu mô niêm mạc	Nhiều loại bệnh
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Sợi tơ kiểu IV (sợi N-methylphenyl-alanine)	Glucosamine-galactose carbohydrate	Biểu mô niệu đạo/ cổ tử cung	Lậu
<i>Enterotoxigenic E. coli</i>	Thể tua kiểu I	Carbohydrate đặc trưng cho loài	Biểu mô ruột	Tiêu chảy
<i>E. coli</i> gây bệnh tiết niệu	Thể tua kiểu I	Phức hợp carbohydrate	Biểu mô niệu đạo	viêm niệu đạo
Uropathogenic <i>E. coli</i> gây bệnh	Sợi tơ liên quan đến bệnh viêm	Globobiose liên kết với ceramide	Đường tiểu trên	Viêm thận – bể thận

tiết niệu	thận (pap)	lipid		
<i>Bordetella pertussis</i>	Thể tua (yếu tố gây ngưng kết thể sợi)	Galactose trên sulfated glycolipid	Biểu mô tuyến hô hấp	Ho gà
<i>V. cholerae</i>	Sợi tơ N-methylphenyl-alanine	Fucose và mannose carbohydrate	Biểu mô ruột	Bệnh tả
<i>Treponema pallidum</i>	Peptide ở màng ngoài	Protein bề mặt (fibronectin)	Biểu mô niêm mạc	Giang mai
<i>Mycoplasma</i>	Protein màng	Sialic acid	Biểu mô tuyến hô hấp	Viêm phổi
<i>Chlamydia</i>	Chưa biết	Sialic acid	Kết mạc hoặc lớp biểu mô niệu đạo	Viêm màng kết mắt hoặc viêm niệu đạo

29.8. Xâm lấn

Xâm lấn vào tế bào chủ của đối tượng gây bệnh có thể được hỗ trợ từ các chất ngoại bào của vi khuẩn. Sự tấn công của các chất ngoại bào chống lại vật chủ bằng cách chọc thủng năng lực phòng vệ sơ cấp hoặc thứ cấp của cơ thể chủ. Các nhà vi sinh vật học thường gọi các chất này là chất xâm lấn (invasin). Hầu hết các chất xâm lấn là protein dạng enzyme, chúng hoạt động một cách cục bộ nhằm phá hủy tế bào chủ và/hoặc có tác động trực tiếp để tạo thuận lợi cho sự tăng trưởng và lây lan của vi khuẩn gây bệnh. Sự tổn hại của vật chủ do hoạt động xâm lấn này có thể là một phần bệnh lý bệnh xâm nhiễm.

Không có sự phân biệt rõ giữa protein ngoại bào do vi khuẩn tạo ra nhằm thúc đẩy sự xâm chiếm với một số độc tố protein ngoại bào đóng vai trò là ngoại độc tố. Chất xâm lấn thường hoạt động ở phạm vi hẹp trong vùng lân cận tăng trưởng của vi khuẩn và thường không tiêu diệt tế bào. Ngoại độc tố thường có độc tính tế bào và có thể tấn công ở các điểm cách xa vị trí tăng trưởng của tế bào vi khuẩn. Chính vì vậy ngoại độc tố thường có tính chuyên biệt cao hơn trong hoạt động của chúng so với các chất xâm lấn.

Thậm chí một số ngoại độc tố cổ điển như độc tố gây bệnh bạch hầu, độc tố gây bệnh than, ... có thể có một số vai trò trong sự tập kết hoặc xâm lấn ở những giai đoạn sớm của sự xâm nhiễm. Một số chất xâm lấn của staphylococcus và leukocidin có hiệu ứng làm thay đổi cấu trúc tế bào (cytopathic effect) tương đối đặc hiệu.

29.9. Yếu tố xâm lấn của vi khuẩn

29.9.1. Yếu tố lan rộng

Yếu tố lan rộng là thuật ngữ mô tả họ enzyme vi khuẩn có ảnh hưởng đến tính chất vật lý của mô và không gian nội bào, từ đó thúc đẩy quá trình lan ra của đối tượng gây bệnh.

Hyaluronidase là yếu tố lan rộng đầu tiên. Yếu tố này do các vi khuẩn streptococcus, staphylococcus và clostridia tạo ra. Enzyme này tấn công các chất kết dính khe của mô liên kết bằng cách phá hủy các liên kết trùng hợp của hyaluronic acid.

Bảng 29.3. Vi khuẩn sản sinh một số protein ngoại bào được xem như là những yếu tố dính.

Vi khuẩn	Chất xâm chiếm	Hoạt tính
Streptococcus, staphylococcus và clostridia	Hyaluronidase	Phá hủy hyaluronic của mô liên kết
<i>Clostridium</i> species	Collagenase	Hòa tan collagen
<i>Vibrio cholerae</i> và <i>Shigella dysenteriae</i>	Neuraminidase	Phá hủy liên kết neuraminic acid của niêm mạc ruột
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coagulase	Chuyển fibrinogen thành fibrin gây ngưng kết
Staphylococcus và streptococcus	Kinase	Chuyển plasminogen thành plasmin làm tiêu hóa fibrin
<i>Staphylococcus aureus</i>	Leukocidin	Phá vỡ màng bạch cầu trung tính và phóng thích các hạt làm vỡ lysosome
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Streptolysin	Trên các thực bào nổi loạn và đập gãy màng thực bào để phóng thích các hạt tiêu thể.

Streptococcus, staphylococcus clostridia	và Hemolysin	Phospholipase hoặc lecithinase phá hủy tế bào hồng cầu và các tế bào khác bằng sự phân giải
<i>Clostridium perfringens</i>	Lecithinase	Phá hủy lecithin ở màng tế bào
<i>C. perfringens</i>	Phospholipase	Phá hủy phospholipid ở màng tế bào
EF <i>Bacillus anthracis</i>		Khi yếu tố Edema là adenylate cyclase sẽ làm gia tăng hàm lượng AMP vòng nội bào
<i>Bordetella pertussis</i>		Khi cấu tử độc tố là adenylate cyclase hoạt động làm gia tăng AMP vòng nội bào

Collagenase do *Clostridium histolyticum* và *Clostridium perfringens* sản sinh ra, nó phá hủy collagen, khung đỡ của các mô, gây ra chứng khí hoại thư.

Neuraminidase do các vi khuẩn gây bệnh đường ruột như *Vibrio cholerae* và *Shigella dysenteriae*. Enzyme này phá hủy neuraminic acid (còn gọi là sialic acid), một chất kết dính nội bào ở các tế bào biểu mô thuộc niêm mạc ruột.

Streptokinase và staphylokinase lần lượt được streptococcus và staphylococcus tạo ra. Các enzyme dạng kinase này biến plasminogen bất hoạt thành plasmin có hoạt tính. Chất này tiêu hủy fibrin và ngăn chặn tính năng đông máu. Sự vắng mặt tương đối của fibrin ở các vết thương có vi khuẩn xâm nhập cho phép các vi khuẩn xâm nhiễm phát tán nhanh hơn.

29.9.2. Enzyme gây tiêu máu và hoặc phân giải bạch cầu (leucolysis)

Các enzyme này thường hoạt động ở màng tế bào động vật bằng cách chèn vào màng này tạo một lỗ cho sự phân giải tế bào hoặc tấn công lên phospholipid bằng enzyme làm cho màng mất ổn định. Các enzyme này được gọi là lecithinase hoặc phospholipase và nếu có thể chúng sẽ phân giải các tế bào hồng cầu vì vậy được gọi là dung huyết tố (hemolysin). Leukocidin do staphylococcus sinh ra và streptolysin được streptococcus tạo ra là chất phân giải thực bào chuyên biệt. Hai enzyme này còn được xem như là ngoại độc tố của tế bào vi khuẩn.

Phospholipase được *Clostridium perfringens* sản sinh ra, ví dụ độc tố alpha, độc tố

này thủy phân phospholipid ở màng tế bào bằng cách loại bỏ các nhóm chức ở đầu phân cực.

Lecithinase, cũng do *Clostridium perfringens* tạo ra, phá hủy lecithin (phosphatidylcholine) ở màng tế bào.

Yếu tố tiêu huyết (hemolysin), chất này chủ yếu là do staphylococcus sinh ra (ví dụ tạo độc tố alpha), streptococcus (streptolysin) và nhiều loài vi khuẩn clostridia. Chúng có thể hình thành kênh protein hoặc phospholipase hoặc lecithinase để từ đó phá hủy tế bào hồng cầu và các tế bào khác (ví dụ bạch cầu) bằng con đường phân giải.

29.9.3. Coagulase của vi khuẩn *Staphylococcus*

Coagulase do *Staphylococcus aureus* tạo ra, là enzyme liên quan đến tế bào và có khả năng chuyển fibrinogen thành fibrin gây ngưng kết. Coagulase luôn liên quan đến *S. aureus* gây bệnh và chưa bao giờ liên quan đến *S. epidermidis* không gây bệnh. Chất này là yếu tố xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn. Có lẽ coagulase có khả năng liên kết với tế bào để cung cấp một giả hình kháng thể (antigenic disguise) để ngưng kết fibrin trên thành tế bào. Hoặc ở trường hợp tổn thương do staphylococcus, vi khuẩn này được bao phủ trong fibrin (ví dụ mục nhọt hoặc nốt mủ) có thể làm cho tế bào của chúng kháng



được thực bào hoặc các chất diệt khuẩn hoặc thậm chí là thuốc thú y có thể không làm phân tán mục tiêu vi khuẩn.

Hình 29.6. Tiêu huyết beta của *Streptococcus*. Đặc tính này xuất hiện trên môi trường thạch máu có vi khuẩn *Streptococcus*. Vòng sáng xung quanh khuẩn lạc vi khuẩn là kết quả của sự phân giải các tế bào hồng cầu do streptolysin.

29.10. Enzyme tiêu hóa ngoại bào

Độc tố tác động ở tầm ngắn liên quan đến sự xâm lấn, các độc tố dạng protein của vi khuẩn có hoạt tính adenylate cyclase được cho là có tác động trực tiếp lên tế bào chủ, thúc đẩy quá trình xâm chiếm của vi khuẩn. Một khi thành phần của độc tố gây bệnh dạng adenylate cyclase là yếu tố gây phù (Edema), hoạt động gần với các tế bào, nó sẽ

làm gia tăng mức AMP vòng (cAMP) và phá vỡ tính thấm của tế bào. Một trong những độc tố của *Bordetella pertussis* là yếu tố gây bệnh ho gà có tác động tương tự. Những độc tố này có thể góp phần cho sự xâm lấn thông qua các tác động của chúng lên các thực bào hoặc tế bào lympho ở phạm vi lân cận, chúng có vai trò thiết yếu cho sự xâm nhiễm. Ví dụ, do độc tố này sử dụng ATP làm cơ chất, nên chúng có thể rút hết năng lượng dành cho hoạt động của thực bào. Chứng phù (edema) được xem như là bệnh vì làm gia tăng cAMP ở những tế bào bị ảnh hưởng, dẫn đến phá vỡ tính cân bằng. Bảng 29.3 tóm tắt hoạt động đóng góp của nhiều protein vi khuẩn đáng chú ý ở các mô xâm lấn.

29.11. Lẩn tránh cơ chế đề kháng của vật chủ

Một số vi khuẩn gây bệnh vốn dĩ có khả năng kháng được thành phần tiêu diệt vi khuẩn của mô chủ. Ví dụ capsule dạng poly-D-glutamate của vi khuẩn *Bacillus anthracis* có khả năng bảo vệ vi khuẩn này chống lại sự phân giải do cationic protein có trong huyết thanh hoặc trong thực bào. Màng ngoài của vi khuẩn Gram âm là một rào cản có tính thấm chọn lọc rất hiệu quả, theo đó chất kỵ nước như muối mật bỏ chẳng hạn là chất gây hại cho vi khuẩn sẽ không dễ dàng xâm nhập vào tế bào. Nhóm vi khuẩn gây bệnh mycobacteria có thành tế bào giống như sáp ong, có khả năng kháng lại sự tấn công hoặc tiêu hóa của hầu hết chất diệt khuẩn ở trên mô. Lipopolysaccharide (LPS) của vi khuẩn gây bệnh Gram âm có thể bảo vệ tế bào thoát khỏi cơ chế ly giải qua trung gian bổ thể (complement-mediated lysis) hoặc do hoạt động của tiêu thể (lysozyme).

Hầu hết đối tượng gây bệnh thành công là do chúng có thêm một số đặc tính về cấu trúc hoặc sinh hóa để từ đó cho phép chúng kháng lại được cơ chế đề kháng bên trong của vật chủ. Ví dụ kháng lại phản ứng của thực bào và phản ứng miễn dịch của vật chủ.

29.12. Vượt qua cơ chế đề kháng thực bào của vật chủ

Một khi vi khuẩn xâm nhập vào mô điều trước tiên là chúng sẽ bị lộ diện trước thực bào. Nếu vi khuẩn sẵn sàng tấn công các thực bào này thì chúng sẽ dễ dàng bị thực bào tiêu hóa hoặc bị tiêu diệt. Ngược lại, hầu hết vi khuẩn gây bệnh thành công trong vai trò ký sinh là chúng sẽ làm nhiễu phạm vi hoạt động của thực bào hoặc tránh được sự chú ý của thực bào.

Các chiến lược của vi khuẩn nhằm tránh sự tiêu diệt của thực bào là phong phú và đa dạng. Tuy nhiên thường là chúng nhắm đến một bước ngăn chặn hoặc nhiều bước để

tránh sự tấn công của thực bào. Các bước của sự thực bào như sau: (1). Tiếp xúc giữa thực bào và tế bào vi khuẩn, (2). Nhúng chìm, (3). Hình thành thể thực bào/ túi thực bào (Phagosome), (4). Dung hợp giữa thể thực bào và tiêu thể (Phagosome-lysosome fusion) và (5). Tiêu diệt và tiêu hóa.

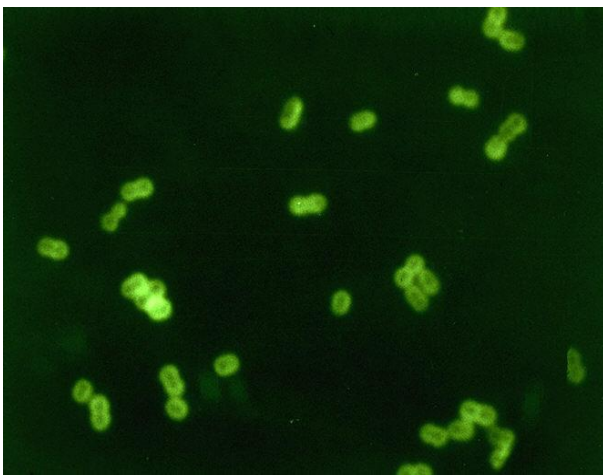
29.13. Tránh tiếp xúc với thực bào

Vi khuẩn có thể tránh sự chú ý của thực bào trong nhiều cách như sau:

(1). Xuyên nhập hoặc lưu lại ở các vùng giới hạn mà thực bào không tới được. Một số mô bên trong ví dụ như lumen của các tuyến và các mô bề mặt như da chẳng hạn thì không bị thực bào tuần tra.

(2). Tránh sự khiêu khích quá mức để xuất hiện phản ứng viêm. Một số vi sinh vật gây bệnh cảm ứng tối thiểu hoặc không gây ra sự viêm sung để gây chú ý đến sự phòng vệ của thực bào.

(3). Ức chế kích thích hóa hướng động của thực bào, ví dụ streptolysin (là chất cũng có khả năng tiêu diệt thực bào) triệt tiêu kích thích hóa hướng động của thực bào trung tính ngay cả ở nồng độ rất thấp. Các mảnh vỡ của *Mycobacterium tuberculosis* được biết có khả năng ức chế sự di chuyển của bạch cầu. Độc tố α của *Clostridium* ức chế kích thích hóa hướng động bạch cầu trung tính.



Hình 29.7. *Streptococcus pneumoniae*, nhuộm kháng thể phát huỳnh quang (FA) cho thấy chúng có capsule kháng thực bào (CDC). Tế bào *S. pneumoniae* có capsule là chủng gây bệnh, chủng không có capsule thì không gây bệnh. Mặc dù các chủng *S. pneumoniae* này sở hữu nhiều yếu tố

quyết định độc tính nhưng vai trò quan trọng của capsule đó là kháng thành công sự thực bào do các đại thực bào ở túi phổi thực hiện để khởi đầu gây bệnh.

(4). Che đậy bề mặt kháng nguyên của tế bào vi khuẩn: một số đối tượng gây bệnh có thể che phủ bề mặt tế bào với một thành phần được xem như là “đồng loại” nhờ bạch cầu của vật chủ và hệ miễn dịch. Chính vì vậy bạch cầu không thể nhận biết vi khuẩn tiếp

xúc và khả năng opsonin hóa bởi các kháng thể để tăng cường sự thực bào đã bị hạn chế tối đa. Ví dụ, vi khuẩn gây bệnh *S. aureus* tạo coagulase liên kết với tế bào làm ngưng kết fibrin trên bề mặt vi khuẩn. *Treponema pallidum* liên kết với fibronectin lên bề mặt của chính nó. Nhóm A streptococcus có khả năng tổng hợp capsule có thành phần hyaluronic acid.

29.14. Ức chế sự nhúng chìm của thực bào

Một số vi khuẩn có chiến lược tránh sự nhúng chìm (ăn vào) nếu thực bào tiếp xúc với chúng. Trên bề mặt của nhiều vi khuẩn gây bệnh quan trọng mang các chất có khả năng ức chế sự hấp thu hoặc nhúng chìm của thực bào. Rõ ràng bề mặt vi khuẩn là yếu tố quan trọng. Khả năng kháng lại sự ăn thịt của thực bào thường là nhờ thành phần của thành tế bào vi khuẩn hoặc là sợi tơ hoặc là capsule cùng với thành tế bào.

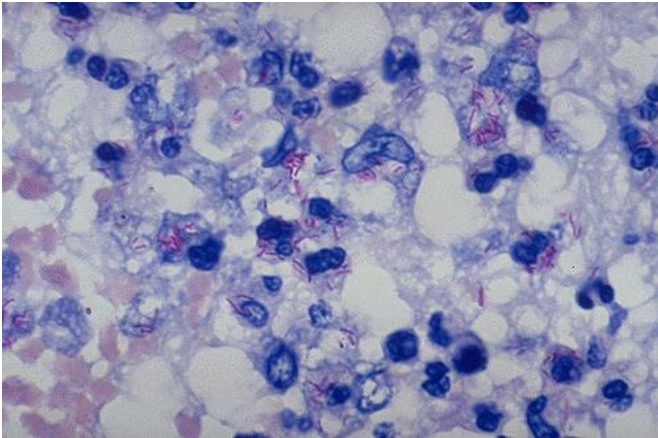
Trong thực tế có rất nhiều ví dụ về các thành phần kháng được thực bào nằm trên bề mặt vi khuẩn gồm:

- (1). Capsule dạng polysaccharide của *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Treponema pallidum* và *Klebsiella pneumoniae*,
- (2). Protein M và thể tua của streptococcus Nhóm A,
- (3). Bề mặt nhờn dạng polysaccharide được *Pseudomonas aeruginosa* tạo ra,
- (4). Kháng nguyên O có liên quan với LPS của *E. coli*,
- (5). Kháng nguyên K của *E. coli* hoặc tương tự kháng nguyên Vi của *Salmonella typhi* và
- (6). Protein A liên kết với tế bào hoặc ở dạng tan được do *Staphylococcus aureus* sản sinh ra.

29.15. Sống sót bên trong thực bào

Một số vi khuẩn sống sót bên trong tế bào thực bào hoặc là bạch cầu trung tính (neutrophil) hoặc là đại thực bào. Do vi khuẩn có thể kháng được sự tiêu diệt nên chúng sống sót hoặc sinh sôi nảy nở bên trong các thực bào được xem như là những ký sinh nội bào. Môi trường bên trong thực bào có thể là một yếu tố bảo vệ, đó là sự bảo vệ vi khuẩn trong giai đoạn sớm của quá trình xâm nhiễm hoặc cho đến khi chúng phát triển đầy đủ thể bổ sung của yếu tố gây bệnh. Môi trường nội bào bảo vệ vi khuẩn chống lại hoạt động của các chất tiêu diệt vi khuẩn ngoại bào, các kháng thể, thuốc điều trị,

Hầu hết ký sinh này có cơ chế đặc biệt được quy định trong mã di truyền để tự chúng xâm nhập vào tế bào chủ, cũng như có cơ chế đặc biệt để sống sót khi chúng lọt vào bên trong. Ký sinh nội bào này thường sống sót nhờ cơ chế làm nhiễu hoạt động diệt khuẩn của tế bào chủ. Một số cơ chế của vi khuẩn bao gồm:



- (1). Ức chế sự dung hợp thể thực bào – tiêu thể,
- (2). Sống sót bên trong thể thực bào sinh tan và
- (3). Trốn thoát khỏi thể thực bào.

Hình 29.8. Ảnh nhuộm acid Ziehl - Neelsen khuẩn lao *M. tuberculosis* sống sót bên trong phổi (CDC).

29.15.1. Ức chế sự dung hợp thể thực bào – tiêu thể

Vi khuẩn sống sót được bên trong thực bào là do chúng có khả năng ngăn chặn sự phóng thích các thành phần của tiêu thể vào trong môi trường thể thực bào (phagosome). Đặc biệt là sự hình thành thể thực bào sinh tan (phagolysosome) bị ức chế trong thực bào. Đây là một chiến lược được nhiều vi khuẩn như *Salmonella*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella* và *Chlamydiae* sử dụng.

29.15.2. Sống sót bên trong thể thực bào sinh tan

Một số ký sinh nội bào sẽ xuất hiện sự dung hợp giữa thể thực bào - tiêu thể (phagosome-lysosome fusion) nhưng vi khuẩn lại có khả năng kháng lại sự ức chế và sự tiêu diệt do các thành phần của tiêu thể gây ra. Vì vậy một số vi khuẩn gây bệnh ngoại bào có thể kháng được sự tiêu diệt khi ở bên trong thực bào bằng cách sử dụng các cơ chế kháng tương tự. Hiện nay có rất ít thông tin để hiểu được làm thế nào mà vi khuẩn có thể kháng được sự tiêu diệt của thực bào trong thể không bào thực bào (phagocytic vacuole). Tuy nhiên điều này có thể là do thành phần bề mặt của vi khuẩn hoặc là do chất ngoại bào được vi khuẩn sinh ra làm nhiễu cơ chế tiêu diệt của thực bào. Tất cả các vi khuẩn như *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis* và *Staphylococcus aureus* đều có cơ chế để sống sót bên trong đại thực bào mà không bị chúng tiêu diệt.

29.15.3. Trốn thoát khỏi thể thực bào

Sớm thoát khỏi thể thực bào là điều quan trọng cho sự tăng trưởng và gây độc của một số vi khuẩn gây bệnh nội bào. Đây là một chiến lược rất thông minh được *Rickettsia* tiến hành. Chúng sản sinh ra enzyme phospholipase ly giải màng thể thực bào chỉ trong vòng 30 giây sau khi bị nuốt vào.

29.16. Sản phẩm của vi khuẩn dùng để tiêu diệt hoặc gây tổn hại cho thực bào

Một chiến lược hiển nhiên trong phòng vệ chống lại sự thực bào đó là vi khuẩn tấn công trực diện vào thực bào chuyên nghiệp. Bất kỳ chất nào được vi khuẩn gây bệnh sinh ra gây tổn thương thực bào đều được gọi là chất gây hấn (aggressin). Hầu hết chất gây hấn này là enzyme ngoại bào hoặc là những độc tố dùng để tiêu diệt thực bào. Thực bào có thể bị vi khuẩn gây bệnh tiêu diệt trước hoặc sau khi bị nuốt vào.

29.17. Tiêu diệt thực bào trước khi bị nuốt vào

Nhiều vi khuẩn gây bệnh Gram dương, cụ thể cầu khuẩn sinh mủ tiết ra enzyme ngoại bào tiêu diệt thực bào. Nhiều enzyme thuộc nhóm này gọi là chất gây tan huyết (hemolysin) là do hoạt tính của chúng ly giải (làm tan huyết) tế bào hồng cầu.

Streptococcus tạo streptolysin. Streptolysin O tạo cầu nối với cholesterol trong màng bạch cầu trung tính, tác động lên bạch cầu trung tính làm cho các hạt tiêu thể nổi tung và phóng thích các thành phần của tiêu thể vào trong tế bào chất.

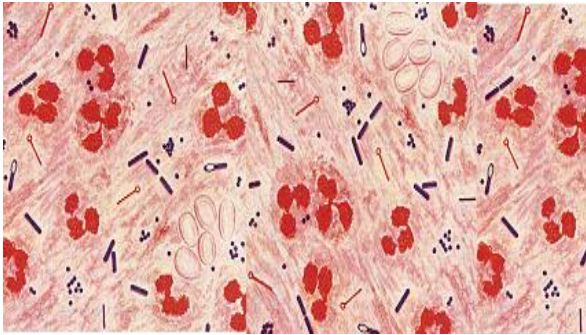
Staphylococcus tạo leukocidin (độc tố bạch cầu), chất này cũng tác động lên màng của bạch cầu trung tính làm vỡ các hạt tiêu thể.

Nhiều ví dụ khác về protein ngoại bào của vi khuẩn ức chế sự thực bào gồm ngoại độc tố A của *Pseudomonas aeruginosa* tiêu diệt được đại thực bào và ngoại độc tố của vi khuẩn là enzyme adenylate cyclase ví dụ độc tố EF gây than và độc tố AC gây bệnh ho gà (pertussis AC) là ngoại độc tố làm giảm hoạt tính của thực bào.

29.18. Tiêu diệt thực bào sau khi bị nuốt vào

Một số vi khuẩn sử dụng tác động gây độc của chúng lên thực bào sau khi bị nuốt vào. Chúng có thể phát triển trong thể thực bào và phóng thích các chất xuyên qua màng thể thực bào và làm tan các hạt tiêu thể hoặc chúng có thể phát triển trong thể thực bào và phóng thích các chất độc xuyên qua màng thể thực bào để đi đến các vị trí mục tiêu khác trong tế bào. Nhiều vi khuẩn ký sinh trong đại thực bào ví dụ *Mycobacteria*, *Brucella*, *Listeria* thường phá hủy các đại thực bào, tuy nhiên cơ chế này

chưa được hiểu rõ.



Hình 29.9. Ảnh nhuộm Gram dịch mụn mủ do viêm nhiễm hỗn hợp vi khuẩn. Mủ là hậu quả của cuộc chiến giữa thực bào và vi khuẩn (CDC).

29.19. Lẩn tránh bổ thể

Các kháng thể bao xung quanh bề mặt vi khuẩn sẽ làm hoạt hóa bổ thể (complement) theo con đường cổ điển (classical pathway) và polysaccharide của vi khuẩn sẽ hoạt hóa bổ thể bằng con đường khác (alternative pathway). Vi khuẩn trong huyết thanh và trong các mô khác, nhất là vi khuẩn Gram âm cần sự bảo vệ từ tác động kháng khuẩn của bổ thể trước và trong quá trình phản ứng miễn dịch.

Một vai trò của capsule trong sự gây độc của vi khuẩn chính khả năng bảo vệ vi khuẩn khỏi sự tấn công của bổ thể và tiếp theo là tránh phản ứng gây ra viêm nhiễm. Capsule dạng polysaccharide có thể giấu thành phần LPS hoặc peptidoglycan của vi khuẩn, các chất này có thể cảm ứng bổ thể bằng con đường khác. Một số capsule của vi khuẩn có khả năng ức chế sự hình thành phức hợp C3b trên bề mặt của chúng, vì vậy tránh được sự opsonin hóa C3b và sau đó hình thành C5b và phức hợp tấn công màng MAC (membrane attack complex) trên bề mặt tế bào vi khuẩn. Các capsule chứa sialic acid (thành phần phổ biến của glycoprotein thuộc tế bào chủ) như capsule được tìm thấy ở *Neisseria meningitides* có tác động này.

Một trong những mục tiêu chính của bổ thể trên vi khuẩn Gram âm là LPS. Chất này đóng vai trò như là vị trí bám dính cho C3b và kích hoạt sự hoạt động của con đường khác. Nó cũng tạo cầu nối với C5b.

LPS trong các vi khuẩn gây bệnh có thể bị biến đổi theo hai cách do tác động vào sự tương tác giữa LPS với bổ thể.

Thứ nhất, bằng cách đính các chức sialic lên kháng nguyên O (LPS) nhờ đó vi khuẩn có thể ngăn chặn sự hình thành C3 convertase, capsule chứa sialic acid có thể thực hiện như vậy. Cả vi khuẩn *Neisseria meningitidis* và *Haemophilus influenza* gây bệnh viêm màng não có thể đính chức sialic acid lên kháng nguyên O của chúng nhờ liên kết

cộng hóa trị nên kháng được MAC.

Thứ hai, tính nguyên vẹn của các chuỗi bên kháng nguyên O (chuỗi polysacchride O) có thể ngăn chặn hiệu quả sự tiêu diệt của MAC. Rõ ràng việc giữ phức hợp MAC cách xa màng ngoài là biện pháp hữu hiệu.

Trong huyết thanh, vi khuẩn không bị phức hợp tấn công màng MAC tiêu diệt và ly giải nên được gọi là vi khuẩn kháng huyết thanh. Vì vậy nhiều vi khuẩn Gram âm có thể gây các triệu chứng nhiễm bệnh toàn thân, các triệu chứng như du khuẩn huyết (bacteremia) hay nhiễm trùng máu là kết quả của sự kháng lại huyết thanh của vi khuẩn. Vi khuẩn Gram dương là đối tượng không thể kháng lại huyết thanh do tế bào của chúng không có màng ngoài.

Đối tượng gây bệnh có thể có một số cách khác để ức chế hoạt động của bỏ thể bằng cách phá huỷ một hoặc nhiều thành phần của bỏ thể. *Pseudomonas aeruginosa* sản sinh ra enzyme ngoại bào là elastase làm bất hoạt các thành phần của bỏ thể.

29.30. Tránh phản ứng miễn dịch của động vật chủ

Trên bề mặt biểu mô, sự phòng vệ miễn dịch chống lại vi khuẩn chủ yếu là do sự nỗ lực của kháng thể tiết (IgA). Tuy nhiên khi bề mặt biểu mô bị xâm nhập, sự đề kháng của vật chủ chính là sự viêm nhiễm, bỏ thể và sự thực bào. Miễn dịch qua trung gian kháng thể (AMI) và miễn dịch qua trung gian tế bào (CMI) có cơ hội được đo sức. Nếu đây là một cách để một vi khuẩn gây bệnh tránh và vượt qua sự phòng vệ của động vật chủ một cách thành công, thì không sớm thì muộn sau đó một số vi khuẩn gây bệnh khác cũng sẽ khám phá ra được điều này. Vi khuẩn tiến hoá rất nhanh trong mối quan hệ với vật chủ, vì vậy những chiến lược kháng lại động vật chủ có thể được chúng thử nghiệm và khai thác. Khả năng đánh bại sự phòng vệ miễn dịch có thể đóng vai trò chính trong độc lực (virulence) của vi khuẩn và trong bệnh lý bệnh do chúng gây ra. Một số chiến lược phòng vệ của vi khuẩn được mô tả như sau.

29.31. Dung nạp miễn dịch đối với kháng nguyên vi khuẩn

Dung nạp (tolerance): là một thuộc tính của động vật chủ mà theo đó làm giảm tính đặc hiệu miễn dịch trong phản ứng miễn dịch đối với một kháng nguyên cụ thể. Dung nạp đối với một kháng nguyên cụ thể của vi khuẩn thì không liên quan đến sự thất bại chung trong phản ứng miễn dịch nhưng khiếm khuyết cụ thể đối với kháng nguyên đặc

hiệu thì lại liên quan đến một vi khuẩn cụ thể. Nếu một phản ứng miễn dịch bị suy yếu liên quan đến các kháng nguyên của một ký sinh thì quá trình xâm nhiễm sẽ được làm dễ. Sự dung nạp có thể liên quan đến hoặc là AMI hoặc là CMI hoặc là cả hai của phản ứng miễn dịch.

Dung nạp đối với một kháng nguyên có thể có nhiều cách nhưng có thể có ba mối liên quan đến sự xâm nhiễm của vi khuẩn như sau:

(1). Phơi nhiễm của nhau thai với kháng nguyên (Ag)

(2). Liều ổn định cao của kháng nguyên tuần hoàn

(3). Sự bắt chước ở mức độ phân tử: nếu kháng nguyên vi khuẩn rất giống với kháng nguyên bình thường của vật chủ, thì phản ứng miễn dịch đối với kháng nguyên này có thể yếu đến mức dẫn đến dung nạp được. Sự tương đồng giữa Ag vi khuẩn và Ag của động vật chủ được gọi là sự bắt chước ở mức độ phân tử (molecular mimicry). Trong trường hợp này yếu tố quyết định kháng nguyên (antigenic determinant) của vi khuẩn có thành phần hóa học quá gần với thành phần tự miễn dịch của động vật chủ nên tế bào miễn dịch không thể phân biệt được giữa hai phức hợp này và vì vậy phản ứng miễn dịch không thể nâng lên được. Một số capsule vi khuẩn có thành phần là polysaccharide dạng hyaluronic acid, sialic acid rất giống với mô tế bào chủ cũng là polysaccharide nên không có tính sinh miễn dịch (immunogenic).

29.32. Trá hình kháng nguyên

Vi khuẩn có thể tự phủ lên mình các protein của động vật chủ như fibrin, fibronectin, hay phân tử kháng thể hoặc polysaccharide của động vật chủ như sialic acid, hyaluronic acid. Vì vậy chúng có thể giấu các thành phần kháng nguyên bề mặt của chúng nên thoát khỏi sự phát hiện của hệ miễn dịch.

29.33. Ức chế miễn dịch

Một số đối tượng gây bệnh chủ yếu là virus và protozoa gây ức chế miễn dịch (immunosuppression) ở động vật chủ bị nhiễm. Điều này có nghĩa là động vật chủ biểu hiện các phản ứng miễn dịch bị suy giảm đối với kháng nguyên, gồm các phản ứng của đối tượng gây bệnh xâm nhiễm. Các phản ứng miễn dịch bị suy giảm đôi khi quan sát thấy được trong bệnh xâm nhiễm mạn tính do vi khuẩn như bệnh phong và bệnh lao.

29.34. Kiên trì của vi khuẩn gây bệnh tại vị trí cơ thể không tiếp cận với phản ứng

miễn dịch

Một số đối tượng gây bệnh có thể tránh phơi nhiễm với phản ứng miễn dịch. Các đối tượng gây bệnh nội bào có thể lẩn tránh phản ứng miễn dịch của động vật chủ để ẩn trú bên trong tế bào bị nhiễm và chúng không cho phép kháng nguyên vi sinh vật hình thành trên bề mặt tế bào. Đại thực bào hỗ trợ cho sự tăng trưởng của vi khuẩn tại cùng thời điểm sẽ đưa ra sự bảo vệ để vi khuẩn thoát khỏi phản ứng miễn dịch.

Một số đối tượng gây bệnh tồn tại lâu dài trên các bề mặt khoang (luminal surface) của tuyến dạ dày ruột (GI), khoang miệng và tuyến tiết niệu hay khoang tuyến nước bọt, tuyến vú hay tiểu quản thận.

29.35. Cảm ứng kháng thể không hiệu quả

Nhiều kiểu kháng thể (Ab) được hình thành để chống lại một kháng nguyên (Ag) cụ thể và một số thành phần vi khuẩn có thể phô diễn nhiều yếu tố quyết định kháng nguyên. Kháng thể có khả năng phản ứng với kháng nguyên, khả năng của Ab liên kết với Ag được gọi là tính khả lực (avidity). Nếu các Ab được hình thành để chống lại Ag vi khuẩn có tính khả lực thấp hoặc nếu chúng trực tiếp chống lại các yếu tố quyết định kháng nguyên không quan trọng thì chúng chỉ có thể có hoạt tính kháng vi sinh vật yếu. Thậm chí những kháng thể không hiệu quả (không trung hoà được) như vậy có thể hỗ trợ đối tượng gây bệnh bằng cách kết hợp với kháng nguyên bề mặt và ngăn chặn sự bám dính của bất kỳ các kháng thể chức năng nào có thể đang hiện diện.

29.36. Kháng nguyên vi khuẩn tan được hấp thu kháng thể

Một số vi khuẩn có thể giải phóng các thành phần bề mặt kháng nguyên ở dạng tan được vào trong dịch mô. Kháng nguyên tan được này có thể kết hợp và trung hòa kháng thể trước khi tiếp cận với các tế bào vi khuẩn. Ví dụ, vi khuẩn Gram âm có thể phóng thích một lượng nhỏ nội độc tố (LPS) vào dịch môi trường xung quanh.

29.37. Biến đổi kháng nguyên

Biến đổi kháng nguyên là cách mà vi khuẩn có thể tránh được các tác động của phản ứng miễn dịch, đó chính là định kỳ thay đổi kháng nguyên. Một số vi khuẩn tránh được phản ứng kháng thể của động vật chủ bằng cách thay một kiểu thể tua (fimbriae) này sang kiểu thể tua khác bằng cách chuyển đổi các đỉnh đầu của thể tua (fimbrial tip). Điều này làm cho phản ứng miễn dịch qua trung gian kháng thể ban đầu (original AMI) bị

lỗi thời do vi khuẩn sử dụng thể tua mới, thể tua mới này không liên kết các kháng thể trước. Vi khuẩn gây bệnh có thể làm thay đổi mục tiêu của kháng thể bằng cách thay đổi protein bề mặt. Sự biến đổi về kháng nguyên thì phổ biến trong số virus gây bệnh.

29.38. Thay đổi kháng nguyên trong giai đoạn xâm nhiễm

Trong động vật chủ, kháng nguyên có thể thay đổi trong giai đoạn xâm nhiễm. Ngoài ra kháng nguyên có thể thay đổi trong số các chủng (kiểu kháng nguyên) của một loài ký sinh trong quần thể. Sự biến đổi về kháng nguyên là một cơ chế quan trọng được vi sinh vật gây bệnh sử dụng để thoát khỏi hoạt động trung hoà của kháng thể. Sự biến đổi về kháng nguyên thường là do sự sắp xếp gen trong vi sinh vật.

29.39. Thay đổi kháng nguyên giữa các lần xâm nhiễm

Nhiều vi khuẩn gây bệnh tồn tại trong tự nhiên như là các kiểu kháng nguyên đa dạng hay gọi là kiểu huyết thanh (serotype), nghĩa là chúng được xem như là các chủng biến thể của cùng một loài vi khuẩn gây bệnh. Ví dụ nhiều kiểu huyết thanh của *Salmonella typhimurium* được xác định dựa trên sự khác nhau về các kháng nguyên thân (O) hay kháng nguyên tiên mao (H) trong thành tế bào vi khuẩn. Có 80 kiểu kháng nguyên khác nhau của *Streptococcus pyogenes* được xác định dựa trên protein M ở bề mặt tế bào. Có hơn một trăm chủng *Streptococcus pneumoniae* được xác định phụ thuộc vào kháng nguyên polysaccharide của capsule. Dựa vào sự khác nhau trong cấu trúc hoá học bề mặt, nhiều kiểu huyết thanh của *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae* và các vi khuẩn gây bệnh khác đã được xác định.

29.40. Tạo độc tố

29.40.1. Hai loại độc tố vi khuẩn

Ở cấp độ hoá học có hai loại độc tố vi khuẩn là: (a). Độc tố dạng lipopolysaccharide và (b). Độc tố protein

Độc tố dạng lipopolysaccharide: độc tố này chính thành phần lipopolysaccharide (LPS) của màng ngoài vi khuẩn Gram âm, chất này còn có tên là nội độc tố bởi vì nó liên quan đến thành tế bào vi khuẩn.

Độc tố protein: có thể được vi khuẩn gây bệnh phóng thích ra môi trường ngoại bào. Hầu hết các độc tố protein được xem như là ngoại độc tố, do chúng được phóng thích khỏi vi khuẩn và tấn công lên tế bào của động vật chủ ở xa nơi chúng được tiết ra.

29.40.2. Độc tố protein của vi khuẩn

Độc tố protein thường là dạng hòa tan, được vi khuẩn đang tăng trưởng tiết ra. Nhìn chung việc sản sinh ra độc tố có tính đặc trưng đối với loài vi khuẩn cụ thể, ví dụ chỉ có *Clostridium tetanus* sản sinh độc tố gây bệnh uốn ván hay chỉ có *Corynebacterium diphtheriae* sản sinh ra độc tố gây bệnh bạch hầu. Thường thì các chủng gây bệnh tạo ra độc tố, ngược lại các chủng không gây bệnh thì không tạo độc tố, như vậy độc tố là một yếu tố chính gây bệnh. Cả vi khuẩn Gram dương và vi khuẩn Gram âm sản sinh các độc tố protein tan được. Độc tố protein vi khuẩn là các chất có khả năng gây độc nhất có thể biểu hiện hoạt tính dù ở độ pha loãng rất cao.

Độc tố protein giống như các enzyme trong nhiều trường hợp. Ngoại độc tố có các điểm giống như enzyme như sau: (a). Là protein, (b). Bị biến tính do nhiệt, do acid, do enzyme phân giải protein, (c). Có hoạt tính sinh học cao, hầu hết là hoạt động xúc tác và (d). Có tính chuyên biệt trong hoạt động

Giống như enzyme trong tấn công cơ chất đặc trưng, vậy các độc tố protein của vi khuẩn có tính chuyên biệt cao đối với cơ chất sử dụng và kiểu tấn công của chúng. Cơ chất này (trong động vật chủ) có thể là một thành phần của tế bào mô hoặc là dịch cơ thể. Thông thường vị trí tổn thương do độc tố gây ra thì biểu thị cho vị trí cơ chất đối với độc tố đó. Các thuật ngữ được sử dụng như nội độc tố, độc tố thần kinh, leukocidin hay hemolysin đôi khi được sử dụng để biểu thị cho mục tiêu của một số độc tố protein đã được xác định rõ.

Một số độc tố protein có độc tính tế bào rất đặc hiệu, ví dụ chúng tấn công các tế bào đặc trưng, như độc tố gây bệnh uốn ván hay độc tố botulin chẳng hạn, ngược lại một số độc tố được các vi khuẩn như staphylococcus, streptococcus, clostridia, tạo ra có hoạt tính tế bào tương đối rộng, không đặc trưng, làm nhiều mô chết do hoại tử. Các độc tố nhóm phospholipase có thể liên quan đến độc tính tế bào tương đối không đặc trưng bởi vì chúng phân cắt phospholipid là các thành phần của màng tế bào chủ, làm phóng thích các thành phần tế bào, dẫn đến tế bào chết. Hoạt tính này cũng được hemolysin và leukocidin sử dụng để hình thành lỗ màng.

Một số độc tố protein hiển nhiên làm chết động vật chủ. Chúng được biết như độc tố gây chết và mặc dù các mô bị ảnh hưởng và các vị trí mục tiêu có thể biết được nhưng

cơ chế chính xác của việc gây chết do độc tố này gây ra chưa được hiểu rõ, ví dụ độc tố gây bệnh than.

Hầu hết các độc tố protein có tính kháng nguyên mạnh. Trong thí nghiệm, kháng thể đặc hiệu (kháng độc tố) trung hoà độc tính của những protein vi khuẩn này. Tuy nhiên trong cơ thể sống, kháng độc tố đặc trưng có thể không ức chế hoàn toàn hoạt tính enzyme của chúng. Điều này có thể là do yếu tố quyết định kháng nguyên của độc tố khác biệt với phần có hoạt tính enzyme của phân tử protein. Mức độ trung hoà vị trí enzyme có thể phụ thuộc vào khoảng cách vị trí của kháng nguyên trên phân tử. Tuy nhiên do độc tố bị trung hoà hoàn toàn trong thí nghiệm, nên có ý kiến cho rằng các yếu tố khác của vật chủ phải có một vai trò nào đó.

Độc tố protein vốn dĩ không ổn định nghĩa là trong khi thuộc tính độc tố của chúng bị mất đi nhưng đặc tính kháng nguyên của chúng vẫn lưu giữ được. Điều này đã được Ehrlich khám phá và ông đã đặt ra thuật ngữ biến độc tố (toxoid) cho sản phẩm này. Biến độc tố là những độc tố được giải độc tính nhưng vẫn giữ tính kháng nguyên và khả năng miễn dịch của chúng. Sự hình thành biến độc tố có thể được đẩy nhanh bằng cách xử lý độc tố với nhiều thuốc thử gồm formalin, iodine, pepsin, ascorbic acid, ketone, Hỗn hợp này được giữ ở 37° trong khoảng pH từ 6 đến 9 trong một số tuần. Các biến độc tố có thể được sử dụng trong tiêm chủng nhân tạo để chống lại các bệnh do vi sinh vật gây bệnh gây ra. Biến độc tố là những yếu tố tiêm chủng chống lại bệnh bạch hầu và uốn ván là một phần của vaccine DPT.

29.40.3. Sự sắp xếp tiểu đơn vị A + B của độc tố protein

Nhiều độc tố protein, đáng chú ý là các độc tố tấn công nội bào tế bào động vật chủ, có cấu trúc gồm hai thành phần: thành phần thứ nhất chính là tiểu đơn vị A có hoạt tính enzyme; thành phần thứ hai là tiểu đơn vị B có liên quan đến sự hình thành cầu nối với thụ thể đặc hiệu trên màng tế bào chủ nhằm mục đích chuyển phần enzyme qua màng. Thành phần enzyme không có hoạt tính cho đến khi nó được phóng thích ra khỏi độc tố nguyên thủy ban đầu. Tiểu đơn vị được A có hoạt tính enzyme nhưng lại thiếu liên kết và khả năng xâm nhập vào tế bào. Tiểu đơn vị B được phân lập có thể liên kết với tế bào mục tiêu và thậm chí ngăn chặn sự liên kết của độc tố A+B nguyên thủy, nhưng chúng lại không có độc tính. Có nhiều cách mà các tiểu đơn vị độc tố có thể được tổng hợp và sắp

xếp: kiểu A-B hay A-5B biểu thị cho các tiểu đơn vị được tổng hợp tách biệt và kết hợp với nhau bằng cầu nối không cộng hoá trị, kiểu A/B biểu thị cho tiểu đơn vị của protein riêng lẻ có thể bị tách ra bằng sự phân giải protein; kiểu A + B biểu thị cho các tiểu đơn vị protein riêng biệt, tương tác tại bề mặt tế bào mục tiêu, kiểu 5B biểu thị cho vùng liên kết được cấu tạo từ 5 tiểu đơn vị giống hệt nhau.



Hình 29.10. Cấu trúc bậc bốn của độc tố gây bệnh ho gà do *Bordetella pertussis* tạo ra. Độc tố gây bệnh ho gà là một thành viên của độc tố vi khuẩn A-B. Nó là protein có 6 đơn phân, trong đó gồm năm tiểu đơn vị riêng biệt là S1-S5. S2, S3, S4 và S5 và oligomer B, chịu trách nhiệm cho sự liên kết của độc tố với bề mặt tế bào. Mỗi tiểu đơn vị được dịch mã riêng lẻ với trình tự amino tín hiệu cuối được phân cắt trong quá trình vận chuyển vào chu chất.

S2 và S3 có chức năng như là chất dính (adhesin), S2 tạo cầu nối một cách chuyên biệt với một glycolipid gọi là lactosylceramide, chủ yếu được tìm thấy trong những tế bào biểu lông. S3 tạo cầu nối với glycoprotein chủ yếu được tìm thấy trong các tế bào thực bào.

29.40.4. Bám dính và xâm nhập của độc tố

Có ít nhất hai cơ chế xâm nhập vào tế bào mục tiêu. (a). Ở cơ chế thứ nhất gọi là xâm nhập trực tiếp, tiểu đơn vị B thuộc phức hợp độc tố ban đầu (A+B) liên kết với thụ thể chuyên biệt trên tế bào mục tiêu và cảm ứng sự hình thành lỗ thủng trên màng, thông qua đó tiểu đơn vị A được chuyển vào tế bào chất. (b). Ở cơ chế thứ hai, độc tố ban đầu tạo cầu nối với tế bào mục tiêu và cấu trúc A+B được đưa vào tế bào nhờ quá trình nhập bào qua trung gian thụ thể (RME). Độc tố được đưa vào tế bào nằm trong túi có màng bao gọi là endosome. Ion H^+ xâm nhập vào endosome làm pH bên trong giảm, dẫn đến các tiểu đơn vị A+B tách ra. Không biết làm cách nào mà tiểu đơn vị B tác động làm phóng

thích tiểu đơn vị A ra khỏi endosome để rồi sau đó tiếp cận với mục tiêu ở tế bào chất. Tiểu đơn vị B vẫn còn bên trong endosome và được tái chế thành bề mặt tế bào. Trong cả hai trường hợp, phân tử protein lớn phải được chèn vào bên trong đi qua màng lớp đôi. Hoạt động này phản ánh khả năng phức độc tố A/B ban đầu hoặc tiểu đơn vị B của phức hợp độc tố, chèn được vào bên trong lớp đôi lipid nhân tạo, tạo ra kênh thẩm ion.

29.40. 5. Các vấn đề khác

Thông thường thông tin di truyền đối với những chức năng không liên quan đến sự sống của vi khuẩn thường đặt ở ngoài nhiễm sắc thể nên các gen mã hoá cho việc sản sinh các độc tố thường đặt trên plasmid hoặc ở thực khuẩn thể gây tiềm tan (lysogenic bacteriophage). Vì vậy quá trình trao đổi di truyền ở vi khuẩn, mà đáng chú ý nhất chính là sự tiếp hợp và sự tải nạp có thể làm di chuyển các yếu tố di truyền này giữa các chủng vi khuẩn và điều này có thể đóng một vai trò quyết định về khả năng gây bệnh của vi khuẩn.

Tại sao một số vi khuẩn tạo các độc tố có độc lực mạnh như vậy (?). Đây là một vấn đề bí ẩn và câu hỏi tương tự cũng được đặt ra cho vi sinh vật tạo kháng sinh. Việc sản sinh ra độc tố có thể đóng một vai trò trong việc thích nghi của một vi khuẩn đối với một hốc cụ thể (particular niche), nhưng nó vẫn không cần thiết cho sự sống của sinh vật. Nhiều vi khuẩn sinh độc tố sống tự do trong môi trường tự nhiên và kết hợp với con người ở dạng kiểu hình giống với kiểu hình của các chủng sinh độc tố nhưng lại không có khả năng sinh độc tố.

Đã có bằng chứng thuyết phục về vai trò gây bệnh của độc tố gây bệnh bạch hầu (diphtheria), uốn ván (tetanus), botulin, độc tố gây hội chứng sốc do nhiễm độc của staphylococcus, độc tố gây phát ban đỏ của streptococcus, Và cũng đã có bằng chứng rõ ràng về mối liên quan bệnh học của độc tố gây bệnh ho gà, độc tố gây bệnh than, độc tố shiga và độc tố gây hoại tử của clostridia trong mối quan hệ giữa vật chủ - ký sinh.

Bảng 29.4. Nguồn gốc và hoạt tính của các độc tố vi khuẩn.

Tên độc tố	Vi khuẩn có liên quan	Hoạt tính
Độc tố gây bệnh	<i>Bacillus</i>	Yếu tố phù (Edema Factor-EF) là một enzyme

than (EF)	<i>anthracis</i>	adenylate cyclase, là nguyên nhân làm tăng hàm lượng AMP vòng (cAMP) nội bào trong các thực bào và hình thành các lỗ thấp ion ở các màng (sự tiêu máu - hemolysis).
Độc tố Adenylate cyclase	<i>Bordetella pertussis</i>	Hoạt động một cách cục bộ làm gia tăng hàm lượng (cAMP) nội bào trong các thực bào và hình thành các lỗ thấp ion ở các màng (sự tiêu máu - hemolysis).
Nội độc tố gây tiêu chảy (Cholera enterotoxin)	<i>Vibrio cholerae</i>	Sự ribosyl hóa ADP (ADP ribosylation) của protein G làm kích thích enzyme adenylate cyclase và làm gia tăng cAMP trong các tế bào của tuyến dạ dày ruột, gây mất nước và chất điện giải.
Độc tố <i>E. coli</i> LT	<i>Escherichia coli</i>	Tương tự như độc tố cholera
Độc tố Shiga	<i>Shigella dysenteriae</i>	Bổ chế rRNA dẫn đến làm ức chế sự tổng hợp protein ở các tế bào nhạy cảm
Độc tố botulinum	<i>Clostridium botulinum</i>	Protease phụ thuộc Zn^{++} làm ức chế sự dẫn truyền thần kinh tại các synapse thần kinh cơ làm cho liệt cơ mềm (flaccid paralysis)
Độc tố tetanus	<i>Clostridium tetani</i>	Protease phụ thuộc Zn^{++} làm ức chế sự dẫn truyền thần kinh tại các synapse bị ức chế làm cho liệt cơ cứng.
Độc tố gây bệnh bạch hầu (diphtheria)	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Sự ribosyl hóa ADP của yếu tố kéo dài 2 (elongation factor 2) làm cho ức chế sự tổng hợp protein ở các tế bào mục tiêu.
Độc tố gây bệnh ho gà (pertussis)	<i>Bordetella pertussis</i>	Ribosyl hóa ADP (ADP ribosylation) protein G ngăn chặn sự ức chế của adenylate cyclase trong các tế bào nhạy cảm.
Nội độc tố	<i>Staphylococcus</i>	Hoạt hóa quy hệ thống miễn dịch bao gồm bạch

staphylococcus*	<i>aureus</i>	cầu và đại thực bào dẫn đến nôn mửa
Toxic shock syndrome toxin (TSST-1)*	<i>Staphylococcus aureus</i>	Tấn công lên hệ thống mạch gây chứng viêm, sốt và sốc
Ngoại độc tố gây sốt (SPE) ví dụ độc tố độc tố gây sốt phát ban*	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Gây phản ứng ban đỏ cục bộ

Ghi chú: (*). Ngoại độc tố gây sốt do *Staphylococcus aureus* và *Streptococcus pyogenes* được xem là siêu kháng nguyên (superantigen). Chúng đại diện cho một họ phân tử có khả năng hoạt hóa quy mô lớn hệ miễn dịch. Các protein này chia sẻ khả năng kích thích sự gia tăng tế bào T bằng cách tương tác với các phân tử MHC Nhóm II trên APC và các chuỗi V beta đặc trưng của thụ thể tế bào T. Đặc điểm quan trọng của tương tác này sẽ làm sản sinh ra IL-1, TNF và các lymphokine khác, xuất hiện để trở thành các chất trung gian (mediator) chính của quá trình bệnh có quan đến các độc tố này.

29.40.6. Nội độc tố

Nội độc tố là chủ yếu là phức hợp lipopolysaccharide liên quan đến màng ngoài của vi khuẩn Gram âm như: *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Haemophilus* và các vi khuẩn gây bệnh hàng đầu khác. Lipopolysaccharide (LPS) tham gia nhiều chức năng của màng ngoài, đó là những chức năng thiết yếu cho sự tồn tại và phát triển của vi khuẩn, đặc biệt là trong phạm vi tương tác giữa ký sinh và vật chủ.

Bảng 29.5. Các đặc điểm của nội độc tố và ngoại độc tố vi khuẩn.

Thuộc tính	Nội độc tố	Ngoại độc tố
Chất hóa học tự nhiên	Lipopolysaccharide (mw = 10 kDa)	Protein (mw = 50-1000 kDa)
Liên quan với tế bào	Phần màng ngoài	Ngoại bào, có thể khuếch tán
Biến tính do đun sôi	Không bị biến tính	Luôn luôn bị biến tính
Tính kháng nguyên	Có	Có

Hình thành biến độc tố	Không	Có
Khả năng gây độc	Tương đối thấp	Tương đối cao
Tính đặc hiệu	Mức độ thấp	Mức độ cao
Hoạt tính enzyme	Không có	Luôn luôn có
Gây sốt	Có	Thỉnh thoảng

Hoạt tính sinh học của nội độc tố thì liên quan đến lipopolysaccharide (LPS). Phần lipid (Lipid A) liên quan đến độc tính và phần polysaccharide liên quan đến tính sinh miễn dịch (immunogenicity) hay còn gọi tính kháng nguyên (antigenicity). Kháng nguyên thành tế bào (kháng nguyên O) của vi khuẩn Gram âm là các thành phần của LPS. LPS hoạt hoá bổ thể bằng con đường properdin và có thể là một phần bệnh lý của hầu hết các bệnh do vi khuẩn Gram âm gây ra.

Hầu hết nội độc tố vẫn còn liên quan đến thành tế bào cho đến khi vi khuẩn bị phân huỷ. Trong thực tế nội độc tố từ tế bào vi khuẩn được phóng thích là do sự ly giải và tiêu hoá của thực bào. Tuy nhiên một số chủng vi khuẩn trong giai đoạn tăng trưởng sẽ phóng thích một lượng nhỏ nội độc tố ở dạng hoà tan.

Khi so sánh với các ngoại độc tố cổ điển của vi khuẩn, thì hoạt lực của nội độc tố thấp hơn và ít chuyên biệt hơn, vì chúng không có hoạt tính enzyme. Nội độc tố thì bền nhiệt, ví dụ đun sôi trong 30 phút vẫn không làm nội độc tố biến tính nhưng một số yếu tố có tính oxy hoá mạnh như superoxide, peroxide và hypochlorite sẽ dễ gây được chúng. Mặc dù nội độc tố có tính kháng nguyên mạnh, nhưng không thể bị biến đổi thành biến độc tố (toxoid). Một số thuộc tính của nội độc tố so sánh với các ngoại độc tố cổ điển được trình bày ở Bảng 29.5.

Lipopolysaccharide là các phức hợp phân tử lưỡng tính có trọng lượng phân tử khoảng 10 kDa, có sự biến động lớn trong thành phần hóa học giữa và trong số các loài vi khuẩn. LPS gồm ba phần chính đó là (i) Lipid A, (ii) lõi polysaccharide và (iii) polysaccharide O.

Lipid A là thành phần lipid của LPS. Phức hợp này chứa vùng kỵ nước, là vùng của LPS neo vào màng. Lipid A gồm một dimer phosphorylated N-acetylglucosamine

(NAG) có 6 hoặc 7 acid béo (FA) đính vào. Thường tìm thấy 6 FA. Tất cả FA trong Lipid A là bão hoà. Một số FA đính trực tiếp vào dimer NAG và các phần khác được ester hoá với 3-hydroxy acid béo. Cấu trúc của Lipid A được bảo tồn cao trong số vi khuẩn Gram âm. Lipid A ở *Enterobacteriaceae* thường không đổi.

Lõi (R) polysaccharide được đính vào vị trí thứ 6 của một nhánh NAG. Kháng nguyên R gồm chuỗi đường ngắn. Ví dụ: KDO - Hep - Hep - Glu - Gal - Glu - GluNAc.

Trong phần lõi của polysaccharide, hai chức đường đáng chú ý thường hiện diện là heptose và 2-keto-3-deoxyoctonoic acid (KDO). KDO thì duy nhất và không bị biến đổi hiện diện trong LPS và nó được xem là chất chỉ thị dùng để phát hiện LPS.

Với những biến đổi nhỏ, lõi polysaccharide là phần chung cho tất cả các thành viên thuộc một giống vi khuẩn ví dụ như *Salmonella*, nhưng lõi này cũng có khác biệt về cấu trúc trong các giống khác thuộc vi khuẩn Gram âm. *Salmonella*, *Shigella* và *Escherichia* thì tương tự nhau nhưng không có lõi giống hệt nhau.

Polysaccharide O (còn được gọi là kháng nguyên O hay chuỗi bên O) được đính vào lõi polysaccharide. Phức hợp này gồm các tiểu đơn vị oligosaccharide lặp lại, mỗi tiểu đơn vị được cấu tạo từ 3-5 chức đường. Các chuỗi riêng lẻ có chiều dài dao động trong khoảng trên 40 đơn vị lặp lại. Polysaccharide O dài hơn nhiều so với lõi polysaccharide và luôn có vùng ưa nước. Một nhóm độc đáo của các chức đường gọi là dideoxyhexose thường xuất hiện trong polysaccharide O.

Yếu tố quyết định kháng nguyên chính (vị trí kết hợp kháng) của thành tế bào vi khuẩn Gram âm nằm trong polysaccharide O. Giữa các loài và thậm chí giữa các chủng vi khuẩn Gram âm có sự đa dạng lớn về thành phần chức đường thuộc chuỗi bên O.

29.40.7. LPS và độc tính của vi khuẩn Gram âm

Nội độc tố có tính độc đối với hầu hết động vật có vú. Chúng có tính kháng nguyên mạnh nhưng hiếm khi gây ra các phản ứng miễn dịch bảo vệ đầy đủ để động vật chống lại thách thức thứ cấp đối với nội độc tố. Chúng có thể không bị biến độc tính. Nội độc tố được phóng thích từ những vi khuẩn đang phân đôi hoặc đang bị phân huỷ sẽ góp phần đáng kể vào các triệu chứng do vi khuẩn Gram âm gây ra như du khuẩn huyết (bacteremia) và nhiễm trùng máu. Vì vậy nội độc tố đại diện cho các yếu tố gây bệnh quan trọng trong các bệnh nhiễm trùng vi khuẩn Gram âm. Nếu bỏ qua nguồn gốc vi

khuẩn, thì tất cả nội độc tố sẽ tạo ra khoảng tác động sinh học tương tự nhau trong động vật chủ. Việc tiêm tế bào vi khuẩn Gram âm còn sống, đã chết hay LPS đã được tinh sạch vào động vật thực nghiệm sẽ tạo ra phổ rộng các phản ứng sinh lý bệnh học liên quan đến sự viêm nhiễm như: gây sốt, thay đổi về số lượng tế bào máu trắng, gây đông máu rải rác nội mạch (DIC), gây hoại tử khối u, làm giảm huyết áp (hypotension), gây sốc và gây chết.

Trình tự các trường hợp như sau: 1. Giai đoạn tiềm ẩn; 2. Tình trạng nguy cấp về sinh lý như sốt, tiêu chảy, mệt mỏi, sốc; 3. Gây chết. làm thế nào mà cái chết xảy ra nhanh và biến đổi đối với liều nội độc tố, đường vào của nội độc tố (route of administration) và loài động vật. Động vật thì thay đổi về khả năng nhạy cảm của chúng đối với nội độc tố.

29.40.8. Vai trò của Lipid A

Hoạt tính sinh lý của nội độc tố chủ yếu gián tiếp qua thành phần Lipid A của LPS. Lipid A là thành phần gây độc, bằng chứng là khi tiêm Lipid A tinh sạch vào động vật thí nghiệm sẽ có phản ứng tương tự như khi tiêm LPS còn nguyên vẹn. Cấu trúc sơ cấp của Lipid A đã được làm sáng tỏ và Lipid A cũng đã được tổng hợp bằng con đường hoá học. Hoạt tính sinh học của nó phụ thuộc vào cấu tạo khác thường đó là glucosamine disaccharide, nhóm PO_4 , chuỗi acyl và cũng có lõi chứa KDO bên trong. Lipid A phản ứng với các bề mặt thực bào làm cho chúng phóng thích cytokine làm trung gian cho phản ứng sinh lý bệnh học của nội độc tố.

29.40.9. Vai trò của polysaccharide O

Ở vi khuẩn Gram âm, mặc dù chuỗi bên polysaccharide (kháng nguyên O) của LPS không có độc tính nhưng chúng có thể hoạt động như là yếu tố quyết định độc tính. Polysaccharide O đóng vai trò trong hình thành đặc tính nhẵn (smoothness) của tế bào vi khuẩn, góp phần cho khả năng kháng lại sự nhúng chìm do thực bào. Polysaccharide O có tính ưa nước (hydrophilic) và có thể cho phép khuếch tán hoặc vận chuyển lipid có tính độc vào môi trường ưa nước. Polysaccharide O có thể ngăn chặn bề mặt của động vật chủ khỏi sự lắng đọng trên bề mặt tế bào vi khuẩn để có thể làm ly giải tế bào vi khuẩn. Polysaccharide O có thể cung cấp cho vi khuẩn các phối tử chuyên biệt dùng làm yếu tố dính cho sự kết cụm, đây là sự thiết yếu để biểu hiện tính độc. Cuối cùng, polysaccharide O có tính kháng nguyên và là nền tảng cho sự đa dạng về kháng nguyên ở vi khuẩn Gram

âm do sự khác nhau ở polysaccharide O của chúng.

29.41. Vùng gen gây bệnh

Vùng gen gây bệnh (Pathogenicity Islands-PAI), thuật ngữ này được đưa ra vào năm 1990, là nhóm riêng biệt của vùng gen thuộc bộ gen (genomic island), mắc phải qua quá trình chuyển gen theo chiều ngang. Vùng gen gây bệnh này (PAI), có tài liệu khác gọi là đảo gây bệnh, kết hợp với bộ gen của vi khuẩn gây bệnh nhưng thường không thấy ở các vi sinh vật tương tự nhưng không gây bệnh hoặc các loài có mối quan hệ gần. PAI chiếm lấy những vùng gen tương đối lớn khoảng 10-200 kb và mã hóa cho các gen có vai trò cho sự gây độc của đối tượng gây bệnh. Ví dụ điển hình là yếu tố dính, độc tố, hệ thống thu nhận sắt, chất xâm lấn,

Một loài vi khuẩn có thể có nhiều hơn một vùng gen gây bệnh. Ví dụ, ở *Salmonella* có năm vùng gen gây bệnh đã được xác định. Chúng chủ yếu được phát hiện ở vi khuẩn Gram âm nhưng đôi khi cũng phát hiện trong một số vi khuẩn Gram dương. Vùng gen gây bệnh này được tìm thấy trong các đối tượng gây bệnh trải qua sự chuyển gen nhờ công cụ plasmid, phage hay gen nhảy do tiếp hợp (conjugative transposon) và được chuyển qua cơ chế chuyển gen theo chiều ngang (HGT).

PAI có thể nằm trên nhiễm sắc thể hoặc có thể là một phần của plasmid vi khuẩn. PAI có thành phần Guanine + Cytosine cao. Chúng chèn trực tiếp các trình tự lặp lại vào bên hông nhiễm sắc thể hay plasmid. Chúng có liên quan đến các gen tRNA, các vị trí mục tiêu liên quan đến việc tổng hợp DNA. PAI có đặc điểm của gen nhảy (transposon), mang các gen chức năng ví dụ như gen mã hoá cho enzyme integrase, transposase, hay một phần của các trình tự chèn vào có thể di chuyển từ một tRNA locus này sang một locus khác trên nhiễm sắc thể hay plasmid.

PAI đóng một vai trò then chốt trong việc gây độc của vi khuẩn gây bệnh cho người cũng như có vai trò thiết yếu về độc lực của các đối tượng gây bệnh cho động vật và thực vật. Sự có sẵn của một lượng lớn các trình tự bộ gen vi khuẩn gây bệnh và vi khuẩn không gây bệnh cho phép xác định các vùng gen gây bệnh và đặc trưng mới thuộc bộ gen. Rõ ràng PAI mắc phải trong quá trình hình thành loài do tiến hoá của đối tượng gây bệnh có nguồn gốc từ tổ tiên không gây bệnh hoặc tổ tiên thuộc môi trường. Sự mắc phải PAI không những chỉ là sự kiện tiến hoá từ xa xưa làm xuất hiện vi khuẩn gây bệnh

trong thang thời gian hàng triệu năm mà còn có thể là đại diện cho một cơ chế để góp phần làm nảy sinh các đối tượng gây bệnh mới trong quãng đời của con người. Hiểu biết về sự mắc phải, cấu trúc, khả năng di chuyển và yếu tố gây bệnh mà PAI mã hoá không những chỉ giúp hiểu biết tốt hơn về sự tiến hoá và tương tác của vi khuẩn gây bệnh đối với tế bào chủ là eukaryote mà còn có thể có những đóng góp quan trọng trong áp dụng thực tiễn như chế tạo vaccine và là những công cụ để phát triển chiến lược mới về liệu pháp điều trị bệnh xâm nhiễm do vi khuẩn gây ra.

PAI đại diện cho yếu tố di truyền mã hoá cho yếu tố gây bệnh nhưng chúng lại thuộc nhóm gen chung của bộ gen có nguồn gốc từ sự chuyển gen theo chiều ngang (genomic island), chúng là những yếu tố di truyền phổ biến cùng chia sẻ về tập hợp các đặc tính đồng nhất (unifying feature). Đảo gen (genomic island) là một phần của bộ gen được mắc phải do sự chuyển gen theo chiều ngang (HTG). Trong những năm gần đây nhiều genomic island khác nhau đã được khám phá có sự đa dạng về gây bệnh cũng như về vi khuẩn gây bệnh. Do chúng thúc đẩy sự thay đổi về di truyền (genetic variability) nên vùng gen thuộc đảo gen này đóng vai trò quan trọng trong tiến hoá vi sinh vật.