

PSG. TS. PHẠM VĂN TY

# VIRUT HỌC



NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC



PGS. TS. PHẠM VĂN TY

# VIRUT HỌC

*(Sách dùng cho sinh viên ngành Khoa học tự nhiên)*

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC



# Lời giới thiệu

---

Virut là một loại vi sinh vật rất đặc biệt. Chúng rất nhỏ bé, chỉ có thể quan sát được dưới kính hiển vi điện tử. Chúng lại chưa có cấu trúc tế bào nên bắt buộc phải ký sinh nội bào trên cơ thể một sinh vật khác ; có thể kể đến virut của vi khuẩn (bacteriophage), của xạ khuẩn (actinophage), của vi khuẩn lam (cyanophage), của nấm (mycophage), của tảo (phycophage), của thực vật (plant viruses), của động vật nguyên sinh (protozoal viruses), của động vật không xương sống (invertebrate viruses), của côn trùng - (insect viruses) và của động vật có xương sống (bao gồm cả người) (vertebrate viruses). Chúng chỉ cấu tạo bởi một vỏ protein bao bọc bên ngoài một lõi axit nucleic. Chúng có thể kết tinh thành tinh thể và tồn tại lâu dài như một hoá chất. Tuy nhiên, chúng có đầy đủ các hoạt động sống như di truyền, biến dị, tăng trưởng, sinh sản, truyền nhiễm..., mặc dầu các hoạt động này đều phải gắn liền với tế bào vật chủ. Số loài virut là rất lớn và chưa có thể thống kê hết được. Chẳng hạn riêng các virut thực vật hiện đã biết trên 1000 loài. Năm 1960, Ủy ban quốc tế phân loại virut International Committee for the Taxonomy of Viruses (ICTV) được thành lập, từ đó đến nay đã có nhiều cuộc thảo luận và đã có được một hệ thống phân loại khá ổn định. Năm 1990, ICTV đã xác định được 20 nguyên tắc dùng để định tên virut và năm 1995 đã đưa ra hệ thống phân loại các virut động vật gồm 23 họ khác nhau. Năm 2000, ICTV đưa ra hệ thống phân loại virut thực vật bao gồm 15 họ và 73 chi...

Nhân loại quan tâm rất nhiều đến virut trước hết là vì tính năng gây các bệnh truyền nhiễm cho người, gia súc, gia cầm, cây trồng, cây rừng và các vi sinh vật sử dụng trong công nghệ lên men... Chúng ta đều biết đến mối đe dọa của vô số các bệnh hiểm nghèo do virut gây ra ở người (bệnh dại, viêm não, viêm màng não, viêm gan, quai bị, tiêu chảy, sốt vàng, cảm lạnh, cúm, đậu mùa, thủy đậu, zona, herpes, viêm phổi, sốt xuất huyết, ung thư bạch cầu, SARS, AIDS và gần đây nhất là nguy cơ lây virut H5N1 từ gia cầm sang người...). Ngành nông nghiệp cũng hết sức lúng túng trước các bệnh nghiêm trọng do virut gây nên mà chưa có thuốc phòng trừ đặc hiệu (bệnh khảm ở thuốc lá, đu đủ, khoai tây, dưa chuột, ..., bệnh xoắn lá cà chua, bệnh vàng lùn ở lúa,...). Công nghệ lên men nhờ vi khuẩn để tạo ra thuốc kháng sinh, sản xuất bột ngọt, lizin, enzym, dung môi hữu cơ, axit hữu cơ, thuốc trừ sâu BT,... cũng luôn luôn bị đe dọa bởi thực khuẩn thể (bacteriophage).

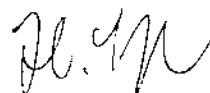
Trong nhiều năm qua, ngành Virut học (Virology) ở nước ta đã có những bước tiến bộ đáng kể. Chúng ta đã đủ khả năng phân lập và xác định các virut gây bệnh, đã sản xuất được rất nhiều loại vacxin chống virut, kể cả các vacxin tái tổ hợp như vacxin phòng chống viêm gan B, vacxin cúm,... Việc nghiên cứu chẩn đoán và phòng tránh các bệnh virut cho gia súc, gia cầm, cho tôm, cá... cũng đã có được những thành tựu không nhỏ.

Tuy nhiên, các tài liệu giáo khoa về Virut học ở nước ta còn rất hiếm hoi và vì vậy làm hạn chế hiểu biết về virut của các cán bộ khoa học, cán bộ kỹ thuật làm công tác có liên quan đến virut (phòng chống bệnh truyền nhiễm, thú y, bảo vệ thực vật, công nghệ lên men nhờ vi khuẩn và xạ khuẩn...).

Cuốn sách **Virut học** của tác giả Phạm Văn Ty đáp ứng được nhu cầu này của đông đảo sinh viên Y khoa, Sinh học, Nông nghiệp, Thủy sản và các cán bộ làm việc trong các ngành nói trên. Sách được viết trên cơ sở các tài liệu cập nhật và được trình bày một cách dễ hiểu với những tranh ảnh minh họa rất sáng sủa.

Với hy vọng đưa được kiến thức về virut học đến số đông sinh viên và bạn đọc rộng rãi, tôi vui mừng được giới thiệu cuốn sách được viết rất nghiêm túc và rất bổ ích này.

**Hà Nội, mùa Thu năm 2004**



**GS.TSKH. Hoàng Thuỷ Nguyễn**

**Chủ tịch Hội Vi sinh vật học Việt Nam**



# Lời nói đầu

---

*Virut là ký sinh nội bào bắt buộc, có khả năng gây bệnh ở mọi cơ thể sống từ vi khuẩn đến con người. Trong lịch sử loài người, số người chết trong những trận dịch do virut gây ra còn lớn hơn tất cả các cuộc chiến tranh, xung đột sắc tộc, tôn giáo, nạn đói, các vụ động đất, lũ lụt và tai nạn giao thông cộng lại. Nhân loại luôn bàng hoàng trước các trận dịch do virut gây ra. Năm 1918, dịch cúm đã làm cho phân nửa dân số địa cầu mắc bệnh và cướp đi 20 triệu người. Thực tế cho thấy từ những thập kỷ cuối thế kỷ XX trở đi ngày càng xuất hiện những bệnh virut mới lạ ở người và gia súc, đe dọa cuộc sống loài người. Đại dịch HIV và hàng loạt các bệnh mới khác như SARS, cúm gà H5N1, Ebola, Marburg, Hanta,... luôn là nỗi ám ảnh đối với loài người.*

*Virut gây bệnh ở động vật đã khiến người ta phải giết bỏ cả đàn gia súc, gia cầm, gây thiệt hại lớn cho ngành chăn nuôi. Virut gây bệnh ở tôm là nguyên nhân khiến cho nhiều ao tôm chết hàng loạt. Virut gây bệnh thực vật cũng là thủ phạm gây thất bát mùa màng.*

*Với những lý do trên, việc nghiên cứu virut luôn được đẩy mạnh và đã trở thành một trong những ngành khoa học quan trọng hàng đầu trong Sinh học, Y học, Nông nghiệp và Nuôi trồng thủy sản. Có thể nói nửa sau của thế kỷ XX, virut học đã có những bước tiến không ngừng và đã thu được những thành quả lớn lao. Nhiều virut gây bệnh mới đã được phân lập và tìm hiểu bản chất sinh học. Nhiều loại vacxin thế hệ mới dựa trên các kỹ thuật của công nghệ sinh học đã ra đời, nhiều biện pháp trị liệu mới cũng được áp dụng. Việc xoá bỏ vĩnh viễn bệnh đậu mùa vào năm 1977 và sắp tới là bệnh bại liệt ở quy mô toàn cầu, được coi là thành tựu vĩ đại của Y học.*

*Mặt khác, do có cấu tạo đơn giản và do có hệ gen nhiều kiểu với cơ chế tái bản khác hẳn các cơ chế đơn bào và đa bào nên virut được chọn làm mô hình lý tưởng để nghiên cứu nhiều cơ chế sinh học ở mức phân tử, dẫn đến cuộc cách mạng sinh học cận đại vào giữa thế kỷ XX - Sinh học phân tử, Di truyền học phân tử. Do đó, nội dung giảng dạy môn virut học đại cương về thực chất cũng là giảng dạy về sinh học phân tử - một đòi hỏi của thời đại. Môn virut học vì thế cũng cần được nâng cao hơn.*

*Ở Việt Nam, Virut học chưa thực sự phát triển để trở thành một ngành nghiên cứu độc lập. Tuy nhiên những nghiên cứu lẻ tẻ về các virut gây bệnh cũng đang được tiến*

*hành tại các Viện Vệ sinh Dịch tễ học Trung ương và Thành phố Hồ Chí Minh, Viện Công nghệ Sinh học và một số trường Đại học Nông nghiệp.*

*Cuốn sách này nhằm giới thiệu cho sinh viên, nghiên cứu sinh, và các cán bộ khoa học có liên quan những kiến thức cơ bản mới nhất về virus học trong vài chục năm gần đây. Mặc dù không phải là cuốn sách chuyên khoa y học, nhưng vì mong muốn cuốn sách hữu ích hơn đối với đông đảo bạn đọc, nên đối với các virus có tầm quan trọng đều có trình bày về đặc điểm lâm sàng, sinh bệnh học, dịch tễ học và cách phòng chống.*

*Tốc độ phát triển của Virus học rất nhanh chóng, trong khi tầm nhìn của tác giả lại còn nhiều hạn chế, do vậy những khiếm khuyết trong cuốn sách này là không thể tránh khỏi. Tác giả xin chân thành cảm ơn và mong nhận được sự góp ý của độc giả xa gần.*

***Hà Nội, mùa Thu năm 2004***

**TÁC GIẢ**

## CÁC CHỮ VIẾT TẮT

|            |                                                                                                         |               |                                                                                        |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| AAV        | Adeno associated virus<br>(virus kết hợp adeno)                                                         | HCV           | Hepatitis C virus (virus viêm gan C)                                                   |
| AIDS       | Arquired immune deficiency syndrom<br>(hội chứng thiếu hụt miễn dịch<br>mắc phải)                       | HCoV          | Human corona virus<br>(virus corona ở người)                                           |
| ADCC       | Antibody dependent cell mediated<br>cytotoxicity (gây độc tế bào qua trung<br>gian tế bào phụ thuộc KT) | HDV, HEV, HGV | Virus viêm gan D, E, G                                                                 |
| CD4        | Clusted of differentiation (thụ thể CD4)                                                                | HI test       | Hemagglutination inhibition test<br>(thử nghiệm ức chế ngưng kết hồng cầu)             |
| CF         | Complement fixation (cố định bổ thể)                                                                    | HIV           | Human immunodeficiency virus<br>(virus HIV)                                            |
| CMV        | Cytomegalovirus ( <i>Virut cytomegals</i> )                                                             | HLI test      | Hemolysis inhibition test<br>(thử nghiệm ức chế tan máu)                               |
| CPE        | Cell pathogenic effect<br>(hiệu ứng huỷ hoại tế bào)                                                    | HPV           | Human papiloma virus<br>(virus papiloma ở người)                                       |
| c-onc      | Cell oncogene (gen ung thư của tế bào)                                                                  | HSV           | Herpes simplex virus<br>(virus Herpes simplex)                                         |
| ĐTĐ        | Đại thực bào                                                                                            | HTLV          | Human T lymphotropic virus<br>(virus gây bệnh tế bào T ở người)                        |
| ĐƯMD       | Đáp ứng miễn dịch                                                                                       | IFA           | Inderect fluorescent antibody assay<br>(thử nghiệm kháng thể huỳnh quang<br>gián tiếp) |
| ĐVCXS      | Động vật có xương sống                                                                                  | IFN           | Interferon                                                                             |
| ĐVKXS      | Động vật không xương sống                                                                               | IL            | Interleukin                                                                            |
| EIA        | Enzyme immunoassay<br>(thử nghiệm MD gắn enzym)                                                         | KN            | Kháng nguyên                                                                           |
| ELISA      | Enzyme linked immunsorbent assay<br>(kỹ thuật hấp phụ miễn dịch gắn enzym)                              | KT            | Kháng thể                                                                              |
| Env        | Envelope (vỏ ngoài của virus)                                                                           | LA            | Latex agglutination<br>(ngưng kết hạt Latex)                                           |
| EF         | Elongation factor (yếu tố kéo dài)                                                                      | LCMV          | Lymphocytic chonomeningitis virus<br>(viêm màng não màng đệm lympho bào)               |
| EBV        | Epstein-Barr virus (virus Epstein-Barr)                                                                 | LTR           | Long terminal repeat<br>(đoạn lặp lại dài ở đầu chuỗi)                                 |
| IF         | Immunofluoresence<br>(miễn dịch huỳnh quang)                                                            | MD            | Miễn dịch                                                                              |
| gp         | Glycoprotein                                                                                            |               |                                                                                        |
| HAV, (HBV) | Hepatitis A (B) virus<br>(virus viêm gan A, B)                                                          |               |                                                                                        |

|                                      |                                                                                 |                |                                                                               |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| MHC                                  | Major histocompatibility complex<br>(phức hợp hoà hợp mô chính)                 | TCR            | T cell receptor (thụ thể tế bào T)                                            |
| NST                                  | Nhiễm sắc thể                                                                   | T <sub>H</sub> | Helper T cell (tế bào T trợ giúp)                                             |
| PHA                                  | Passive hemagglutination (ngưng kết hồng cầu bị động)                           | TK             | Timidin kinaza                                                                |
| PrP                                  | Prion protein (protein prion)                                                   | TMV            | Tobacco mosaic virus<br>(virus khảm thuốc lá)                                 |
| PrP <sup>C</sup> , PrP <sup>SC</sup> | Protein prion của tế bào<br>(c=celular), protein prion gây bệnh<br>(sc=scrapie) | TNF            | Tumor necrosis factor<br>(yếu tố hoại tử ung thư)                             |
| RF                                   | Replicative form (dạng sao chép)                                                | WHO            | World Health Organization<br>(Tổ chức Y tế Thế giới)                          |
| RI                                   | Replicative intermediate form<br>(dạng trung gian sao chép)                     | TTK            | Thế thực khuẩn                                                                |
| RSV                                  | Rous sarcoma virus (virus sarcoma Rous)                                         | U <sub>L</sub> | Long sequence unique<br>(đoạn dài duy nhất)                                   |
| RT-PCR                               | Reverse transcription PCR<br>(PCR - phiên mã ngược)                             | U <sub>S</sub> | Short sequence unique<br>(đoạn ngắn duy nhất)                                 |
| SARS                                 | Severe acute respiratory syndrome<br>(hội chứng viêm đường hô hấp cấp)          | RdRp           | RNA dependent RNA polymerase<br>(ARN polymeraza phụ thuộc ARN)                |
| T <sub>C</sub>                       | Cytotoxic T cell (tế bào T độc)                                                 | VZV            | Varicella-Zoster virus<br>(virus Varicella-Zoster<br>(một loại virus herpes)) |



# A - PHẦN ĐẠI CƯƠNG

---

## Chương 1

### NHỮNG KHÁI NIỆM CƠ BẢN VỀ VIRUT

#### 1.1. VÀI NÉT LỊCH SỬ

Một thế kỷ trước đây, virut được coi là một chất độc mơ hồ luôn gắn liền với bệnh tật. Thuật ngữ "virut" cũng bắt nguồn từ tiếng Latinh "Virus" có nghĩa là chất độc. Vào năm 1884, Charles Chamberland – một cộng tác viên của Viện Pasteur Paris đã dùng màng lọc bằng sứ để tách các vi khuẩn nhỏ nhất và vào năm 1892 nhà nghiên cứu bệnh học thực vật người Nga Dimitri Ivanopski đã sử dụng màng lọc Chamberland để nghiên cứu bệnh khảm thuốc lá. Ông nhận thấy dịch ép lá cây bị bệnh đã cho qua màng lọc vẫn có khả năng nhiễm bệnh cho cây lành. Mặc dù không nhìn thấy bất kỳ vi sinh vật nào nhưng ông cũng thông báo rằng chính "virut qua lọc" là tác nhân gây bệnh. Thời bấy giờ nhận định này có ý nghĩa quan trọng, bởi vì các nhà khoa học vẫn chưa biết được một tác nhân gây bệnh nào nhỏ hơn vi khuẩn.

Năm 1898, Martinus Beijerinck lặp lại thí nghiệm của Ivanopski và nhận thấy virut có thể qua được bản gel và hoạt lực vẫn còn trong lá và đất khô nhưng hiệu lực bị mất nhanh chóng khi đun sôi. Ông kết luận đây là "chất độc sống" (contagium vivum fluidum) chứ không phải là vật thể rắn. Cũng vào năm ấy Paul Frosch và Friederich Löffler thông báo bệnh lở mồm long móng ở ngựa cũng do virut qua lọc gây nên.

Năm 1901, Walter Reed và nhóm cộng tác của ông ở Cuba phát hiện tác nhân gây bệnh sốt vàng cũng là virut qua lọc. Sau đó các nhà khoa học đã tìm ra một số loại virut, ví dụ virut gây bệnh dại, virut đậu mùa không dễ gì chui qua màng lọc do vậy các tác nhân gây bệnh chỉ đơn giản gọi là "virut".

Năm 1915, nhà vi khuẩn học người Anh Friderich Twort và năm 1917 nhà khoa học Pháp Felix d'Herrelle thuộc viện Pasteur (Paris) đã phát hiện ra một dạng virut đặc biệt ký sinh trong tế bào vi khuẩn phá huỷ vi khuẩn và đặt tên là "Bacteriophage", có nghĩa là thể thực khuẩn hay gọi tắt là phage. Thời ấy D'Herrelle tin rằng có thể dùng thể thực khuẩn để diệt vi khuẩn nhiễm vào cơ thể nhưng những khám phá sau đó cho thấy thể thực khuẩn có tính đặc hiệu rất cao đối với vi khuẩn mà chúng ký sinh và chúng bị loại khỏi cơ thể rất nhanh chóng. Do tính đặc hiệu này, ngày nay chúng được sử dụng như là công cụ quan trọng trong nghiên cứu biến nạp và nhận dạng vi khuẩn.

Nhiều năm trôi qua, danh sách các bệnh do virut ngày càng dài. Những nghiên cứu virut đã trở nên dễ dàng hơn khi người ta phát hiện ra các biện pháp nuôi chúng trong phôi gà. Vì nhân lên được trong phôi gà nên mặc dù có kích thước vô cùng nhỏ bé virut

vẫn được quả quyết cho rằng là phân tử sống. Nhưng vào năm 1935 Wendel M. Stanley thuộc Viện Rockefeller đã đưa ra một thông báo gây chấn động dư luận rằng ông đã kết tinh được virus khảm thuốc lá. Điều này tăng thêm mối hoài nghi về bản chất sống của virus. Phải chăng một sinh vật sống có thể là tinh thể ?

Vào những năm 40, các nhà nghiên cứu đã đưa virus học đến kỷ nguyên mới do hai tiến bộ kỹ thuật trong thời kỳ này. Đó là kính hiển vi điện tử và nuôi cấy virus trong bình nuôi cấy mô tế bào.

Như vậy, nhờ một thiết bị kỹ thuật màng lọc đã đem lại khái niệm ban đầu về virus và sau đó nhờ một thiết bị kỹ thuật khác – Kính hiển vi điện tử (với chùm tia điện tử có độ dài bước sóng cực ngắn, làm tăng độ phân giải và tăng khả năng phóng đại) đã quan sát được virus, tìm hiểu được bản chất và chức năng của chúng. Từ việc nuôi thành công virus trong bình đã chế được vaccine chống một số bệnh virus.

Năm 1952, A. D. Hershey đã chứng minh vật chất di truyền ở thể thực khuẩn là ADN. Năm 1955, H. L. Fraenkel Conrat lắp ráp thành công lõi axit nucleic vào vỏ capsit của virus khảm thuốc lá và 10 năm sau, năm 1965, Spiegelman lắp ráp thành công chuỗi ADN của thể thực khuẩn  $\phi$ X174. Năm 1970, Q. Baltimore và H.M. Temin phát hiện enzym phiên mã ngược ở virus *Retro* chứa ARN chuỗi đơn.

Các nghiên cứu về virus ngày càng thu được nhiều thành tựu mới mẻ góp phần quan trọng vào việc đẩy lùi nhiều bệnh virus ở người, động vật nuôi và cây trồng đồng thời góp phần vào sự phát triển chung của sinh học hiện đại.

## 1.2. HÌNH THÁI VÀ CẤU TRÚC CỦA VIRUS

Virus là tác nhân nhỏ nhất có thể gây bệnh ở vật thể sống. Kích thước của chúng giới hạn từ 250nm (đối với virus *pox*) đến 20nm (đối với virus *parvo*). Như vậy virus lớn nhất có kích thước xấp xỉ kích thước của tế bào nhỏ nhất như *Chlamydiae* và *Mycoplasma*, còn virus nhỏ nhất lại có cùng đường kính tương ứng với phân tử ADN. Nếu so với *E. coli* thì virus lớn nhất cũng chỉ có kích thước bằng 1/10 còn virus nhỏ nhất chỉ có kích thước bằng 1/100.

Tất cả các virus đều có cấu tạo rất đơn giản, bao gồm hai thành phần cơ bản là axit nucleic ở bên trong gọi là **lõi (genom)** và vỏ protein bao bọc bên ngoài để bảo vệ genom gọi là **capsit**. Phức hợp gồm axit nucleic và capsit được gọi là **nucleocapsit**. Một số còn có vỏ bao bọc xung quanh vỏ capsit gọi là **vỏ ngoài (envelope)**. Virus hoàn chỉnh còn được gọi là **virion** và từ đây chúng ta dùng hai thuật ngữ virus và virion như nhau.

### 1.2.1. Genom của virus

Virus chỉ chứa ADN hoặc ARN mà không bao giờ chứa cả hai loại. Điều này ngược lại với các cơ thể có cấu tạo tế bào – trong mỗi tế bào bao giờ cũng có cả hai loại axit nucleic. Hơn nữa genom ở cơ thể bậc cao, cả ở động vật và thực vật bao giờ cũng là ADN chuỗi kép. Còn genom, của virus có thể là ADN hoặc ARN ở dạng chuỗi đơn hoặc

chuỗi kép. Cả 4 loại genom ADN chuỗi kép, ADN chuỗi đơn, ARN chuỗi kép, ARN chuỗi đơn đều tìm thấy trong số các virus động vật, thực vật và vi sinh vật.

Trong tế bào bị nhiễm, genom virus được phiên mã, dịch mã để tạo thành các protein cấu trúc (protein tạo capsit), protein không cấu trúc (các enzym cần cho sao chép) và tạo các bản sao genom (axit nucleic lõi) dùng cho lắp ráp các virus mới. Kích thước genom rất khác nhau từ 3500 nucleotit (như ở phage nhỏ) đến 280000bp (base pair), ví dụ ở virus *herpes* là 560000 nucleotit. Trình tự của genom virus phải được giải mã nhờ tế bào vật chủ nên các tín hiệu điều khiển nằm trên genom phải được các yếu tố của tế bào nhận biết. Genom virus rất nhỏ, do đó trong quá trình tiến hoá để sử dụng tối đa tiềm năng gen của mình, ở virus có hiện tượng các gen chồng lên nhau và cắt nối mARN là rất phổ biến.

Đặc điểm của genom virus là :

- + Genom ADN kép thường ở virus có kích thước lớn nhất, genom ADN mạch đơn thường ở virus có kích thước nhỏ hơn.
- + Genom ARN kép tất cả đều phân đoạn.
- + Genom ARN đơn được quy định là genom (+) và genom (-) dựa theo trình tự nucleotit của mARN.
- + Phần lớn genom ARN mạch đơn là genom không phân đoạn (trừ virus cúm và HIV).
- + Genom của *Hepadnaviridae* được tổng hợp trong tế bào gan thông qua ARN trung gian.

#### **1.2.1.1. Genom ADN của virus**

ADN của virus có thể ở dạng vòng, xoắn (virus *papova*) hoặc dạng thẳng, chuỗi kép (virus *herpes*, *adeno*). ADN phiên mã trong nhân và được kiểm soát bởi hệ enzym của tế bào. Gen mã hoá cho protein nằm ở các vị trí khác nhau trên ADN. Ở virus *adeno* các gen này nằm trên cả hai mạch. Ở hai đầu mạch thường có trật tự thẳng lặp lại và trái chiều có thể bắt cặp với nhau làm cho phân tử có dạng vòng. Hàm lượng guanosin và cytosin trong ADN dao động từ 36% ở virus *pox* đến 70% ở virus *herpes*. Nhiều ADN và một số ARN của virus còn chứa các trình tự nucleotit "thừa" (không làm nhiệm vụ mã hoá) ở đầu chuỗi.

Sau đây là một số ví dụ về genom ADN của các virus.

##### **1.2.1.1.1. Virus có ADN kích thước lớn**

Genom của các virus thuộc họ *Herpesviridae* có kích thước thay đổi từ virus *herpes simplex* và *varicella zoster* (120 – 180kbp) đến virus *cytomegalo* và HHV – 6 (180 – 230kbp). ADN mã cho hơn 40 protein của virion và hơn 40 protein không cấu trúc (chỉ thấy ở trong tế bào nhiễm). Cấu trúc ADN thay đổi ít giữa các thành viên của nhóm. Chúng là loại duy nhất chứa các đoạn đồng phân (isomer) của cùng một phân tử. Genom của *herpes simplex* chứa hai phần nối với nhau bằng liên kết cộng hoá trị, một

vùng dài duy nhất ( $U_L$ ) và vùng ngắn duy nhất ( $U_S$ ), ở hai đầu mỗi vùng là các đoạn lặp lại trái chiều. Các đoạn lặp lại này cho phép sắp lại cấu trúc của các vùng duy nhất và do vậy tạo ra 4 đồng phân có chức năng giống nhau (hình 1.1).

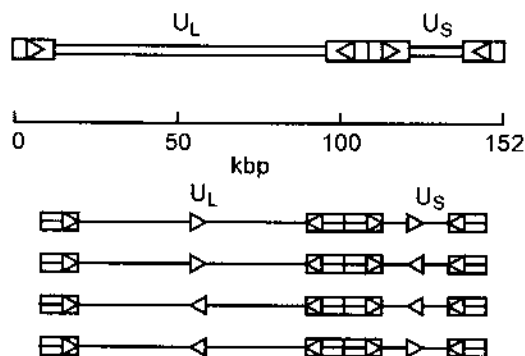
Genom virus *herpes* cũng chứa nhiều đoạn lặp lại (multiple repeated sequences). Các đoạn này rất khác nhau ở các virus khác nhau làm cho genom thay đổi rất nhiều (lớn hơn hoặc nhỏ hơn so với kích thước trung bình).

Genom của virus *adeno* nhỏ hơn, khoảng 30 – 38kbp. Mỗi virus chứa 30 – 40 gen. Trình tự tận cùng của mỗi sợi là một đoạn lặp trái chiều khoảng 100 – 180bp và do đó các chuỗi đơn biến tính có thể kết hợp tạo nên cấu trúc "pan-handle", đó là các chuỗi dài và mảnh nối với nhau thành vùng và đóng vai trò quan trọng trong sao chép. Ở đầu 5' của genom có gắn một protein 55kDa hoạt động như là đoạn mồi để tổng hợp sợi ADN mới (hình 1.2).

Điều đáng lưu ý là trong khi ở virus *herpes*, mỗi gen có một promoter riêng thì ở virus *adeno* genom có các cụm gen, mỗi cụm có một đoạn khởi đầu chung (promoter).

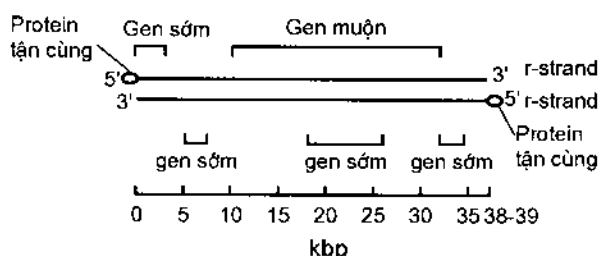
#### 1.2.1.1.2. Các virus có ADN kích thước nhỏ

Genom virus *parvo* là ADN mạch đơn, dạng thẳng, không phân đoạn kích thước khoảng 5kb. Đa số các sợi ADN trong virion là sợi (-). Genom chỉ gồm 2 gen, gen rep mã cho enzym dùng cho phiên mã và gen cap mã cho protein vỏ. Cuối của genom có các đoạn xuôi ngược như nhau (palindromic sequences) dài khoảng 115 nucleotit tạo thành cấu trúc dạng cặp tóc (hairpin) dùng cho khởi đầu sao chép. Virus *polyoma* có genom là ADN mạch kép (hình 1.3), khép vòng chứa khoảng 5kb. ADN ở dạng siêu xoắn và liên kết với 4 histon của tế bào (H2B và H4). Virus có 6 gen do sử dụng cả 2 mạch ADN để mã hoá và sử dụng gen chồng lớp (gen nọ gối lên gen kia).

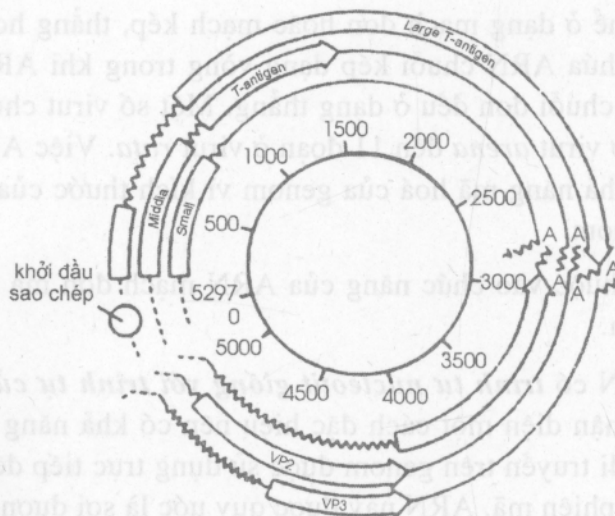


**Hình 1.1.** Một số genom của virus *Herpes*. (*Herpes simplex*) bao gồm hai đoạn nối với nhau bằng liên kết cộng hóa trị, đoạn dài duy nhất  $U_L$  và đoạn ngắn duy nhất  $U_S$ . Ở hai đầu mỗi đoạn lại được nối với các đoạn lặp lại trái chiều. Cách tổ chức này cho phép tạo ra 4 dạng genom khác nhau.

(Theo Cann, A, *Principles of Molecular Virology*, 1993)



**Hình 1.2.** Cấu tạo genom virus *adeno*. (Theo Cann, A., *Principles of Molecular Virology*, 1993)



**Hình 1.3.** Cấu tạo phức tạp của genom virut polyoma

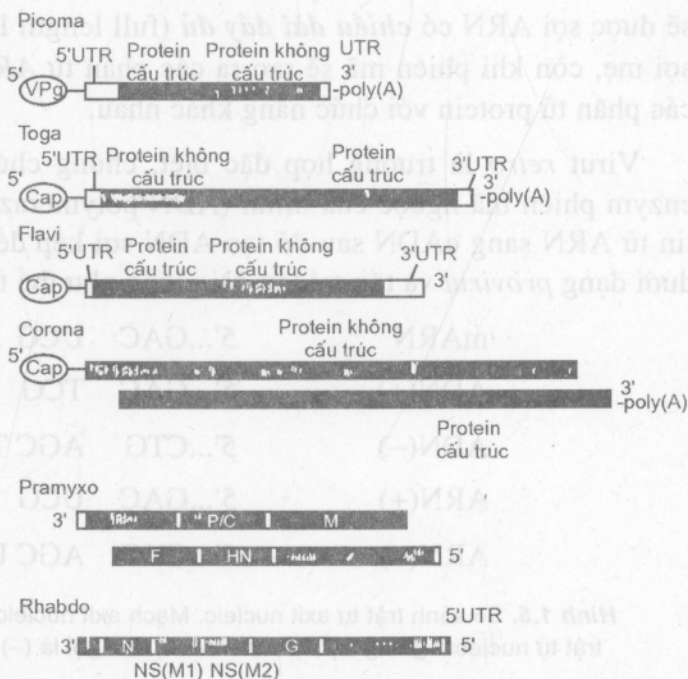
là do thu gọn các thông tin di truyền vào cùng một đoạn tương đối ngắn

(Theo Cann, A., *Principles of Molecular Virology*, 1993).

### 1.2.1.2. Genom ARN của virut

#### 1.2.1.2.1. Genom ARN trong virut ARN không phân đoạn

Virut ARN thường có genom nhỏ hơn genom của phần lớn virut ADN, chúng dao động từ 30kb (*coronavirus*) đến 3,5kb (phage Q $\beta$ ). Chúng có thể là sợi (+) hoặc (-). Đa số (không phải tất cả) genom ARN (+) đều có mũ để bảo vệ đầu 5' của ARN khỏi sự tấn công của photphataza và các nucleaza khác đồng thời xúc tiến chức năng mARN khi dịch mã. Đối với phần lớn virut *picorna*, mũ được thay thế bằng một protein nhỏ gọi là VPg. Đầu 3' của đa số genom virut chuỗi (+) cũng được gắn đuôi polyadenin – polyA giống như mARN ở eukaryote. Virut ARN (-) thường có genom lớn hơn genom ARN (+). Cấu tạo genom của một số virut ARN được thể hiện ở hình 1.4.



**Hình 1.4.** Sơ đồ genom của virut ARN cho thấy sự phân bố của các gen mã hoá cho protein cấu trúc, protein không cấu trúc, cũng như các vùng không dịch mã UTR (untranslated region).

ARN của virus có thể ở dạng mạch đơn hoặc mạch kép, thẳng hoặc khép vòng. Ví dụ virus thực vật luôn chứa ARN chuỗi kép dạng vòng trong khi ARN của virus động vật dù là chuỗi kép hay chuỗi đơn đều ở dạng thẳng. Một số virus chứa genom là ARN phân đoạn, từ hai đoạn ở virus *arena* đến 11 đoạn ở virus *rota*. Việc ARN nhiều đoạn và mạch kép đã làm tăng khả năng mã hoá của genom vì kích thước của ARN bị giới hạn bởi cơ chế gắn vào ribosom.

**Sự phân cực.** Tùy thuộc vào chức năng của ARN mạch đơn mà chia genom ARN của virus thành hai nhóm.

– Nhóm 1 gồm ARN có **trình tự nucleotit giống với trình tự của mRNA**, có đầu gắn "mũ" để ribosom nhận diện một cách đặc hiệu nên có khả năng hoạt động như là mRNA tức là thông tin di truyền trên genom được sử dụng trực tiếp để tổng hợp protein mà không cần giai đoạn phiên mã. ARN này được quy ước là sợi dương (genom dương). Ở các virus có genom (+) không có sự khác nhau giữa phiên mã và sao chép genom.

– Nhóm 2 gồm ARN có **trình tự nucleotit ngược (bổ sung) với trình tự mRNA** nên không thể hoạt động như mRNA. ARN loại này được quy ước là sợi âm (genom âm) (hình 1.5). Chúng được dùng làm khuôn để tổng hợp mRNA. Muốn tiến hành sao mã trước hết phải tổng hợp sợi khuôn ARN(+) trung gian, rồi từ sợi này tổng hợp nên sợi (–) là genom của virus. Rõ ràng ở đây sao chép genom và phiên mã là hai quá trình khác nhau, kể cả chiều dài phân tử ARN được tạo thành cũng khác nhau. Khi sao chép sẽ được sợi ARN có **chiều dài đầy đủ** (full length RNA) tương đương với chiều dài của sợi mẹ, còn khi phiên mã sẽ tạo ra các phân tử **ARN ngắn** để rồi từ đó dịch mã thành các phân tử protein với chức năng khác nhau.

Virus *retro* là trường hợp đặc biệt, chúng chứa ARN mạch đơn, (+) và sử dụng enzym phiên mã ngược của mình (ADN polymeraza phụ thuộc ARN) để chuyển thông tin từ ARN sang cADN sau đó tạo ADN sợi kép để gắn xen vào genom của tế bào chủ dưới dạng *provirus* và tồn tại lâu dài giống như thể thực khuẩn tiềm tan.

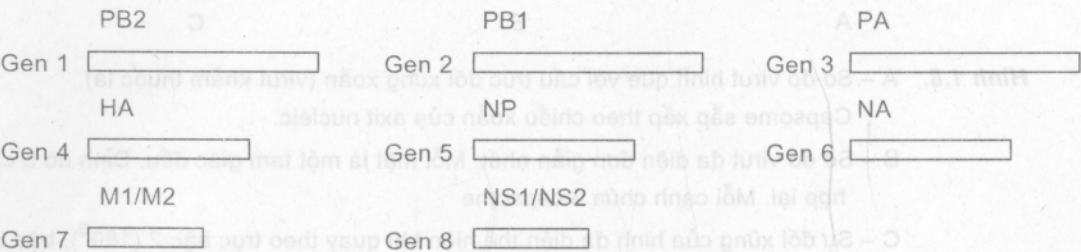
|        |          |              |
|--------|----------|--------------|
| mARN   | 5'...GAC | UCG AGC...3' |
| ADN(+) | 5'...GAC | TCG AGC...3' |
| ADN(–) | 5'...CTG | AGC TCG...3' |
| ARN(+) | 5'...GAC | UCG AGC...3' |
| ARN(–) | 5'...CUG | AGC UCG...3' |

**Hình 1.5.** So sánh trật tự axit nucleic. Mạch axit nucleic trong genom được gọi là (+) nếu có trật tự nucleotit giống trật tự của mRNA, còn gọi là (–) nếu có trật tự ngược lại với mRNA.

#### 1.2.1.2.2. Genom ARN phân đoạn

Bình thường genom ARN là một sợi liên mạch nhưng trong một số trường hợp lại bao gồm nhiều đoạn ngắn gọi là genom phân đoạn. Ví dụ, virus cúm có 8 đoạn ARN đơn (hình 1.6), virus *reo* chứa 10 – 12 đoạn ARN kép.

Genom phân đoạn là genom chứa hai hay nhiều phân tử axit nucleic khác nhau về tính chất vật lý, cùng được gói lại trong một virion. Ưu điểm của genom phân đoạn là thông tin di truyền chứa trong các sợi có kích thước nhỏ hơn nên ít bị phá vỡ dẫn đến làm sai lệch thông tin. Sự sai lệch này rất nguy hiểm đối với genom ARN lớn. Tất nhiên, virut phải có một cơ chế bọc gói rất kỹ lưỡng sao cho tất cả các phân tử đều được bao gói trong virion. Hiện tượng genom phân đoạn làm người ta liên tưởng đến NST ở cơ thể bậc cao. Nếu một phân tử bị hư hỏng thì cũng không ảnh hưởng quá nhiều đến cả quá trình nhân lên của virut. Virut cúm là một ví dụ (xem phần virut cúm).



Hình 1.6. Genom ARN phân đoạn ở virut orthomyxo

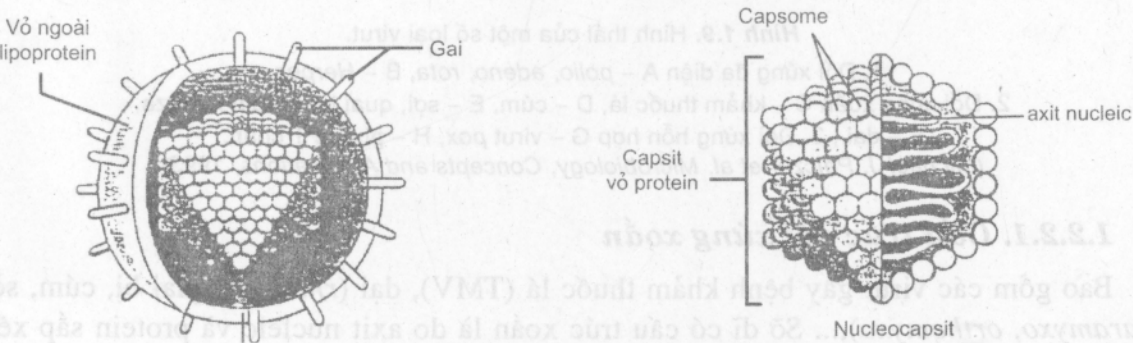
### 1.2.2.Vỏ capsit

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

Capsit có khả năng chịu nhiệt, pH và các yếu tố ngoại cảnh nên có chức năng bảo vệ lõi axit nucleic.

Trên mặt capsit chứa các **thụ thể** đặc hiệu giúp cho virut bám vào bề mặt tế bào. Capsit cũng còn chứa các kháng nguyên (KN) kích thích hệ thống miễn dịch trong suốt thời gian mắc bệnh. Phức hợp bao gồm capsit và axit nucleic được gọi là **nucleocapsit**.

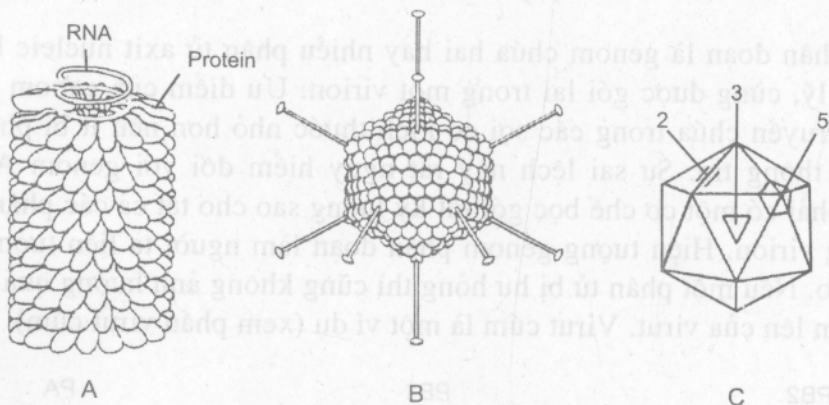
Vỏ capsit có kích thước và cách sắp xếp khác nhau khiến cho các virut có hình dạng khác nhau. Có thể chia ra ba loại cấu trúc : đối xứng xoắn, đối xứng hình khối và cấu trúc phức tạp (hình 1.7 ; 1.8 ; 1.9).



Hình 1.7. Cấu trúc cơ bản của virion. Lõi là axit nucleic, vỏ capsit là protein.

Lõi và vỏ kết hợp với nhau gọi là nucleocapsit. Phía ngoài capsit là vỏ ngoài lipoprotein với các gai glycoprotein.

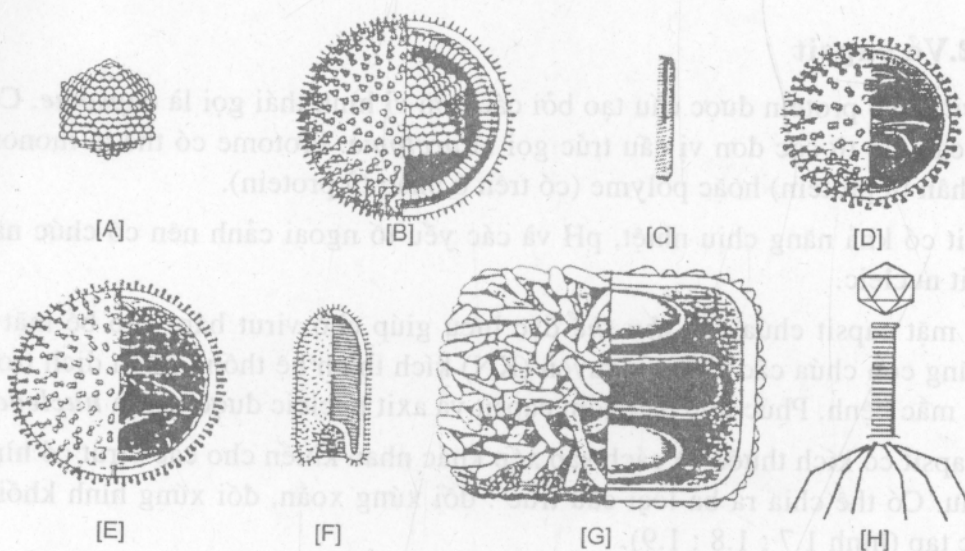




**Hình 1.8.** A – Sơ đồ virut hình que với cấu trúc đối xứng xoắn (virut khảm thuốc lá). Capsome sắp xếp theo chiều xoắn của axit nucleic.

B – Sơ đồ virut đa diện đơn giản nhất. Mỗi mặt là một tam giác đều. Đỉnh do 5 cạnh hợp lại. Mỗi cạnh chứa 3 capsome

C – Sự đối xứng của hình đa diện thể hiện khi quay theo trục bậc 2 ( $180^\circ$ ), bậc 3 ( $120^\circ$ ) và bậc 5 ( $72^\circ$ ).



**Hình 1.9.** Hình thái của một số loại virut.

1. Đối xứng đa diện A – polio, adeno, rota, B – Herpes ;
2. Đối xứng xoắn C – khảm thuốc lá, D – cúm, E – sởi, quai bị, parainfluenza, F – đại ;
3. Đối xứng hỗn hợp G – virut pox, H – phage T chẵn.

(Michael J. Pelczar et al. Microbiology, Concepts and Applications, 1993)

### 1.2.2.1. Cấu trúc đối xứng xoắn

Bao gồm các virut gây bệnh khảm thuốc lá (TMV), đại (*rhabdo*), quai bị, cúm, sởi (*paramyxo*, *orthomyxo*),... Sỡ dĩ có cấu trúc xoắn là do axit nucleic và protein sắp xếp theo kiểu xoắn lò xo xung quanh một trục. Tuy loại mà có chiều dài, đường kính và chu kỳ lặp lại của nucleocapsit khác nhau. Cấu trúc xoắn thường làm cho virut có dạng hình que hay hình sợi.

### 1.2.2.2. Cấu trúc đối xứng hình khối 20 mặt

Khi quan sát kỹ các virus "hình cầu" dưới kính hiển vi điện tử ta thấy thực ra chúng không phải là hình cầu mà là hình khối đa diện với 20 mặt tam giác đều, 30 cạnh và 12 đỉnh. Mỗi đỉnh là nơi gặp nhau của 5 cạnh. Thuộc loại cấu trúc này gồm các virus *adeno*, *reov*, *irido*, *herpes* và *picorna*.

Cách đối xứng theo 3 bậc : bậc 2, bậc 3 và bậc 5 (hình 1.8c). Ta hãy tưởng tượng khi xoay  $180^\circ$  (bậc 2),  $120^\circ$  (bậc 3) và  $72^\circ$  (bậc 5) thì virus lại trở lại vị trí cũ.

Các virus khác nhau có số lượng capsome trên mỗi cạnh khác nhau do vậy mà có kích thước khác nhau. Số lượng capsome càng nhiều thì virus có kích thước càng lớn. Dựa vào số lượng capsome trên mỗi cạnh có thể tính được tổng số capsome của vỏ capsit theo công thức sau :

$N = 10(n - 1)^2 + 2$  trong đó N – tổng số capsome của capsit, n – số capsome trên mỗi cạnh

Cấu trúc khối thường làm cho virus có dạng hình cầu

### 1.2.2.3. Cấu trúc hỗn hợp

Hãy lấy thể thực khuẩn (TTK) làm ví dụ. TTK có cấu tạo đặc biệt, có đầu phình to kéo theo một đuôi dài, đặc biệt phát triển ở TTK – T chẵn (T2, T4, T6), còn TTK – T lẻ (T3, T7) lại có đuôi ngắn hoặc một số thậm chí không có đuôi. TTK – T2 có hình tinh trùng, đầu có cấu trúc dạng khối đối xứng với 20 mặt tam giác đều, nối với đuôi có cấu trúc đối xứng xoắn, nên chúng là dạng hỗn hợp.

### 1.2.3. Vỏ ngoài

Một số virus có vỏ ngoài (envelope) bao bọc vỏ capsit. Vỏ ngoài có nguồn gốc từ màng sinh chất của tế bào được virus cuốn theo khi nảy chồi. Vỏ ngoài có cấu tạo gồm 2 lớp lipid và protein.

– Lipid gồm photpholipit và glycolipit, hầu hết bắt nguồn từ màng sinh chất của tế bào (trừ virus *pox* từ màng Golgi) với chức năng chính là ổn định cấu trúc của virus.

– Protein vỏ ngoài thường là glycoprotein cũng có nguồn gốc từ màng sinh chất. Tuy nhiên, cũng có các glycoprotein do virus mã hoá được gắn vào các vị trí chuyên biệt trên màng sinh chất của tế bào, rồi về sau trở thành cấu trúc bề mặt của virus. Ví dụ, các gai hay các phân tử gp120 của HIV hay hemagglutinin của virus cúm, chúng tương tác với receptor của tế bào để mở đầu cho sự xâm nhập của virus vào tế bào.

Vỏ ngoài cũng có thể có nguồn gốc từ màng nhân (virus *herpes*). Vỏ ngoài dễ bị biến tính do tác động của các yếu tố ngoại cảnh (dung môi hữu cơ, enzym...) làm mất khả năng gây nhiễm của virus.

### 1.2.4. Protein của virus

Tiếp theo sự tạo thành mARN của virus là tổng hợp protein. Virus cần các loại protein ở các thời điểm khác nhau với hàm lượng khác nhau. Tùy thời gian biểu hiện mà protein của virus được chia thành 3 loại :

- Protein được tổng hợp ngay sau khi nhiễm gọi là **protein sớm** tức *protein không cấu trúc* thường là các enzym phục vụ cho sao chép axit nucleic.
- Protein được tổng hợp muộn hơn gọi là **protein muộn**, thường là *protein cấu trúc* tạo nên vỏ virus hoặc protein nằm trong lõi.

– **Protein phân giải** thường là enzym giúp giải phóng virus ra khỏi tế bào.

Nhìn chung, cả thời gian xuất hiện lẫn số lượng của 3 loại protein này đều được điều hoà sao cho hợp lý nhờ có các gen điều hoà làm nhiệm vụ đóng, mở gen. Protein sớm là enzym xúc tác nên chỉ cần một lượng nhỏ, còn protein muộn là thành phần cấu trúc nên bắt buộc phải tổng hợp với số lượng lớn hơn nhiều. Protein phân giải được tổng hợp sau nữa bởi vì nếu tổng hợp sớm thì tế bào chủ sẽ bị tan trước khi một lượng lớn virus được hình thành.

Sự nhiễm virus đã gây xáo trộn cơ chế điều hoà của tế bào. Sự tạo thành quá mức cho phép axit nucleic và protein của virus đã làm suy sụp hoàn toàn sự tổng hợp các cao phân tử của tế bào. Cũng có trường hợp diễn ra sự cạnh tranh gay gắt giữa virus và tế bào chủ. Tuy nhiên, trong cả hai trường hợp trên sự điều hoà tổng hợp các thành phần của virus được kiểm soát bởi các gen của virus hơn là của tế bào chủ.

### Các enzym của virus

Nhiều loại virus có chứa các enzym đặc trưng của mình. Có thể chia ra làm hai loại :

- Các enzym tham gia vào quá trình sao mã và phiên mã.
- Các enzym giúp virus xâm nhập vào tế bào và đưa thể hệ virus mới ra khỏi tế bào.

Các enzym còn được phân thành enzym của virus và enzym cảm ứng. Loại đầu do virus mang theo, ví dụ enzym phiên mã ngược, loại sau được tổng hợp nhờ genom của virus và không có trong thành phần của virus trưởng thành.

Ở virus *orthomyxo* (cúm) và *paramyxo* (á cúm) có enzym neuraminidaza khu trú ở vỏ ngoài giúp virus bám vào tế bào.

Polymeraza của virus là enzym thực hiện sao chép. Nếu polymeraza do tế bào tổng hợp đảm nhiệm được chức năng đọc mã axit nucleic của virus thì không cần thiết phải đưa vào thành phần của virus mới, ngược lại nếu không đảm nhiệm được chức năng đọc mã thì nhất thiết phải đưa nó vào thành phần của virus thế hệ sau.

– Ở virus ADN, genom luôn được ADN – polymeraza của tế bào chủ đọc mã, do vậy virus vẫn có khả năng gây nhiễm mà không cần mang theo polymeraza.

– Virus chứa ARN sợi (–) có bộ gen ngược (bổ sung) với mARN. Muốn nhân lên chúng phải phiên mã nhờ ARN – polymeraza phụ thuộc ARN của riêng mình để biến sợi (–) thành sợi (+) tức sợi mARN. Virus *retro* mang theo enzym phiên mã ngược để chuyển hoá ARN thành ADN (vì các tế bào động vật không có enzym thực hiện chức năng này).

– *Proteaza*. Một số virus chứa proteaza dùng để phân cắt polypeptid, loại protein tiền chất có kích thước lớn được hình thành sau dịch mã tạo ra các protein chức năng có kích thước nhỏ hơn.

+ Protein vỏ capsit của virus *picorna* có hoạt tính proteaza đặc hiệu cần cho việc phân giải protein trong nucleocapsit, giúp giải phóng axit nucleic khỏi vỏ capsit.

+ Một số virus chứa endonucleaza và ligaza.

### 1.2.5. Tên gọi và phân loại virus

Cho đến nay, chưa có một hệ thống phân loại virus nào được thực sự chấp nhận bởi vẫn còn thiếu các dữ liệu về mối quan hệ giữa các virus và do đó virus cũng không có tên gọi theo đúng quy cách như ở các vi sinh vật khác. Cách đặt tên virus khá tùy tiện, chẳng hạn virus sởi (do gây bệnh sởi), virus *adeno* gây bệnh đường hô hấp trên lần đầu tiên phân lập được từ hạch hạnh nhân (*adenoid*), virus *coxsackie* (do phân lập lần đầu tiên ở *Coxsackie* – New York) hay virus *Epstein – Barr* (là tên hai nhà nghiên cứu phát hiện ra chúng).

Một trong những cách phân loại trước đây là dựa vào vật chủ mà virus gây nhiễm. Ví dụ virus tả lợn, virus cúm lợn, virus đậu bò, virus khảm thuốc lá... Hệ thống khác lại dựa vào các mô mà virus tác động. Ví dụ virus tác động vào hệ thống hô hấp thì gọi là *Pneumotropic*, vào hệ thần kinh gọi là *Neurotropic*, vào da gọi là *Dermatotropic*, vào nội tạng gọi là *Viscerotropic*. Cách phân loại này tiện lợi cho giới bác sĩ và các nhà dịch tễ học. Tuy nhiên, nhờ các kiến thức về các đặc điểm lý, hoá, sinh học của virus ngày càng được tích lũy mà Ủy ban Quốc tế về phân loại virus gọi tắt là ICTV đã đề nghị phân loại dựa trên nhiều đặc điểm cấu trúc và sinh học cơ bản. Ủy ban này lấy đơn vị họ (family) làm trọng. Các chỉ tiêu quy định họ bao gồm :

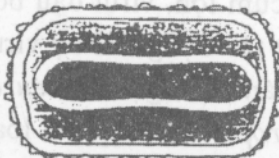
- Kiểu axit nucleic : ADN hay ARN.
- Kiểu đối xứng của capsit : xoắn hay khối hoặc phức tạp.
- Có hay không có vỏ ngoài.
- Vị trí lắp ráp vỏ capsit với axit nucleic.
- Vị trí gắn vỏ ngoài (màng tế bào hay màng nhân).
- Phản ứng với ete và các dung môi hoà tan lipid khác.
- Số lượng capsome.
- Đường kính hạt virus.
- Kích thước axit nucleic.

Ủy ban này còn thống nhất dùng tiếp vị ngữ – *viridae* để chỉ tên họ, tiếp vị ngữ – *virinae* để chỉ họ phụ, – *virus* để chỉ chi. Tiếp đầu ngữ cho mỗi họ thường bắt nguồn từ

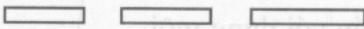
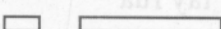
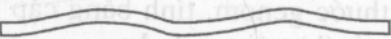
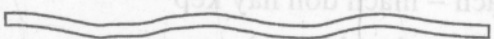
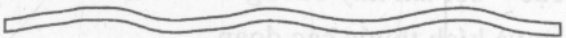
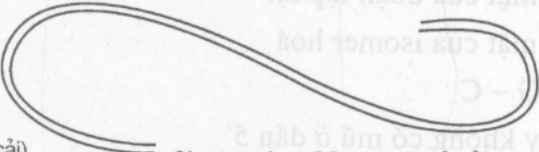
đặc điểm đặc trưng cho họ. Ví dụ, *Picornaviridae* là họ virus ARN có kích thước nhỏ (pico = nhỏ, + ARN), *Hepadnaviridae* là virus ADN gây bệnh gan (hepar = gan, + ADN). *Retroviridae* là virus ARN có enzym phiên mã ngược (*retro* = ngược). Một số họ khác mang tên do nguồn gốc lịch sử. Các quy định về phân loại cổ điển không được áp dụng cho virus. Để xếp các virus vào từng nhóm lại phải dùng thêm các đặc điểm như lâm sàng, miễn dịch học và sinh học phân tử. Việc so sánh trình tự axit nucleic cũng được dùng nhiều để xác định mối quan hệ giữa các virus.

Vị trí trên họ là bộ, có tiếp vị ngữ là – *virales*. Đến nay mới được xác định chỉ có hai bộ virus liên quan đến bệnh ở người là bộ *Mononegavirales* (các họ *Filoviridae*, *Paramyxoviridae* và *Rhabdoviridae*) và bộ *Nidovirales* (*Coronaviridae* và *Arteriviridae*).

Năm 1995, ICTV đã công bố hệ thống phân loại tổng hợp bao gồm 1 bộ, 71 họ, 11 họ phụ, 164 chi và hơn 4000 loài trong đó còn có hàng trăm loài chưa xác định do thiếu số liệu. Các virus mới cũng không ngừng được phát hiện. Hình 1.10a và b giới thiệu một số virus thường gặp ở động vật và thực vật.

| Không vỏ ngoài                                                                     |                                                                                     |                                                                                    | Có vỏ ngoài                                                                         |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| ds ADN                                                                             |                                                                                     |                                                                                    | ds ADN                                                                              |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |
|  |                                                                                     |  |   |                                                                                     |  |                                                                                       |
| màu xanh                                                                           |                                                                                     | adeno 2 ở người                                                                    | Poxviridae (vaccinia)                                                               |                                                                                     | Herpesviridae (therpes simplex)                                                      |                                                                                       |
|                                                                                    |  | U nhú ở Thỏ                                                                        |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |
| ds ARN                                                                             |                                                                                     |                                                                                    | ss ARN                                                                              |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |
|                                                                                    |  |                                                                                    |  |  |  |  |
|                                                                                    | Reoviridae (reo type 1)                                                             |                                                                                    | Sởi                                                                                 | Cúm                                                                                 | Viêm xoang miệng                                                                     | Retroviridae (Rous sarcoma)                                                           |
| ssARN                                                                              | ssADN                                                                               |                                                                                    |  |  |  |  |
| G ngoại bán ở Lợn 100nm                                                            | Polip 1 ở người                                                                     | U xơ ở chuột                                                                       | arenaviridae (lymphocytic choriomeningitis)                                         | Coronaviridae (Viêm phế quản chim)                                                  | Bunyaviridae (Bunyamweral)                                                           | Togaviridae (Sindbis)                                                                 |

**Hình 1.10a.** Họ virus động vật. Dưới tên họ là tên virus đại diện  
(Michael J. Pelczar et al. Microbiology, Concepts and Applications, 1993)

| Không vỏ ngoài                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Có vỏ ngoài                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| dsADN                                                                                                                   | ssARN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | ssARN                                                                                                                     |
| <br>Caulimovirus<br>(Virus đốm hoa lơ) | <div>            Nhóm virus khảm         </div> <div>            Havavirus<br/>(Virus sọc thuốc lá)         </div> <div>            Hordvirus (Virus khảm sọc đại mạch)         </div> <div>            Tobavirus         </div> <div>            Bromovirus<br/>(Virus khảm dưa)         </div> <div>            Cucumovirus<br/>(Virus khảm dưa chuột)         </div> <div>            Tobamovirus (Virus khảm thuốc lá)         </div> | <br>đốm vàng<br>hoại tử                |
| dsARN                                                                                                                   | <div>            Neptovirus<br/>(Nhóm virus khảm đậu)         </div> <div>            Dianthovirus<br/>(Virus gây đốm khuyết cảm chướng)         </div> <div>            Potexvirus (Khoai tây X)         </div> <div>            Carlavirus (Virus gây bệnh cảm chướng)         </div> <div>            Potyvirus (Khoai tây Y)         </div>                                                                                                                                                                                                                                                           | <br>Nhóm virus gây<br>đốm, héo cà chua |
| ssADN                                                                                                                   | <div>            Nhóm virus gây hoại tử thuốc lá,<br/>gây lùn ngô)         </div> <div>            Luteovirus<br/>(Virus vàng, còi cọc củ cải)         </div> <div>            Closterovirus (Virus vàng củ cải)         </div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                           |
| <br>Geminivirus<br><br>100nm           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                           |

**Hình 1.10b.** Họ và nhóm virus gây bệnh thực vật. Dưới tên nhóm hay họ là tên virus đại diện.  
(Michael J. Pelczar et al. Microbiology, Concepts and Applications, 1993)

### 1.2.5.1. Một số đặc điểm của virus dùng trong phân loại đến loài

#### Đặc điểm của virion

##### – Hình thái

- + Kích thước
- + Hình dạng
- + Có hay không có peplome, bản chất của peplome
- + Có hay không có vỏ ngoài
- + Cấu trúc và kiểu đối xứng của capsit

##### – Tính chất vật lý và lý hoá

- + Khối lượng phân tử (Mr)
- + Mật độ nổi (buoyant density) của virion (trong CsCl, Saccaroza,...)
- + Hệ số lắng của virion

- + Độ bền pH
- + Độ bền nhiệt
- + Độ bền cation ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ )
- + Độ bền với dung môi
- + Độ bền với chất tẩy rửa
- + Độ bền phóng xạ

#### – Genom

- + Loại axit nucleic (ADN hay ARN)
- + Kích thước genom, tính bằng cặp nucleotit (bp) với mạch kép hoặc bằng số nucleotit (b) với mạch đơn.
- + Số mạch – mạch đơn hay kép
- + Dạng thẳng hay khép vòng
- + Phân cực – sợi âm hay dương
- + Số đoạn và kích thước các đoạn
- + Trật tự nucleotit
- + Sự có mặt của đoạn lặp lại
- + Sự có mặt của isomer hoá
- + Tỷ lệ G – C
- + Có hay không có mũ ở đầu 5'
- + Có hay không có protein liên kết ở đầu 5'
- + Có hay không có đuôi poly A ở đầu 3'

#### – Protein

- + Số lượng, kích thước, chức năng của protein cấu trúc.
- + Số lượng, kích thước, chức năng của protein không cấu trúc (là các enzym).
- + Chi tiết về chức năng chuyên biệt của protein đặc biệt là transcriptaza, enzym phiên mã ngược, hemagglutinin, neuraminidaza và hoạt tính dung hợp.
- + Trình tự axit amin
- + Sự gắn đường vào protein (glycosyl hoá) và gắn photpho vào protein (photphoryl hoá).
- + Lập bản đồ epitop

#### – Lipit

- + Hàm lượng, đặc tính,...

#### – Tổ chức genom và sao chép

- + Tổ chức gen
- + Đặc điểm sao mã
- + Số lượng và vị trí khung đọc mở (ORF)





- |                         |                                                                                    |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 2. ADN chuỗi đơn        | – Họ <i>Circoviridae</i><br>– Họ <i>Geminiviridae</i>                              |
| 3. ARN chuỗi kép        | – Họ <i>Partitiviridae</i><br>– Họ <i>Reoviridae</i>                               |
| 4. ARN chuỗi đơn, âm    | Bộ <i>Mononegaviridae</i><br>– Họ <i>Rhabdoviridae</i><br>– Họ <i>Bunyaviridae</i> |
| 5. ARN chuỗi đơn, dương | – Họ <i>Bromoviridae</i>                                                           |

### **1.2.5.3. Phân loại thể thực khuẩn**

Cách gọi tên TTK cũng không theo quy luật, chủ yếu là phụ thuộc vào nhà nghiên cứu. TTK được chia ra các họ sau đây :

#### **1.2.5.3.1. Không có vỏ ngoài**

##### **a) Chứa ADN chuỗi kép**

- Họ *Myoviridae*.

TTK đầu hình khối. Đại diện P2.

TTK đầu hình khối dài. Đại diện T2.

- Họ *Siphoviridae*. Đại diện  $\lambda$ .
- Họ *Podoviridae*. Đại diện T7 (đuôi ngắn).
- Họ *Corticoviridae*. Đại diện PM2 (không đuôi).
- Họ *Tectiviridae*. Đại diện PRD1 (không đuôi), Bam 35.

##### **b) Chứa ADN chuỗi đơn**

- Họ *Inoviridae*. Đại diện MV – L1 (dạng que), phage  $\lambda$ , fd (dạng sợi)
- Họ *Microviridae*. Đại diện  $\phi$ X 174 (dạng khối, không đuôi)

##### **c) Chứa ARN chuỗi đơn**

- Họ *Leviridae*. Đại diện MS2 (dạng khối, không đuôi), R 17

#### **1.2.5.3.2. Có vỏ ngoài**

##### **a) Chứa ADN chuỗi kép**

- Họ *Plasmaviridae*. Đại diện MV – L2 (hình cầu)

##### **b) Chứa ARN chuỗi kép**

- Họ *Cystoviridae*. Đại diện  $\phi$  6 (dạng khối)

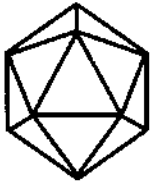
### **1.2.5.4. Phân loại virus dựa vào vật chủ**

Dựa vào vật chủ, Prescott đã chia virus thành 6 nhóm lớn. (*Prescott et al., Microbiology Mc Graw Hill, 2002*).

#### 1.2.5.4.1. Virut vừa nhân lên ở động vật có xương sống vừa nhân lên ở các cơ thể khác

Nhiều thành viên của các họ *Reoviridae*, *Bunyaviridae*, *Rhabdoviridae* và *Togaviridae* vừa có thể nhân lên ở ĐVCXS vừa có thể nhân lên ở các cơ thể khác. Một số họ khác có các chi chỉ có thể nhân lên ở ĐVCXS.

##### a) Họ Iridoviridae



Các hạt hình đa diện (125 – 300nm) bao gồm nucleocapsit hình cầu được bao bởi lớp lipid có bổ sung các tiểu phần protein. Có thể có vỏ ngoài nhưng vỏ này không cần cho quá trình gây nhiễm. ADN kép (khối lượng phân tử  $100 - 200 \times 10^6$ ), khép kín với đoạn lặp lại cùng chiều ở cuối phân tử, chứa một số enzym. Phiên mã và tổng hợp ADN trong nhân, mARN không có đuôi poly A, lắp ráp trong sinh chất.

Các chi đại diện :

- *Iridovirus* (virut sắc cầu vồng kích thước nhỏ – 120nm ở côn trùng).
- *Chlorviridovirus* (virut sắc cầu vồng kích thước lớn – 180nm ở côn trùng).
- *Ranavirus* (nhóm virut ở ếch nhái)
- *Lymphocystivirus* (virut ở cá)

##### b) Họ Poxviridae

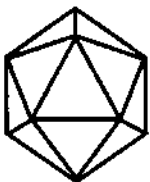


ADN kép (trọng lượng phân tử  $85 - 240 \times 10^6$ ) với đoạn lặp lại ngược chiều ở cuối phân tử. Là virut có kích thước lớn nhất (170 – 260 × 300 – 450nm). Cấu trúc phức tạp gồm nhiều lớp, trong đó có lớp lipid. Lõi chứa tất cả các enzym cần cho tổng hợp mARN, nhân lên trong sinh chất.

Các chi đại diện :

- *Orthopoxvirus* (virut vaccinia và các virut có quan hệ họ hàng).
- *Molluscipoxvirus* (virut của người nhiễm qua nhuyển thể).
- *Avipoxvirus* (virut pox ở gia cầm và các virut họ hàng).
- *Parapoxvirus* (milkpox và các virut họ hàng) gồm 4 chi trên nhiễm ở ĐVCXS.
- *Entomopoxvirus* (virut pox ở côn trùng).

##### c) Họ Parvoviridae



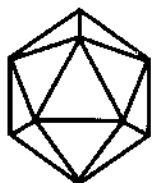
Hạt hình đa diện kích thước 18 – 22nm, ADN đơn (khối lượng phân tử  $1,5 - 2,0 \times 10^6$ ). Không chứa enzym. Lắp ráp trong nhân.

Các chi đại diện :

*Parvovirus* – virus ở ĐVCXS, kể cả người. Virion chủ yếu chứa ADN (-)

*Densovirus* – virus của côn trùng, chứa ADN (+) và ADN (-). Không cần virus trợ giúp.

d) *Họ Reoviridae*

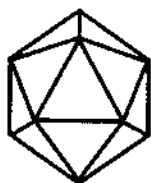


Là virus có genom phân đoạn, chứa 10 – 12 đoạn ARN kép. Tổng khối lượng phân tử là  $12 - 20 \times 10^6$ . Hạt hình đa diện, kích thước 60 – 80nm, có một nucleocapsit đồng đều, có hoạt tính transcriptaza. Nhân lên trong sinh chất.

Các chi đại diện :

- *Orthoreovirus* – virus ở ĐVCXS.
- *Orbivirus* – virus ở ĐVCXS nhưng cũng có thể nhân lên ở côn trùng.
- *Coltivirus* – virus ở ĐVCXS và ve bét.
- *Rotavirus* – virus ở ĐVCXS.
- *Cypovirus* – virus côn trùng đa diện nhân lên trong sinh chất.
- *Phytoreovirus* – virus gây u sọ ở thực vật.

e) *Họ Picornaviridae*



Chứa ARN đơn, (+) khối lượng phân tử  $2,5 \times 10^6$ . Hạt hình đa diện với kích thước 30nm. Nhân lên trong sinh chất.

Các chi đại diện :

- *Enterovirus* – virus đường tiêu hoá, kháng axit.
- *Hepatovirus* – virus viêm gan A.
- *Rhinovirus* – virus nhạy cảm với axit, chủ yếu nhiễm ở đường hô hấp trên.
- *Aphthovirus* – virus gây bệnh lở mồm long móng.
- *Cardiovirus* – virus gây bệnh viêm não – cơ tim (encephalomyocarditis) ở chuột.
- Một số virus khác ở côn trùng.

f) *Họ Togaviridae*



Chứa ARN chuỗi đơn, (+), khối lượng phân tử  $7 \times 10^6$ . Nucleocapsit hình đa diện được bọc trong vỏ ngoài, đường kính 60 – 70nm, gây ngưng kết hồng cầu, nhân lên trong sinh chất, nảy chồi từ màng sinh chất, chứa mARN dưới genom.

Các chi đại diện :

- *Alphavirus* (virut *arbo*, ví dụ virut rừng Semliki và virut Sindbis).
- *Rubivirus* (virut *rubella*).

#### g) Họ *Flaviviridae*



ARN sợi đơn, khối lượng phân tử  $4 \times 10^6$ . Hạt bọc vỏ ngoài, đường kính 40 – 60nm. Khác với *Alphavirus* ở chỗ có protein nền (matrix protein). Không có mARN dưới genom. Nảy chồi từ lưới nội mô. Gây ngưng kết hồng cầu. Nhân lên trong sinh chất. Trước đây được xếp vào *Togaviridae*.

Các chi đại diện :

- *Flavivirus* (virut *arbo*, ví dụ virut sốt vàng).
- *Pestivirus* (ví dụ bệnh tả lợn).
- Virut viêm gan C.

#### h) Họ *Rhabdoviridae*



ARN đơn, (–), khối lượng phân tử  $3,5 - 4,6 \times 10^6$ . Hạt hình viên đạn hoặc hình que ( $100 - 430 \times 70$ nm) được bao bởi vỏ ngoài với gai dài 5 – 10nm. Nucleocapsit xoắn lò so với hoạt tính transcriptaza. Nhân lên trong sinh chất. Nảy chồi từ màng sinh chất. Một số là virut *arbo*.

Các chi đại diện :

- *Vesiculovirus* (nhóm virut viêm miệng mụn nước, virut ở ĐVCX và côn trùng).
- *Lyssavirus* – virut ở ĐVCXS (ví dụ virut gây bệnh dại) và ở côn trùng (ví dụ bệnh sigma).
- Virut gây bệnh thực vật, ví dụ bệnh đốm vàng hoại tử cây rau diếp, khoai tây lùn...

#### i) Họ *Bunyaviridae*



Genom ARN đơn, phân đoạn (ba đoạn lớn trung bình và nhỏ) với tổng khối lượng phân tử  $6 \times 10^6$ . Vỏ ngoài có gai, đường kính 100nm. Ba sợi ribonucleoprotein ở trong rộng 2nm. Nhân lên ở sinh chất. Nảy chồi từ thể Golgi. Lan truyền nhờ bọ chân khớp, trừ chi *Hantavirus*.

Các chi đại diện :

- *Bunyavirus* (nhóm Bunyamwera và khoảng 150 virut có quan hệ họ hàng).
- *Hantavirus* (sốt xuất huyết Triều Tiên hoặc virut Hantaan), không phải là virut *arbo*.
- *Tospovirus* (nhóm gây héo đốm cà chua).

#### 1.2.5.4.2. Virut chỉ nhân lên ở động vật có xương sống

##### a) Họ Herpesviridae



Genom là ADN chuỗi kép (khối lượng phân tử  $80 - 150 \times 10^6$ ). Hạt hình đa diện (100 – 110nm) được bọc bởi vỏ ngoài lipid (120 – 200nm). Nảy chồi từ màng nhân. Thường tiềm tàng cùng với tuổi thọ của kí chủ.

Họ phụ : *Alphaherpesvirinae*

Các chi đại diện :

- *Simplexvirus*, *Herpesvirus* typ 1 và 2.
- *Varicellovirus*, *Herpesvirus* typ 3 (*variella zoster*).

Họ phụ : *Betaherpesvirinae* (*cytomegalovirus* – CMV).

- *Cytomegalovirus*. Nhóm CMV ở người (beta) – *Herpesvirus* typ 5.
- *Muromegalovirus*. Nhóm CMV ở chuột.

Họ phụ : *Gamaherpesvirinae* (nhóm virut gây tăng sinh tế bào lympho)

Các chi đại diện :

- *Lymphocryptovirus*. Ví dụ *Herpesvirus* typ 4 (gamma) ở người (virut *Epstein – Barr* – EBV).

##### b) Họ Adenoviridae

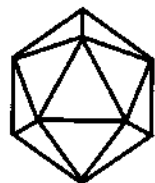


ADN kép (khối lượng phân tử  $20 - 30 \times 10^6$ ). Hạt hình đa diện, đường kính 70 – 90nm. Sao chép ADN và lắp ráp trong nhân tế bào.

Các chi đại diện :

- *Mastadenovirus* (*Adenovirus* ở động vật có vú).
- *Aviadenovirus* (*Adenovirus* ở chim).

##### c) Họ Polymaviridae

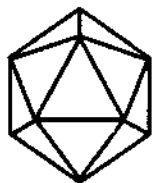


ADN kép, khép vòng. Hạt hình đa diện đường kính 40nm gồm 72 capsome sắp nghiêng. Lắp ráp trong nhân. Gây ung thư.

Chi đại diện :

- *Polyomavirus*. Thấy ở gặm nhấm, ở người và linh trưởng. ADN có khối lượng phân tử  $3 \times 10^6$ . Gồm virut SV40 ở khỉ (SV – simian virus) và *polyomavirus*.

#### d) Họ Papillomaviridae

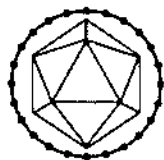


ADN kép, khép kín. Hạt hình đa diện, đường kính 55nm gồm 72 capsome sắp xếp nghiêng. Không có vỏ ngoài. Lắp ráp trong nhân. Gây ung thư.

Chi đại diện :

– *Papillomavirus*. Tạo mụn cơm và u nhú ở nhiều loài động vật có vú. ADN có khối lượng phân tử  $5 \times 10^6$ , bao gồm *papillomavirus* ở người (HPV).

#### e) Họ Hepadnaviridae

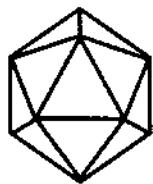


Genom gồm 2 sợi. Một sợi ADN âm hoàn thiện có chiều dài đủ khối lượng phân tử  $1 \times 10^6$ , và có protein ở đầu 5' và một sợi dương có chiều dài không hoàn thiện (chỉ bằng 50 – 100% sợi âm). ADN khép vòng. Hạt virus được bọc vỏ ngoài, đường kính 40 – 48nm, chứa lõi với hoạt tính ADN – polymeraza và proteinkinaza. Cần enzym phiên mã ngược cho tái bản virus. Bao gồm các virus viêm gan B ở người, virus viêm gan vịt Bắc Kinh, virus viêm gan sóc. HBV liên quan nhiều đến ung thư gan.

Chi đại diện :

– *Orthohepadnavirus* – virus viêm gan B.

#### f) Họ Caliciviridae

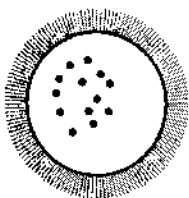


ARN đơn, (+) với khối lượng phân tử  $2,7 \times 10^6$ . Hạt hình đa diện, đường kính 37nm. Bề mặt lõm vào hình cốc.

Chi đại diện :

– *Calicivirus* – virus ngoại mủn nước bọt ở lợn, virus *Norwalk*.

#### g) Họ Arenaviridae



Hai đoạn ARN đơn, đoạn lớn khối lượng phân tử  $3 \times 10^6$  và đoạn nhỏ khối lượng phân tử  $1,3 \times 10^6$ . Đoạn ARN nhỏ thường là lưỡng cực. Hạt được bao bọc vỏ ngoài, đường kính 50 – 300nm. Bề mặt có gai. Chứa riboxom nhưng chưa rõ chức năng. Nhân lên trong sinh chất. Nảy chồi từ màng sinh chất.

Chi đại diện :

– *Arenavirus* – virus viêm màng não đám rối màng mạch lympho bào, virus *Lassa*, *Junin*, *Machupo*.



#### h) Họ Paramyxoviridae



ARN đơn, khối lượng phân tử  $5 - 7 \times 10^6$ . Hạt được bao bởi vỏ ngoài, đường kính 150nm, có gai và chứa nucleocapsit dạng xoắn đường kính 12 – 17nm, có hoạt tính transcriptaza, thường có dạng sợi. Lắp ráp trong sinh chất. Nảy chồi từ màng sinh chất. Lan truyền trong không khí.

Họ phụ : *Paramyxovirinae*

Các chi đại diện :

- *Rubulavirus* (các virus quai bị, toi gà Newcastle, á cúm).
- Chỉ chi này mới có hoạt tính neuraminidaza và hoạt tính gây ngưng kết hồng cầu.
- *Morbillivirus* (virus sởi, nhiễm răng), gây ngưng kết hồng cầu.

Họ phụ : *Pneumovirinae*

Các chi đại diện :

- *Pneumovirus* (nhóm virus hợp bào hô hấp – RSV).

#### i) Họ Orthomyxoviridae



Genom gồm 8 đoạn ARN đơn, với tổng khối lượng phân tử  $4 \times 10^6$ . Hạt được bao bởi vỏ ngoài, đường kính 100nm, có gai và với hoạt tính transcriptaza. Chỉ có các hạt thuộc typ A và typ B là có các gai hemagglutinin và neuraminidaza tách biệt nhau. Nhân lên trong nhân tế bào. Các đoạn ARN khi lây nhiễm hỗn hợp vào tế bào có thể kết hợp để tạo các đoạn lai cho virus mới bền về mặt di truyền. Nảy chồi từ màng sinh chất.

Các chi đại diện :

- Virus cúm A và B.
- Virus cúm C với 7 đoạn ARN và có hoạt tính phá huỷ receptor (axit sialic – O – acetyl esteraza) nằm trên protein hemagglutinin.

#### k) Họ Filoviridae

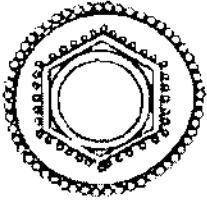


Hạt có dạng chỉ dài 80 – 900 (đôi khi 14000)  $\times$  80nm. Nucleocapsit xoắn với đường kính 50nm. ARN đơn, (–), dạng thẳng với khối lượng phân tử  $4,2 \times 10^6$ . Nảy chồi từ màng sinh chất gồm các virus *Marburg* và *Ebola* gây bệnh nguy hiểm cho người, Lan truyền qua tiếp xúc.

Chi đại diện :

- *Filovirus* (virus *Marburg* và *Ebola*).

### l) Họ Retroviridae



ARN đơn, "lưỡng bội", với trình tự duy nhất (unique sequence) có khối lượng phân tử  $1 - 3 \times 10^6$ . Hạt bọc vỏ ngoài, đường kính 80 – 100nm với một lõi chứa nucleoprotein xoắn. Chứa ADN – polymeraza phụ thuộc ARN (enzym phiên mã ngược). Provirut ADN nằm trong nhân.

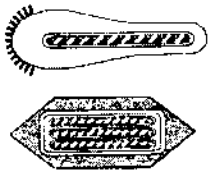
Các chi đại diện :

- Các virut *retro* typ C ở động vật có vú – virut ung thư bạch cầu chuột.
- *Spumavirus* – virut tạo bọt ở người.
- Nhóm HTLV – BLV – virut gây u lympho T ở người typ 1 và 2.
- *Lentivirus* – virut gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV typ 1, 2), virut gây suy giảm miễn dịch ở khỉ, virut *visna*.

#### 1.2.5.4.3. Virut chỉ nhân lên ở động vật không xương sống

Virut không chỉ xuất hiện ở côn trùng, giáp xác, nhuyễn thể và có thể ở tất cả động vật không xương sống. Một số virut thực vật được lan truyền bởi các vectơ là côn trùng, nhưng không nhân lên được trong cơ thể côn trùng.

#### a) Baculoviridae

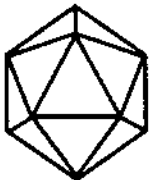


Genom ADN kép, khép vòng, có khối lượng phân tử  $60 - 100 \times 10^6$ . Hạt hình que với đường kính 30 – 60 × 250 – 300nm, có màng ngoài. Có thể ẩn náu trong thể vùi protein, chứa một hạt (virut granulosis) hoặc trong thể đa diện, chứa nhiều hạt (virut *polyhedrosis* – hình dưới).

Các chi đại diện :

- Virut *Polyhedrosis* nhân.
- Virut *Granulosis*.
- Virut *Baculovirus* không ẩn trong thể vùi.

#### b) Họ Tetraviridae



ARN đơn, khối lượng phân tử  $1,8 \times 10^6$ . Hạt hình đa diện, đường kính 35nm. Tất cả đều được phân lập từ côn trùng cánh vảy *Lepidoptera*. Không nhiễm vào tế bào nuôi cấy mô.

Đại diện là virut *Nudaurelia*  $\beta$ .

#### 1.2.5.4.4. Virut chỉ nhân lên ở thực vật

Nhiều thành viên của các họ *Reoviridae* và *Rhabdoviridae* có khả năng nhân lên ở cả thực vật và côn trùng. Các virut nêu dưới đây chỉ nhân lên ở thực vật mặc dù lan

truyền nhờ côn trùng. Sự khác biệt về protein và phương thức dịch mã là đặc điểm quan trọng trong phân loại.

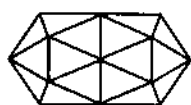
a) *Họ Caulimoviridae*



Genom là ADN chuỗi kép, khép vòng mở, trong đó mỗi sợi đều có các điểm ngắt quãng (genom không liên tục), khối lượng phân tử  $4 - 5 \times 10^6$ . Hạt có dạng đa diện, kích thước đồng đều 50nm. Một số có dạng hình que. Chứa enzym phiên mã ngược. Lan truyền nhờ rệp (aphid).

Loài đại diện là virus khảm hoa lơ.

b) *Họ Geminiviridae*



Genom là ADN chuỗi đơn, khép kín, khối lượng phân tử  $0,7 - 0,8 \times 10^6$ . Hai hạt không hoàn thiện gắn với nhau thành đôi với kích thước khoảng  $18 \times 30$ nm và thường thấy ở trong nhân tế bào. Tồn lưu trong vector là bọ cánh trắng và bọ ăn lá.

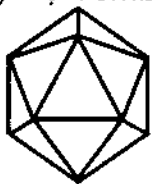
c) *Họ Luteoviridae*



Genom là ARN chuỗi đơn, (+), khối lượng phân tử  $2 \times 10^6$ . Hạt đồng đều với kích thước  $25 - 30$ nm. Lan truyền nhờ rệp và tồn lưu trong rệp.

Đại diện là virus lùn vàng đại mạch.

d) *Họ Tombusviridae*



Genom là ARN chuỗi đơn, (+), dạng thẳng, khối lượng phân tử  $1,5 \times 10^6$ , không có đuôi polyA. Hạt hình đa diện, kích thước  $32 - 35$ nm. Có trong sinh chất, nhân và đôi khi cả trong ti thể. Lan truyền qua đất do tiếp xúc nơi xây xát, qua hạt.

Đại diện là virus hoại tử thuốc lá (TNV) và virus còi cọc cà chua.

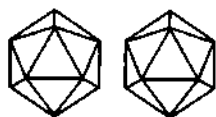
e) *Họ Bromoviridae*



Genom là 3 phân tử ARN chuỗi đơn, (+), dạng thẳng. Hạt hình đa diện đường kính  $26 - 35$ nm và hình gậy có kích thước  $18 - 26 \times 30 - 85$ nm. Muốn gây nhiễm phải cần cả 3 phân tử ARN. Mỗi phân tử được bọc vỏ capsit tạo hạt riêng. Lắp ráp trong sinh chất. Lây lan nhờ bọ cánh cứng.

Đại diện là virus khảm lúa mạch, khảm dưa chuột, khảm cỏ linh lăng.

#### f) Họ Comoviridae



Các hạt hình đa diện, không vỏ ngoài, kích thước 28 – 30nm, chứa ARN đơn, (+), dạng thẳng, khối lượng phân tử 2,4 hoặc  $1,4 \times 10^6$ . Sợi ARN nhỏ hơn mã cho protein vỏ capsit. Cả hai sợi ARN đều cần cho quá trình nhân lên. Lắp ráp trong sinh chất. Lan truyền qua hạt và bộ cánh cứng.

Đại diện là virus khảm đậu dũa và virus đốm vòng thuốc lá.

#### g) Họ Tobamovirus (nhóm virus khảm thuốc lá)



Genom là ARN đơn, (+), dạng thẳng, khối lượng phân tử  $2 \times 10^6$ . Hạt hình trụ cứng, kích thước  $300 \times 18\text{nm}$ . Lan truyền theo đường cơ giới hoặc qua hạt.

#### h) Họ Potyviridae

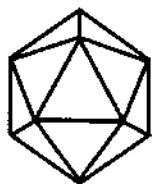


Genom là ARN đơn, (+), dạng thẳng, khối lượng phân tử  $3,0 - 3,5 \times 10^6$ . Hạt có dạng hình gậy mềm dẻo, đối xứng xoắn. Lắp ráp trong sinh chất nhưng trong nhân cũng có thể vùi. Không tồn lưu trong rệp.

Đại diện là virus khoai tây typ Y.

#### 1.2.5.4.5. Virus chỉ nhân lên trong tảo, nấm, và protozoa

##### a) Họ Totiviridae

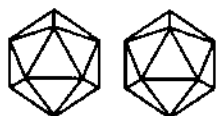


Hạt đồng đều với kích thước 40 – 43nm chứa genom một phân tử ARN kép với khối lượng phân tử  $3,3 - 4,2 \times 10^6$ . Một protein capsit chính, một vỏ, có transcriptaza. Lắp ráp trong sinh chất.

Chi đại diện :

*Totivirus* (virus LA của *Saccharomyces cerevisiae*).

##### b) Họ Phycodnaviridae

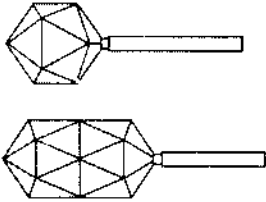


Hạt hình đa diện, lớn, đường kính 13 – 200nm chứa ADN sợi kép, khép kín, với khối lượng phân tử  $150 - 210 \times 10^6$ . Không có vỏ ngoài. Chứa lipid trong vỏ. Nhiễm vào *Paramecium* (một chi Protozoa thuộc bộ *Hymenostomatida*) và *Chlorella* sp.

#### 1.2.5.4.6. Virut chỉ nhân lên trong vi khuẩn

Virut của vi khuẩn rất đa dạng và phong phú, nhưng chỉ có một số ít đại diện là được nghiên cứu kỹ.

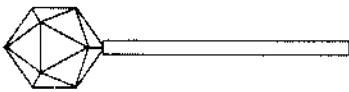
##### a) Họ Myoviridae (phage có đuôi co được)



Genom ADN kép dạng thẳng, không khép vòng, khối lượng phân tử  $120 \times 10^6$ . Đầu hình đa diện đều hoặc hơi dài ( $110 \times 80\text{nm}$ ). Đuôi có cấu tạo phức tạp, dài  $113 \times 16\text{nm}$ , co được. Đuôi có đĩa cổ, đĩa gốc, gai, lông.

Các phage bao gồm : T2, T4, T6, PBS 1, SP 8, SP 50, P2 Mu.

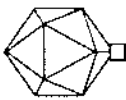
##### b) Họ Siphoviridae (phage có đuôi dài không co được)



Genom ADN kép dạng thẳng, khối lượng phân tử  $33 \times 10^6$ . Đầu có đường kính  $60\text{nm}$ . Đuôi không co được, có thể dài đến  $570\text{nm}$ . Không phá vỡ ADN ký chủ.

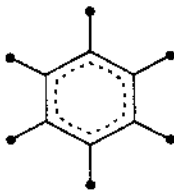
Bao gồm các phage :  $\lambda$ ,  $\chi$ ,  $\varphi$  80.

##### c) Họ Podoviridae (phage đuôi ngắn)



Genom ADN kép, dạng thẳng, khối lượng phân tử  $25 \times 10^6$ . Đầu có đường kính  $60\text{nm}$ . Đuôi ngắn ( $17 \times 8\text{nm}$ ) với 6 sợi lông đuôi. Bao gồm các phage T7, P22.

##### d) Họ Tectiviridae (phage có hai vỏ capsit)



ADN kép, dạng thẳng, khối lượng phân tử  $10 \times 10^6$ . Hạt có đường kính  $63\text{nm}$ , chứa lipid ngoài. Hai vỏ capsit, vỏ ngoài cứng, vỏ trong mềm. Sau khi tiêm ADN, xuất hiện cấu trúc đuôi dài khoảng  $60\text{nm}$ .

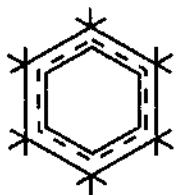
Đại diện là PRD 1, Bam 35.

##### e) Họ Plasmaviridae (phage đa hình thái)



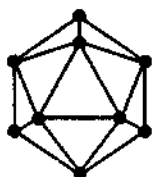
ADN kép, khép kín, khối lượng phân tử  $8 \times 10^6$ . Hạt được bọc vỏ ngoài chứa lipid, đường kính  $50 - 150\text{nm}$  bên trong có lõi nhỏ đậm đặc. Hình thái thay đổi chút ít. Hình thành theo kiểu nảy chồi có 1 chi là *Plasmavirus*. Loài đại diện MV – L2. Nhiễm vào *Mycoplasma*.

f) Họ Corticoviridae (nhóm phage PM2)



ADN kép, khép vòng khối lượng phân tử  $6 \times 10^6$ . Hạt đều, đường kính 60nm. Lipit nằm giữa các lớp vỏ protein. Không có vỏ ngoài, không có đuôi, gai ở đỉnh. Nhiễm vào *Pseudomonas*.

g) Họ Microviridae



Phage đồng đều chứa genom ADN đơn, khép vòng, khối lượng phân tử  $1,6 - 1,7 \times 10^6$ . Hạt hình đa diện (25 – 27nm) có bướu ở 12 đỉnh. Không có vỏ ngoài. Bao gồm  $\phi$ X 174 và G4.

h) Họ Inoviridae



Phage hình gậy hoặc hình sợi, capsit xoắn. ADN đơn, (+), khép vòng. Không làm tan tế bào chủ.

Các chi đại diện :

– *Inovirus*. Hạt hình sợi dài  $760 - 1950 \times 6 - 8$ nm mềm dẻo. Vi khuẩn chủ không bị tan. Đại diện là phage M13, 7d.

– *Plectrovirus* (mycoplasma virus type 1 phage). ADN có khối lượng phân tử  $2,5 - 5,2 \times 10^6$ . Hình gậy ngắn hoặc hình viên đạn, kích thước  $85 - 280 \times 14$ nm.

i) Họ Cystoviridae (nhóm phage  $\phi$  6)



Ba phân tử ARN kép dạng thẳng, khối lượng phân tử  $2,3 - 3,1$  và  $5,0 \times 10^6$ . Hạt đồng đều, đường kính 75nm, được bao bởi vỏ ngoài lipit. Nhiễm vào *Pseudomonas*.

k) Họ Leviviridae (phage ARN đơn)



Genom ARN đơn, (+), dạng dài, khối lượng phân tử  $1,2 \times 10^6$ . Capsit đa diện, đường kính 24nm.

Các chi đại diện :

- *Levivirus* nhóm coliphage MS 2.
- *Allolevivirus* nhóm coliphage Q $\beta$ .

## Chương 2

# CÁC PHƯƠNG THỨC SINH SẢN CỦA VIRUT

## 2.1. MỐI QUAN HỆ GIỮA VIRUT VÀ TẾ BÀO

Quá trình sinh sản của virus là một trong những sự kiện đáng chú ý nhất của khoa học. Khác với sự sinh sản của bất kỳ vi sinh vật nào, ở đây virus xâm nhập vào tế bào sống có kích thước lớn hơn từ hàng trăm đến hàng ngàn lần so với kích thước của chúng. Chúng sử dụng quá trình trao đổi chất của tế bào chủ, tổng hợp các thành phần thiết yếu của mình sau đó lắp ráp để tạo nên những bản sao mới giống như nguyên bản. Vì vậy, người ta thường sử dụng thuật ngữ *sự nhân lên* (nhân bản) của virus thay cho từ *sinh sản*.

Sự nhân lên của virus có thể làm tan dần đến gây chết tế bào gọi là chu trình tan (lytic cycle) hoặc có thể tồn tại lâu dài trong tế bào dưới dạng tiềm ẩn mà không gây chết tế bào gọi là chu trình tiềm tan (lysogenic/latent cycle).

### 2.1.1. Chu trình tan

Đa số virus sau khi xâm nhập vào tế bào, tiến hành nhân lên làm tan và giết chết tế bào. Toàn bộ quần thể virus mới, từ vài hạt đến hàng ngàn hạt ồ ạt ra khỏi tế bào. Có nhiều nguyên nhân gây chết tế bào.

- Ngay ở giai đoạn sớm đã làm xáo trộn quá trình tổng hợp protein của tế bào.
- Tích lũy các chất gây độc tế bào.
- Phá huỷ lysosom giải phóng các enzym tiêu hoá vào tế bào chất mà gây tan bào.

### 2.1.2. Chu trình tiềm tan

Thuật ngữ tiềm tan (lysogeny) là chỉ trạng thái nhiễm virus mà không gây tan bào và không tạo ra thế hệ virus mới trong đó genom của virus gắn xen vào NST của tế bào. Ở virus động vật ADN gắn xen gọi là *provirus*, còn ở thể thực khuẩn thì gọi là *prophage*. Đôi khi genom của virus nhiễm cũng có thể tồn tại như một plasmid. Trong cả hai trường hợp trên, virus đã sử dụng genom của mình để mã hoá cho một loại protein ức chế sự hoạt hoá các gen cần cho quá trình nhân lên.

Hệ thống miễn dịch của cơ thể không tiếp xúc được virus ở trạng thái tiềm tan vì KT không thâm vào được tế bào.

Khi tế bào động vật ở giai đoạn giảm phân, NST nhân đôi thì provirus cũng có thể tạo thêm những đặc điểm mới cho tế bào chúng nhiễm. Chẳng hạn như khi một prophage có gen mã hoá cho một độc tố. Đó là trường hợp của *Clostridium botulinum* – một loại vi khuẩn chứa độc tố gây chết người thường nhiễm trong đồ hộp. Độc tố được mã hoá bởi chính prophage tiềm tan trong vi khuẩn này.

Một ví dụ khác của hiện tượng tiềm tan là tải nạp. Đó là một đoạn ADN của tế bào này có thể chuyển sang tế bào khác thông qua phage (có chứa cả một đoạn ADN của

phage). Cuối cùng là ung thư có thể phát triển khi virus xâm nhập vào tế bào. Gen virus ở trạng thái tiềm tan có thể mã hoá tạo protein gây ung thư. Ở một số virus ARN, kết quả gây nhiễm là tạo quần thể virus mới chui ra khỏi tế bào một cách từ từ mà không giết chết tế bào. Loại nhiễm này gọi là nhiễm dai dẳng.

### 2.1.3. Hậu quả của mỗi tương tác giữa virus và tế bào

Xét về tính chất của mỗi tương tác có thể chia mối quan hệ giữa virus và tế bào thành một số trường hợp sau :

- *Nhiễm độc lập* : Genom của virus không gắn xen vào NST của tế bào mà tồn tại trong tế bào chất như là plasmid.

- *Nhiễm hoà nhập* : Gắn xen genom của virus vào NST của tế bào.

Xét về tính chất của quần thể virus mới tạo thành có thể chia thành :

- *Tế bào nhiễm sinh sản* (productive infection) : Tạo ra quần thể virus mới hoàn thiện.

- *Tế bào nhiễm không hoàn thiện* hay *nhiễm khuyết tật/nhiễm thui chột* (non productive/abortive infection) là do các virus khuyết tật gây nhiễm (virus bị khuyết tật xuất hiện do di truyền hoặc do đột biến làm mất chức năng di truyền cần cho quá trình nhân lên) hoặc cũng có thể do các virus là hoàn thiện nhưng nhiễm vào các tế bào có khả năng đề kháng về mặt di truyền nên không cho phép chúng nhân lên hoặc có thể do tế bào không có đủ điều kiện giúp virus nhân lên. Các tế bào này được gọi là các tế bào không chấp nhận hay các tế bào không cho phép (non permissive cell).

Virus khuyết tật tồn tại độc lập muốn nhân lên cần phải có virus khác hỗ trợ. Ví dụ, virus viêm gan D muốn nhân lên phải cần có sự hỗ trợ của virus viêm gan B.

Một số điều kiện tự nhiên như nhiệt độ cao, sự thay đổi pH trong ổ viêm có thể làm mất khả năng nhân lên của virus.

## 2.2. ĐẠI CƯƠNG VỀ CHU TRÌNH NHÂN LÊN CỦA VIRUS

Virus là nhóm kí sinh nội bào bắt buộc do vậy chúng phải xâm nhập và nhân lên trong tế bào sống để tái tạo thế hệ virus mới. Chu trình nhân lên bao gồm 5 bước : hấp phụ, xâm nhập, sinh tổng hợp axit nucleic và protein, lắp ráp và phóng thích.

### 2.2.1. Hấp phụ

Bước đầu tiên của quá trình nhân lên là sự bám của virus lên bề mặt tế bào. Do không có chất hoá học từ xa thu hút virus vào tế bào nên sự gặp gỡ giữa chúng mang tính chất ngẫu nhiên. Quá trình hấp phụ xảy ra khi có mối liên kết đặc hiệu giữa thụ thể (receptor) của virus với thụ thể của tế bào. Điều đó giải thích tại sao chỉ có những virus nhất định mới có thể gây nhiễm vào các tế bào nhất định.

Ví dụ, virus *polio* chỉ hấp phụ được trên bề mặt tế bào người và linh trưởng mà không hấp phụ lên tế bào động vật khác vì không có thụ thể phù hợp cho chúng.

Quá trình hấp phụ không phụ thuộc vào nhiệt độ tức là không cần tiêu hao năng lượng và diễn ra theo hai pha :

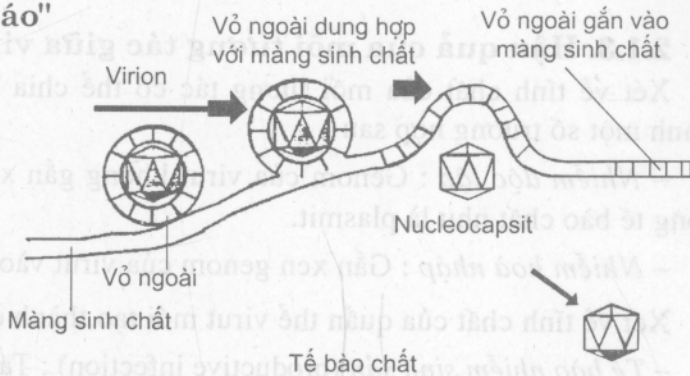


- Pha đầu không mang tính đặc hiệu, diễn ra nhờ lực hút ion giữa virut và tế bào.
- Pha hai mang tính đặc hiệu, đó là do sự gắn kết vật lý nhờ có sự tương đồng về cấu trúc giữa hạt virut và thụ thể bề mặt tương ứng của tế bào (hình 2.1).

### 2.2.2. Xâm nhập và "cởi áo"

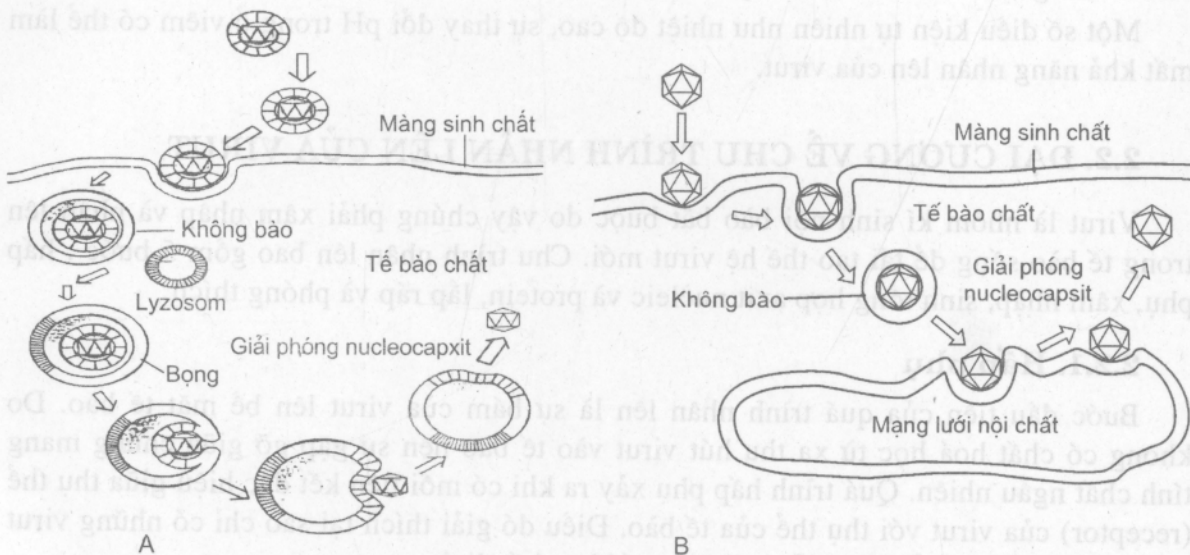
Tiếp theo giai đoạn hấp phụ là giai đoạn xâm nhập. Quá trình diễn ra theo hai cách :

- Màng virut dung hợp với màng sinh chất của tế bào (ví dụ ở virut *paramyxo* và *retro*) do bản chất của các màng này giống nhau rồi đẩy phần lõi virut vào tế bào chất còn vỏ ngoài virut nằm lại trên bề mặt tế bào (hình 2.1).



**Hình 2.1.** Virion xâm nhập vào tế bào vật chủ bằng cách dung hợp vỏ ngoài với màng tế bào chất rồi giải phóng capsit vào tế bào chất.

- Xâm nhập theo cơ chế thực bào hoặc nhập bào. Một phần màng tế bào lõm vào, virut bị đẩy vào tế bào. Màng tế bào bao lấy virut tạo bong (endosome) nằm trong tế bào chất. Bơm proton trong bong làm hạ pH xuống khoảng 5, phân kị nước sắp xếp lại tạo điều kiện để màng virut dung hợp với màng bong nhờ đó nucleocapsit giải phóng vào tế bào chất (hình 2.2).



**Hình 2.2.** Virion xâm nhập vào tế bào theo cơ chế ẩm bào bằng cách tạo không bào tiêu hoá.

- A – Ở virut có vỏ ngoài, chúng bám vào màng tế bào rồi vào tế bào chất tạo không bào (vacuole). Không bào dung hợp với vỏ ngoài của virut tạo bong để giải phóng nucleocapsit vào tế bào chất.
- B – Ở virut không có vỏ ngoài, virion vào tế bào tạo không bào tạm thời. Màng không bào dung hợp với hệ thống màng trong mạng lưới nội chất để giải phóng nucleocapsit.

Đối với virus *pox* thì có cơ chế "cởi áo" đặc biệt. Bọng dung hợp với lysosom tạo phagolysosom. Enzym trong lysosom tham gia giải phóng axit nucleic.

Nhiều virus ADN còn mã để tổng hợp enzym chuyên biệt dùng cho "cởi áo".

Sau khi giải phóng protein, axit nucleic không thể tự chui ra khỏi tế bào. Đây là giai đoạn ын (eclipse period). Giai đoạn này cần năng lượng và đối với các virus khác nhau đòi hỏi nhu cầu năng lượng khác nhau. Đó là năng lượng thu được từ các phản ứng sinh hoá của tế bào.

Đối với thể thực khuẩn, sau khi sợi lông đuôi gắn vào thụ thể của tế bào vi khuẩn, lysozym của virus làm tan một phần thành tế bào đồng thời bao đuôi co lại còn 50% chiều dài, đâm ống trực qua thành tế bào tới màng sinh chất tạo áp lực bơm ADN vào tế bào chất còn vỏ capsit nằm lại bên ngoài.

### **2.2.3. Tổng hợp các thành phần của virus**

Tuỳ loại virus mà quá trình tổng hợp các thành phần của chúng rất khác nhau. Trước hết phụ thuộc vào genom của virus là ADN hay ARN, chuỗi đơn hay kép, dạng thẳng hay khép vòng.

Đa số virus động vật chứa ADN chuỗi kép, sao chép trong nhân. Chỉ có virus *pox* (đậu mùa) là quá trình sao chép và tổng hợp protein đều diễn ra trong tế bào chất. Các virus khác tổng hợp protein trong tế bào chất sau đó mới chuyển vào trong nhân để tiến hành lắp ráp.

#### **2.2.3.1. Sự phiên mã**

Đối với virus ADN chuỗi kép, việc tổng hợp mARN diễn ra giống như ở tế bào ын. Mạch nào được phiên mã là tuỳ thuộc vào promoter, nơi gắn ARN polymeraza của tế bào.

Đối với virus ADN chuỗi đơn thì phải tạo thành ADN chuỗi kép dạng trung gian gọi là dạng sao chép (RF – replicative form), rồi từ đó tổng hợp mARN nhờ ARN – polymeraza của tế bào.

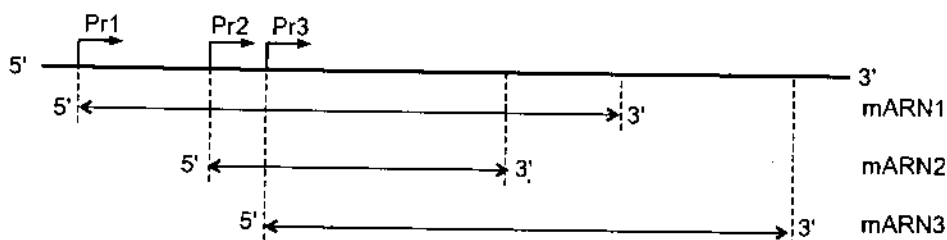
Đối với virus ARN chuỗi đơn, (+) thì đơn giản là dùng luôn sợi này làm mARN vì trình tự nucleotit của chúng giống với trình tự nucleotit của mARN.

Đối với virus ARN chuỗi đơn, (–) hoặc ARN chuỗi kép thì không mạch nào có thể dùng làm mARN nên trước hết phải tổng hợp mạch ARN (+) (antigenom) nhờ ARN polymeraza phụ thuộc ARN do virus mang theo vì tế bào không có loại enzym này.

Đối với virus *retro* (ví dụ virus HIV) mặc dù genom là ARN chuỗi đơn, (+) nhưng không được dùng làm mARN. Mạch ARN (+) được dùng làm khuôn để tổng hợp mạch ADN bổ sung hay cADN (complementary DNA). Hai sợi bắt cặp tạo thành chuỗi dị hợp (heteroduplex) ADN/ARN. Sau đó mạch ARN bị enzym phân giải. Từ ADN (–) tổng hợp thêm một mạch ADN (+). Hai sợi bắt cặp, khép vòng rồi gắn xen vào NST của tế bào dưới dạng provirus.

- Tùy thuộc vào các cơ chế kiểm soát mà khuôn dùng phiên mã tạo mRNA sớm và muộn khác với khuôn đúng sao chép genom.
- Nhiều genom của virus chứa đoạn khởi đầu (promoter) và đoạn tăng cường (enhancer) để kích thích phiên mã.
- Các bản sao mRNA tiền chất thường được cắt nối (splicing) để loại bỏ intron nằm giữa các exon.
- Đôi khi phiên mã xảy ra theo cơ chế chồng lớp (hình 2.3), nghĩa là gen nọ gối lên gen kia trên cùng một đoạn ADN theo các khung đọc khác nhau, có điểm khởi đầu và kết thúc khác nhau để tổng hợp các protein khác nhau.

Đây là giải pháp rất phù hợp giúp cho virus có thể tổng hợp được một lượng protein lớn hơn so với tiềm năng gen chúng có.



**Hình 2.3.** Phiên mã chồng lớp. Các gen mã cho mRNA - 1, mRNA - 2 và mRNA - 3 chồng lên nhau trên cùng một đoạn gen, chỉ khác ở promoter và vị trí kết thúc.

### 2.2.3.2. Tổng hợp các thành phần của virus

Tổng hợp protein của virus trên ribosom của tế bào. Protein cấu trúc gồm protein tạo vỏ và protein trong lõi. Protein không cấu trúc là các enzym tham gia vào quá trình sao chép.

Genom của virus con được sao từ genom của virus mẹ. Đối với genom ADN một sợi thì phải tạo sợi bổ sung rồi từ sợi này tạo genom virus mới. Đối với virus ARN, genom được tạo thành là sợi ARN có chiều dài đủ (full length) giống như sợi mẹ, còn mRNA có kích thước ngắn dùng để tổng hợp các protein chức năng khác nhau.

### 2.2.4. Lắp ráp

Lắp ráp là sự kết hợp giữa protein vỏ capsit với genom. Đa số trường hợp protein capsit tập hợp tạo thành một cấu trúc rỗng gọi là *tiền capsit* (procapsit), sau đó axit nucleic do va chạm tình cờ mà chui vào cấu trúc này rồi hàn kín lại không cho các phân tử lớn thấm qua.

Ở thể thực khuẩn quá trình lắp ráp xảy ra từng bước một. Đầu tiên ADN thu lại tạo cấu trúc dính lại với nhau, sau đó protein gắn xung quanh tạo đầu. Các đĩa cổ, đĩa gốc và đuôi, đuôi được hình thành ở nơi khác, khi va chạm trong môi trường dịch thể sẽ lần lượt gắn thêm vào để tạo thành phage hoàn chỉnh. Đôi khi sự lắp ráp xảy ra không hoàn thiện (chỉ có đầu rỗng hoặc thiếu đuôi) sẽ tạo phage không hoàn chỉnh gọi là phage khuyết tật.

### 2.2.5. Phóng thích

Là giai đoạn cuối cùng của quá trình nhân lên. Đối với đa số thể thực khuẩn enzym quan trọng trong pha này là lysozym được mã hoá sau cùng bởi gen của phage. Enzym này phân giải peptidoglycan của thành tế bào vi khuẩn làm cho thành tế bào vỡ ra, thể thực khuẩn ồ ạt chui ra ngoài để nhiễm vào tế bào khác. Thời gian trung bình của một chu trình nhân lên là 20 – 40 phút. Số lượng phage được tạo thành khoảng 50 – 200.

Đối với virus động vật, một số có khả năng phá vỡ tế bào để chui ra hàng loạt, làm cho tế bào chết (chu trình tan). Số khác (virus *adeno*) có thể chui ra từ từ mà không giết tế bào. Đối với virus có vỏ ngoài, một số lắp ráp ngay sát màng tế bào chất, số khác lắp ráp sát màng nhân ở vị trí đặc hiệu nơi đã gắn sẵn glycoprotein do gen virus mã hoá. Khi "nảy chồi" một phần màng tế bào chất bao quanh nucleocapsit tạo thành vỏ ngoài.

## 2.3. CÁC PHƯƠNG THỨC NHÂN LÊN CỦA VIRUS

Quá trình nhân lên của virus trong tế bào hết sức phức tạp. Mỗi nhóm virus có cách nhân lên riêng. Năm 1971, David Baltimore (người được giải Nobel về công trình nghiên cứu virus gây ung thư) đã đề nghị chia virus thành 6 nhóm dựa vào genom và cách thức tổng hợp mARN. Sau đây là vài nét đơn giản hoá quá trình nhân lên để nêu bật sự khác nhau giữa các nhóm.

### 2.3.1. Các virus có genom ADN

#### 2.3.1.1. Nhóm 1 – Virus ADN kép

Ví dụ virus *vaccinia*, *herpes simplex*, *adeno*, *papiloma*.

**Phiên mã :** Có 2 loại mARN được tổng hợp với số lượng và thời điểm khác nhau.

- mARN sớm : được tạo thành trước khi tổng hợp ADN virus, chủ yếu mã hoá cho các enzym tham gia vào quá trình tổng hợp axit nucleic của virus,

- mARN muộn : tạo thành sau khi tổng hợp ADN virus, chủ yếu mã hoá cho các protein cấu trúc như vỏ capsit, vỏ ngoài.

**Tổng hợp ADN virus :**

- Các enzym : Enzym sao chép ADN chủ yếu là ADN polymeraza phụ thuộc ADN. Các virus có kích thước lớn hơn (ví dụ *vaccinia*, *herpes simplex*) thì tự tổng hợp ADN polymeraza riêng cho mình. Các virus có kích thước nhỏ (ví dụ *adeno*, *papiloma*) thì sử dụng ADN – polymeraza của tế bào.

- Khuôn : ADN của virus con được tổng hợp trên khuôn genom ADN của virus mẹ.

- Vị trí tổng hợp : Trong nhân tế bào (trừ virus *pox*).

- ADN mới tạo thành.

- + Dùng làm khuôn để tạo mARN muộn cần cho tổng hợp protein muộn.

- + Làm khuôn để tạo mạch tương bù cần cho tổng hợp nhiều genom của virus mới.

- ADN kép khép vòng sao chép theo cơ chế "mặt" hay theta

**Tổng hợp protein virus** : Quá trình gồm 2 giai đoạn tùy thuộc vào sự tổng hợp mARN.

– **Tổng hợp protein sớm**. Đây là các enzym (ADN polymeraza phụ thuộc ADN) cần cho sao chép ADN.

– **Tổng hợp protein muộn**.

+ Diễn ra sau khi tổng hợp ADN.

+ Chủ yếu là các protein cấu trúc để tạo vỏ capsit và vỏ ngoài.

+ Vị trí tổng hợp : protein được tổng hợp trên riboxom trong tế bào chất, sau đó được vận chuyển tới vị trí lắp ráp.

**Lắp ráp** : Quá trình lắp ráp genom với protein để tạo thành hạt virus mới xảy ra ở các vị trí khác nhau bên trong tế bào.

– **Trong nhân tế bào**. Ví dụ virus *herpes simplex*, *adeno*, *papiloma*. Riêng virus *herpes* hình thành vỏ ngoài bằng cách nảy chồi qua màng nhân. Màng nhân trước đó đã được gắn glycoprotein do virus mã hoá tại các vị trí đặc hiệu. Virus được bao bởi màng nhân khi ra khỏi nhân, sau đó kết hợp với mạng lưới nội chất sần hoặc bộ máy Golgi để ra khỏi tế bào.

– **Trong tế bào chất** : Ví dụ virus *vaccinia* nhân lên hoàn toàn trong tế bào chất tại các cụm riboxom.

### ***Virus có genom ADN kép đặc biệt***

Virus viêm gan B (HBV) có chu trình nhân lên đặc biệt và phức tạp. Genom gồm 2 mạch không bằng nhau. Mạch (–) dài, mạch (+) ngắn. Chứa enzym ADN – polymeraza. Sau khi nhiễm, ADN được giải phóng vào nhân.

Phiên mã xảy ra trong nhân nhờ ADN – polymeraza của tế bào để tạo ra nhiều loại mARN trong đó có ARN kích thước lớn được coi là tiền genom – một dạng trung gian để tạo genom. Các ARN đi ra tế bào chất để tổng hợp protein của virus như protein lõi và polymeraza. Enzym này có 3 hoạt tính (ADN – polymeraza, enzym phiên mã ngược và ribonucleaza H). Tiếp đó, ARN tiền genom liên kết với ADN – polymeraza và protein lõi để tạo ra hạt lõi (virus chưa hoàn chỉnh). Enzym phiên mã ngược tiến hành chuyển ARN tiền genom thành mạch ADN (–), sau đó hầu hết ARN tiền genom bị phân huỷ nhờ ribonucleaza H. Chỉ một đoạn ARN được giữ lại dùng làm mẫu cho ADN – polymeraza tổng hợp mạch ADN (+) từ khuôn ADN (–) để tạo chuỗi ADN kép. Cuối cùng là hoàn thiện nucleocapsit.

### ***2.3.1.2. Nhóm 2 – Virus ADN đơn***

Chỉ có một họ duy nhất là *Parvoviridae*.

Các virus chứa ADN đơn thường có genom nhỏ. Tiến hành sao chép trong nhân nhờ ADN – polymeraza của tế bào để tạo ADN kép trung gian, gọi là dạng sao chép (RF – replicative form). RF vừa dùng làm khuôn tổng hợp genom ADN đơn vừa dùng để phiên mã tạo mARN sau đó dịch mã tổng hợp protein.

Một số virus có khiếm khuyết nên muốn nhân lên cần sự hỗ trợ của các virus khác.

### 2.3.2. Các virus có genom ARN

Do vật liệu di truyền là ARN nên virus có cơ chế sao chép không giống với các cơ thể sống khác. Genom ARN của virus có các dạng phiên mã sau đây.

- ARN đơn, (+). Genom của virus chính là mARN.
- ARN đơn, (-). mARN được phiên mã từ genom của virus mẹ.
- ARN kép, phân đoạn. mARN của virus được phiên mã riêng từ mỗi đoạn ARN genom của mẹ sử dụng transcriptaza liên kết với mỗi đoạn.

**Virus ARN có các đặc điểm sau :**

- Do tế bào chủ không có ARN – polymeraza phụ thuộc ARN nên enzym này bắt buộc phải được mã hoá bởi genom virus và thường có mặt trong hạt virus trưởng thành.

- Gen mã hoá cho ARN – polymeraza thường là gen lớn nhất trong genom và độc lập hoàn toàn với nhân tế bào chủ trong sao chép và phiên mã. Do vậy, khác với virus ADN gây nhiễm ở eukaryote, rất nhiều virus tiến hành nhân lên hoàn toàn trong tế bào chủ.

- Các enzym ARN – polymeraza phụ thuộc ARN hoạt động không chính xác như polymeraza phụ thuộc ADN và không có khả năng đọc sửa (proofreading) nên có tần số đột biến rất cao khoảng  $10^{-3} - 10^{-4}$  bazơ, qua mỗi chu kỳ sao chép xuất hiện một đột biến, gấp 3 đến 4 lần so với virus ADN. Điều này dẫn đến các hệ quả :

- + Tần số đột biến ở virus rất cao nên nếu virus có chu kỳ nhân nhanh thì sự biến đổi KN cũng diễn ra nhanh, vì thế tính độc cũng phát triển rất nhanh. Điều này có được là do virus ARN thích nghi rất nhanh với sự thay đổi của điều kiện môi trường hoặc tế bào chủ.

- + Một số virus ARN đột biến nhanh đến nỗi chúng tạo thành và tồn tại các quần thể chứa các genom khác nhau ngay trong một vật chủ. Việc xác định chúng ở mức độ phân tử chỉ có thể dựa vào các trình tự chiếm đa số hoặc trung bình.

Sau đây là một số ví dụ về quá trình nhân lên của virus ARN.

#### 2.3.2.1. Nhóm 3 – Virus ARN đơn, (+)

Ví dụ, virus gây bệnh bại liệt *polio*. Lúc đầu không có quá trình phiên mã vì ARN genom có trình tự nucleotit giống với trình tự của mARN nên làm luôn chức năng của mARN.

Có khả năng gây nhiễm vì genom mã hoá được cho tất cả các protein cần thiết của virus.

**Dịch mã :** Genom ARN (+) dùng làm mARN để tổng hợp polypeptit tiền chất lớn sau đó nhờ proteaza phân cắt thành các phân tử nhỏ có chức năng khác nhau như :

- Protein cấu trúc tạo capsit.

- ARN – polymeraza phụ thuộc ARN cần cho quá trình sao chép (tế bào không có enzym này)
- Proteaza phân cắt peptit lớn.
- Protein gắn vào đầu 5' của genom (thay cho mũ) gọi là protein VPg cần cho khởi đầu sao chép.

### Tổng hợp ARN của virut

- Sự tạo thành genom mới xảy ra trên khuôn ARN dạng sao chép (RF) hay đối genom. Dạng này được tạo thành bằng cách tổng hợp ARN (-) bổ sung trên khuôn ARN (+) mẹ.
- Genom ARN (+) được tổng hợp trên khuôn ARN (-) của dạng sao chép RF.
- ARN – polymeraza phụ thuộc ARN tham gia tổng hợp cả RF và cả genom ARN (+) mới.

- ARN (+) mới được tổng hợp có những chức năng sau :

- + Làm khuôn để tổng hợp nhiều RF rồi từ đó tổng hợp nhiều ARN genom.
- + Dùng làm genom cho các virut mới.
- + Dùng làm mARN.

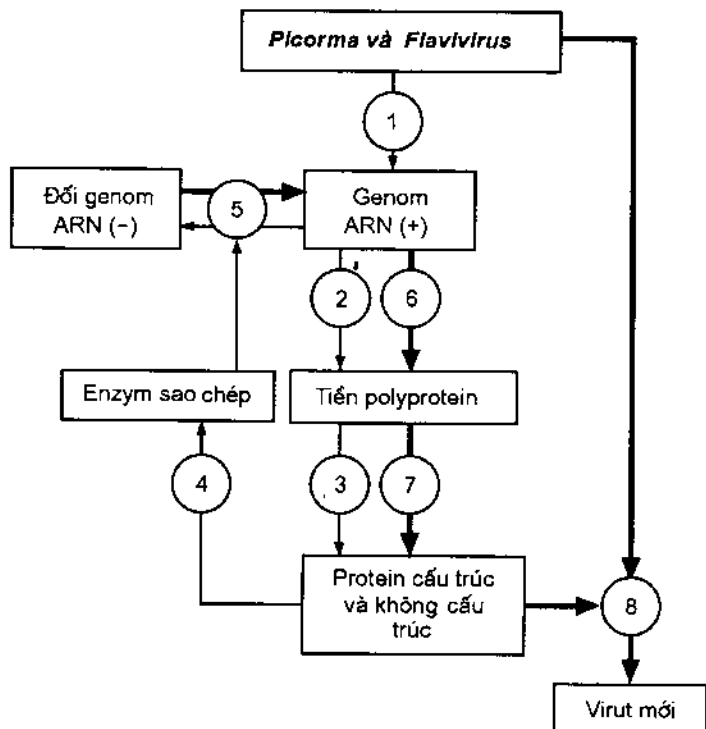
### Lắp ráp

Protein được tạo thành sau khi phân cắt polypeptit tiền chất sẽ lắp ráp với ARN genom mới trong tế bào chất để tạo ra virut mới.

Với virut *polio* thì sự nhân lên hoàn toàn xảy ra trong tế bào chất

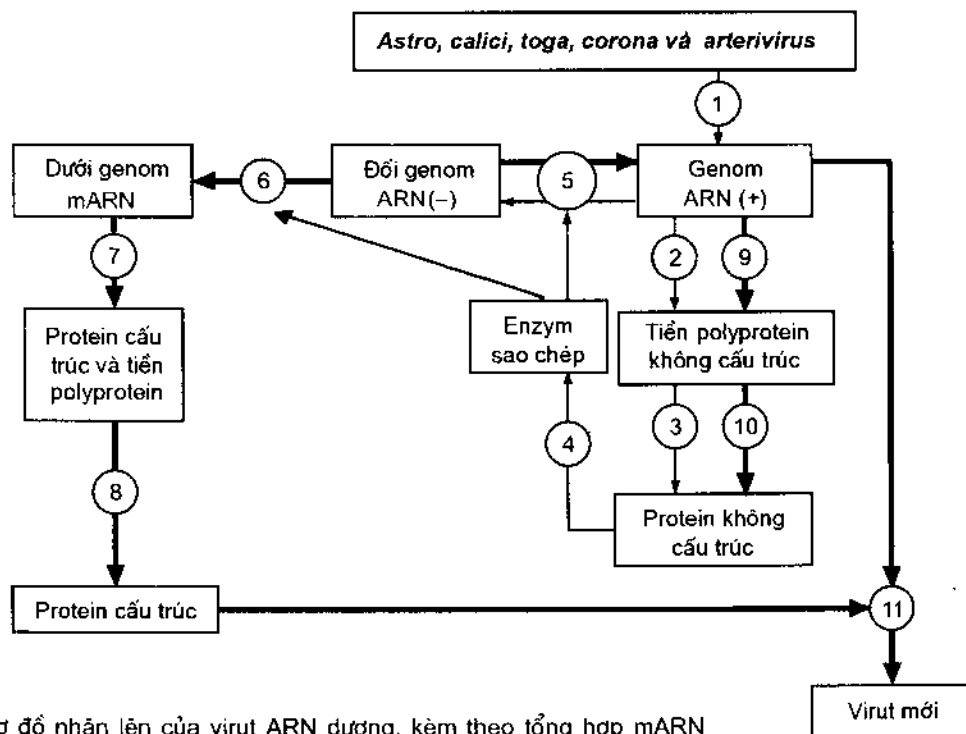
**Giải phóng :** Virut phá vỡ tế bào đột ngột để ô ạt ra ngoài.

Một số virut ARN (+) như các virut astro, calici, toga, corona tiến hành tổng hợp protein cấu trúc từ mARN dưới genom (hình 2.5).



**Hình 2.4.** Sơ đồ nhân lên của virut ARN chuỗi dương, không tạo thành các mARN dưới genom. Sau khi xâm nhập và cởi vỏ (bước 1), ARN genom được sử dụng trực tiếp để tổng hợp các polypeptit kích thước lớn sau đó phân cắt thành các protein cấu trúc và không cấu trúc (bước 2 và 3). Protein không cấu trúc (enzym) xúc tác để sao chép ARN thông qua sự tổng hợp ARN chuỗi âm (đối genom) (bước 4 và 5). Quá trình sao chép tạo ra nhiều genom ARN mới phục vụ cho tổng hợp các protein của virut (bước 6 và 7) và cho lắp ráp tạo virut mới (bước 8).

Mũi tên đậm thể hiện sự tổng hợp ở mức độ cao hơn.



**Hình 2.5.** Sơ đồ nhân lên của virus ARN dương, kèm theo tổng hợp mARN dưới genom. Sau khi xâm nhập và cởi vỏ (bước 1), ARN genom được dùng trực tiếp làm mARN để tổng hợp protein không cấu trúc, trong đó có enzym ARN polymeraza phụ thuộc ARN (RdRp) (bước 2 và 3). RdRp xúc tác để sao chép ARN, tổng hợp chuỗi ARN âm (đối genom) có kích thước đủ tương đương ARN genom (bước 4 và 5). Từ chuỗi âm làm khuôn tiến hành sao chép để tạo ra nhiều chuỗi ARN genom mới (bước 5 và 6). mARN dưới genom (có kích thước nhỏ hơn genom) tiến hành dịch mã để tạo protein cấu trúc (bước 7 và 8). Genom mới tạo thành tiến hành dịch mã để tạo nhiều protein không cấu trúc (bước 9 và 10) và sau đó lắp ráp với protein cấu trúc để tạo virus mới (bước 11).

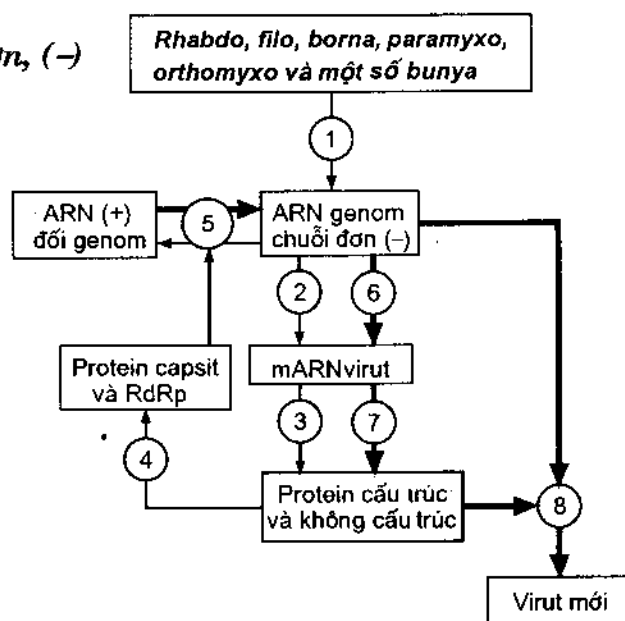
**Chú thích :** Bước 7. Dịch mã của mARN dưới genom ; Bước 8. Phân cắt nhờ proteaza và xử lý sau dịch mã ;  
 Bước 10. Phân cắt nhờ proteaza.

### 2.3.2.2. Nhóm 4 – Virus ARN đơn, (-)

Ví dụ, virus cúm hoặc á cúm. Chu trình nhân lên được minh họa ở hình 2.6.

**Hình 2.6.** Sơ đồ nhân lên của virus ARN chuỗi đơn, âm.

Sau khi xâm nhập và cởi vỏ một phần (bước 1), ARN tiến hành phiên mã nhờ ARN polymeraza phụ thuộc ARN do virus mang theo để tạo mARN (bước 2) cho tổng hợp protein cấu trúc và không cấu trúc (RdRp) (bước 3). Enzym RdRp tiến hành sao chép ARN thông qua bước trung gian là tạo ARN chuỗi dương (đối genom) (bước 4 và 5). Đối genom (chuỗi dương) được dùng làm khuôn để tổng hợp nhiều ARN genom (bước 5). Một phần ARN genom được dùng để tiến hành phiên mã mARN, tạo ra mARN cần cho tổng hợp protein (bước 7), một phần dùng để lắp ráp với protein để tạo virus mới (bước 8).





Đặc điểm quá trình phiên mã có thể tóm tắt như sau :

- Virut ARN (-) luôn mang theo ARN – polymeraza phụ thuộc ARN vì tế bào không có enzym này.
- mARN được tổng hợp trong nhân tế bào từ genom ARN (-) của mẹ nhờ enzym ARN polymeraza phụ thuộc ARN có trong hạt virut.
- Virut cúm chứa genom nhiều đoạn do đó mỗi mARN tạo thành được dùng để tổng hợp một loại protein.

**Tổng hợp ARN genom.** Khác với phiên mã tạo mARN, muốn tổng hợp genom ARN(-) trước hết phải tổng hợp chuỗi ARN trung gian hay đối genom (có chiều dài đủ) để làm khuôn. Quá trình này không cần mẫu. Tiếp đó tổng hợp ARN (-) genom trên mạch khuôn trung gian.

**Tổng hợp protein.** Protein của virut bao gồm :

- Enzym transcriptaza (ARN polymeraza phụ thuộc ARN).
- Protein vỏ ngoài gồm 2 loại đều được gắn glucosơ (glycosyl hoá). Một loại có hoạt tính hemagglutinin hoặc neuraminidaza và một loại có hoạt tính dung hợp hoặc tan máu.

### **Lắp ráp**

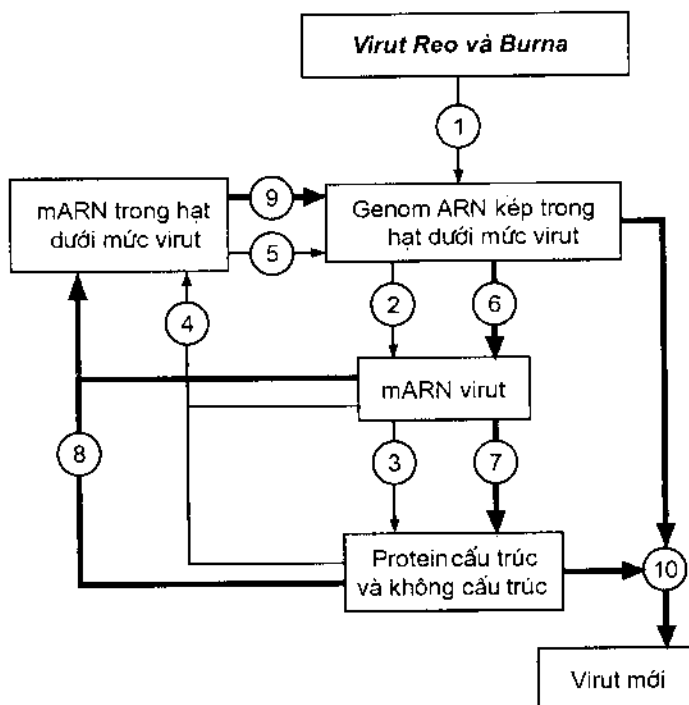
Nucleocapsit của virut được lắp ráp ở màng nhân tế bào và tạo vỏ ngoài khi virut nảy chồi qua màng sinh chất.

Virut cúm là virut ARN đơn, nhiều đoạn. Mỗi đoạn phiên mã cho một mARN riêng để từ đó tổng hợp thành các phân tử protein có chức năng khác nhau. ARN mới của virut được tổng hợp trong nhân tế bào. Quá trình này cần có sự tham gia phiên mã của tế bào chủ. Protein virut được tổng hợp trong tế bào chất rồi di chuyển tới bề mặt tế bào. Tại đây glycoprotein vỏ ngoài cũng được gắn vào các vị trí nhất định. Genom ARN mới được vận chuyển đến bề mặt tế bào và lắp ráp với protein mới tổng hợp của virut. Hạt virut được bao vỏ ngoài khi nảy chồi qua màng sinh chất.

#### **2.3.2.3. Nhóm 5 – Virut ARN kép**

- Nhóm này bao gồm các virut *reov* và *rotav*.
- Tất cả các virut ARN kép đều có genom nhiều đoạn.
- Mỗi đoạn phiên mã cho một mARN để tổng hợp một protein riêng.
- Hạt virut chứa ARN – polymeraza phụ thuộc ARN.
- Phiên mã thực hiện theo cơ chế bảo thủ và không đối xứng, nghĩa là chỉ tạo thành mARN. Mỗi mARN lại được sao một lần để tạo chuỗi ARN kép, đó cũng chính là genom (sơ đồ nhân lên được minh hoạ ở hình 2.7).

**Hình 2.7.** Sơ đồ nhân lên của virus ARN chuỗi kép. Sau khi xâm nhập và cởi vỏ từng phần (bước 1), các đoạn ARN chuỗi kép vẫn nằm trong lõi tiến hành phiên mã nhờ enzyme RdRp gắn ở lõi để tổng hợp mARN (bước 2) rồi từ đó tổng hợp protein (bước 3). Các protein này lắp ráp quanh mARN để tạo hạt dưới mức virus (bước 4). Sau đó mARN trong các hạt này tiến hành sao chép để tạo ARN genom chuỗi kép (bước 5). Các hạt dưới mức virus được tạo thành lại tiếp tục tham gia vào quá trình tổng hợp mARN (bước 6), tổng hợp protein (bước 7), sao chép (bước 8 và 9), lắp ráp với protein cấu trúc để tạo thành virus mới (bước 10)



#### 2.3.2.4. Nhóm 6 – Virus Retro chứa genom ARN đơn, (+)

Rất nhiều nhưng không phải tất cả virus *retro* có khả năng tạo khối u. Khi nhân lên không giết chết tế bào mà có thể chuyển dạng thành tế bào ung thư.

Genom là 2 phân tử ARN đơn, (+), gắn với nhau ở phía đầu (dạng dime).

Chứa 3 gen chính là *gag* (mã cho protein lõi), gen *pol* mã cho polymeraza phiên mã ngược (RT) và gen *env* mã cho protein vỏ ngoài. Ngoài ra còn có một số gen điều hoà.

Quá trình nhân lên : Gồm 2 giai đoạn :

– *Giai đoạn đầu*

+ Phiên mã nhờ enzyme phiên mã ngược để tạo chuỗi lai ARN/cADN.

+ Chuyển chuỗi lai ARN/cADN thành chuỗi ADN kép. Enzym RT có hoạt tính ribonucleaza H phân giải mạch ARN. Còn mạch cADN dùng làm khuôn tổng hợp mạch ADN bổ sung.

+ Cài xen phân tử ADN kép mới tổng hợp vào nhiễm sắc thể của tế bào tạo ra provirut.

– *Giai đoạn hai*

+ ARN của virus phiên mã nhờ enzyme của tế bào.

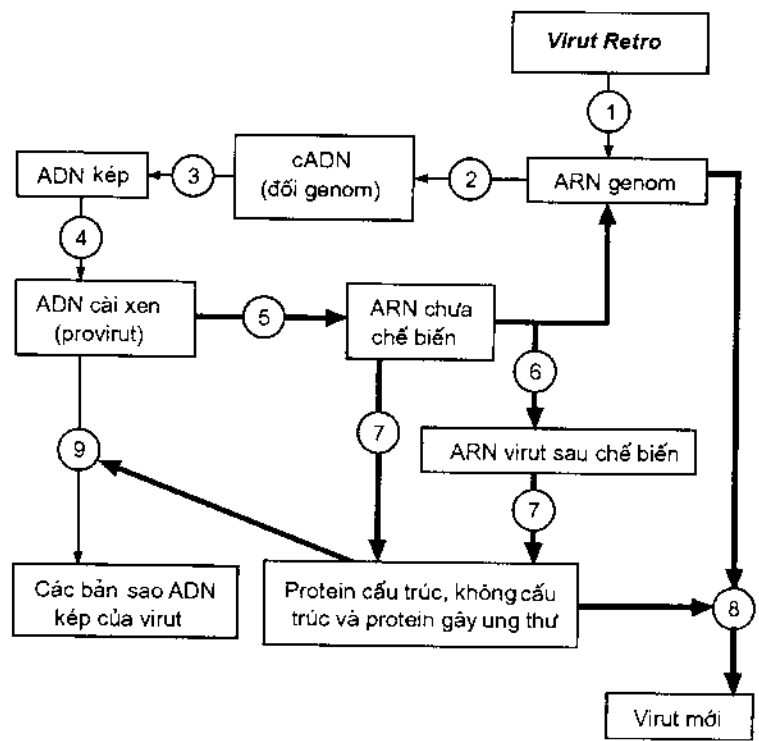
+ Bản sao ARN có 2 chức năng : vừa là mARN để tổng hợp protein virus vừa là genom của virus mới.

**Tổng hợp protein :** ARN được phiên mã từ ADN provirut tiến hành tổng hợp protein trên riboxom nằm trong tế bào chất, bao gồm : Enzym phiên mã ngược, protein lõi, protein vỏ ngoài.

**Lắp ráp :** Nucleocapsit được lắp ráp từ genom ARN mới tạo thành với protein đã di trú ra bề mặt tế bào. Vỏ ngoài được hình thành khi virus nảy chồi qua màng sinh chất (hình 2.8).

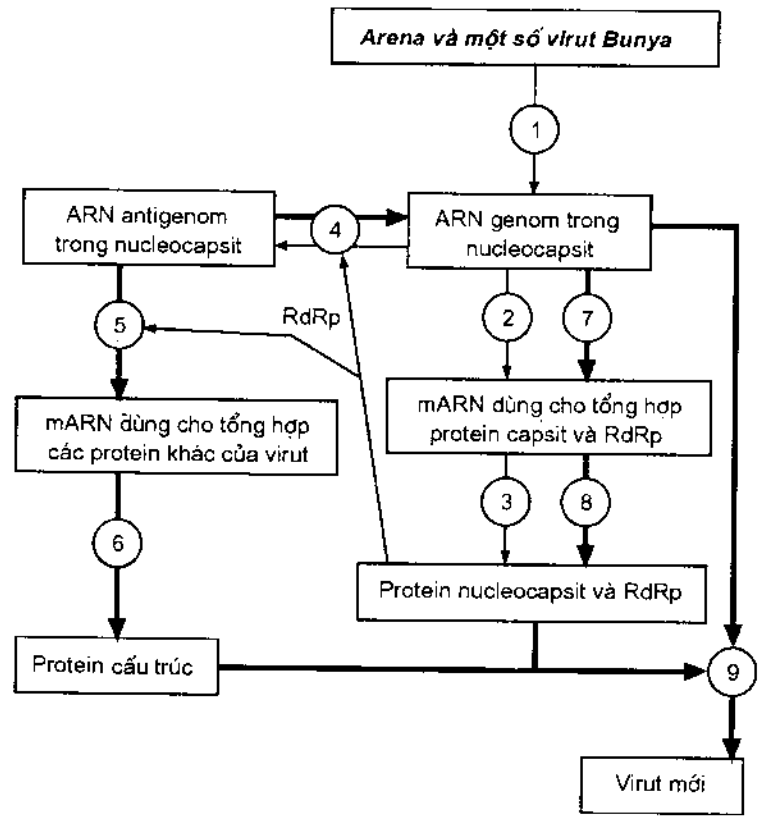
**Hình 2.8.** Sơ đồ nhân lên của virus Retro.

Sau khi xâm nhập và cởi vỏ từng phần (bước 1), ARN genom được phiên mã thành cADN (đối genom), sau đó thành ADN chuỗi kép nhờ enzyme phiên mã ngược (bước 2 và 3). Nhờ enzyme integraza, ADN của virus cài xen vào nhiễm sắc thể tế bào chủ (bước 4). Cả hai loại enzyme trên đều nằm trong lõi của virus. Nhờ ARN polymeraza của tế bào, provirut phiên mã tạo ARN (bước 5) là tiền chất của mARN (bước 6) để tổng hợp protein (bước 7) và lắp ráp tạo virus mới (bước 8).



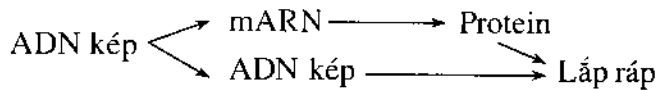
**Hình 2.9.** Sơ đồ nhân lên của virus ARN lưỡng cực (ambisense RNA virus).

Sau khi xâm nhập và cởi vỏ từng phần (bước 1), ARN genom của virus vẫn còn đang nằm trong capsit được phiên mã từng phần nhờ ARN - polymeraza phụ thuộc ARN (RdRp) liên kết với nucleocapsit để tạo ra mARN (bước 2) dùng cho tổng hợp protein nucleocapsit và RdRp (bước 3). Các protein này xúc tác cho quá trình sao chép ARN thông qua sự tạo thành các antigenom trong nucleocapsit (bước 4). Antigenom vừa dùng làm khuôn để phiên mã tạo mARN (bước 5) dành cho tổng hợp các protein khác của virus (bước 6) và vừa làm khuôn để tạo thêm nhiều genom ARN của virus mới. Genom mới tạo thành trong nucleocapsit và RdRp để lắp ráp cùng với protein cấu trúc tạo virus mới (bước 9). Một số virus Bunya có genom lưỡng cực và một số mang genom (-).

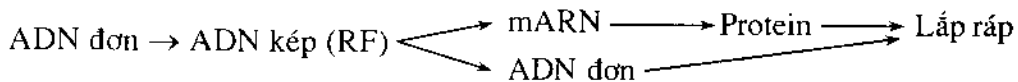


## TỔNG KẾT CÁC QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN CỦA VIRUT

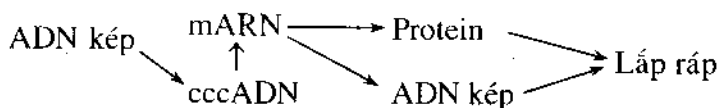
a) Virut ADN kép : pox, herpes, adeno, papova, irido



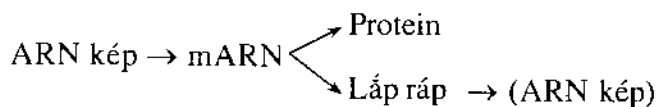
b) Virut ADN đơn : parvo



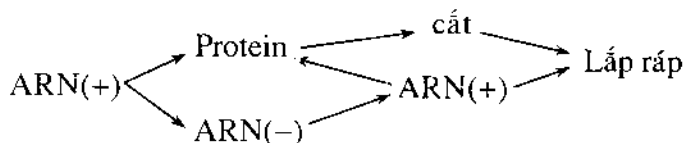
c) ADN kép sử dụng ARN trung gian : Hepadna



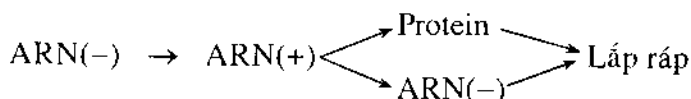
d) Virut ARN kép : reo, rota



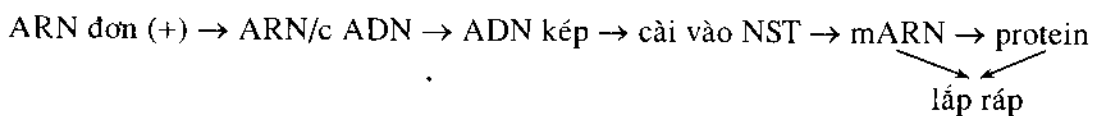
e) Virut ARN đơn (+) picorna, calici, corona, toga



f) Virut ARN đơn (-) : orthomyxo, paramyxo, rhabdo, filo bunya, arena



g) Virut ARN (+) sử dụng ADN kép trung gian



**Hình 2.10.** Sơ đồ tóm tắt các quá trình nhân lên của các nhóm virus khác nhau  
(Harper, D., Molecular virology 2<sup>nd</sup> ed., (1998) BIOS Publisher Limited

## 2.4. PHẢI CHĂNG VIRUT LÀ THỂ SỐNG ?

Đã hơn 100 năm trôi qua, kể từ khi phát hiện ra virut, câu hỏi virut là thể sống hay thể vô sinh vẫn luôn chờ đợi câu trả lời. Sau khi đã tìm hiểu các đặc điểm cơ bản và quá trình nhân lên của virut, chúng ta đã có cơ sở để thảo luận vấn đề này. Trước hết hãy xem xét sự sống là gì. Nói đến sự sống là ta nói đến sự sinh trưởng, sinh sản, khả năng đáp ứng, khả năng trao đổi chất và trao đổi năng lượng bên trong một tế bào. Nếu dựa theo các tiêu chí này thì rõ ràng virut thiếu hẳn tính chất của thể sống. Hơn nữa ngay từ năm 1955, Frank Conrat đã làm thí nghiệm tách ARN (genom) ra khỏi vỏ protein capsit của virut đốm thuốc lá để được hai chất riêng như hai chất hoá học. Tuy nhiên, khi trộn hai thành phần với nhau ở pH thích hợp, chúng lại trở thành virut hoàn chỉnh và có thể gây nhiễm. Nếu là thể sống thì tại sao có thể tách ra và kết hợp lại được, thậm chí một số virut còn có thể kết tinh lại được như là tinh thể hoá học. Điều này khiến cho một số nhà hoá học phủ nhận tính chất sống của virut và chỉ coi chúng là một hợp chất hoá học đặc biệt, phức tạp và có khả năng gây bệnh. Song nhiều nhà khoa học khác lại quả quyết rằng chúng là thể sống. Nếu là thể vô sinh, tại sao chúng có thể sử dụng các phương pháp rất tinh tế để xâm nhập vào tế bào, điều khiển tế bào hoạt động theo chương trình của mình để tạo ra được thế hệ virut mới mang đầy đủ đặc điểm di truyền của virut ban đầu. Có lẽ đã đến lúc cần có một khái niệm mới về sự sống chăng, một thực thể sẽ được coi là sự sống khi axit nucleic và protein của chúng ở dạng hoạt động.

Như vậy, trong bất kỳ trường hợp nào, virut cũng có thể được coi là nằm ở ngưỡng cửa của sự sống. Khi ở ngoài tế bào chúng biểu hiện như thể vô sinh, còn ở trong tế bào chúng lại biểu hiện như thể sống. Vậy ý kiến của bạn là gì ? Có nên coi virut là thể sống ?

### Chương 3

## CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN LẬP VÀ NUÔI CẤY VIRUT

Trong phần trước, chúng ta đã tìm hiểu cách thức virut nhiễm vào tế bào vi khuẩn, tế bào động vật và thực vật như thế nào. Tuy nhiên, có các tế bào bị nhiễm virut hoặc có trường hợp tuy bị nhiễm nhưng không thể nhận biết được vì chúng luôn ở dạng tiềm ẩn.

Các tế bào vi khuẩn bị nhiễm virut độc (thể thực khuẩn – TTK) sẽ bị tan và chết, vì thế chúng ta có thể quan sát thấy những vệt tan gọi là plaque nằm rải rác ở thảm vi khuẩn trên bề mặt thạch nghiêng hoặc hộp Petri. Ở động vật và thực vật, tế bào bị nhiễm virut thường sẽ bị chết nhưng cũng có trường hợp chức năng bình thường của tế bào vẫn được duy trì. Do vậy, cơ thể bậc cao, khi bị nhiễm virut, có thể biểu hiện thành triệu chứng bệnh lý hoặc có thể không biểu hiện gì đáng nguy hại. Điều đó tùy thuộc loại virut gây nhiễm. Chẳng hạn virut bại liệt phá huỷ tế bào thần kinh dẫn đến tử vong hoặc làm cho bệnh nhân bị tàn tật suốt đời nhưng virut mụn cơm lại thuộc loại lành tính không mấy ảnh hưởng đến sinh trưởng của tế bào và do đó không ảnh hưởng đến sức khoẻ người bệnh. Hậu quả nhân lên của virut cũng muôn vẻ. Có loại kích thích để chuyển dạng tế bào lành thành tế bào ung thư (*sarcom Rous*), có loại lại nhiễm vào các tế bào của hệ thống miễn dịch (MD) để gây suy giảm MD (HIV).

Tế bào thực vật, khi bị nhiễm virut, sẽ tạo các dấu hiệu dễ nhận biết như xuất hiện các vết hoại tử hoặc các đám mô chết hoặc xuất hiện các triệu chứng như thay đổi màu sắc lá. Lá thường ngả màu vàng rồi nâu hoặc thay đổi hình dạng như làm cho cây lùn hay còi cọc.

Muốn nghiên cứu virut thì trước hết phải phát hiện được sự hiện diện của virut và nuôi cấy được chúng. Virut là nhóm ký sinh nội bào bắt buộc do đó đòi hỏi phải có tế bào vật chủ phù hợp cho chúng nhân lên. Tùy loại virut mà người ta phải dùng các phương pháp nuôi cấy riêng biệt.

Có 3 hệ thống nuôi cấy :

- Nuôi cấy trên mô tế bào.
- Nuôi cấy trong phôi gà.
- Tiêm truyền vào động vật thực nghiệm.

Hiện nay phương pháp phân lập để chẩn đoán virut ít được dùng. Tuy nhiên, việc nuôi cấy virut vẫn được tiến hành cho các mục đích khác nhau như phục vụ nghiên cứu và sản xuất vacxin. Trong ba hệ thống nuôi cấy kể trên thì hai hệ thống sau ít được sử dụng.

### 3.1. NUÔI CẤY TRÊN MÔ TẾ BÀO

Nuôi cấy virut trên mô tế bào là một thành tựu lớn trong virut học, có thể sánh ngang với việc tinh khiết virut. Nhờ việc phát hiện ra phương pháp này mà công việc

nghiên cứu virus đã được đẩy mạnh. Đây là phương pháp được ứng dụng rất rộng rãi để phân lập, định loại và chuẩn độ virus. Ngoài ra, còn rất hiệu quả trong nghiên cứu các phản ứng huyết thanh và dùng để chế vaccine.

Nguyên tắc của phương pháp này là nếu lấy một mô tế bào cho vào môi trường dinh dưỡng và để ở nhiệt độ thích hợp thì các tế bào sẽ sống và bắt đầu phân chia. Nếu cứ sau một thời gian lại rửa và thêm dung dịch dinh dưỡng mới thì các tế bào sẽ phân chia không ngừng. Người ta dùng các tế bào đó để cấy virus.

Để nuôi virus gây bệnh cho người và động vật, người ta thường dùng các tế bào lấy từ mô của người và động vật, ví dụ như phôi người, phôi gà, thận khỉ, phổi lợn, màng ối người...

Muốn có tế bào một lớp trước hết phải dùng triplexin phá vỡ mô liên kết gắn giữa các tế bào và tách chúng ra thành các tế bào riêng lẻ. Sau đó ly tâm với dung dịch muối đệm để loại hết triplexin, rồi đổ môi trường dinh dưỡng vào để nuôi tế bào.

Môi trường dinh dưỡng được chia làm 2 loại :

- Môi trường dinh dưỡng tự nhiên bao gồm huyết thanh động vật, nước ép bào thai và dung dịch muối đệm (dung dịch Hank).

- Môi trường dinh dưỡng tổng hợp, ví dụ như môi trường 199 (còn gọi là môi trường Parker), chứa 19 axit amin, purin, pentoza và nhiều loại vitamin. Tất cả có 150 chất và thêm cả chất kháng sinh để tránh nhiễm khuẩn.

Các dung dịch muối đệm thường được dùng là dung dịch Hank, Tyrode, Earle và Ringer trong đó dung dịch muối Hank được dùng rộng rãi.

Lấy hỗn dịch tế bào đã triplexin hoá trộn với môi trường dinh dưỡng cho vào các bình dẹt hay hộp Petri (dùng loại thuỷ tinh trung tính). Đặt nằm trong tủ ấm  $37^{\circ}\text{C}$ . Ở điều kiện này, sau 3 – 7 ngày các tế bào sẽ mọc dính chặt vào đáy bình và tạo thành một lớp tế bào.

Dùng một lượng hỗn dịch virus pha loãng  $10^{-1} - 10^{-2}$  trong dung dịch muối Hank cấy vào bình đựng tế bào một lớp sao cho vừa đủ ướt lớp mặt tế bào. Đặt vào tủ ấm  $37^{\circ}\text{C}$  trong 45 phút cho virus hấp phụ lên bề mặt tế bào sau đó đổ môi trường dinh dưỡng vào bình.

Tùy thuộc vào từng loại virus, số lượng virus được cấy và loại tế bào nuôi cấy mà thời hạn nhân lên của virus có khác nhau, nói chung là 2 – 10 ngày. Để phát hiện sự nhân lên của virus trong tế bào, có thể dùng kính hiển vi quan sát sự huỷ hoại tế bào (CPE) do virus gây ra. Thêm chất chỉ thị màu vào môi trường còn có thể thấy được sự sinh sản của virus bằng mắt thường. Nếu màu sắc của chất chỉ thị không biến đổi nghĩa là quá trình trao đổi chất của tế bào đã bị đình chỉ và lúc đó pH môi trường không thay đổi – các tế bào đã chết. Nếu các tế bào nuôi cấy không bị nhiễm virus thì dưới ảnh

hương của các sản phẩm trao đổi chất do chúng tiết ra làm cho pH môi trường sẽ bị thay đổi theo hướng axit hoá và sẽ làm cho chất chỉ thị màu phenol từ màu hồng ngả sang màu vàng.

Người ta còn xác định sự nhân lên của virus bằng cách soi tế bào để tìm tiểu thể bao hàm, tiêm nước nuôi cấy tế bào cho súc vật cảm thụ để quan sát bệnh cảnh lâm sàng và làm một số phản ứng huyết thanh với nước nuôi cấy tế bào.

Hiện nay để nuôi cấy mô người ta còn dùng các loại mô chính sau đây :

+ Nuôi cấy dòng tế bào sơ cấp. Ví dụ, nuôi tế bào thận khỉ. Phương pháp phức tạp, mất nhiều công sức, thời gian sống của tế bào ngắn tuy nhiên tế bào miễn cảm được với nhiều loại virus.

+ Nuôi cấy các dòng tế bào bán liên tục. Ví dụ, tế bào phổi phôi người. Để bảo quản có thể cấy truyền 20 – 30 lần mới bị chết. Nhạy cảm với nhiều loại virus.

+ Nuôi cấy dòng tế bào liên tục (thường trực). Ví dụ, tế bào Hela được sử dụng khắp thế giới, lấy từ ung thư cổ tử cung của một phụ nữ chết vì bệnh này tên là Helen L. Tế bào Hep – 2 (lấy từ bệnh nhân ung thư họng), tế bào BK (lấy từ bệnh nhân ung thư khoang miệng). Các tế bào này có thể cấy truyền và bảo quản lâu dài nhưng ít nhạy cảm với virus so với các mô nuôi cấy khác.

**Kỹ thuật vết tan (plaque).** Kỹ thuật dùng để định lượng đơn vị gây nhiễm trong dịch huyền phù virus đã cho. Vết tan là vùng tế bào bị phân giải hoặc CPE trong nuôi cấy tế bào một lớp. Mỗi vết tan bắt nguồn từ một virion do đó xác định vết tan tức là xác định chỉ số virion. Hầu hết kỹ thuật vết tan là kỹ thuật nuôi cấy tế bào một lớp. Thêm một lượng nhỏ (0,1 ml) dịch pha loãng virus vào tế bào nuôi cấy mô một lớp. Sau khi virus hấp phụ lên tế bào thì phủ môi trường để ngăn sự tạo thành vết tan lần hai rồi ủ. Sau khi tạo vết tan, nhuộm và đếm số lượng vết tan. Tốt nhất là có khoảng 20 – 100 vết tan trên hộp hay bình nuôi cấy tế bào một lớp. Sơ đồ thí nghiệm được thể hiện ở hình 3.1, chỉ số gây nhiễm là đơn vị hình thành vết tan trong một ml (PFU/ml – plaque forming unit) và được tính theo công thức :

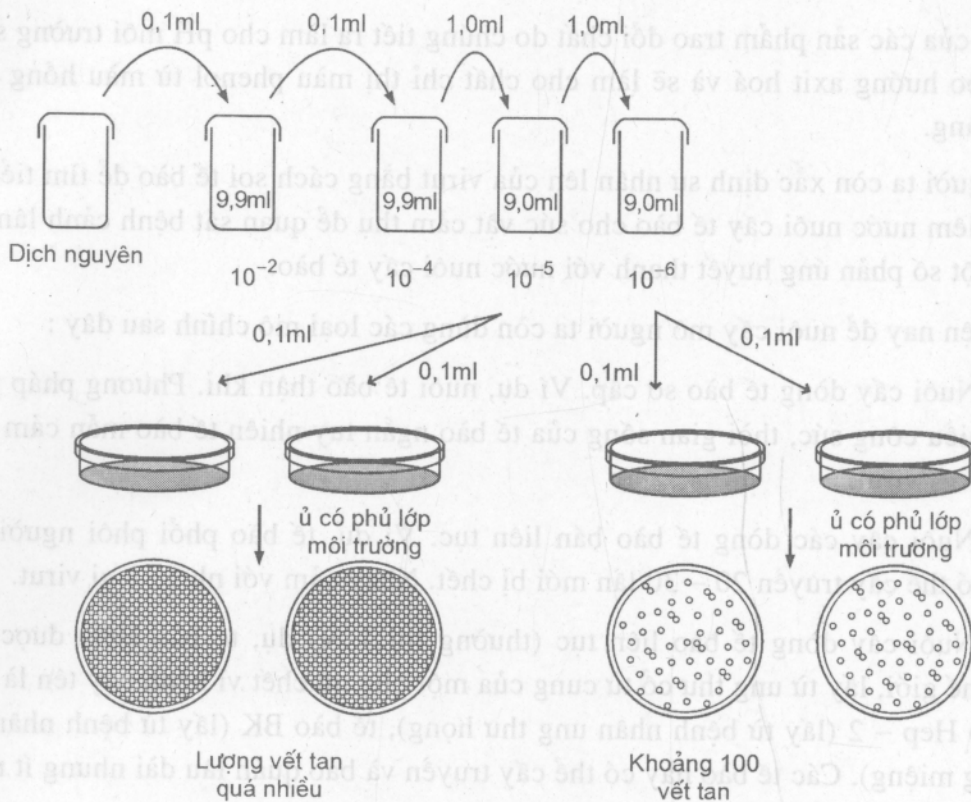
$$PFU = \frac{\text{Số lượng vết tan}}{\text{Độ pha loãng} \times \text{Số ml cấy}}$$

Ví dụ. Số lượng vết tan đếm được là 100

Lượng dịch cấy là 0,1 ml. Độ pha loãng là  $10^{-6}$  thì

$$PFU = \frac{100}{10^{-6} \times 0,1} = 10^9 \text{ PFU / ml}$$





Hình 3.1. Sơ đồ thực hiện kỹ thuật vết tan.

### 3.2. NUÔI TRÊN PHÔI GÀ

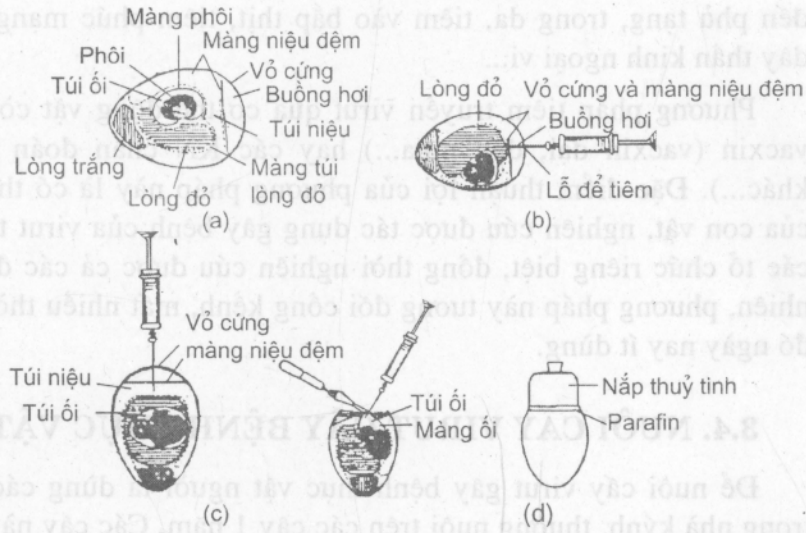
Nuôi cấy virus trên phôi gà đang phát triển là phương pháp trước đây được sử dụng rộng rãi vì đa số virus có thể phát triển trên phôi gà. Đây còn là phương pháp thuận lợi, tiết kiệm và cho kết quả nhanh chóng. Người ta có thể cùng một lúc cấy lên hàng loạt phôi gà và thu được một lượng virus khá lớn. Do đó, phương pháp này rất tiện lợi để phân lập, kiểm nghiệm, định loại virus, và chế tạo KN trong khi chưa có phương pháp hữu hiệu hơn.

Lấy trứng gà đã thụ tinh cho ấp ở  $38^{\circ}\text{C}$  và độ ẩm 60% trong 6 – 13 ngày. Khi phôi bắt đầu phát triển thì tiến hành tiêm virus.

Tùy thuộc vào loại virus mà người ta chọn tuổi của phôi và chọn các đường tiêm vào các mô khác nhau của phôi. Đối với virus nhiễm vào đường hô hấp thì có thể tiêm vào màng túi niệu hoặc túi ối, đối với virus hướng da thì tiêm vào màng niệu đệm, còn đối với virus hướng thần kinh thì tiêm vào lòng đỏ, màng niệu đệm hoặc vào não... (hình 3.2).

Sau khi tiêm, dùng parafin vô trùng gắn lỗ tiêm rồi ủ trứng trong tủ ấm ở  $37^{\circ}\text{C}$  trong 3 – 4 ngày. Sau khi ủ, tiến hành mổ trứng để lấy các mô nhiễm virus. Dựa vào những biến đổi đại thể của các tổ chức phôi mà người ta đánh giá được sự phát triển của virus.

Chẳng hạn như tiêm virus đậu bò vào màng niệu đệm sẽ tạo thành nhiều nốt đục màu trắng giống như nốt đậu. Trong trường hợp virus không gây những biến đổi có thể nhìn thấy được, trước đây người ta phải phát hiện sự nhân lên của virus trong phôi bằng cách tiêm dịch thể ở các túi hoặc hỗn dịch, các tổ chức nghiền nát vào động vật mẫn cảm, sau đó xét nghiệm bằng phản ứng huyết thanh. Ngày nay có thể xác định bằng phương pháp tự động như PCR.



**Hình 3.2.** Nuôi cấy virus trong phôi gà đang phát triển.

- a) Mô hình phôi gà ấp 10 ngày
- b) Cấy vào túi lòng đỏ
- c) Cấy vào túi niệu
- d) Cấy vào túi ối

### 3.3. NUÔI TRÊN ĐỘNG VẬT Mẫn CẢM

Nuôi virus trên động vật mẫn cảm là phương pháp được dùng từ lâu đời. Ngay từ lâu Pasteur đã tiêm virus dại vào não thỏ. Cho đến gần đây phương pháp này vẫn còn được ứng dụng rộng rãi trong các phòng thí nghiệm virus học để phân lập một số virus nhất định. Với mục đích phát hiện virus, người ta tiêm hỗn dịch nghi là có virus vào động vật mẫn cảm rồi quan sát bệnh cảnh lâm sàng của con vật. Qua bệnh cảnh lâm sàng có thể kết luận ngay được sự có mặt của virus. Hoặc nếu có trường hợp bệnh cảnh lâm sàng không bộc lộ ra người ta cũng có thể đo hiệu giá KT trong máu con vật mà chẩn đoán một cách chính xác sự có mặt của virus.

Trường hợp sau khi tiêm động vật không bị ốm người ta cũng giết sau 5 – 10 ngày, dùng phủ tạng nghiền nát thành hỗn dịch để tiêm cho động vật mới (gọi là "tiêm truyền mù"). Bằng cách này, sau 2 – 3 lần tiêm có thể gây được bệnh cảnh lâm sàng hoặc ít ra cũng gây được những biến đổi trong phủ tạng của con vật mà qua đó phán đoán sự tồn tại của virus.

Tùy từng loại virus mà người ta phải lựa chọn các loại động vật mẫn cảm khác nhau. Đối với virus viêm não cần dùng chuột nhắt trắng, virus toi gà (Newscattle) cần dùng gà, virus cúm cần dùng sọc, virus tả lợn cần dùng lợn... Ngoài ra người ta có thể dùng chuột lang, chuột cống trắng, chuột đất, thỏ, khỉ, bồ câu, bò, dê... Tùy theo tính chất gây bệnh của virus và tùy theo mục đích của công việc mà người ta lựa chọn đường tiêm vào các cơ quan thích nghi của con vật cho thích hợp, ví dụ như đối với virus thích nghi đường hô hấp (virus cúm) thì nhỏ mũi hoặc tiêm vào khí quản, các virus có tác động trực tiếp

đến phủ tạng, trong da, tiêm vào bắp thịt, tiêm phúc mạng, tiêm tĩnh mạch, tiêm vào dây thần kinh ngoại vi...

Phương pháp tiêm truyền virus qua cơ thể động vật còn dùng để chế tạo các loại vaccin (vaccin dại, đậu mùa...) hay các KN chẩn đoán (viêm não, các *arbo* virus khác...). Đặc điểm thuận lợi của phương pháp này là có thể nghiên cứu được bệnh lý của con vật, nghiên cứu được tác dụng gây bệnh của virus trên toàn bộ cơ thể và trong các tổ chức riêng biệt, đồng thời nghiên cứu được cả các đặc tính sinh học virus. Tuy nhiên, phương pháp này tương đối cồng kềnh, mất nhiều thời gian và không kinh tế, do đó ngày nay ít dùng.

### 3.4. NUÔI CẤY VIRUS GÂY BỆNH THỰC VẬT

Để nuôi cấy virus gây bệnh thực vật người ta dùng các cây mẫn cảm trồng riêng trong nhà kính, thường nuôi trên các cây 1 năm. Các cây này được trồng theo nhiều đợt và được tiến hành cấy truyền virus từ đợt cây đã hết thời kỳ sinh dưỡng sang đợt cây mới còn non.

Có nhiều cách nhiễm virus vào cây. Đối với virus đốm thuốc lá người ta ép lá thuốc, lọc qua màng lọc rồi tiêm vào cây. Đối với cây có nhựa, có thể lấy nhựa của cây chứa virus tiêm trực tiếp vào cây lành. Còn đối với những loại virus chỉ lan truyền trong thiên nhiên nhờ côn trùng thì người ta dùng côn trùng làm vật trung gian. Bọ này có vòi chọc thủng màng cutin của tế bào và truyền virus vào trong. Virus có thể lan từ tế bào này sang tế bào khác qua sợi liên bào (plasmodesmata) ở mô thực vật. Hơn nữa đa số các trường hợp tế bào bị nhiễm vẫn tiếp tục tạo điều kiện cho virus nhân lên mà không bị chết hoặc tan rã. Có thể ép dịch chứa virus của cây bệnh để thuần khiết hoặc đôi khi có thể kết tinh. Vào những năm 30, Wendell M. Stanley đã thuần khiết và kết tinh được virus đốm thuốc lá và nhờ công trình này mà ông đã giành được giải Nobel về hoá học vào năm 1946.

Khoa học đã đạt được những tiến bộ về việc loại bỏ thành tế bào thực vật. Các tế bào chỉ được bọc bởi màng nguyên sinh (protoplast) rất dễ bị nhiễm virus. Việc nuôi cấy thành công tế bào một lớp của côn trùng cũng tạo thuận lợi cho việc nghiên cứu virus thực vật. Chẳng hạn, virus *rhabdo* có thể nhân lên trong tế bào nuôi cấy mô bọ rầy xanh đuôi đen (*Nephotettix bipunctatus*) và đạt đến số lượng 10000 virion trong 1 tế bào.

Người ta cũng có thể dùng phương pháp ghép cành của cây bị bệnh vào gốc cây lành.

Nhiều loại virus có thể nhân lên trên các bộ phận tách rời của thực vật như lá, thân, vỏ rễ.... Người ta thường phải cho thêm chất dinh dưỡng vào các bộ phận tách rời này. Ví dụ, virus đốm thuốc lá có thể sinh sản tốt trên lá thuốc lá tách rời có tẩm dung dịch saccaroza 6% trong vòng 1 – 1,5 ngày để ở nhiệt độ thích hợp.

### 3.5. NUÔI CẤY PHAGE

Để nuôi cấy phage trước hết phải chọn tế bào chủ phù hợp cho chúng nhân lên. Ví dụ để nuôi phage T4 thì cần dùng quần thể *E. coli* nuôi trong môi trường đặc hoặc dịch thể.

Việc phát hiện sự hiện diện của phage rất đơn giản. Phage nhiễm vào môi trường dịch thể nuôi vi khuẩn sẽ làm cho môi trường đang đục trở nên trong. Còn trên môi trường thạch có thể quan sát thấy các vết tan. Đầu tiên một virut đột nhập vào tế bào, nhân lên phá vỡ tế bào và khoảng 100 virion được giải phóng ra ngoài. Mỗi virion lại đột nhập vào tế bào lân cận để lặp lại quá trình nhân lên. Cứ như vậy sau vài giờ sẽ xuất hiện các vết tan. Mỗi vết tan do một phage tạo thành, do vậy nếu đếm số lượng vết tan có thể tính được số lượng phage. Người ta thường gọi là đơn vị tạo thành vết tan (PFU) giống như đơn vị CFU (clony forming unit) khi đếm vi khuẩn vậy. Kỹ thuật đếm phage theo cách này được gọi là "kỹ thuật vết tan" (plaque assay).

Cách tốt nhất để phân lập virut là tách chúng từ nơi cư trú của tế bào chủ. Ví dụ, phage ký sinh trong *E. coli* có thể dễ dàng phân lập từ nước cống hoặc nước nhiễm phân. Mẫu được ly tâm hoặc loại bỏ cặn, thêm cloroform để giết các tế bào vi khuẩn. Lấy khoảng 0,1 ml trộn với tế bào chủ rồi cấy dàn đều trên mặt thạch. Việc xuất hiện plaque chứng tỏ sự có mặt của virut.

**Đường cong sinh trưởng đơn.** Chu trình nhân lên của virut tính từ khi một hạt virut hấp phụ trên bề mặt tế bào đến khi làm tan tế bào để chui ra, được biểu diễn bởi đường cong sinh trưởng đơn hay đường cong sinh trưởng một bậc (one – step growth curve). Đầu tiên, người ta chỉ dùng một lượng nhỏ phage nhiễm vào dịch nuôi sao cho chỉ một mà không nhiều phage hấp phụ lên bề mặt tế bào. Sau một khoảng thời gian lại lấy mẫu để kiểm tra số lượng phage theo kỹ thuật vết tan.

Quá trình được tiến hành như sau :

- Cho phage hấp phụ lên bề mặt tế bào chủ.
- Thêm kháng huyết thanh (KT) để làm bất hoạt các phage tự do trong môi trường.
- Pha loãng 1000 lần để các virion mới được tạo thành không tấn công các tế bào lành.
- Lấy mẫu định kỳ (sau 5, 10, 15, 20,... 50 phút) để xét nghiệm vết tan. Mỗi PFU ứng với một phage trong dịch huyền phù ban đầu. Sau mỗi thời gian nuôi lại lấy mẫu, làm tan bào nhân tạo và xét nghiệm vết tan. Số lượng vết tan tăng phản ánh số lượng phage trong tế bào tăng lên.

Sau khi hấp phụ, virut xâm nhập vào tế bào, khả năng gây nhiễm (infectivity) không còn nữa. Đó là lúc vỏ capsit bị phân giải (cởi áo) để giải phóng axit nucleic. Thời kỳ này gọi là thời kỳ ẩn (eclipse period) và không một virion nào được tạo thành. Tiếp theo là thời kỳ tiềm tàng (latent period). Trong suốt thời kỳ này, xảy ra sự tổng hợp axit nucleic và protein. Sau đó là thời kỳ chín (maturation period), các thành phần của virut sẽ lắp ráp tạo thành virion hoàn chỉnh. Lúc này nếu tế bào bị vỡ thì có thể xác định được virut. Cuối cùng, virut ô ạt chui ra khỏi tế bào làm tế bào bị tan hoặc ra từ từ theo kiểu nảy chồi mà không làm tan tế bào. Thời gian cho một chu kỳ sinh trưởng một bậc có thể thay đổi tùy thuộc vào virut và tế bào chủ. Với đa số phage là 20 – 30 phút, còn đối với virut động vật là 8 – 10 giờ. Số lượng virion được tạo thành trong mỗi tế bào cũng khác nhau. Đối với phage có thể lên tới 10000.

## Chương 4

# DI TRUYỀN VIRUT

### 4.1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM CẦN THIẾT VỀ DI TRUYỀN HỌC

Trước hết, để dễ dàng tìm hiểu quá trình nhân lên của virut chúng ta hãy xem lại một cách tóm tắt các khái niệm cơ bản nhất về di truyền liên quan đến chu trình nhân lên của virut.

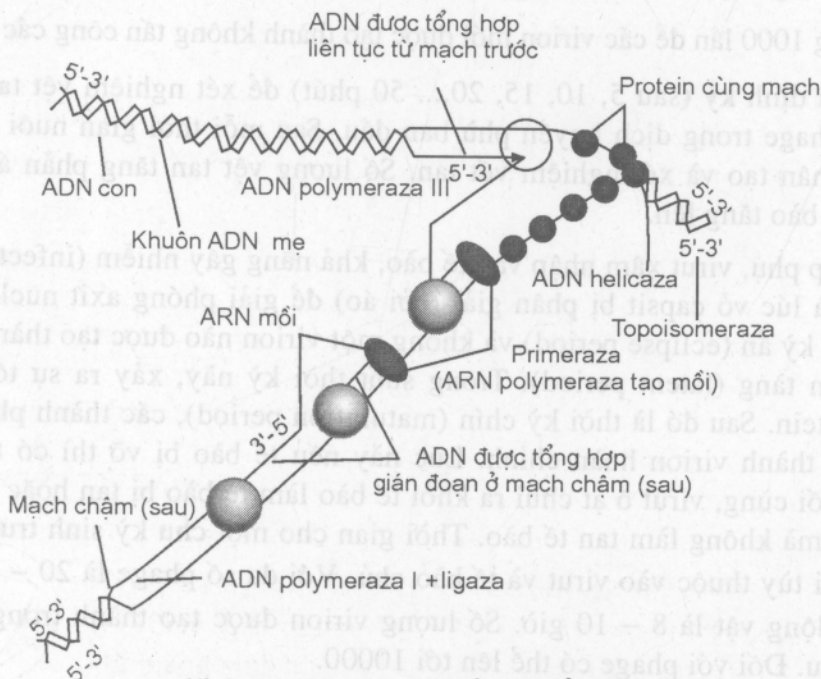
#### 4.1.1. Sao chép ADN

ADN thường có ba dạng :

- Dạng siêu xoắn (mạch kép xoắn hình số 8).
- Dạng vòng tròn.
- Dạng thẳng.

Đặc tính cơ bản của ADN là khả năng tự sao chép. Mặc dù có vài sai khác nhưng về cơ bản quá trình này diễn ra gần giống nhau ở mọi tế bào, kể cả ở prokaryote lẫn ở eukaryote. Đó là quá trình sao chép tự nucleotit của phân tử ADN mẹ thành 2 phân tử ADN con. Mỗi sợi của phân tử ADN mẹ được dùng làm khuôn để tổng hợp nên một sợi mới của phân tử con. Đây là cơ chế bán bảo tồn bởi vì mỗi phân tử ADN con đều giữ lại một sợi cũ của mẹ (bảo tồn) và một sợi mới tổng hợp.

Cơ chế của quá trình này rất phức tạp. Có thể tóm tắt theo các bước sau : Hãy lấy quá trình sao chép ở *E. coli* làm ví dụ (hình 4.1).



Hình 4.1. Sao chép ADN ở vi khuẩn *E. coli*.

1. Trước hết cần protein B nhận biết điểm khởi đầu gọi là *oriC* (replication origin) nằm trên ADN khép vòng.

2. Hai enzym gyraza (còn gọi là topoisomeraza II) cắt ADN để duỗi siêu xoắn. Hai phân tử enzym gyraza di chuyển theo hai hướng ngược chiều nhau so với điểm khởi đầu.

3. Hai phân tử enzym helicaza (còn gọi là *rep*) bám vào mỗi mạch có khả năng thủy phân ATP tạo năng lượng để làm đứt liên kết hydro tạo chạc sao chép.

4. Protein liên kết mạch đơn (SSB – single strand binding protein) gắn vào 2 đoạn của mỗi mạch phía sau helicaza, ngăn không cho chúng chập hoặc xoắn trở lại vào nhau.

5. Trên mạch khuôn 5' – 3', enzym primaza duy nhất tổng hợp một đoạn mồi. ADN – polymeraza III (pol III) lắp các nucleotit vào đầu 3' – OH (đầu deoxyriboza) của mồi theo cơ chế bổ sung. Mạch khuôn 5' – 3' gọi là mạch khuôn trước hay mạch khuôn dẫn đầu, còn mạch con mới được tổng hợp (theo hướng 5' → 3') gọi là mạch trước hay mạch dẫn đầu (leading strand).

6. Ở mạch khuôn còn lại chiều 3' → 5' là chiều từ chạc ra ngoài. Bắt đầu từ chạc primaza phải tổng hợp nhiều mồi (primer). Đó là các đoạn ARN chứa khoảng 5 – 10 nucleotit. Các nucleotit gắn vào đầu 3' – OH của mồi tạo các đoạn ADN ngắn 1000 – 2000 nucleotit gọi là các đoạn Okazaki. Pol III nối dài đoạn Okazaki đến khi gặp mồi phía trước thì dừng lại.

7. ADN – polymeraza I (Pol I) có hoạt tính 5' – exonucleaza sẽ cắt bỏ mồi ARN đồng thời sao chép bổ sung các đoạn Okazaki đứng sau.

8. Các đoạn Okazaki hở hai đầu sẽ nối lại với nhau nhờ enzym ligaza. Mạch con được tổng hợp chậm hơn (trên mạch khuôn 3' – 5') theo hướng từ chạc ra ngoài được gọi là mạch muộn (lagging strand) hay mạch sau.

Một đơn vị di truyền có khả năng sao chép từ đầu đến cuối gọi là một **đơn vị sao chép** hay **replicon**. Ở prokaryote thường chỉ có một điểm khởi đầu *ori* nên chỉ có một replicon. Chỉ cần lắp sai một vài nucleotit cũng có thể dẫn đến đột biến. Do vậy, đòi hỏi quá trình sao chép phải diễn ra thật chính xác. Điều này có được là nhờ cơ chế sửa sai :

- Chỉ sao chép theo hướng 5' → 3'.

- Các enzym Pol I và Pol III vừa làm nhiệm vụ gắn các nucleotit vào mạch vừa có chức năng exonucleaza 5' → 3' và 3' → 5'. Trên đường di chuyển để polyme hoá nếu có nucleotit lắp sai thì các enzym này sẽ lập tức lùi lại để cắt bỏ theo hướng 3' → 5' (hoạt tính exonucleaza 3' → 5').

#### 4.1.2. Phiên mã (transcription)

Phiên mã là quá trình chuyển thông tin di truyền từ ADN sang ARN và là bước khởi đầu của tổng hợp protein. ARN được tổng hợp nhờ enzym ARN – polymeraza, bao gồm ARN riboxom, ARN vận chuyển và ARN thông tin. Nguyên tắc của phiên mã là :

- Chỉ dùng một mạch ADN và thậm chí dùng từng đoạn ADN làm khuôn.

- ARN – polymeraza không cần mồi mà bám được trực tiếp vào ADN, tách mạch và di chuyển theo hướng 3' → 5' của sợi khuôn để ARN được tổng hợp theo hướng 5' → 3'.

- ARN – polymeraza không có hoạt tính nucleaza. Quá trình phiên mã ở prokaryote và eukaryote không giống nhau.



#### 4.1.2.1. Phiên mã ở prokaryote

Đặc điểm phiên mã ở prokaryote là chỉ cần một loại ARN – polymeraza để tổng hợp tất cả các loại ARN và mARN thuộc loại chứa nhiều gen (polycistronic) tức là phân tử mARN mã cho nhiều polypeptit. Hãy lấy *E. coli* làm ví dụ. Quá trình phiên mã diễn ra theo các bước sau (hình 4.2) :

1. Nhờ yếu tố  $\sigma$  (xích ma) chỉ điểm, ARN – polymeraza bám vào vị trí đặc biệt nằm trên ADN khuôn. Đây là điểm bắt đầu phiên mã nên gọi là đoạn khởi đầu (promoter sequence). Promoter không những xác định vị trí bắt đầu phiên mã mà còn xác định xem mạch nào trong hai mạch sẽ được dùng làm khuôn.

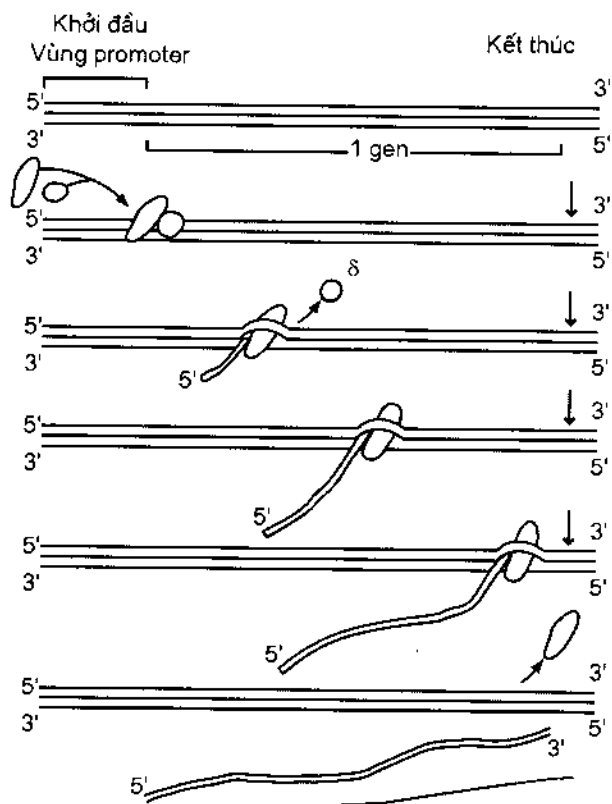
2. Khi ADN tách đôi, ARN – polymeraza di chuyển theo hướng  $3' \rightarrow 5'$  dọc theo sợi khuôn để tổng hợp mARN bổ sung theo hướng  $5' \rightarrow 3'$  tiền chất của ARN là các ribonucleosit ATP, GTP, UTP và CTP. Nucleosit đầu tiên thường là ATP hoặc GTP. Sau khoảng 12 nucleotit yếu tố  $\sigma$  sẽ tách khỏi phức hợp.

3. Quá trình phiên mã tiếp tục cho đến khi polymeraza gặp dấu hiệu kết thúc (termination signal). Đó là một đoạn nucleotit trên ADN khuôn. Phiên mã kết thúc, mARN tách khỏi ADN.

**Hình 4.2.** Phiên mã. Các bước tổng hợp mARN.

Các vị trí khởi đầu và kết thúc là các đoạn nucleotit chuyên biệt trên ADN. Yếu tố  $\sigma$  giúp ARN polymeraza nhận diện promoter và vị trí khởi đầu phiên mã. ARN polymeraza chuyển động xuôi theo sợi ADN và chuyển động đến đâu thì tách chuỗi ADN xoắn kép đến đâu để tiến hành phiên mã một trong hai mạch ADN khi tới điểm kết thúc thì dừng tổng hợp, mARN và ARN polymeraza sẽ cùng tách ra khỏi ADN

(Brock T.D et al. *Biology of Microorganisms*, 9<sup>th</sup> ed., Prentice Hall, 2000)



#### 4.1.2.2. Phiên mã ở eukaryote

Có sự khác nhau cơ bản giữa phiên mã ở prokaryote và eukaryote.

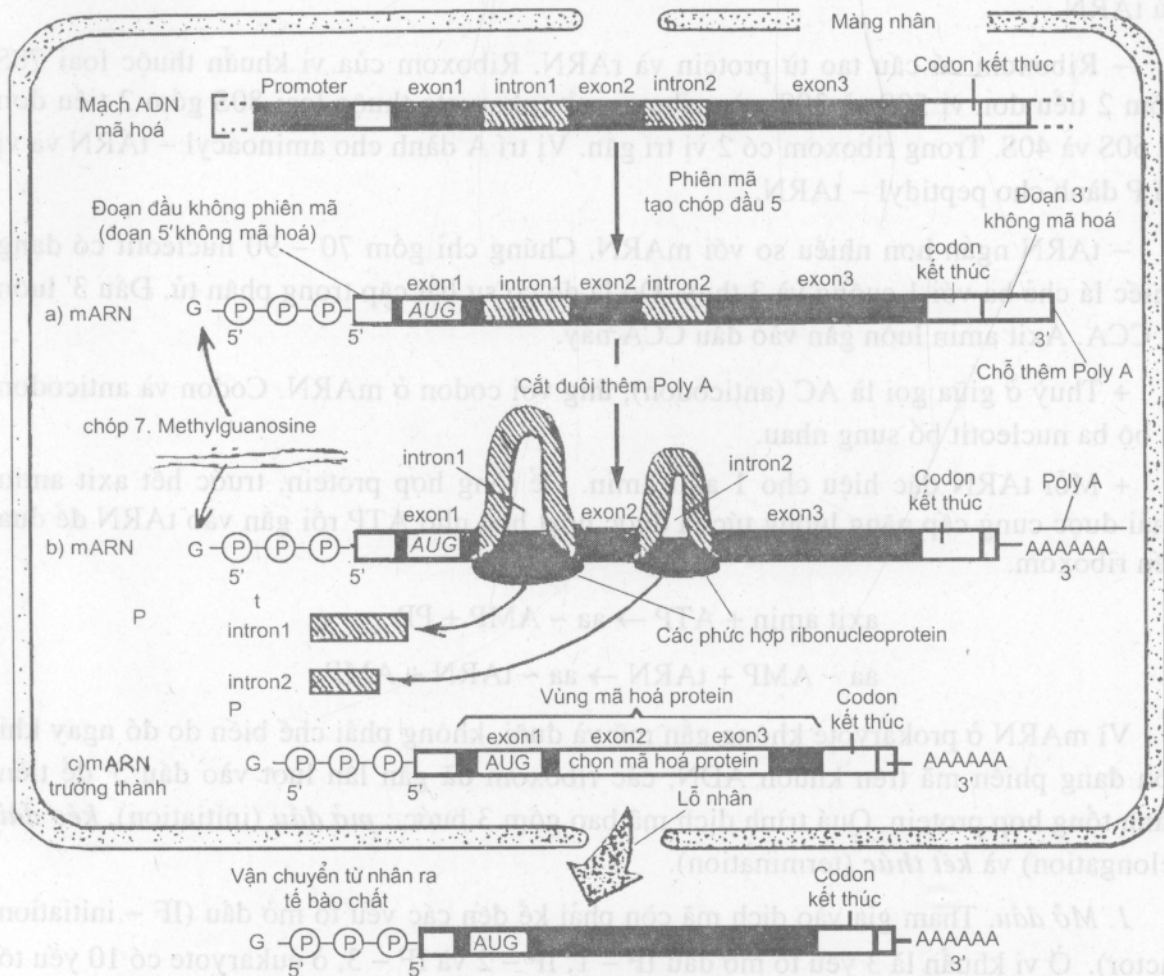
1. Ở eukaryote có 3 loại ARN – polymeraza : Pol I có trong hạch nhân (nucleous) dùng để tổng hợp rARN lớn, Pol II có trong dịch nhân để tổng hợp mARN, Pol III cũng có trong dịch nhân dùng để tổng hợp tARN và các ARN nhỏ khác.

2. mARN ở prokaryote có trình tự nucleotit tương ứng hoàn toàn với trình tự nucleotit của ADN khuôn, còn ở eukaryote trình tự này bị biến đổi đi sau khi phiên mã. Ở eukaryote mARN chứa thông tin 1 gen (monocistronic mRNA) chỉ đọc mã cho 1 chuỗi polypeptit.

3. Khác với prokaryote, genom của eukaryote có tính gián đoạn. Có đoạn không mang thông tin, tức không mã cho một peptit nào (gọi là **intron**) nằm xen kẽ với các đoạn mang thông tin (gọi là **exon**).

4. Đầu 5' của mARN có gắn "mũ" (tiếng Anh là cap) là 7 – metyl guanin (tức guanin được metyl hoá ở vị trí C7). Mũ làm nhiệm vụ giúp cho riboxom nhận biết mARN trong dịch mã. Còn cuối đầu 3' gắn 100 – 200 bazơ adenin, được gọi là "đuôi" polyadenin hay gọi tắt là poly A. Đuôi có tác dụng vận chuyển mARN ra tế bào chất. Nhờ có đuôi, mARN có thể tách khỏi tARN và rARN. Khi ARN – polymeraza vượt khỏi vị trí gắn đuôi polyA thì phiên mã sẽ dừng lại.

5. Bản phiên mã đầu tiên gọi là tiền mARN có chứa cả intron và exon. Dạng này không sử dụng được ngay mà phải qua chế biến, tức là loại bỏ intron cắt rồi nối lại (splicing) để ghép các exon lại với nhau tạo mARN (hình 4.3).



Hình 4.3. Phiên mã gián đoạn ở eukaryote.



### Diễn biến của quá trình được tóm tắt theo 3 bước :

1. Gắn mũ. Khi mARN được tổng hợp có độ dài 20 – 30 nucleotit thì ở đầu 5'P (đầu photphat) tiến hành gắn mũ 7 – metyl guanin tạo liên kết 5'P – 5'P. Đây là bản phiên mã đầu tiên tức là tiền mARN, chứa cả exon và intron.

2. Thêm đuôi poly A. Tại phía 3' – OH một đoạn ngắn không mã hoá bị cắt đi để gắn 200 – 300 adenin thành đuôi poly A.

3. Cắt nối (splicing). Quá trình cắt bỏ intron rồi nối các exon lại với nhau xảy ra trong nhân được xúc tác bởi các phức hợp bao gồm protein liên kết với ARN kích thước nhỏ gọi là phức hợp ribonucleoprotein (snRNP – small nuclear ribonucleoprotein). mARN trưởng thành được vận chuyển qua siêu lỗ trên màng nhân vào tế bào chất để tiến hành dịch mã.

#### 4.1.3. Dịch mã (translation)

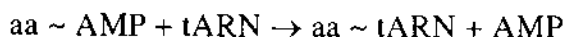
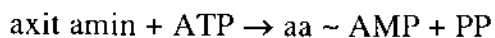
Quá trình chuyển thông tin từ mARN (tức trình tự nucleotit) sang trình tự axit amin tạo chuỗi polypeptit gọi là dịch mã. Tham gia vào quá trình này gồm riboxom, mARN và tARN.

– Riboxom có cấu tạo từ protein và rARN. Riboxom của vi khuẩn thuộc loại 70S gồm 2 tiểu đơn vị 50S và 30S, còn riboxom ở eukaryote thuộc loại 80S gồm 2 tiểu đơn vị 60S và 40S. Trong riboxom có 2 vị trí gắn. Vị trí A dành cho aminoacyl – tARN và vị trí P dành cho peptidyl – tARN.

– tARN ngắn hơn nhiều so với mARN. Chúng chỉ gồm 70 – 90 nucleotit có dạng chiếc lá chẻ ba với 1 cuống và 3 thùy. Đó là do có sự bắt cặp trong phân tử. Đầu 3' luôn là CCA. Axit amin luôn gắn vào đầu CCA này.

+ Thùy ở giữa gọi là AC (anticodon), ứng với codon ở mARN. Codon và anticodon là bộ ba nucleotit bổ sung nhau.

+ Mỗi tARN đặc hiệu cho 1 axit amin. Để tổng hợp protein, trước hết axit amin phải được cung cấp năng lượng tức là được hoạt hoá nhờ ATP rồi gắn vào tARN để đưa đến riboxom.



Vì mARN ở prokaryote không gắn mũ và đuôi, không phải chế biến do đó ngay khi còn đang phiên mã trên khuôn ADN, các riboxom đã gắn lần lượt vào đầu 5' để tiến hành tổng hợp protein. Quá trình dịch mã bao gồm 3 bước : **mở đầu** (initiation), **kéo dài** (elongation) và **kết thúc** (termination).

1. **Mở đầu.** Tham gia vào dịch mã còn phải kể đến các yếu tố mở đầu (IF – initiation factor). Ở vi khuẩn là 3 yếu tố mở đầu IF – 1, IF – 2 và IF – 3, ở eukaryote có 10 yếu tố eIF (eukaryotic IF) là eIF – 1, eIF – 2, eIF – 3...

Ta hãy xem xét quá trình này ở *E. Coli* :

+ Bộ ba mở đầu dịch mã ở mARN bao giờ cũng là AUG mã cho metionin. Như vậy, *E.coli* có hai tARN : tARN gắn metionin mở đầu chuỗi (kí hiệu là  $\text{ARN}_f^{\text{Met}}$ ) và tARN gắn metionin ở giữa phân tử protein (kí hiệu là  $\text{ARN}_m^{\text{Met}}$ ). Metionin còn gắn thêm axit formic ở phía đầu amin để trở thành N – formyl – metionin (kí hiệu là fMet, ở tế bào eukaryote, metionin không cần formyl hoá).

+ Trước hết yếu tố mở đầu IF – 3 gắn trước vào tiểu phần 30S (ngăn không cho tiểu phần 50S gắn tùy tiện mà để mARN gắn vào tiểu phần 30S trước).

+ Tiếp theo là tARN mở đầu (tức fMet –  $\text{ARN}_f^{\text{Met}}$  trong dạng phức hợp fMet –  $\text{ARN}_f^{\text{Met}}$  – IF – 2 – GTP) được chuyển chính xác vào vị trí P (P = peptidyl) ở 30S sau đó IF – 3 tách ra.

+ Ở eukaryote mARN có mũ giúp cho phân tử này gắn vào riboxom. Ở prokaryote mARN không có mũ nhưng ngay trước codon khởi đầu có 3 – 9 nucleotit gọi là đoạn Shine – Dalgarno. Đoạn này bắt cặp với đoạn tương hợp ở đầu 3' của rARN 16S tạo phức hợp riboxom – ARN giúp mARN gắn vào riboxom.

+ Nhờ có sự bắt cặp kể trên mà riboxom prokaryote sử dụng được mARN đa gen (polycistronic) bởi vì riboxom có thể tìm thấy mỗi vị trí khởi đầu trong mARN.

+ Riboxom của eukaryote nhận diện mARN nhờ mũ ở đầu 5' và sự khởi đầu dịch mã chỉ xảy ra ở codon khởi đầu. Do vậy chúng không thể dịch mã mARN đa gen.

+ Hai tiểu phần 50S và 30S kết hợp với nhau tạo riboxom 70S. IF – 2 thủy phân GTP giải phóng năng lượng để đẩy IF – 1 và IF – 2 ra ngoài. Vai trò của IF – 1 còn chưa rõ nhưng nó làm nhiệm vụ hỗ trợ cho hoạt động của IF – 2 tạo phức hợp mở đầu gồm 70S – mARN – fMet –  $\text{ARN}_f^{\text{Met}}$ .

2. Kéo dài. Là sự gắn tiếp các axit amin vào chuỗi. Ở đây cần sự tham gia của các yếu tố kéo dài EF (elongation factor). Bảng 4.1 chỉ rõ chức năng của các yếu tố kéo dài ở cả prokaryote và eukaryote.

**Bảng 4.1. MỘT SỐ YẾU TỐ KÉO DÀI CỦA QUÁ TRÌNH DỊCH MÃ**

| Prokaryote | Eukaryote        | Chức năng                                     |
|------------|------------------|-----------------------------------------------|
| EF – Tu    | EF – 1 $\alpha$  | Gắn aminoaxyl – tARN vào vị trí A của riboxom |
| EF – Ts    | EF – 1 $\beta$ 7 | Phục hồi EF – Tu và EF – 1 $\alpha$           |
| EF – G     | EF – 2           | Tham gia vào chuyển chỗ của aminoaxil – tARN  |

+ Từ axit amin thứ hai trở đi, sự gắn aminoaxil – tARN vào riboxom cần sự kích thích của Tu và GTP trong phức hợp  $\text{aa}_n$  – tARN – Tu – GTP.

+ Axit amin thứ hai trong phức hợp  $aa_2 - tARN - Tu - GTP$  gắn vào vị trí A (A = aminoaxyl), bắt cặp với codon tương ứng. Yếu tố Tu thủy phân GDP thu năng lượng và đẩy Tu - GDP ra khỏi riboxom. EF - Tu sẽ được phục hồi nhờ EF - Ts.

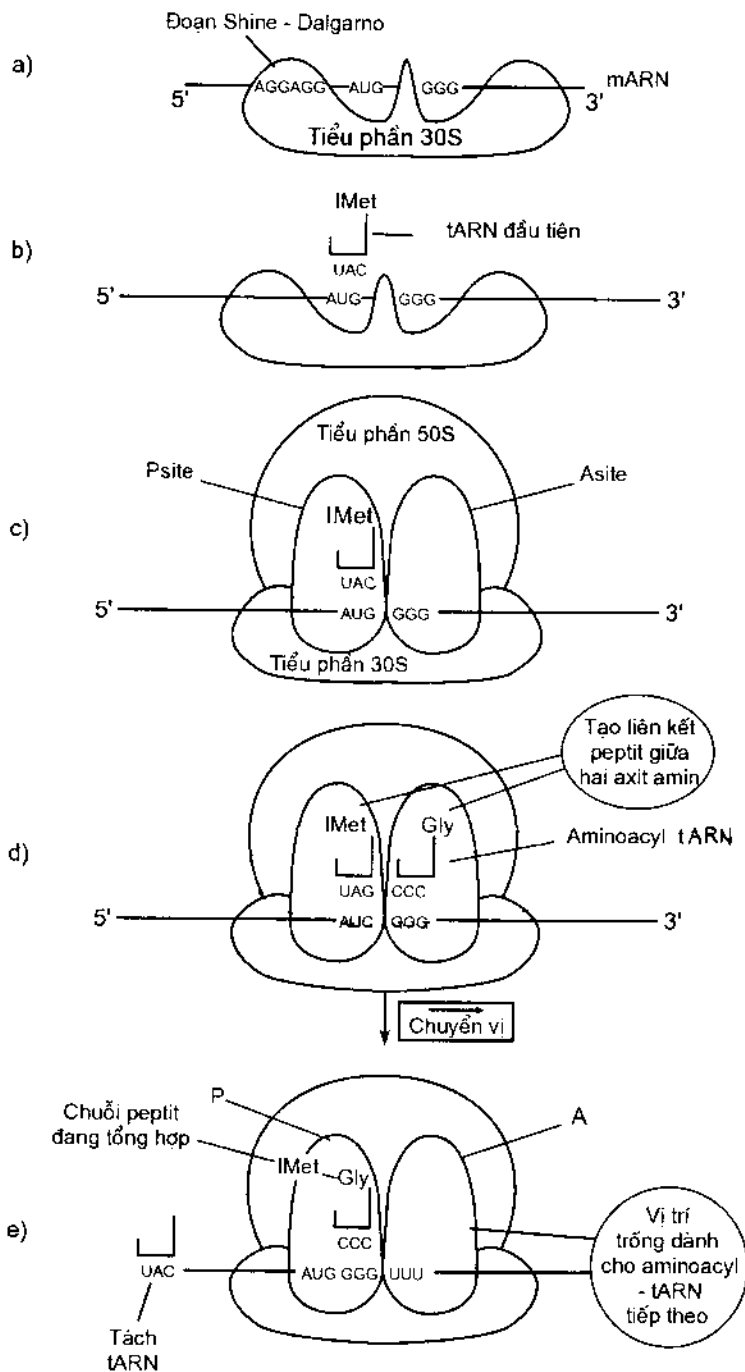
+ Tạo thành liên kết peptit để nối giữa 2 axit amin nhờ enzym peptidyl transferaza xúc tác.

+ Riboxom chuyển dịch 1 codon theo hướng  $5' \rightarrow 3'$  của mARN, sao cho fMet -  $aa_2 - tARN$  từ vị trí A chuyển sang vị trí P và đẩy tARN đầu tiên ( $ARN_f^{Met}$ ) tự do ra ngoài. Yếu tố G thủy phân GTP thu năng lượng dùng cho việc chuyển dịch và đẩy EF - G ra ngoài.

+ Axit amin thứ 3 ( $aa - tARN - Tu - GDP$ ) lại được đến vị trí A. Tiến hành bắt cặp giữa anticodon và codon. Lại tạo liên kết peptit gắn với 2 axit amin trước. Quá trình lặp lại cho đến kết thúc.

3. *Kết thúc.* Quá trình dịch mã kết thúc khi riboxom gặp một trong ba codon kết thúc hay codon vô nghĩa là UAA, UAG và UGA. Các bộ ba này không có anticodon tương ứng mà thay vào đó là các yếu tố phóng thích RF (release factor). Các yếu tố này nhận biết bộ ba vô nghĩa để giải phóng polypeptit khỏi riboxom. Ở vi khuẩn có 3 yếu tố phóng thích. Đó là RF - 1 (đặc trưng cho 2 codon UAA và UAG), RF - 2 (đặc trưng cho 2 codon UAA và UGA) và RF - 3 kích thích cho cả 2 yếu tố kia. Ở eukaryote chỉ có một yếu tố phóng thích là eRF (eukaryotic RF). Cuối quá trình dịch mã riboxom lại tách ra làm 2 tiểu đơn vị 30S và 50S.

Chuỗi polypeptit thoát ra ngoài nhờ các yếu tố kể trên. Trong thực tế nhiều riboxom liên kết cạnh nhau gọi là polyxom cùng tham gia dịch mã. Có thể ví riboxom như là đầu máy video. Đầu máy cho ra bất kỳ hình ảnh nào tùy thuộc vào băng. Riboxom cũng cho ra bất kỳ protein nào tùy thuộc vào mARN (hình 4.4).



**Hình 4.4.** Các bước tổng hợp protein ở prokaryote.

- Gắn tiểu phần 30S vào mRNA, đưa codon AUG vào vị trí P.  
Đoạn Shine Dalgarno (5' – GGAGG – 3') bắt cặp với rARN 16S (3' – CCUCC – 5').
- tARN<sup>Met</sup> vào vị trí P gắn với codon AUG
- Tiểu phần 50S gắn với 30S tạo riboxom 70S
- tARN mang axit amin thứ 2 vào vị trí A bắt cặp với codon thứ 2. Ở đây cần 3 yếu tố mở đầu (IF) và sự thủy phân GTP để thu năng lượng.
- Peptidyl transferaza tạo liên kết peptit giữa hai axit amin. tARN đầu tiên ra khỏi vị trí P nhường chỗ cho tARN thứ 2. Vị trí A tự do dành cho tARN mang axit amin tiếp theo.

## 4.2. DI TRUYỀN VIRUT

Như mọi cơ thể sống, virut cũng có hai tính chất cơ bản là di truyền và biến dị. Tuy nhiên, virut có những thuộc tính riêng làm cho di truyền virut mang sắc thái riêng.

- Virut có kích thước quần thể lớn. Một khi số lượng cá thể càng lớn thì xác suất đột biến càng tăng và sự chọn lọc tự nhiên để phù hợp với điều kiện môi trường thay đổi sẽ càng cao.

- Sự thay đổi quần thể nhanh. Không những rất thuận lợi để nghiên cứu sự biến dị của virut trong phòng thí nghiệm mà còn quan sát được sự tiến hoá của chúng trong tự nhiên.

- Đặc điểm đơn bội và sự sinh sản vô tính của virut quyết định :

- + Cấu trúc di truyền của quần thể.

- + Không có khả năng lưu trữ các nguồn dự trữ biến dị được tạo thành do lưỡng bội.

- + Dễ bị đột biến do chọn lọc tự nhiên.

- + Giảm hiệu quả tác động của chọn lọc tự nhiên đối với các đột biến trung tính (neutral mutation).

- + Có khả năng cải biến di truyền của quần thể bằng cách thay thế dòng này bằng dòng khác.

- Virut luôn được lưu truyền qua các vụ dịch. Sự liên tục xâm nhập vào tế bào miễn cảm mới là điều kiện bắt buộc để virut có thể tồn tại lâu dài trong tự nhiên.

- Kích thước genom nhỏ và không có gen lặp lại. Để nhân lên, genom virut phải ở trạng thái nguyên vẹn, nghĩa là có chứa đầy đủ các gen. Sự thay đổi dù không lớn trong gen cũng có thể gây tổn thương hoặc gây chết virut.

### 4.2.1. Genom của virut

Như đã trình bày ở chương 1, virut chỉ chứa một loại axit nucleic (ARN hoặc ADN) mà không bao giờ có cả hai. Genom của virut có thể chỉ bao gồm một phân tử hoặc có thể chứa nhiều phân tử (genom phân đoạn).

**4.2.1.1. Genom virut ADN kép không phân đoạn.** Có khả năng gây nhiễm, trừ đại diện của các chi *Poxvirus* và *Hepadnavirus* mang genom gồm hai sợi ADN có chiều dài khác nhau.

### 4.2.1.2. Genom virut ARN

Hầu hết là ARN mạch đơn (trừ *reov* và *retro*) và có thể phân đoạn (gồm đại diện các chi *Retrovirus*, *Orthomyxovirus*, *Arenavirus* và *Reovirus*) hoặc không phân đoạn.

- Phân tử ARN (+) có khả năng gây nhiễm (trừ virut *retro*).

- Phân tử ARN (–) không có khả năng gây nhiễm, muốn gây nhiễm phải chuyển thành ARN (+).

### 4.2.2. Đột biến

Như mọi cơ thể sống khác, virut cũng rất dễ bị thay đổi cấu trúc của genom để thích nghi với điều kiện môi trường mới. Thực chất của đột biến là sự sắp xếp lại các gen

hoặc tăng giảm số lượng gen hoặc được thay thế bằng các đoạn gen khác. Các đột biến này bao gồm :

1. *Mất đoạn* (deletion). Hiện tượng thay đổi genom do mất đi một phần vật liệu di truyền (có thể mất đi một nucleotit hoặc một đoạn axit nucleic mạch đơn hoặc mạch kép).

2. *Đảo đoạn* (inversion). Quá trình thay đổi hướng của một đoạn genom so với quy định.

3. *Lặp đoạn* (duplication). Một đoạn gen được lặp lại thành hai hay nhiều bản sao.

4. Genom của virus có thể cài xen vào genom của tế bào và khi nhân lên có thể mang theo một phần gen của tế bào.

5. Virus có thể làm tăng quỹ gen của mình bằng cách thu nạp các gen từ quần thể virus khác.

6. Ở virus đột biến cũng chia ra là đột biến ngẫu nhiên (spontaneous) và đột biến cảm ứng (induced) :

– Đột biến ngẫu nhiên xảy ra dưới tác động của nhiều yếu tố môi trường gây đột biến tự nhiên, thường xuất hiện với tần số  $1/10^{-8}$ .

– Đột biến cảm ứng xảy ra trong phòng thí nghiệm dưới tác động của các tác nhân hoá học và vật lý (ví dụ chiếu tia UV).

7. Đột biến lại chia ra thành đột biến làm **thay đổi genotyp** và đột biến làm **thay đổi phenotyp**. Đột biến dựa theo sự **thay đổi phenotyp** bao gồm 4 nhóm :

– *Đột biến không biểu hiện phenotyp*. Loại này không làm thay đổi tính chất của virus và chỉ được phát hiện nhờ các phân tích đặc biệt.

– *Đột biến làm mất hoàn toàn khả năng tổng hợp protein* hoặc làm mất chức năng của các protein quan trọng cần cho quá trình nhân lên. Đây là đột biến gây chết (lethal mutation). Ví dụ xuất hiện các codon vô nghĩa (phá huỷ tổng hợp protein) hoặc do thêm đoạn hay mất đoạn (phá huỷ sâu sắc mã di truyền).

– *Đột biến gây chết có điều kiện (conditional lethal mutation)*. Là đột biến làm mất khả năng tổng hợp protein hoặc mất chức năng của protein nhưng chỉ xảy ra trong các điều kiện nhất định.

– *Đột biến biểu hiện phenotyp* ví dụ đột biến làm thay đổi kích thước của vết tan hoặc thay đổi tính chịu nhiệt. Dựa theo sự biến đổi genotyp lại phân ra là đột biến điểm (xảy ra cục bộ với các gen riêng biệt) và đột biến gen (động chạm đến các đoạn lớn của gen).

+ Đột biến điểm. Dạng đột biến này có thể tiến hành trong phòng thí nghiệm. Trong tự nhiên đột biến điểm cũng thường xảy ra, ví dụ đột biến điểm ở các gen mã cho KN bề mặt hemagglutinin và neuraminidaza. Ở virus cúm gây nên hiện tượng **thay đổi KN** (antigenic drift). Cấu trúc KN bề mặt thay đổi làm cho vaccine chống cúm dựa trên KN virus cúm từ vụ dịch trước mất tác dụng với virus cúm ở vụ dịch sau.

– Đột biến gây chết có điều kiện. Một trong những protein của virus bị mất chức năng hoặc chỉ được tổng hợp trong những điều kiện nhất định :

+ *Đột biến gây hư hỏng một gen riêng biệt* ví dụ thể đột biến mất cảm nhiệt độ (ts -) hoặc đột biến lạnh. Chúng không có khả năng nhân lên ở dải nhiệt độ 37 – 41°C. Ở chủng mục nhất định chúng bị giảm độc lực gây bệnh cho người và chúng có cấu trúc KN như cấu trúc KN của chủng "dại". Các chủng đột biến này thường được dùng để sản xuất vaccin.

+ *Đột biến làm thay đổi genom của tế bào chủ* do thay thế một codon mã cho một axit amin bằng một codon kết thúc. Loại này thường thấy ở thể thực khuẩn. Các thể thực khuẩn như thế chỉ có thể nhân lên trong các vi khuẩn đã đột biến có cấu trúc tARN thay đổi nhận mặt được codon kết thúc như là một bộ ba mã cho một axit amin dẫn đến xuất hiện một axit amin mới và đôi khi dẫn đến sự tạo thành một protein mang chức năng mới.

+ *Thể đột biến tạo thành vết tan* được đặc trưng bởi sự thay đổi kích thước, hình thái vết tan ở tế bào nuôi cấy một lớp. Loại này thường là đột biến gen đánh dấu (marker gene) mã cho protein capsit, giúp cho virus hấp phụ và xâm nhập vào tế bào dễ dàng hơn. Kích thước vết tan ở thể đột biến có thể dao động từ 1/10mm đến vài cm. Các virus này nhân lên nhanh chóng, tạo thành vết tan sớm và thường có độ độc cao.

+ *Đột biến có phổ gây nhiễm rộng* giúp cho virus có khả năng nhân lên trong các tế bào không mất cảm với các chủng virus "dại". Cơ sở của đột biến này là thay đổi cấu trúc protein bề mặt (receptor) làm nhiệm vụ hấp phụ, đồng thời xảy ra sự biến đổi gen gây ra bởi mối tương tác giữa quá trình phân chia tế bào và sự biểu hiện gen của virus.

+ *Đột biến gây tình trạng kháng thuốc* thường liên quan đến sự thay đổi cấu trúc enzym là đích tác dụng của các chế phẩm thuốc chống virus. Ví dụ, việc mất khả năng liên kết giữa enzym với thuốc sẽ cho phép virus có khả năng nhân lên được cả khi có mặt của thuốc (xem phần kháng thuốc chương 8).

+ *Đột biến thiếu hụt enzym* làm mất hoàn toàn enzym hoặc thay đổi cấu trúc enzym. Tùy thuộc vào mức độ biến đổi và vai trò của enzym trong quá trình nhân lên mà có thể là đột biến gây chết hoặc đột biến gây chết có điều kiện.

+ *Đột biến chịu nhiệt* giúp virus có khả năng nhân lên ở 41°C và chúng thường là các chủng gây độc.

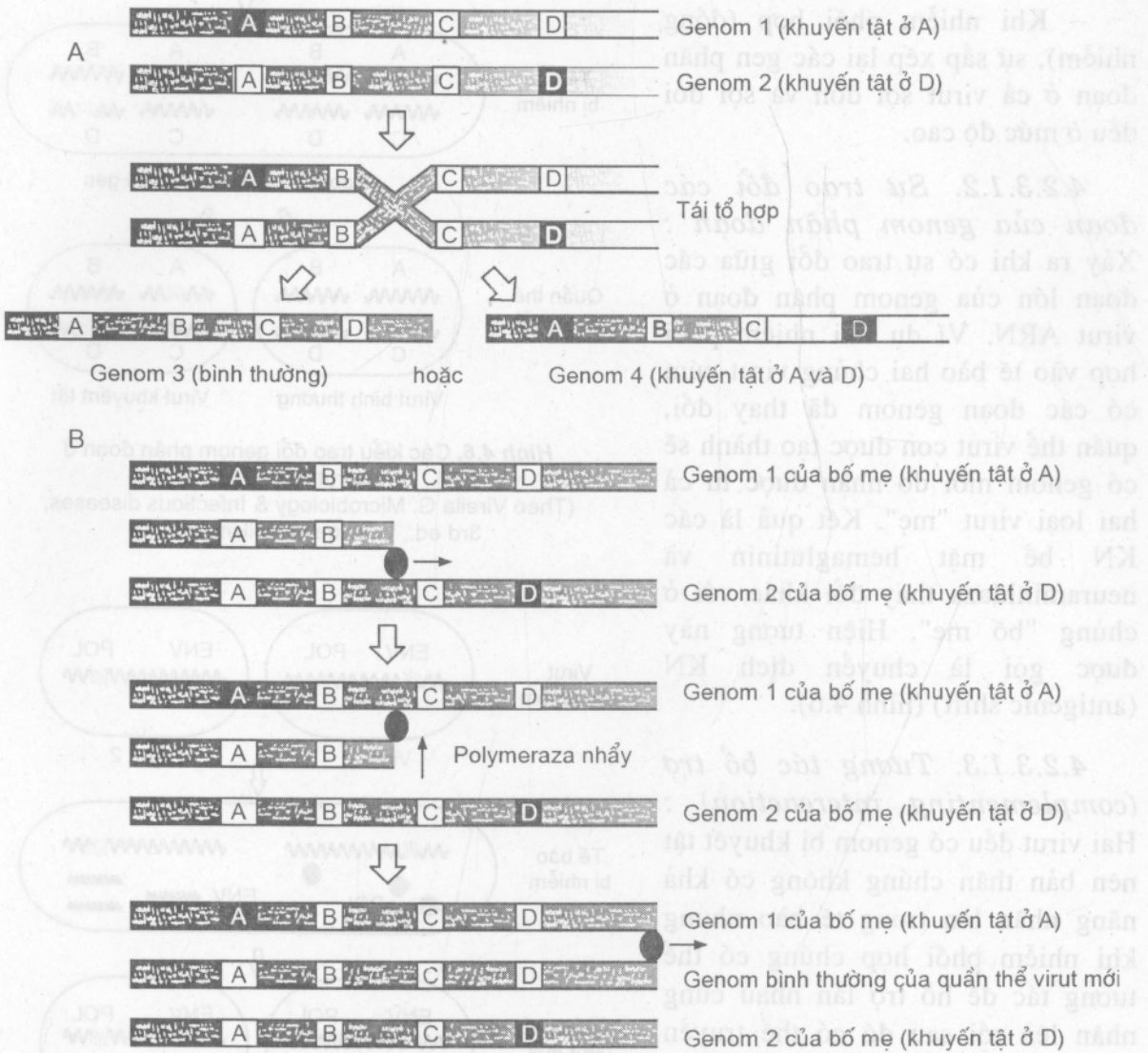
#### **4.2.3. Môi tương tác di truyền giữa các virus**

Khi một số virus giống nhau hoặc gần giống nhau về mặt di truyền cùng xâm nhiễm vào một tế bào thì genom của chúng có thể phối hợp hoặc giao hoán với nhau. Sự tương tác di truyền giữa các virus có thể diễn ra dưới nhiều hình thức.

##### **4.2.3.1. Tương tác phối hợp**

**4.2.3.1.1. Tái tổ hợp và sự sắp xếp lại gen** giữa các genom phân đoạn dẫn đến sự sắp xếp lại vật liệu di truyền ở thể hệ virus con. Hiện tượng này có thể bắt gặp ở tất cả các virus ADN, tất cả các virus ARN có genom phân đoạn và ở một số ít virus có genom không phân đoạn (ví dụ *polio* và *aptơ*).

– *Virut ADN*. Mức độ tái tổ hợp của các genom ở virut ADN mạch đôi tỷ lệ thuận với kích thước của chúng. Virut *polio* có tần số tái tổ hợp thấp là do ADN của chúng có cấu trúc vòng. Ở virut ADN có thể thấy tái tổ hợp không liên tục. Khi tương tác giữa hai genom bình thường sẽ tạo thành genom bình thường ở thế hệ con đồng thời khi tương tác với genom khuyết tật cũng có thể tạo thành genom bình thường (hình 4.5A).



Hình 4.5. Tái tổ hợp ở virut ADN (A) và ở virut ARN (B)

– *Virut ARN*. Khi sao mạch ARN (–) từ mạch khuôn ARN (+), polymeraza có thể "nhảy" từ mạch ARN này sang mạch ARN khác tạo thành khuôn lai (hình 4.5B). Ví dụ genom virut HIV gồm hai mạch ARN khi tổng hợp mạch cADN từ mạch ARN (+), enzym phiên mã ngược có thể "nhảy" từ mạch này sang mạch khác. Nếu cả hai mạch đều tương đồng thì hiện tượng trên không dẫn đến hậu quả gì. Nhưng nếu hai virut cùng



đột biến (ví dụ đều mang genom khuyết tật) thì thể tái tổ hợp sẽ tạo thành quần thể mang genom khác với bố mẹ.

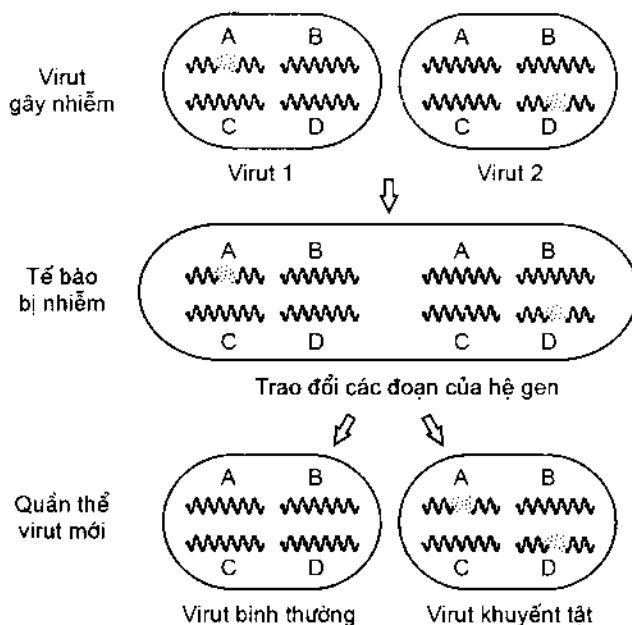
– Genom của virus *polio* và *aptor* (lở mồm long móng) là sợi đơn có kích thước nhỏ nên có khả năng tái tổ hợp thấp.

– Khi nhiễm phối hợp (đồng nhiễm), sự sắp xếp lại các gen phân đoạn ở cả virus sợi đơn và sợi đôi đều ở mức độ cao.

**4.2.3.1.2. Sự trao đổi các đoạn của genom phân đoạn :**  
Xảy ra khi có sự trao đổi giữa các đoạn lớn của genom phân đoạn ở virus ARN. Ví dụ khi nhiễm phối hợp vào tế bào hai chủng virus cúm có các đoạn genom đã thay đổi, quần thể virus còn được tạo thành sẽ có genom mới do nhận được từ cả hai loại virus "mẹ". Kết quả là các KN bề mặt hemagglutinin và neuraminidaza thay đổi khác với ở chủng "bố mẹ". Hiện tượng này được gọi là chuyển dịch KN (antigenic shift) (hình 4.6).

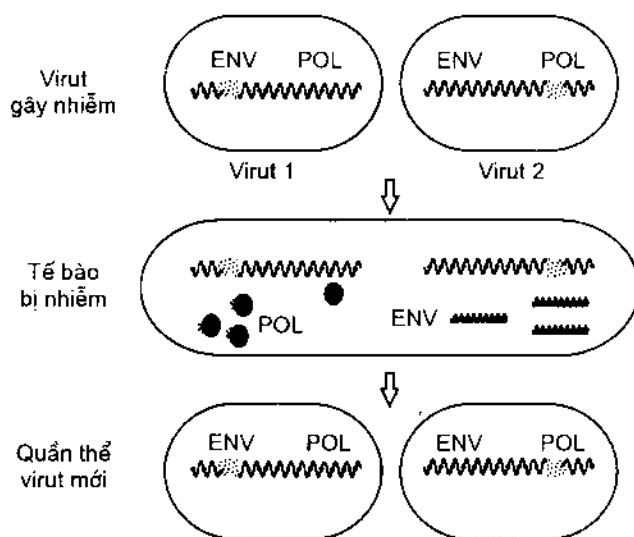
**4.2.3.1.3. Tương tác bổ trợ (complementing interaction) :**  
Hai virus đều có genom bị khuyết tật nên bản thân chúng không có khả năng nhân lên trong tế bào nhưng khi nhiễm phối hợp chúng có thể tương tác để hỗ trợ lẫn nhau cùng nhân lên rồi sau đó có thể truyền ngang. Sau đây là một ví dụ :

Hai virus khuyết tật cùng nhiễm vào một tế bào, một virus mất gen tổng hợp polymeraza và một virus mất gen mã cho glycoprotein bề mặt. Sự tương tác bổ trợ giữa hai genom giúp cho virus có thể nhân lên một cách bình thường (hình 4.7).



**Hình 4.6.** Các kiểu trao đổi genom phân đoạn ở virus ADN.

(Theo Virella G. Microbiology & Infectious diseases, 3rd ed., Williams & Wilkins, 1997)



**Hình 4.7.** Sự bổ sung cho nhau giữa các virus khuyết tật. Hai virus khuyết tật : một loại thiếu gen POL mã hoá cho polymeraza, một loại thiếu gen ENV mã hoá cho gai glycoprotein bề mặt cùng nhiễm vào một tế bào. Sự trao đổi gen dẫn tới hình thành quần thể virus mới nhưng các virus vẫn giữ genom khuyết tật ban đầu.

(Theo Varilla G., Microbiology and infectious disease, 3rd ed. Williams & Wilkins, 1997).

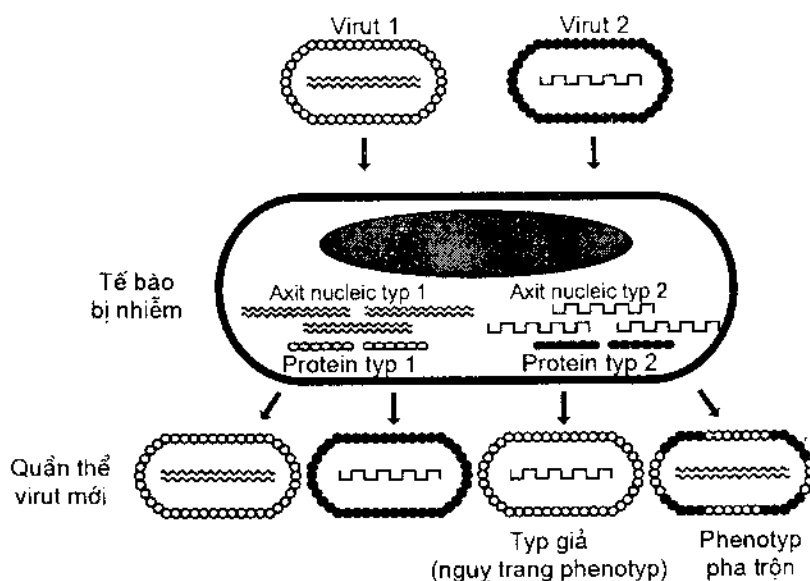
**4.2.3.1.4. Pha trộn phenotyp (phenotypic mixing) và che dấu phenotyp (phenotyp masking)** là dạng thứ ba của tương tác di truyền.

Khi hai loại virus nhiễm vào tế bào, một loại là virus khuyết tật mất một hoặc vài gen cần cho quá trình nhân lên, một loại là virus bình thường có quan hệ rất gần về mặt di truyền, genom khuyết tật có thể chui vào vỏ capsit do virus bình thường tạo thành. Bằng cách này trong tự nhiên virus *retro* khuyết tật (ví dụ có mang gen ung thư) có thể truyền ngang và tạo thành ung thư.

Cần lưu ý rằng chỉ gọi là di truyền khi có mối tương tác giữa các genom, bởi vì các tính trạng thu được thường không được củng cố ở thế hệ sau mà các đặc điểm huyết thanh học của một trong các chủng "bố mẹ" phải có ở thế hệ con.

– Sự pha trộn phenotyp được phát hiện thấy trong trường hợp nhiễm hỗn hợp hai loại virus có quan hệ gần gũi vào cùng một tế bào (ví dụ *polio* và *coxsackie* chỉ khác nhau ở typ huyết thanh) sẽ tạo ra virion có vỏ capsit pha trộn do hai genom virus mã hoá.

– Sự tạo thành typ giả (pseudotyp) cũng xảy ra khi nhiễm hỗn hợp. Đây là hiện tượng genom của một virus nằm trong vỏ của một virus khác có quan hệ họ hàng, dẫn đến sự tạo thành typ giả. Hiện tượng này gọi là nguy trạng phenotyp tức là genom được khoác áo nguy trạng của phenotyp khác. Khi nhiễm hỗn hợp hai typ giả giống nhau vào cùng một tế bào thì quá trình có thể được phát triển theo chiều hướng ngược lại. Ví dụ genom của virus typ 2 được gói trong capsit của virus typ 1 thì quần thể các virus con sẽ mang cả capsit và genom của virus typ 2, bởi vì mọi thành phần của virus đều do genom typ 2 mã hoá (hình 4.8).



**Hình 4.8.** Nguyên lý tạo thành typ giả (nguy trạng phenotyp và pha trộn phenotyp) ở virus.  
(Theo Virella G. *Microbiology & Infectious diseases*, 3rd ed., Williams & Wilkins, 1997)

**4.2.3.2. Tương tác can thiệp (interfering interreaction) :** Khi tìm hiểu về interferon (chương 8) chúng ta đề cập đến hiện tượng can thiệp (interference), theo đó virus thường không có khả năng nhiễm lần hai vào tế bào trước đó đã bị nhiễm virus.

**4.2.3.2.1. Can thiệp khác nguồn (heterological interference) :** Trong phạm vi một tế bào khi virus thứ nhất đã nhiễm thì ngăn cản sự xâm nhiễm của virus thứ hai. Nguyên nhân là do :

- Thụ thể của tế bào bị phong bế hoặc bị phá huỷ sau khi nhiễm virus thứ nhất làm cho virus thứ hai không thể hấp phụ được lên tế bào.

- Quá trình phiên mã mRNA của virus thứ hai bị ức chế trong tế bào đã bị nhiễm virus thứ nhất.

**4.2.3.2.2. Can thiệp cùng nguồn (tương đồng) (homological interference) :** Virus chứa genom khuyết tật tự nó không có khả năng nhân lên nhưng sau khi nhiễm chung với virus bình thường chúng lại có khả năng nhân lên bình thường. Trong trường hợp này virus bình thường làm nhiệm vụ hỗ trợ virus khuyết tật. Tuy nhiên virus khuyết tật có thể được pha trộn trong quá trình nhân lên và tạo thành thế hệ **virus khuyết tật can thiệp con (defective interfering virus)** gọi tắt là hạt DI.

- Hạt DI chỉ chứa một phần genom của virus hoàn thiện. Xét về bản chất của đột biến khuyết tật thì chúng là thể đột biến mất đoạn nhưng xét về biểu hiện phenotyp thì chúng là đột biến gây chết, chúng đóng vai trò trợ giúp cho virus cùng nguồn nhân lên.

- Các hạt DI chứa lượng thông tin di truyền hạn chế và mặc dù một số gen của virus được biểu hiện nhưng tính chất cơ bản của chúng là có khả năng can thiệp đối với các virus cùng nguồn.

- Các hạt DI có khả năng hấp phụ và xâm nhập vào tế bào là do vỏ capsit có cấu trúc bình thường. Khi axit nucleic khuyết tật được giải phóng khỏi vỏ capsit và biểu hiện sẽ dẫn đến các hậu quả sinh học khác nhau : Ức chế các quá trình tổng hợp bình thường của tế bào đồng thời ức chế tổng hợp và chuyển đoạn protein của virus bình thường (do sự can thiệp cùng nguồn).

- Cơ chế thực sự của sự can thiệp này còn chưa rõ, tuy nhiên người ta cho rằng hạt DI chứa ARN đột biến mất đoạn (các phân tử của chúng ngắn hơn các phân tử ARN cùng nguồn) và các vị trí gắn polymeraza ở cuối phân tử có ái lực với ARN – polymeraza mạnh hơn cho nên chúng được sao chép nhanh hơn do đó cạnh tranh với genom bình thường (tức genom đầy đủ).

- Sự luân chuyển của các hạt DI và sự đồng nhiễm của chúng cùng với các virus "bình thường" đã gây nên hiện tượng bệnh dai dẳng. Nguyên nhân có thể là do :

- + Genom được biểu hiện và sao chép khá nhanh. Sự chín của quần thể virus khuyết tật đi đôi với việc giảm hiệu quả gây bệnh tế bào (CPE).

- + ARN của hạt virus DI thế hệ con chứa cấu trúc cho phép chúng xâm nhập nhanh hơn vào vỏ capsit, do đó chúng có khả năng nhân lên trong thời hạn ngắn hơn so với các genom của virus "bình thường".

#### **4.2.4. Mối tương tác giữa virus nhiễm lần đầu với virus nhiễm lần hai vào tế bào**

Mối tương tác này có thể diễn ra theo hai cách :

##### ***4.2.4.1. Tế bào nhiễm lần đầu có thể mất tính miễn cảm đối với virus nhiễm lần hai***

Điều đó có thể do các lý do sau :

– Virus nhiễm lần đầu đã cảm ứng tổng hợp IFN ức chế sự nhân lên của virus nhiễm lần hai.

– Trong tế bào nhiễm có sự ức chế tổng hợp và biểu hiện protein bề mặt dùng làm thụ thể cho các virus khác.

– Sự dịch mã của mARN của virus thứ hai bị ngăn cản là do virus thứ nhất tác động trực tiếp làm thay đổi cấu trúc của protein gắn vào đoạn phía đầu 5' của mARN hoặc cũng có thể là do tạo thành phức hợp giữa genom của virus thứ hai đối với polymeraza của virus thứ nhất.

– Sự nhân lên của virus thứ nhất trong tế bào nhiễm có thể gây ra các sai sót trong điều hoà sự biểu hiện các gen của tế bào, cản cho giai đoạn sớm của quá trình nhân lên của virus thứ hai, dẫn đến kìm hãm sự phiên mã của virus thứ hai.

***4.2.4.2. Sự nhân lên của virus thứ nhất có thể làm cho tế bào vốn trước đây đề kháng thì nay trở nên miễn cảm với virus thứ hai.*** Có hiện tượng này là do virus thứ nhất tăng cường dịch mã mARN của virus thứ hai.

– Ví dụ điển hình của sự "trợ giúp" này là virus SV 40 nhiễm trong tế bào nuôi cấy mô thận kích thích sự nhân lên của virus *adeno*.

– Tương tự như vậy cũng được thấy ở các hạt virus khuyết tật, tiềm ẩn không có khả năng nhân lên trong tế bào nhưng có thể đóng vai trò "trợ giúp" làm tăng khả năng nhiễm virus khác.

### **4.3. THỂ THỰC KHUẨN VÀ VECTƠ TÁCH DÒNG**

Trong chương TTK chúng ta xem xét TTK  $\lambda$  trong đó khi tiến hành tải nạp chúng hoạt động như là một vectơ và quá trình tái tổ hợp diễn ra trong tế bào (*in vivo*) chứ không phải trong ống nghiệm (*in vitro*), còn bây giờ chúng ta lại xem xét việc sử dụng phage  $\lambda$  như là vectơ tách dòng trong tái tổ hợp *in vitro*. Đây là vectơ rất thuận tiện vì đặc điểm di truyền phân tử của chúng đã được hiểu biết tường tận. ADN của phage  $\lambda$  lớn hơn plasmid và có thể gói trong hạt phage *in vitro*. ADN này cũng có thể nhiễm vào tế bào chủ thích hợp và việc nhiễm xảy ra với hiệu quả hơn nhiều so với biến nạp. Phage  $\lambda$  có bản đồ di truyền phức tạp và chứa một lượng gen lớn. Tuy nhiên, đoạn giữa của genom (nằm giữa gen J và N) không đóng vai trò quan trọng nên có thể loại bỏ để thay bằng một đoạn ADN ngoại lai.

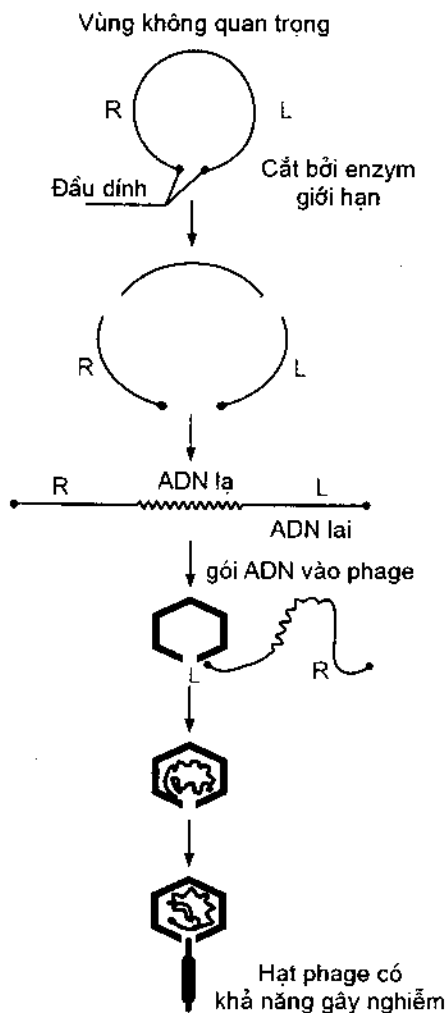
### 4.3.1. Phage $\lambda$ cải biến

Chủng  $\lambda$  "dại" (chủng gốc) không thể dùng làm vector tách dòng vì chứa quá nhiều vị trí nhận biết enzym cắt, do đó cần phải thiết kế một loại phage  $\lambda$  cải biến dùng cho tách dòng. Bằng đột biến điểm và bằng cách loại bỏ những vùng genom không quan trọng, người ta đã thu được phage  $\lambda$  mất các vị trí enzym giới hạn không mong muốn và đặt tên là **Charon**. Nếu ở biến chủng chỉ có một vị trí giới hạn thì một đoạn ADN ngoại lai nhỏ có thể gắn xen vào genom. Ngược lại, nếu biến chủng có hai vị trí giới hạn thì cả một đoạn ADN chuyên biệt của phage có thể mất đi để thay thế bằng một đoạn ADN ngoại lai. Biến chủng này được gọi là vector thay thế (replacement vector). Việc mất đi một số vị trí hoặc mất đi cả một đoạn đã cho phép tách dòng các đoạn ADN kích thước lớn. Ví dụ trường hợp phage thay thế nhận gen  $\beta$  – gal mã cho enzym  $\beta$  – galactosidaza. Khi vector nhân lên trong tế bào *E. coli*, chủng lactoza âm tính (Lac<sup>-</sup>), thì  $\beta$  – galactosidaza được tổng hợp là do gen có mặt trong vector. Điều này phát hiện được khi dùng thạch có chất chỉ thị màu. Nếu gen ngoại lai được gắn xen thay thế cho gen  $\beta$  – galactosidaza thì đặc tính Lac<sup>+</sup> sẽ bị mất và sẽ xuất hiện các vết tan không màu trên nền các vết tan mang màu.

Vector phage  $\lambda$  dễ bảo quản, dễ tách để phân tích và được sử dụng rộng rãi để lập ngân hàng gen.

Kỹ thuật tách dòng dùng vector phage  $\lambda$  thay thế bao gồm các bước :

- 1 – Cắt ADN ra khỏi phage  $\lambda$  tại vị trí đặc hiệu nhờ enzym giới hạn.
- 2 – Gắn ADN ngoại lai vào hai đoạn ADN còn lại của phage  $\lambda$  nhờ enzym ligaza. Cần lựa chọn sao cho phân tử tái tổ hợp mới tạo thành có chiều dài phù hợp để có thể gói được vào đầu phage.
- 3 – Bổ sung dịch tế bào có chứa protein đầu và đuôi để tiến hành lắp ráp tạo virion hoàn chỉnh.
- 4 – Tiến hành cho nhiễm phage vào *E. coli* và phân lập các dòng phage dựa vào vết tan của tế bào chủ.
- 5 – Kiểm tra phage tái tổ hợp xem đoạn ADN mong muốn có mặt trong phage chưa, nhờ kỹ thuật lai axit nucleic hoặc quan sát các đặc điểm di truyền (hình 4.9).



Hình 4.9. Sử dụng phage  $\lambda$  làm vector tách dòng

(Brock T.D et al., Biology of Microorganisms, 9<sup>th</sup>, Prentice Hall, 2000)

### 4.3.2. Cosmit

Các vectơ plasmit có chứa vị trí đầu dính cos (cohesive end) nhận được từ phage  $\lambda$ , được gọi là cosmit. Như vậy, cosmit là vectơ plasmit có chứa ADN tách dòng cộng với một vị trí cos của phage  $\lambda$ . Vị trí cos giúp cho ADN đóng gói vào phage  $\lambda$ . Cosmit có khả năng chứa các đoạn ADN lạ dài đến 45kb, do vậy rất thuận tiện để tách dòng các gen từ nhiễm sắc thể của eukaryote. Hơn nữa ADN ở cosmit được giữ trong phage chứ không phải trong plasmit. Hạt phage rất bền nên ADN tái tổ hợp có thể được lưu giữ lâu hơn. Chúng được sử dụng chủ yếu vào việc thiết lập thư viện bộ gen.

### 4.3.3. Vectơ dùng xác định trình tự ADN – TTK M13

Ở phần trước ta đã thảo luận về bản chất và chu trình sống của TTK M13. Đó là phage dạng sợi với genom là ADN mạch đơn và khi nhân lên tạo virion trưởng thành, nảy chồi chui ra khỏi tế bào mà không giết chết tế bào.

Phage M13 có rất nhiều ưu điểm nên được sử dụng để tách dòng, xác định trình tự nucleotit của gen, sản xuất các mẫu dò (probe) và thực hiện đột biến điểm định hướng. Đặc điểm quan trọng của phage M13 là có genom ADN mạch đơn rất cần cho việc xác định trình tự theo phương pháp dùng dideoxynucleotit (phương pháp Sanger) nên ADN tách dòng vào M13 sẽ là nguồn cung cấp sẵn ADN mạch đơn.

Phage M13 muốn được sử dụng trong tách dòng thì nó phải ở dạng mạch đôi, bởi vì enzym giới hạn chỉ hoạt động trên ADN mạch đôi. May thay trong chu trình nhân lên trong tế bào nhiễm, khi sao chép ADN, có một giai đoạn trung gian tạo mạch đôi – dạng sao chép RF.

Khác với phage  $\lambda$ , genom của phage M13 không có vùng không quan trọng. Đa số genom của phage M13 typ "dại" cần thiết cho quá trình nhân lên. Tuy nhiên, lại có một vùng trống nhỏ không mã hoá gọi là trình tự liên gen tức là trình tự nằm giữa các gen (intergenic sequence) có thể dùng làm vị trí tách dòng. Phage M13 có genom lớn hơn (6,4kb), virion dài hơn nên ADN ngoại lai gắn vào có thể rất lớn, thậm chí đến 5kbp mà không ảnh hưởng khả năng sống của phage.

Vectơ M13 mp18 được thiết kế từ phage M13 trong đó vùng giữa các gen (vùng liên gen được cải biến để tiện cho tách dòng). Một trong các cải biến này là gắn đoạn gen lacZ mã cho  $\beta$  – galactosidaza của *E. coli* vào đó. Do vậy, tế bào nhiễm M13 mp18 được nhận biết dễ dàng nhờ màu xanh của vết tan trên môi trường có chất chỉ thị là 5 – bromo – 4 – cloro – 3 – indolyl –  $\beta$  – D – galactopyranosin gọi là X – gal. Khi  $\beta$  – galactosidaza thủy phân X – gal sẽ giải phóng thuốc nhuộm màu xanh không tan trong nước. Gen lacZ được cải biến để chứa đoạn ADN với 54 cặp bazơ gọi là polylinker. Polylinker chứa một vài vị trí giới hạn duy nhất trong phage M13, nên có thể dùng để tách dòng. Polylinker gắn vào phần đầu mã hoá của gen lacZ. Phage chứa ADN gắn xen sẽ làm tăng số lượng các vết tan không màu nên rất dễ phát hiện các tế bào chứa ADN tách dòng. Như vậy, nếu có vết tan màu xanh chứng tỏ sự có mặt của vectơ không chứa ADN tách dòng, còn khi vết tan không màu chứng tỏ ADN ngoại lai

đã gắn vào vectơ nên làm hỏng gen lacZ' mã cho  $\beta$  - galactosidaza do đó enzym này không được tổng hợp.

#### **Vậy vectơ M13 được dùng như thế nào để tách dòng ?**

Trước hết, cần tách ADN mạch đôi dạng sao chép (RF) ra khỏi tế bào nhiễm, sau đó xử lý bằng enzym giới hạn. ADN ngoại lai mạch đôi cũng phải xử lý bằng enzym giới hạn cùng loại.

Đưa vectơ vào tế bào *E. coli* bằng kỹ thuật biến nạp để cho chúng tạo thành hạt phage trưởng thành chứa ADN mạch đơn. Chỉ một mạch ADN được bọc gói vào phage trưởng thành. Mạch ADN ngoại lai nào được bọc gói là tùy thuộc vào sự định hướng nơi nó gắn xen. Vì ADN ngoại lai có thể gắn xen (vào phân tử phage tách rời) theo cả hai hướng nên cả hai mạch của ADN ngoại lai đều có thể được tách dòng.

Dùng ADN mạch đơn của phage M13 để xác định trình tự. Do đã biết trình tự bazơ nơi ADN ngoại lai gắn xen nhờ sử dụng enzym giới hạn đã biết nên có thể dùng oligonucleotit tổng hợp nhân tạo, bổ trợ với vùng này để làm mẫu và xác định được trình tự của cả đoạn ADN. Rõ ràng bằng cách này M13 tỏ ra rất hữu ích trong xác định trình tự ADN lạ, thậm chí có kích thước tương đối dài.

#### **4.3.4. Phagemit**

Phagemit có thể tồn tại trong TTK hoặc trong *E. coli*. Phagemit là vectơ được cấu tạo từ plasmit gắn thêm đoạn ADN của phage M13. Chúng chứa cả plasmit và điểm khởi đầu sao chép của phage M13. Bình thường quá trình sao chép ADN bắt đầu từ promoter của plasmit nhưng khi tế bào chứa phagemit bị nhiễm bởi phage typ đại thì promoter nằm trên vectơ sẽ được dùng để tổng hợp ADN mạch đơn từ vectơ và từ bất cứ đoạn gen tách dòng nào gắn trên vectơ. ADN mạch đơn này sẽ được gói trong phage, nó dễ dàng được tách chiết để dùng cho xác định trình tự. Thường phagemit có thể mang một đoạn ADN tách dòng lớn hơn vectơ điển hình có nguồn gốc M13. Một số vectơ như pEMBLq hoặc Bluescript có thể tiếp nhận đoạn ADN lớn đến 10kb.

### **4.4. LIỆU PHÁP GEN**

Liệu pháp gen là phương pháp chữa bệnh di truyền bằng cách đưa gen lành vào cơ thể thay cho gen hư hỏng nhằm khôi phục chức năng gen. Mặc dù còn gặp nhiều khó khăn về kỹ thuật cũng như lý thuyết song triển vọng ứng dụng trong tương lai là rất lớn, đặc biệt khi ngày nay bộ gen người đã được giải mã.

Hai loại virus được ưu tiên lựa chọn để thiết kế vectơ là virus *retro* và *adeno*. Virus *retro* là nhóm vectơ thuận tiện vì nó có enzym phiên mã ngược, biến ARN thành ADN gắn vào NST của tế bào. Virus còn chứa gen phá huỷ tế bào và gen gây ung thư nên trước hết phải loại bỏ các gen này đồng thời biến đổi để chúng không có khả năng nhân lên trong tế bào. Tuy nhiên, phổ xâm nhập vào tế bào của virus này rất hạn hẹp và chưa rõ ngoài khả năng gây ung thư, virus còn có thể gây hậu quả gì khác không. Virus *adeno* là nhóm có phổ xâm nhập rộng vào nhiều loại tế bào và có khả năng xâm nhập vào cả

các tế bào không phân chia. Tuy nhiên, virus này cũng dễ gây đáp ứng miễn dịch bảo vệ phá vỡ tế bào. Ngoài ra các virus khác cũng được quan tâm để tạo vectơ dùng cho liệu pháp gen như virus *parvo*, *herpes* và *papilloma*.

Các bước cơ bản trong liệu pháp gen :

*1. Tạo vectơ tái tổ hợp mang gen cần chuyển*

- Loại bỏ các gen virus có hại.
- Loại bỏ khả năng nhân lên của virus.
- Gắn promoter mạnh biểu hiện được gen cần chuyển.
- Gắn vào vectơ gen cần chuyển.

*2. Tách tế bào của cơ thể bệnh nhân (thường mới dùng đối với tế bào tuỷ xương và nguyên bào xơ – fibroblast)*

- Loại bỏ gen bệnh.
- Đưa vectơ tái tổ hợp vào tế bào nuôi cấy.

*3. Đưa tế bào đã chứa gen lành trở lại cơ thể đúng chỗ đã lấy nó giống như ghép tự thân*

Liệu pháp gen chỉ được thực hiện đối với tế bào soma và bị nghiêm cấm đối với các tế bào sinh dục để đề phòng các hậu quả xấu có thể gây ra cho thế hệ sau. Sau đây là đặc điểm một số vectơ virus có thể dùng trong liệu pháp gen :

a) Virus retro

- Đưa ADN vào tế bào rất có hiệu quả.
- Gắn xen tại nhiều điểm trên genom tế bào (một số có thể bị hạn chế hơn).
- Có thể gây ung thư.
- Cần tế bào phân chia để tải nạp.

b) Virus parvo (virus liên kết adeno)

- Gắn xen tại vài điểm (thường là một điểm) trong genom tế bào.
- Không gây bệnh.
- Kích thước đoạn xen bị giới hạn.
- Lượng virus có thể thu được rất lớn.

e) Virus papilloma

- Được duy trì như episom.
- Kích thước đoạn xen bị hạn chế.
- Có thể nhắm vào tế bào thần kinh.
- Có thể gây ung thư.

c) Virus adeno

- Có thể gắn xen ADN.
- Kích thước đoạn xen bị giới hạn.
- Có thể gây ung thư.
- Có thể gây đáp ứng miễn dịch bảo vệ phá vỡ tế bào.
- Một vài hệ thống có thể có đoạn xen lớn.

d) Virus herpes

- Được duy trì như episome trong tế bào nhiễm tiềm ẩn.
- Có thể nhắm vào tế bào thần kinh nhưng có thể gây bệnh thần kinh.
- Có thể gây ung thư.
- Hiệu quả gây bệnh tế bào cao.
- Đoạn xen có thể rất lớn.



# DỊCH TỄ HỌC VIRUT VÀ BỆNH HỌC PHÁT SINH

## 5.1. DỊCH TỄ HỌC

Đặc điểm dịch tễ học của nhiễm virus trước hết là do đặc tính ký sinh nội bào bắt buộc. Bên ngoài tế bào, virus chỉ tồn tại được trong một thời gian ngắn.

### 5.1.1. Các con đường lan truyền virus

#### 5.1.1.1. Truyền ngang

Virus có thể truyền từ người này sang người khác dưới nhiều hình thức khác nhau.

*a) Truyền qua sol khí* : Thông qua hơi thở, ho và hắt hơi. Mỗi lần ho người bệnh có thể làm bắn ra khoảng 90000 sol khí có chứa virus, còn mỗi lần hắt hơi có thể làm bắn ra thêm 2 triệu sol khí. Đối với các bệnh đường hô hấp thì vào mùa đông thường dễ bị lây nhiễm hơn mùa hè do phòng ở thường xuyên đóng kín làm giảm sự lưu thông không khí. Tuy nhiên, việc lây nhiễm virus đường hô hấp không phải chỉ qua con đường sol khí. Virus EBV chủ yếu truyền qua nước bọt khi hôn nhau, virus *rhino* chủ yếu truyền qua tay bắn rồi đưa vào mắt, mũi, miệng.

*b) Truyền qua đường phân – miệng* : Đặc biệt thấy ở các virus nhiễm đường ruột thuộc các họ *Picornaviridae*, *Reoviridae* và *Caliciviridae*. Các virus này khá bền vững trong đường tiêu hoá. Chúng không bị phá huỷ bởi các chất phá huỷ lipid (như axit mật). Protein vỏ capsit cũng không bị axit của dạ dày thuỷ phân và không bị proteaza trong đường ruột phân giải. Bệnh nhân thải virus qua phân rồi từ đó lây nhiễm sang người lành qua nước và thực phẩm ô nhiễm.

*c) Truyền qua quan hệ tình dục* : Các virus HIV, *Herpes simplex*, virus viêm gan B, *papilloma* thường xâm nhập qua niêm mạc đã bị xây xước tạo ổ nhiễm ban đầu, sau đó vào máu rồi đi đến các mô.

*d) Nhiễm qua da* : Rất hiếm khi virus có thể xâm nhập được qua da bởi vì biểu mô luôn là bức rào chắn hữu hiệu, hơn nữa trên bề mặt da chứa các tế bào chết không cho phép virus nhân lên. Tuy nhiên, nếu da bị tổn thương thì sẽ là cửa ngõ thuận tiện cho virus xâm nhập vào cơ thể.

*e) Qua tiêm truyền* : Việc truyền máu và sử dụng các chế phẩm từ máu, kim tiêm và dụng cụ phẫu thuật khử trùng không kỹ cũng tạo cơ hội đưa virus vào cơ thể.

#### 5.1.1.2. Truyền dọc (vertical transfusion)

Một số virus có thể truyền từ mẹ sang thai nhi qua một số con đường sau :

– Qua nhau thai bao gồm các virus HIV, CMV, *herpes*, viêm gan B, *arena*, sởi (*rubeola*) và đôi khi cả virus cúm.

– Nhiễm chu sinh (perinatal infection) – nhiễm vào bào thai qua đường tử cung, nhiễm khi sinh nở.

– Qua sữa, ví dụ virus HIV.

### **5.1.1.3. Truyền qua vết cắn của động vật hoặc qua côn trùng châm đốt**

Động vật bị ốm do nhiễm virus gọi là vật chủ tự nhiên của virus. Virus từ động vật ốm lây sang người thông qua vết cắn hoặc châm đốt. Trong đa số trường hợp người là vật chủ cuối cùng, tuy bị nhiễm nhưng không có khả năng truyền tiếp virus sang cá thể khác. Còn khi truyền được sang cá thể khác thì người bệnh trở thành ổ chứa virus, ví dụ sốt xuất huyết Dengue truyền qua muỗi, virus dại truyền qua vết cắn của chó, mèo, dơi bị bệnh dại.

### **5.1.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng gây nhiễm của virus**

#### **5.1.2.1. Virus gây nhiễm có thể không hoặc biểu hiện triệu chứng rất nhẹ**

Ở trạng thái này người bệnh có thể lây virus sang người khác mà không hay biết. Virus gây nhiễm có thể ở trạng thái âm ỉ (latent infection), quá trình diễn ra chậm với triệu chứng tối thiểu nhưng người bệnh đã trở thành nguồn lây nhiễm nguy hiểm.

Cơ thể có thể đề kháng với sự xâm nhiễm của virus. Khả năng này có thể mang tính bẩm sinh do đặc điểm di truyền hoặc cũng có thể do tiếp thu được.

#### **5.1.2.2. Đề kháng bẩm sinh mang đặc điểm loài**

Ví dụ người không bị bệnh lở mồm long móng như ở gia súc có sừng, đó là do tế bào người không có receptor phù hợp cho các virus này. Kháng bẩm sinh cũng xảy ra ở một số cá thể trong cùng loài, ví dụ bệnh sởi là bệnh dễ lây nhưng một số người không bị mắc.

#### **5.1.2.3. Kháng tiếp thu**

Là khả năng đề kháng với virus do tiếp thu được thông qua đáp ứng miễn dịch. Ví dụ, cơ thể không bị nhiễm virus lần hai do đã hình thành đáp ứng miễn dịch nhớ, hoặc do được tiêm chủng, hay tiêm kháng huyết thanh.

#### **5.1.2.4 Đặc điểm gây nhiễm theo mùa**

Một số bệnh thường xảy ra trong các mùa nhất định. Ví dụ, các virus *entero* (*ECHO*, *coxsackie*, *polio*) thường nhiễm vào mùa hè, là mùa sinh sản của vector truyền bệnh, như muỗi, ve bét. Mùa đông lại hay bị nhiễm các virus gây bệnh đường hô hấp (cảm lạnh, cúm) truyền qua sol khí khi hít thở.

## **5.2. ĐẶC ĐIỂM BỆNH SINH TRONG QUÁ TRÌNH NHIỄM VIRUS**

### **5.2.1. Cơ sở bệnh sinh**

Cơ sở phát sinh bệnh có liên quan tới mối tương tác giữa virus và tế bào

– Cả virus ADN và ARN (thông qua ADN) đều có thể gắn genom của mình vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ và tồn tại dưới dạng provirus. ADN của provirus được sao chép cùng với NST khi tế bào phân chia.

– Trừ trường hợp sau khi nhiễm, virus phân bố theo mô thần kinh, còn đa số các trường hợp phát sinh bệnh đi kèm với nhiễm virus trong máu. Virus có thể xâm nhập trực tiếp vào máu hoặc thông qua hệ bạch huyết.

– Một số virus có khả năng nhiễm vào các tế bào của hệ thống miễn dịch (virus HIV), phá hủy chức năng và làm giảm số lượng tế bào T<sub>H</sub>, nhưng lại làm tăng hàm lượng và tăng cường hoạt động của tế bào T ức chế và tế bào B.

## **5.2.2. Yếu tố xác định khả năng gây bệnh**

### **5.2.2.1. Tính hướng mô**

Có một số virus có thể nhân lên trong một số loại tế bào khác nhau, trong khi cũng có virus chỉ có thể nhân lên trong một loại tế bào nhất định. Sở dĩ có tính đặc hiệu là do :

– Receptor đặc hiệu giúp cho virus xâm nhập vào tế bào.

– Tế bào chứa promoter bảo đảm cho sự nhân lên của virus (không phải tất cả các tế bào đều có promoter loại này).

– Trong một số trường hợp, chính bản chất của tế bào tạo ra tính độc của virus. Ví dụ protein G (protein cơ bản của vỏ) của virus đại có ái lực với receptor dành cho acetylcholin của neuron thần kinh, giúp virus xâm nhập vào tế bào thần kinh. Virus hướng thần kinh thường gây bệnh rất nặng vì tế bào thần kinh không được tái sinh, hơn nữa virus nhân lên sẽ làm mất miễn dịch gây độc tế bào.

### **5.2.2.2. Đột biến làm tăng tính độc của virus**

Ví dụ, tính độc của virus cúm chủ yếu là do hoạt tính của hemagglutinin. Khi cấu trúc của hemagglutinin thay đổi thì virus cúm có thể mất hoạt tính độc. Các đột biến điểm của các gen mã cho hemagglutinin có thể khôi phục cấu trúc làm cho chúng không độc trở thành chủng độc. Người ta cho rằng các đột biến này làm tăng tính miễn dịch của hemagglutinin đối với tác động của proteaza, rồi về phần mình phản ứng phân giải protein lại hoạt động đầu N kỵ nước giúp cho sự dung hợp giữa màng virus với màng tế bào để giải phóng nucleocapsid vào tế bào chất.

### **5.2.2.3. Đặc điểm của cơ thể**

a) *Lứa tuổi* : Là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến sự biểu hiện lâm sàng. Ví dụ đối với các trường hợp virus cúm, sởi, viêm gan B, hợp bào hô hấp RSV, coxsackie B ở trẻ nhỏ sự biểu hiện lâm sàng thường trầm trọng hơn ở người lớn.

b) *Tình trạng dinh dưỡng* : Khi cơ thể thiếu chất dinh dưỡng, phản ứng miễn dịch của tế bào sẽ bị phá hủy do vậy việc nhiễm virus sẽ trầm trọng hơn.

c) *Yếu tố di truyền* : Điều đáng chú ý là một số người có khả năng đề kháng không bị nhiễm một số virus nhất định. Ví dụ một số người ở một bộ lạc châu Phi không bị nhiễm HIV. Hiện nay, người ta đang quan tâm tới một số yếu tố di truyền ở người nhiễm HIV và nhận thấy :

– Bệnh nhân có tế bào mang HLA – B35 thuộc nhóm có nguy cơ chuyển thành AIDS cao hơn so với người có HLA – B8 và HLA – DR3.

– Bệnh nhân có tế bào mang HLA – DR2 thuộc nhóm có nguy cơ bị nhiễm vi sinh vật cơ hội nhanh hơn.

– Bệnh nhân có tế bào mang HLA – DR5 có xác suất phát triển ung thư kaposi cao hơn.

### **5.2.3. Các giai đoạn phát sinh bệnh do nhiễm virus**

Virus xâm nhập vào cơ thể chủ yếu qua đường hô hấp và tiêu hoá, ít khi qua da, sau đó có thể khu trú hoặc lan rộng khắp cơ thể.

– Nhiễm cục bộ : Nếu virus khu trú thì được gọi là gây bệnh cục bộ, điển hình là bệnh đường ruột, đường hô hấp và một số bệnh về da. Thời gian ủ bệnh của loại nhiễm này thường chỉ 2 – 3 ngày. Khi virus nhân lên thường kèm theo hiện tượng nhiễm vào máu (viremia) và không biểu hiện triệu chứng hoặc nếu có biểu hiện thì cũng rất ít. Các bệnh này thường rất dễ bị tái nhiễm do hiệu quả bảo vệ của KT thấp. IgA tiết ở niêm mạc chỉ có tác dụng trung hoà virus trong một thời gian ngắn.

– Nhiễm hệ thống : Từ vị trí nhiễm ban đầu, virus đi vào máu rồi đến các mô mẫn cảm, thường biểu hiện triệu chứng lâm sàng. Thời gian ủ bệnh thường kéo dài 2 – 3 tuần. Gây bệnh hệ thống thường có đặc điểm hai giai đoạn :

+ Giai đoạn đầu : Virus bị các tế bào của hệ thống lưới nội mô bắt giữ.

+ Giai đoạn hai : Virus nhân lên trong các tế bào thực bào, sau đó nhiễm vào máu và biểu hiện triệu chứng lâm sàng. Đồng thời virus cũng có thể nhiễm thai chột (abortive), tức là bị ngăn chặn không phát triển được. Tái nhiễm ít xảy ra vì cơ thể đã tích lũy đủ KT để thực hiện phản ứng trung hoà virus.

## **5.3. CÁC CƠ QUAN ĐÍCH CHỦ YẾU CỦA VIRUS**

Các cơ quan khác nhau là mục tiêu xâm nhiễm của các virus khác nhau.

### **5.3.1. Hệ thần kinh trung ương**

+ Viêm não do các virus *arbo*, *herpes simplex – 1*, *herpes simplex – 2*, virus dại.

+ Viêm màng não do các virus *entero*, *coxsackie A* và *B*.

+ Viêm tuỷ xám do virus *polio*.

+ Viêm não bạch cầu cấp tác nhân là JCV, viêm chất trắng (leukoencephalitis).

+ Viêm toàn não xơ cứng – panencephalitis do virus sởi.

+ Viêm não phổi hợp (HIV).

+ Bệnh não dạng xốp tác nhân gây bệnh là prion.

### **5.3.2. Đường hô hấp**

– Nhiễm virus đường hô hấp cấp tính : virus *rhino*, *corona*.

– Ung thư mũi hầu : virus *Epstein – Barr*.

– Viêm tuyến mang tai : virus gây nhiễm tuyến mang tai (quai bị).

- Viêm họng : các virus *adeno*.
- Viêm tiết xơ huyết : virus *paramyxo*.
- Cúm : virus cúm.
- Viêm phế quản : virus hợp bào hô hấp (RSV).
- Viêm phổi : RSV.
- Viêm màng phổi : virus *coxsackie B*.

### **5.3.3. Tim**

- Viêm cơ tim : virus *coxsackie B*.
- Viêm màng ngoài tim : virus *coxsackie B*.

### **5.3.4. Gan**

- Viêm gan : virus viêm gan A, B, C, D, E.
- Ung thư gan : virus viêm gan B.

### **5.3.5. Đường tiêu hoá**

- Tiêu chảy : virus *rota, norwalk*.

### **5.3.6. Mô lympho**

- Hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải : HIV.
- Ung thư bạch cầu và u lympho : virus hướng lympho – T ở người (HTLV – 1, HTLV – 2).
- U burkitt : EBV
- Sởi : virus sởi.

### **5.3.7. Hệ sinh dục**

- *Herpes* sinh dục : virus *herpes simplex – 2*.
- Ung thư cổ tử cung, u lồi nhọn (condyloma) : virus *papilloma*.

Ngoài ra, nhiều loại virus có thể nhiễm vào các mô khác nhau. Ví dụ, virus *polio* còn có khả năng nhiễm vào đường tiêu hoá. Virus quai bị (viêm tuyến mang tai) còn có thể nhiễm vào biểu mô ống dẫn trứng.

## **5.4. CÁC LOẠI NHIỄM VIRUT CHÍNH**

### **5.4.1. Nhiễm sinh sản (productive infection)**

Chỉ xảy ra ở cơ thể có các tế bào "cho phép" tức là các tế bào miễn cảm có đủ điều kiện cho phép virus nhân lên bình thường.

### **5.4.2. Nhiễm thui chột (abortive infection)**

Nhiễm vào cơ thể chứa các tế bào "không cho phép" tức là các tế bào không miễn cảm hoặc không đủ điều kiện cho phép virus nhân lên bình thường. Ví dụ tế bào "cho phép" dưới tác động của IFN sẽ trở thành tế bào "không cho phép" virus nhân lên.

### 5.4.3. Nhiễm đề kháng

Trong tế bào nhiễm, virus vẫn nhân lên và các quá trình trao đổi chất, tổng hợp ADN, ARN và protein của tế bào vẫn diễn ra bình thường. Tế bào nhiễm vẫn được phân chia và tạo dòng tế bào nhiễm. Tuy nhiên chức năng của tế bào bị phá hủy và cuối cùng dẫn đến biểu hiện triệu chứng.

Các virus nhiễm vào tế bào không có khả năng biểu hiện phân tử MHC – I. Các phân tử này khi gắn với protein bề mặt do virus cảm ứng sẽ được các tế bào có chức năng MD nhận mặt. Rõ ràng là nếu tế bào không có các phân tử này trên bề mặt (ví dụ tế bào neuron) thì sẽ làm giảm khả năng bảo vệ của hệ MD. Các virus gây tan bào khi chui ra ngoài gặp KT và IFN sẽ bị hạn chế lan rộng.

Các virus chính gây nhiễm đề kháng ở người bao gồm :

- Virus ADN. Ví dụ, virus *Herpes* (CMV, *Epstein – Barr*, *herpes simplex* – typ 1 và 2, zona) ; *Papova* (*papilloma*, *polyoma*), *Adeno*, viêm gan B
- Virus ARN. Ví dụ, virus sởi, *rubeon*, *retro* (HIV, HLTV – 1, HLTV – 2).
- Virus giảm tính độc là các virus được phân lập trong điều kiện phòng thí nghiệm hoặc từ các động vật hoang dã, có khả năng nhân lên tối ưu ở 31 – 33° C.
- Virus khuyết tật là các virus bị mất một phần genom nên không có khả năng tự nhân lên. Các virus này chỉ có thể nhân lên khi có sự hỗ trợ của các virus khác.

### 5.4.4. Nhiễm tiềm ẩn

Nếu trong nhiễm đề kháng, quần thể virus mới được giải phóng ra thường xuyên (tuy ở mức độ thấp) không thấy được dưới kính hiển vi điện tử nhưng có thể gây đáp ứng miễn dịch tạo KT thì trong nhiễm tiềm ẩn chúng không được tạo thành hoặc chỉ được tạo thành một cách thất thường. Do vậy, ở nhiễm đề kháng có chứa KN virus và có thể xác định được nhờ KT, còn ở nhiễm tiềm ẩn không chứa KN nên không xác định được nhờ KT. Nhiễm tiềm ẩn thấy ở đa số virus *herpes* gây bệnh không tiến triển và tái phát.

### 5.4.5. Nhiễm không biểu hiện

Là loại nhiễm do một lượng nhỏ virus nhân lên trong các cơ quan nhất định nhưng không biểu hiện triệu chứng. Ví dụ, phần lớn dân số trên trái đất bị nhiễm virus *papova* (một loại *polyoma*) ngay từ khi còn nhỏ. Virus có mặt trong thận, tạo ổ nhiễm không triệu chứng. Tuy nhiên, chúng có thể trở nên nguy hiểm khi cơ thể rơi vào trạng thái suy giảm MD. Virus *papova* JC gây nhiễm không biểu hiện triệu chứng, nhưng nếu nhiễm đề kháng vào hệ thống thần kinh trung ương thì sẽ liên quan đến bệnh viêm chất trắng não tiến triển (progressive leucoencephalitis).

## 5.5. CÁC DẠNG BỆNH LÝ CHÍNH TRONG NHIỄM VIRUS

### 5.5.1. Mức độ tế bào

Virus gây bệnh thể hiện trên nhiều phương diện.

**5.5.1.1. Tác dụng gây bệnh tế bào** hay hiệu ứng huỷ hoại tế bào – gọi tắt là CPE (cytopathic effect), bao gồm :

- Phá huỷ hình thái tức là phá huỷ khung tế bào, làm cho chúng có dạng hình tròn.
- Thay đổi cấu trúc nhân, có thể làm cho nhân bị kết vón hoặc phá huỷ cấu trúc các hạt cơ quan (cơ quan tử) của nhân và sắp xếp khối chromatin ra bên mép. Tác dụng gây bệnh tế bào của virus được trình bày ở bảng 5.1.

- Thay đổi cấu trúc màng tế bào là do tích lũy glycoprotein do virus cảm ứng tạo thành. Đa số trường hợp virus có vỏ ngoài làm thay đổi cấu trúc màng tế bào, tuy nhiên cũng có trường hợp do virus trần.

Việc thay đổi cấu trúc màng có thể dẫn đến :

- + Làm tăng tính thấm.
- + Dễ bị phá huỷ dưới tác dụng ngưng kết của lectin liên kết glycoprotein, ví dụ, concanavalin A (lectin đậu rựa).
- + Biểu hiện KN bề mặt bất thường, ví dụ, KN u.
- + Có khả năng dung hợp với các tế bào không nhiễm nhờ tương tác giữa màng tế bào không nhiễm với các glycoprotein của các virus khác nhau biểu hiện trên màng tế bào nhiễm.
- Thể vùi. Khi soi dưới kính hiển vi điện tử có thể thấy các hạt vùi (inclusion bodies) đặc trưng, tuy nhiên không phải tất cả các loại nhiễm virus đều có thể vùi.
- + Đối với virus ADN, thể vùi phân bố trong nhân, trừ thể vùi guarnieri của virus pox là ở trong sinh chất.
- + Đối với virus ARN, thể vùi nằm trong sinh chất. Ví dụ, như thể vùi negri của virus bệnh dại có trong sinh chất của tế bào não.

**Bảng 5.1. HIỆU ỨNG HUỖ HOẠI TẾ BÀO CỦA CÁC VIRUS KHÁC NHAU**

| Tên virus        | Vỏ ngoài | Vị trí sao chép genom | Vị trí lắp ráp virion | Vị trí thể vùi | Tác dụng gây bệnh |
|------------------|----------|-----------------------|-----------------------|----------------|-------------------|
| <i>Virus ADN</i> |          |                       |                       |                |                   |
| Pox              | –        | TBC                   | TBC                   | TBC            | Nhiễm ố*          |
| Herpes           | +        | Nhân                  | Màng nhân             | Nhân           | TB khổng lồ**     |
| Adeno            | –        | Nhân                  | Nhân                  | Nhân           | Chuyển dạng       |
| Papova           | –        | Nhân                  | Nhân                  | Nhân           | Chuyển dạng       |
| Hepadna          | +        | Nhân                  | TBC                   | Nhân           | –                 |
| <i>Virus ARN</i> |          |                       |                       |                |                   |
| Picornia         | –        | TBC                   | TBC                   | Nhân           | Tan bào           |
| Toga             | +        | TBC                   | Màng tế bào           | Nhân           | Tan bào ***       |
| Retro            | +        | Nhân                  | Màng tế bào           | Nhân           | Tan bào, hợp bào  |
| Rhabdo           | +        | TBC                   | Màng tế bào           | TBC            | –                 |
| Paramyxo         | +        | TBC                   | Màng tế bào           | TBC, nhân      | Hủy hoại khung    |
| Orthomyxo        | +        | Nhân                  | Màng tế bào           | Nhân           | TB                |

TBC : Tế bào chất ; TB : Tế bào

\* Trong phôi gà

\*\* Một số đại diện của họ

\*\*\* Virus viêm não ngựa miền đông

### 5.5.1.2. Các yếu tố gây chết tế bào

Có thể chia ra các nhóm sau :

- Vi phạm đến sinh tổng hợp đại phân tử do làm sai hỏng quá trình dịch mã của mARN.

- + Phá huỷ cân bằng điện phân trong tế bào chất, ức chế chọn lọc sự dịch mã trong tế bào.

- + Tạo thành quá nhiều mARN của virus, phá huỷ mARN của tế bào.

- Phá huỷ tính thấm của màng tế bào chất.

- + Tăng tính thấm dẫn đến phá huỷ trao đổi chất của tế bào.

- + Tính thấm cao của màng lysosom làm thoát enzym từ lysosom vào tế bào chất.

- Nhóm ức chế sinh tổng hợp ARN và ADN của tế bào. Thường tác động lên protein kiểm soát sự biểu hiện của các gen và sự tăng sinh của tế bào.

- Phá huỷ tế bào và thay đổi kiểu phản ứng viêm là hậu quả của tác dụng gây bệnh tế bào (CPE) trong nhiễm virus. Nếu trong nhiễm vi khuẩn vai trò chủ chốt thuộc về bạch cầu trung tính đa nhân thì trong nhiễm virus lại chủ yếu là các tế bào đơn nhân (tế bào mono và lympho).

### 5.5.2. Các virus gây bệnh đường hô hấp

Khoảng 90% các trường hợp nhiễm trùng đường hô hấp là do virus. Sự truyền virus từ người này sang người khác qua sol khí là con đường lan truyền quan trọng nhất trong nhiễm bệnh đường hô hấp. Mặc dù đã có đại thực bào và hệ thống niêm mạc bảo vệ nhưng một số virus vẫn xâm nhập được qua niêm mạc để nhiễm vào máu rồi từ đó lan sang các vị trí khác trong đường hô hấp. Một số virus có khả năng gắn đặc biệt vào tế bào đường hô hấp, đó là bước khởi đầu giúp chúng xâm nhập vào tế bào. Typ miễn dịch của tế bào là do chúng có thụ thể đặc hiệu với thụ thể của virus. Biểu hiện triệu chứng là do virus phá vỡ cấu trúc của tế bào chủ làm thoát các chất vào máu, kích thích vùng dưới đồi (hypothalamus) làm tăng nhiệt độ cơ thể. Sự nhân lên cục bộ của virus làm tan tế bào gây phá huỷ và hoại tử mô làm bong lớp bề mặt của mô màng mũi, họng, cuống phổi (bảng 5.2).

**Bảng 5.2. MỘT SỐ VIRUS GÂY BỆNH ĐƯỜNG HÔ HẤP**

| Nhóm virus    | Virus                     | Bệnh                                          |
|---------------|---------------------------|-----------------------------------------------|
| <i>Adeno</i>  | <i>Adeno</i>              | Cảm lạnh, viêm họng, viêm phế quản, viêm phổi |
| <i>Bunya</i>  | <i>Hanta</i>              | Hội chứng viêm phổi do virus Hanta            |
| <i>Corona</i> | <i>Corona</i>             | Cảm lạnh                                      |
| <i>Herpes</i> | <i>Herpes simplex</i>     | Viêm họng                                     |
|               | <i>Epstein – Barr</i>     | Viêm họng                                     |
|               | <i>Cytomegalo</i>         | Viêm phổi                                     |
|               | <i>Varicella – zoster</i> | Viêm phổi                                     |



| Nhóm virus       | Virus                        | Bệnh                           |
|------------------|------------------------------|--------------------------------|
| <i>Orthomyxo</i> | Virus cúm                    | Cúm và viêm phổi               |
| <i>Paramyxo</i>  | Virus cận cúm                | Cảm lạnh, viêm họng, viêm phổi |
|                  | Virus sởi                    | Viêm phổi                      |
|                  | Virus hợp bào hô hấp         | Viêm phổi                      |
| <i>Parvo</i>     | Virus đi kèm liên quan adeno | Cảm lạnh                       |
| <i>Pircona</i>   | <i>Rhino</i>                 | Cảm lạnh                       |
|                  | <i>Echo</i>                  | Cảm lạnh                       |
|                  | <i>Coxsackie</i>             | Cảm lạnh                       |
|                  | <i>Entero</i>                | Viêm phổi                      |
|                  | Cúm gà                       | Viêm phổi                      |

### 5.5.3. Các virus gây bệnh hệ thần kinh

Virus gây bệnh cho hệ thần kinh có thể xâm nhập vào cơ thể theo nhiều con đường khác nhau thông qua hệ hô hấp, hệ tiêu hoá, niệu và đặc biệt là qua vết cắn của động vật bị bệnh sau đó vào hệ tuần hoàn và nhờ máu đưa đến hệ thần kinh. Muỗi, ve bét và các côn trùng chân khớp khác có thể là vectơ truyền virus vào hệ thần kinh khi vượt qua hàng rào máu não (blood brain barrier) hoặc dịch não tủy máu (blood cerebrospinal fluid). Hàng rào máu não là các tế bào nội mô được các tế bào thần kinh đệm (astrocyte) bám chặt xung quanh. Vách ngăn dịch não tủy bao gồm các tế bào biểu mô mạng mạch (choroid plexus epithelium). Các vách ngăn này cản trở sự xâm nhập của đa số vi sinh vật vào hệ thần kinh trung ương. Tuy nhiên, nếu vi sinh vật nhiễm được vào chính các tế bào vách ngăn thì chúng có thể lọt lưới để xâm nhập vào hệ thần kinh trung ương. Sự nhân lên của virus trong não sẽ gây viêm não. Từ dịch não tủy, virus xâm nhập vào màng não gây viêm màng não. Nếu xâm nhập vào hệ thần kinh trung ương sẽ gây viêm não (bảng 5.3).

**Bảng 5.3. MỘT SỐ VIRUS GÂY BỆNH CHO HỆ THẦN KINH**

| Nhóm virus      | Virus                            | Bệnh                              |
|-----------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Arena</i>    | Viêm màng não – màng mạch lympho | Viêm màng não vô trùng            |
| <i>Bunya</i>    | Virus viêm não California        | Viêm não                          |
| <i>Herpes</i>   | <i>Herpes simplex</i>            | Viêm não                          |
|                 | <i>Cytomegalo</i>                | Viêm màng não vô trùng – viêm não |
|                 | <i>Varicella – zoster</i>        | Viêm màng não vô trùng            |
| <i>Paramyxo</i> | Quai bị                          | Viêm màng não vô trùng            |
|                 | Sởi                              | Viêm toàn não xơ cứng bán cấp     |
| <i>Picornia</i> | <i>Polio</i>                     | Bại liệt                          |
|                 | <i>Coxsackie</i>                 | Viêm màng não vô trùng            |
|                 | <i>Echo</i>                      | Viêm màng não vô trùng            |

| Nhóm virus    | Virus                                                                                                                                                                                                                                     | Bệnh                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Retro</i>  | HIV                                                                                                                                                                                                                                       | Viêm màng não bán cấp, sa sút trí nhớ                                                                                                                                                                                            |
| <i>Rhabdo</i> | Dại                                                                                                                                                                                                                                       | Bệnh dại                                                                                                                                                                                                                         |
| <i>Toga</i>   | Virus viêm não Nhật Bản<br>Virus viêm não ngựa miền Đông<br>Virus viêm não ngựa miền Tây<br>Virus ốm Louping<br>Virus Rubella<br>Virus Ilheus<br>Virus viêm não St. Louis<br>Virus viêm não Venezuela<br>Virus viêm não thung lũng Murray | Viêm màng não vô trùng, viêm não<br>Viêm màng não vô trùng, viêm não<br>Viêm màng não vô trùng, viêm não<br>Viêm màng não vô trùng, viêm não<br>Viêm màng não vô trùng, viêm não<br>Viêm não<br>Viêm não<br>Viêm não<br>Viêm não |

#### 5.5.4. Các virus gây bệnh đường tiêu hoá

Đường tiêu hoá là cửa ngõ quan trọng để virus xâm nhập vào cơ thể. Virus từ người bệnh theo phân nhiễm vào thức ăn, nước uống, tay và đồ dùng rồi nhiễm vào cơ thể người lành. Một số virus bền với axit dịch dạ dày và axit mật trong ruột sẽ xâm nhập được vào các tế bào miễn dịch, nhân lên rồi tràn vào hệ tuần hoàn đi tới các phần của cơ thể trong đó có các cơ quan của hệ tiêu hoá như gan. Sự nhân lên của virus trong đường tiêu hoá có thể làm dừng các chức năng thiết yếu, đồng thời có thể dẫn đến mất nước, gây mất cân bằng điện giải và sốc. Bảng 5.4 là một số virus gây bệnh đường tiêu hoá.

**Bảng 5.4. MỘT SỐ VIRUS GÂY BỆNH ĐƯỜNG DẠ DÀY – RUỘT**

| Nhóm virus      | Virus                                                                 | Bệnh                                                                       |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| <i>Calci</i>    | Virus Norwalk                                                         | Bệnh nôn mùa đông                                                          |
| <i>Hepe</i>     | Virus viêm gan E                                                      | Viêm gan                                                                   |
| <i>Hepadna</i>  | Virus viêm gan B                                                      | Viêm gan                                                                   |
| <i>Herpes</i>   | <i>Cytomegalo</i>                                                     | Bệnh thể vùi CMV                                                           |
| <i>Paramyxo</i> | Virus quai bị                                                         | Quai bị                                                                    |
| <i>Picornia</i> | <i>Coxsackie</i><br><i>Entero</i><br><i>Polio</i><br>Virus viêm gan A | Bệnh dạ dày – ruột<br>Bệnh dạ dày – ruột<br>Bệnh dạ dày – ruột<br>Viêm gan |
| <i>Reo</i>      | <i>Reo</i><br><i>Rota</i>                                             | Tiêu chảy ở trẻ nhỏ<br>Tiêu chảy ở trẻ nhỏ                                 |
| <i>Flavi</i>    | Virus viêm gan C                                                      | Viêm gan                                                                   |
| <i>Toga</i>     | Virus sốt vàng                                                        | Bệnh sốt vàng                                                              |

### 5.5.5. Các virus gây bệnh đường sinh dục

Một số virus nhiễm qua đường sinh dục như *herpes* sinh dục (bóng nước), mụn cơm sinh dục (bảng 5.5). Các virus này không sống được lâu ngoài tế bào nhiễm, do đó con đường lây lan chủ yếu là qua tiếp xúc tình dục trực tiếp. Khi virus nhân lên trong tế bào đường sinh dục sẽ gây tổn thương cơ quan sinh dục. Từ đó, virus lại được lan truyền sang người khác qua tiếp xúc tình dục trực tiếp.

**Bảng 5.5. MỘT VÀI VIRUS GÂY BỆNH ĐƯỜNG SINH DỤC**

| Nhóm virus    | Virus                        | Bệnh                                 |
|---------------|------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Herpes</i> | <i>Herpes simplex typ II</i> | <i>Herpes</i> sinh dục               |
| <i>Papova</i> | <i>Papilloma</i>             | Mụn cơm sinh dục, ung thư cổ tử cung |

### 5.5.6. Các virus gây bệnh hệ tim mạch và hệ bạch huyết

Virus xâm nhập vào hệ tuần hoàn thường bị loại trừ nhờ hệ thống miễn dịch bảo vệ ở trong máu. Virus từ đó cũng được đưa tới các cơ quan khác nhau của cơ thể. Tuy nhiên, một số virus cũng có thể nhân lên trong các tế bào của hệ tim mạch để gây bệnh (bảng 5.6).

**Bảng 5.6. MỘT SỐ VIRUS GÂY BỆNH HỆ TIM MẠCH VÀ HỆ BẠCH HUYẾT**

| Nhóm virus    | Virus                                                 | Bệnh                                                                             |
|---------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Arena</i>  | Virus sốt Lassa<br>Virus sốt xuất huyết Bolivi        | Sốt Lassa<br>Sốt xuất huyết Bolivi                                               |
| <i>Bunya</i>  | Virus thung lũng Rift<br>Virus Congo – Crime<br>Hanta | Sốt thung lũng Rift<br>Sốt xuất huyết Congo – Crime<br>Sốt xuất huyết Triều Tiên |
| <i>Flavi</i>  | Virus rừng Kyasanur                                   | Sốt xuất huyết rừng Kyasanur                                                     |
| <i>Herpes</i> | Virus Epstein – Barr<br><i>Cytomegalo</i>             | Bệnh tăng bạch cầu đơn nhân nhiễm trùng<br>Hội chứng kiểu tăng bạch cầu đơn nhân |
| <i>Parvo</i>  | Parvo ở người                                         | Ban đỏ nhiễm trùng                                                               |
| <i>Reo</i>    | Virus sốt Colorado do ve truyền                       | Sốt Colorado do ve, sốt xuất huyết                                               |
| <i>Retro</i>  | HTLV – I<br>HTLV – II<br>HIV                          | Ung thư tế bào T, u lympho<br>Ung thư bạch cầu<br>AIDS                           |

Các bệnh thuộc hệ thống tim mạch và bạch huyết bao gồm nhiều loại trong đó có bệnh AIDS gây suy giảm miễn dịch, do đó đe dọa nghiêm trọng sự sống. Cũng như vậy, nhiễm virus có thể dẫn tới suy tim. Ví dụ, gây viêm cơ tim có thể dẫn đến tử vong. Do vậy, các bệnh này cần được điều trị kịp thời.

#### 5.5.7. Virus gây bệnh da

Một số virus có thể lan khắp cơ thể gây thương tổn nhiều nơi khác nhau trong đó có các mao mạch và da. Sự nhân lên của virus có thể gây phát ban điển hình như ban đỏ ở bệnh sởi. Virus gây bệnh cho da có thể lây lan do tiếp xúc trực tiếp như ở bệnh đậu mùa nhưng nhiều virus gây bệnh cho da lại xâm nhập vào cơ thể qua các con đường khác. Ví dụ, virus sởi và virus sởi Đức xâm nhập vào cơ thể qua đường hô hấp, sau đó vào hệ tuần hoàn rồi mới đi tới da (bảng 5.7).

**Bảng 5.7. MỘT SỐ VIRUS GÂY BỆNH CHO DA**

| Nhóm virus    | Virus                     | Bệnh                                                      |
|---------------|---------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <i>Herpes</i> | <i>Herpes simplex</i>     | Bệnh <i>herpes</i> môi, bóng nước, <i>herpes</i> sinh dục |
|               | <i>Varicella – zoster</i> | Bệnh thủy đậu, zona                                       |

## *Chương 6*

# **CHẨN ĐOÁN NHIỄM VIRUT**

Chẩn đoán nhiễm virut chủ yếu dựa trên các kỹ thuật miễn dịch. Nhờ phản ứng KN – KT mà kết luận sự tồn tại của virut qua các biểu hiện :

- Tăng lượng KT để đáp ứng lại KN virut khi xuất hiện triệu chứng.
- Sự có mặt của virut hoặc sản phẩm của chúng trong máu hoặc trong mô.

### **6.1. CÁC KỸ THUẬT TỰ ĐỘNG**

Các kỹ thuật tự động ngày càng được sử dụng rộng rãi thay cho các kỹ thuật cũ. Đặc điểm của các kỹ thuật này là :

- Nhanh, nhạy và kinh tế.
- Có khả năng chẩn đoán nhanh, chính xác với lượng bệnh nhân lớn.
- Chủ yếu dùng các bộ kit thương mại. Nhìn chung các bộ kit hiện nay đều có chất lượng tốt.
- Xác định kháng thể IgM, do vậy có thể chẩn đoán được bệnh ở pha cấp.

### **6.2. HUYẾT THANH HỌC**

#### **6.2.1. ELISA**

Là kỹ thuật được sử dụng phổ biến nhất để xác định KT đặc hiệu chống virut ở thời điểm xuất hiện triệu chứng hoặc ngay sau khi xuất hiện triệu chứng. Kỹ thuật cho phép xác định KT ở nồng độ rất thấp (khoảng 0,1ng/ml). Nguyên lý của phương pháp này là KT được đánh dấu bằng cách gắn với enzym. Khi thêm cơ chất thích hợp enzym sẽ phân giải cơ chất cho sản phẩm có màu. Đo cường độ màu để biết mức độ phản ứng xảy ra.

Kỹ thuật ELISA được dùng nhiều là kỹ thuật "bánh kẹp" (sandwich), theo đó KT của bệnh nhân phản ứng với KN đã biết, được xác định khi cho thêm KT thứ hai (thu được từ huyết thanh động vật kháng lại KT người) có gắn enzym. Ví dụ, xác định kháng thể HIV gồm các bước như sau :

1. Nhỏ KN (glycoprotein HIV) cho hấp thụ lên thành giếng, rửa nhẹ để loại bỏ KN không bám.

2. Nhỏ tiếp huyết thanh bệnh nhân chứa KT cần xét nghiệm rồi ủ. Nếu huyết thanh chứa KT phù hợp sẽ tạo phản ứng với KN. Rửa nhẹ để loại bỏ KT thừa.

3. Thêm cộng hợp kháng – KT gắn enzym (KT động vật chống KT người). Rửa nhẹ để loại bỏ KT thừa.

4. Thêm cơ chất thích hợp với enzym. Cường độ màu tỷ lệ thuận với lượng KT trong huyết thanh.

### **6.2.2. Kỹ thuật Western Blot**

Kỹ thuật này dựa trên nguyên lý của ELISA nhưng gián tiếp, trên màng nitrocellulose để gắn KN. Thường áp dụng kỹ thuật này để xác định KT kháng virus. Các bước tiến hành như sau :

1. Tiến hành điện di protein (KN bất hoạt, glycoprotein của HIV) trên gel polyacrylamide. Các protein hoặc peptit có khối lượng phân tử khác nhau được phân ly trong điện trường, chạy từ cực (-) sang cực (+).

2. Dùng màng nitrocellulose thấm lên bản gel để tách các polypeptit ra khỏi gel, di vào màng nitrocellulose, ủ rồi rửa nhẹ để loại phần không cố định trên nitrocellulose.

3. Nhỏ huyết thanh bệnh nhân (ví dụ chứa KT kháng HIV) vào bản nitrocellulose rồi ủ cho KT kết hợp với KN đã cố định trên nitrocellulose. Rửa KT thừa không tham gia phản ứng.

4. Thêm kháng thể IgM của người đã gắn enzym (ví dụ peroxidaza). Rửa lại một lần nữa.

5. Thêm cơ chất ( $H_2O_2$ ). Phản ứng enzym phân giải cơ chất tạo ra sản phẩm màu nâu. Có thể nhìn thấy trên màng. Chỉ protein phản ứng với KT mới được hiển thị trên màng.

### **6.2.3. Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang**

KN hoặc KT được đánh dấu bằng thuốc nhuộm huỳnh quang (ví dụ fluorescent). Kỹ thuật này dựa trên tính chất của thuốc nhuộm khi được kích thích bởi bức xạ có bước sóng tử ngoại sẽ phát sáng. Phản ứng được xác định nhờ kính hiển vi huỳnh quang. Đây là kỹ thuật nhạy, đáng tin cậy và được dùng nhiều trong chẩn đoán nhanh các virus gây bệnh đường hô hấp và các virus khác. Ví dụ, để xác định tế bào lympho nhiễm virus hướng lympho B ở người (HBLV – Human lymphotropic virus) ta tiến hành ủ tế bào lympho với huyết thanh kháng HBLV của bệnh nhân tăng sinh mô bạch huyết. Thêm KT kháng IgG của người đánh dấu bằng fluorescein isotiocyanat. Tế bào nhiễm HBLV sẽ phát màu vàng tươi dưới kính hiển vi huỳnh quang. Tế bào lành không phản ứng với KT nên không bắt màu.

### **6.2.4. Kỹ thuật miễn dịch phóng xạ**

Kỹ thuật miễn dịch phóng xạ dựa trên nguyên tắc cạnh tranh giữa KN đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ ( $I^{125}$ ) với KN tự do cùng loại, không đánh dấu, cùng gắn vào KT đặc hiệu.

Để định lượng một KN, trước hết người ta nhỏ KT tương ứng vào lỗ của tấm thử (làm bằng chất dẻo cellulose hay hạt latex) để làm giá đỡ. KT sẽ hấp phụ lên đáy lỗ.

Rửa loại bỏ KT không hấp phụ. Nhỏ dung dịch albumin để lấp những chỗ trống không có KT. Rửa lần nữa sau đó nhỏ hỗn dịch gồm KN cân định lượng với một lượng đã biết KN cùng loại nhưng đánh dấu bằng  $I^{125}$ . Hai loại KN cạnh tranh nhau để gắn vào KT. Rửa tiếp, sau đó đo độ phóng xạ trên máy đếm gamma. Độ phóng xạ càng thấp thì lượng KN không đánh dấu (KN cân định lượng) càng nhiều.

Đối chứng là lô chỉ có KT và KN đánh dấu. Độ phóng xạ là tối đa. Nồng độ KT được xác định nhờ đường cong chuẩn với dung dịch KN chuẩn đánh dấu phóng xạ đã biết nồng độ.

Kỹ thuật này rất nhạy, nhưng với các máy đời cũ thì phải trang bị thêm thiết bị an toàn phóng xạ.

### **6.2.5. Phản ứng kết hợp bổ thể**

Nguyên lý của phương pháp là khi KN phản ứng được với KT thì phải kết hợp được với bổ thể. Nếu không phản ứng được với KT thì bổ thể ở dạng tự do. Dù phản ứng KN – KT – Bổ thể xảy ra nhưng không thể nhìn thấy được bằng mắt thường, do vậy cần bổ sung thêm một hệ thống thứ hai để chỉ thị. Hệ thống này bao gồm hồng cầu cừu và KT kháng hồng cầu cừu. Nếu ở hệ thống thứ nhất KN không phản ứng với KT thì bổ thể ở trạng thái tự do sẽ kết hợp với hệ thống thứ hai (hồng cầu cừu + KT kháng hồng cầu cừu + bổ thể). Hồng cầu cừu sẽ bị bổ thể làm tan – *phản ứng âm tính*. Ngược lại, nếu hồng cầu cừu không bị tan – *phản ứng dương tính*.

### **6.2.6. Các kỹ thuật khác**

#### **6.2.6.1. Phản ứng chuỗi polymeraza PCR (Polymerase Chain Reaction)**

Kỹ thuật PCR được sử dụng rất thuận tiện và phổ biến để xác định axit nucleic (ADN và ARN) trong chẩn đoán bệnh và đánh giá hàm lượng virus.

Bất kỳ đoạn ADN mạch đơn nào của virus cũng có thể được nhân lên nhanh chóng hàng triệu lần (tùy thuộc chu kỳ) nếu biết được trình tự ở đoạn đầu. Nếu là ADN mạch kép thì có thể tạo ra ADN mạch đơn bằng cách đun nóng tới gần nhiệt độ sôi. Dựa vào trình tự đoạn đầu để tổng hợp nhân tạo oligonucleotit làm mồi. Mỗi bắt cặp với từng sợi đơn ADN bổ sung nhờ ADN – polymeraza. Các bước của phản ứng bao gồm :

1. ADN chuỗi kép khi xử lý nhiệt ( $94^{\circ}\text{C}$ ) sẽ tách thành hai chuỗi đơn.
2. Hạ nhiệt độ xuống  $30 - 65^{\circ}\text{C}$  để các đoạn mồi bắt cặp với hai chuỗi đơn ADN khuôn tại điểm khởi đầu sao chép.
3. Taq – polymeraza tổng hợp ADN mới tương hợp với sợi khuôn, bắt đầu từ mồi.
4. Chu kỳ mới lại bắt đầu. Hỗn hợp phản ứng lại được xử lý nhiệt để tách ADN mạch kép mới tổng hợp thành ADN mạch đơn. Trên hai sợi mới tổng hợp xuất hiện vị trí để bám mồi. Taq – polymeraza lại tổng hợp sợi ADN tương hợp. Quá trình cứ thế

tiếp tục. Số lượng ADN tạo ra tăng gấp đôi sau mỗi chu kỳ. Chỉ sau vài chu kỳ đầu, các đoạn ADN tạo thành có kích thước đúng bằng khoảng cách giữa hai môi.

Đối với virus ARN thì dùng kỹ thuật phối hợp RT – PCR (enzym phiên mã ngược – PCR) bởi vì Taq – polymeraza không hoạt động trên ARN. Trước hết ARN được chuyển thành cADN nhờ RT sau đó thành dsADN và được khuếch đại nhờ Taq – polymeraza.

#### 6.2.6.2. Xác định liều gây nhiễm 50% tế bào nuôi cấy (TCID<sub>50</sub>)

TCID<sub>50</sub> (Tissue Culture Infective Dose 50) là độ pha loãng virus để có thể nhiễm và làm hủy hoại 50% tế bào của mô nuôi cấy đã cho. Thí nghiệm này dựa trên sự có mặt và xác định được CPE (hiệu ứng hủy hoại tế bào). Tế bào chủ thường được nuôi cấy trong ống nghiệm tạo thành một lớp tế bào. Mỗi độ pha loãng lặp lại 5 lần hoặc 10 ống nghiệm. Trong quá trình nuôi virus nhân lên, giải phóng rồi lại nhiễm vào tế bào khác của lớp tế bào nuôi cấy một lớp. CPE phát triển trong nhiều ngày và có thể quan sát tế bào một lớp dưới kính hiển vi. Các ống nghiệm ("đơn vị thử nghiệm") được đếm có hay không CPE. Tổng số liệu dùng để tính TCID<sub>50</sub>, tức là độ pha loãng virus có thể tạo CPE ở 50% số tế bào đã cấy. Bảng 6 là ví dụ ghi các số liệu điển hình để tính theo công thức :

$$\begin{aligned} \text{TCID}_{50} &= \log_{10} (\text{ĐPL cao nhất đạt } 100\% \text{ CPE}) + 1/2 - \frac{\text{Tổng số thí nghiệm có CPE}}{\text{Số ống nghiệm của mỗi ĐPL}} \\ &= -6 + 1/2 - 9/5 = -7,3 \text{ TCID}_{50} \text{ hay } 10^{-7,3} \text{ trên một đơn vị thể tích}^{-1}. \end{aligned}$$

Do đó, chỉ số sẽ là  $10^{-7,3}$  trên một đơn vị thể tích  $^{-1}$ .

ĐPL : độ pha loãng

**Bảng 6. SỐ LIỆU DÙNG ĐỂ TÍNH TCID<sub>50</sub>**

| Log <sub>10</sub> của độ pha loãng virus | Số ống nghiệm quan sát thấy CPE<br>(các ống bị nhiễm virus) |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| - 6                                      | 5/5                                                         |
| - 7                                      | 3/5                                                         |
| - 8                                      | 1/5                                                         |
| - 9                                      | 0/5                                                         |

#### 6.2.6.3. Đếm hạt virus

Không phải tất cả các hạt virus đều có khả năng gây nhiễm. Trong thực tế mỗi tế bào nhiễm có thể tạo ra 1 – 100 hoặc nhiều hơn nữa các hạt không có khả năng gây nhiễm. Có thể đếm được tổng số hạt dưới kính hiển vi điện tử. Khi đếm người ta sử



dùng các hạt nhựa (latex) có kích thước đồng đều làm chuẩn. Nguyên tắc là trộn virus với hạt nhựa chuẩn đã biết số lượng trong một đơn vị thể tích. Chỉ cần xác định tỷ lệ virus với hạt chuẩn là suy ra số lượng virus. Có thể phân biệt hạt latex chuẩn với hạt virus khi nhuộm bằng dung dịch photphotungstat.

#### ***6.2.6.4. Ngưng kết hồng cầu***

Nhiều virus có khả năng liên kết với hồng cầu để gây ngưng kết. Muốn phản ứng xảy ra cần phải có nồng độ virus thích hợp để tạo nên liên kết chéo giữa các hồng cầu. Các hồng cầu không ngưng kết sẽ tạo thành hạt trong giếng, ngược lại hồng cầu ngưng kết sẽ tạo cấu trúc mạng lưới gắn vào thành giếng. Hiện tượng này là cơ sở để xác định số lượng các hạt gây ngưng kết trong dịch huyền phù virus đã cho. Đây không phải là thước đo mức độ gây nhiễm mà là phương pháp gián tiếp thường dùng để xác định chỉ số virus. Thí nghiệm được hoàn thành ở điểm chuẩn độ cuối. Dịch virus pha loãng bậc 2 (2, 4, 8, 10...) trộn với cùng thể tích rồi quan sát sự ngưng kết trong các giếng. Điểm chuẩn độ cuối là độ pha loãng cuối cùng gây ngưng kết hoàn toàn, tức là chứa một đơn vị ngưng kết hồng cầu (HA unit).

## *Chương 7*

# **MIỄN DỊCH CHỐNG VIRUT**

### **7.1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM CƠ BẢN**

Trước khi tìm hiểu về miễn dịch (MD) chống virut, chúng ta hãy đi qua một số khái niệm cơ bản nhất về MD học.

Khi bị các tác nhân bên ngoài xâm nhập cơ thể sẽ tự bảo vệ mình bằng hàng loạt các cơ chế thích ứng rất phức tạp và khá hoàn hảo để chống trả lại. Tập hợp tất cả các cơ chế bảo vệ ấy được gọi là miễn dịch.

MD lại được chia ra làm MD đặc hiệu và MD không đặc hiệu.

#### **7.1.1. MD không đặc hiệu**

MD không đặc hiệu mang tính bẩm sinh (không cần có sự tiếp xúc trước với KN) bao gồm các tuyến phòng thủ từ ngoài vào trong để ngăn cản sự xâm nhập của vi sinh vật và tiêu diệt chúng. Các hàng rào ấy bao gồm :

- *Hàng rào vật lý* : Da và niêm mạc ngăn cản sự xâm nhập của vi sinh vật.
- *Hàng rào hoá học* : pH thấp trong đường tiêu hoá, sinh dịch... ngăn cản sự sinh trưởng, lysozym ức chế tổng hợp thành tế bào vi khuẩn, interferon cảm ứng tạo protein ức chế quá trình dịch mã của virut...
- *Hàng rào vi sinh vật* : Cơ thể là nơi cư trú một lượng khổng lồ các vi sinh vật trong đường tiêu hoá, trong các xoang và trên bề mặt cơ thể. Các vi sinh vật này chiếm trước các vị trí, cạnh tranh thức ăn và tiết ra các chất tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh đến sau.
- *Bổ thể (complement)* : Nhóm protein trong huyết thanh, khi được hoạt hoá sẽ có khả năng phá huỷ tế bào vi sinh vật và tăng cường hiệu quả của thực bào.
- *Hiện tượng thực bào* : Do có sự tham gia của nhiều loại bạch cầu nhưng trước hết là đại thực bào (ĐTB) và bạch cầu trung tính. Chúng "nuốt" và tiêu hoá vi sinh vật.

#### **7.1.2. MD đặc hiệu**

Là MD do cơ thể phát động một cách đặc hiệu để chống từng KN nhất định, bao gồm sự hình thành KT đặc hiệu, các phản ứng quá mẫn và dung nạp miễn dịch.

##### **7.1.2.1. Kháng nguyên (KN)**

Là những chất khi đưa vào cơ thể có khả năng gây đáp ứng miễn dịch (ĐUMD). Khả năng này phụ thuộc vào 3 điều kiện :

- Tính lạ (non – self).
- Khối lượng phân tử đủ lớn ( > 10000 dalton).
- Cấu trúc đủ phức tạp.

Nếu không đủ 3 điều kiện này thì không có khả năng gây ĐU<sup>MD</sup>. Phần quan trọng nhất của KN chịu trách nhiệm gắn với KT gọi là *quyết định KN* hay *epitop*. Ứng với nó nằm trên KT gọi là vị trí kết hợp KN hay paratop.

#### **7.1.2.2. Kháng thể (KT)**

Là các globulin có trong huyết thanh được tạo thành để chống lại KN kích thích sinh ra nó. KT được ký hiệu là Ig, có cấu tạo gồm 4 chuỗi polypeptit : Hai chuỗi nhẹ (ngắn) ký hiệu là L và hai chuỗi nặng (dài) ký hiệu là H. Trình tự axit amin giống hết nhau theo từng đôi chuỗi nhẹ và đôi chuỗi nặng.

Vùng nằm phía đầu – NH<sub>2</sub> có trật tự axit amin luôn thay đổi ở các KT khác nhau gọi là vùng biến đổi, ký hiệu là V. Vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng kết hợp với nhau tạo thành vị trí kết hợp KN hay paratop.

Vùng nằm phía đầu – COOH có trật tự axit amin không thay đổi gọi là vùng cố định, ký hiệu là C. Chuỗi nhẹ có một vùng cố định còn chuỗi nặng có 3 vùng cố định. Dưới tác dụng của papain, phân tử KT phân giải thành 3 đoạn. Hai đoạn chứa chuỗi nhẹ và một phần chuỗi nặng ký hiệu là Fab. Đoạn còn lại chứa một nửa chuỗi nặng phía đầu – COOH ký hiệu là Fc.

Có 5 loại Ig (gọi là 5 lớp). Đó là IgG, IgM, IgA, IgE và IgD.

– IgG có số lượng lớn nhất đóng vai trò bảo vệ cơ thể chống tác nhân gây bệnh, hoạt hoá bổ thể và là KT duy nhất truyền qua thai nhi.

– IgM xuất hiện sớm nhất trong quá trình nhiễm trùng, tham gia vào hoạt hóa bổ thể và ngưng kết hồng cầu.

– IgA bảo vệ chống vi khuẩn trên bề mặt niêm mạc.

– IgE có vai trò trong việc gây dị ứng.

– IgD có trên bề mặt tế bào B, làm nhiệm vụ thụ thể cho KN.

#### **7.1.2.3. Các cơ quan và tế bào tham gia vào hệ thống miễn dịch**

Các cơ quan tham gia vào hệ thống MD gồm : cơ quan lympho trung tâm và cơ quan lympho ngoại vi.

##### **7.1.2.3.1. Cơ quan lympho trung tâm bao gồm tuyến ức và túi Fabricius**

– Tuyến ức là nơi biệt hoá các tế bào nguồn từ tuỷ xương thành các loại tế bào T4 (do có thụ thể CD4) và T8 (do có thụ thể CD8).

Các tế bào T4 bao gồm :

+ T – hỗ trợ tức T<sub>H2</sub> có nhiệm vụ tiết ra lymphokin (ví dụ interleukin – 4 và 10) để thúc đẩy sự hoạt động của các lympho T khác, kích thích tế bào B biệt hoá, tăng sinh để sản xuất KT.

+ Tế bào T quá mẫn muộn (T<sub>DTH</sub> hay T<sub>HI</sub>) tiết lymphokin 2 hoạt hoá đại thực bào và các bạch cầu khác dẫn đến biểu hiện quá mẫn muộn.

+ Tế bào T điều hoà ngược (T<sub>FR</sub>) có tác dụng hoạt hoá lympho T ức chế.

Các tế bào T8 bao gồm :

+ Lympho T độc (TC) có nhiệm vụ tấn công trực tiếp các tế bào có KN lạ trên bề mặt. Ví dụ tế bào nhiễm virus hoặc tế bào ung thư.

+ Lympho T ức chế (TS) có nhiệm vụ điều hoà ĐỨMD bằng cách ức chế hoạt động của các lympho khác.

– Túi Fabricius và cơ quan lympho trung tâm khác : Túi Fabricius là cơ quan lympho trung tâm ở gia cầm, nằm gần hậu môn, là nơi biệt hoá tế bào nguồn thành tế bào B. Động vật có vú không có túi Fabricius nên sự biệt hoá tế bào B xảy ra ngay trong tuỷ xương.

Các tế bào lympho T và B trưởng thành từ cơ quan lympho trung tâm đi tới các cơ quan lympho ngoại vi (lách, hạch lympho...) để tiến hành ĐỨMD.

#### 7.1.2.3.2. Cơ quan lympho ngoại vi

Các cơ quan lympho ngoại vi bao gồm : lách, hạch lympho, là các cơ quan có vỏ bọc và tập hợp các mô lympho không có vỏ bọc có ở bề mặt niêm mạc đường tiêu hoá, hô hấp, niệu và là nơi cư ngụ của các tế bào lympho. Tại đây, khi gặp KN chúng sẽ được kích thích để biệt hoá tiếp và tiếp tục tham gia vào ĐỨMD. Ở động vật có vú, tuỷ xương vừa là cơ quan lympho trung tâm vừa là cơ quan lympho ngoại vi.

#### 7.1.2.4. Thụ thể tế bào T (TCR)

Tế bào T có khả năng nhận diện KN nhờ thụ thể nằm trên bề mặt, gọi là TCR (T – cell receptor). TCR có ở cả tế bào T<sub>CD4+</sub> và T<sub>CD8+</sub>

Cấu trúc của TCR gồm 2 chuỗi polypeptit giống như KT, nhưng cắm sâu vào màng tế bào chất. TCR cũng có vùng cố định và vùng biến đổi như ở KT. Vùng biến đổi tạo thành vị trí kết hợp KN.

#### 7.1.2.5. KN phù hợp mô

TCR tự nó không có khả năng nhận diện KN lạ. Chúng chỉ nhận diện được khi KN lạ liên kết và tạo phức hợp với KN phù hợp về mô học nằm trên bề mặt tế bào bình thường của nhiều loại mô, ĐTB và lympho B. Các KN này gọi là **phức hợp phù hợp mô chính** viết tắt là MHC (*Major Histocompatibility Complex*). Ở người, KN này được gọi là HLA, còn ở chuột là H2. Khi ghép cơ quan giữa hai cơ thể có MHC không phù hợp thì mảnh ghép sẽ bị bong.

Cấu trúc MHC : Có hai loại protein MHC là MHC – I và MHC – II :

– MHC – I có trên bề mặt tất cả các tế bào có nhân bình thường của cơ thể, có cấu tạo gồm 2 chuỗi polypeptit  $\alpha$  và  $\beta$ . Chỉ có chuỗi  $\alpha$  cắm sâu vào màng sinh chất.

– MHC – II có trên bề mặt của ĐTB, tế bào tua, và tế bào B, có cấu tạo gồm 2 chuỗi polypeptit  $\alpha$  và  $\beta$ . Cả hai chuỗi đều cắm sâu vào màng sinh chất.

Các tế bào T (T<sub>4</sub> và T<sub>8</sub>) chỉ nhận diện được KN lạ khi các KN ấy đã gắn với phân tử MHC của cơ thể. Tế bào T<sub>4</sub> (T<sub>H</sub>, T<sub>DTH</sub>) nhận diện KN khi đã gắn với MHC – II còn tế bào T<sub>8</sub> (T<sub>C</sub>, T<sub>S</sub>) nhận diện KN khi đã gắn với MHC – I.

Chức năng của MHC. Có hai sơ đồ trình diện KN thông qua MHC. Một cho MHC – I và một cho MHC – II.

– Theo sơ đồ 1 thì KN sau khi được tế bào bắt giữ và chế biến nhờ enzym phân giải sẽ gắn với protein MHC – I trong lưới nội chất, tạo phức hợp KN – MHC – I. Phức hợp này được đưa lên bề mặt tế bào. Ở đây, chúng tương tác với TCR của tế bào T độc (TC). Đồng thời thụ thể CD8 của tế bào TC cũng gắn với MHC – I tạo phức hệ mạnh hơn. Được kích thích bởi KN, tế bào T<sub>C</sub> tiết protein độc (perforin) làm tan tế bào nhiễm. Đây là cơ chế của ĐUMD qua trung gian tế bào. Cơ chế này đặc biệt có hiệu quả để chống các tế bào nhiễm virus và các tế bào ung thư.

– Theo sơ đồ 2 thì MHC – II được tổng hợp trong lưới nội chất cùng với protein bao vây (blocking protein), ký hiệu là Ii (Invariant chain). Protein này gắn trước vào phân tử MHC – II để cho các protein khác cũng được hình thành trong lưới nội chất không gắn được vào. Phức hợp này được đi qua thể Golgi sau đó vào endosom. Tại đây KN lạ và protein Ii bị phân giải nhờ enzym. KN sau chế biến gắn với MHC – II tạo phức đưa ra bề mặt tế bào để tương tác với TCR và đồng thụ thể CD4 của tế bào T hỗ trợ (T<sub>H</sub>). Được KN kích thích, tế bào T<sub>H</sub> tiết lymphokin hoạt hoá tế bào B làm cho tế bào B tăng sinh và biệt hoá thành tế bào plasma và tế bào B nhớ. Tế bào plasma là "nhà máy" sản xuất KT còn tế bào B nhớ có đời sống dài, khi gặp lại KN này ở lần sau sẽ biệt hoá thành tế bào plasma để sản xuất KT nhanh chóng và kịp thời hơn. Đây là cơ chế của ĐUMD thể dịch. Sở dĩ gọi như thế vì KT được tạo thành trong dịch cơ thể (huyết thanh, sữa).

Cũng như mọi quá trình sinh học khác, ĐUMD cũng được điều hoà trong giới hạn sinh lý cho phép theo nhiều cơ chế khác nhau để đáp ứng với các KN và tránh sự mất cân bằng cho sự hoạt động luôn nhịp nhàng, hiệu quả cao, tránh lãng phí năng lượng và tránh hoạt động quá ngưỡng gây phá huỷ mô.

#### 7.1.2.6. *Bổ thể*

Bổ thể là nhóm gồm 9 protein trong huyết thanh được ký hiệu từ C1 đến C9 (*complement*). Bổ thể muốn hoạt động phải được hoạt hoá, vì trước khi hoạt hoá chúng ở dạng bất hoạt hoặc tiền enzym. Sự hoạt hoá bổ thể theo phản ứng dây chuyền. Bổ thể thứ nhất sau khi hoạt hoá sẽ biến thành enzym thứ nhất để hoạt hoá bổ thể thứ hai. Có ba con đường hoạt hoá bổ thể. ***Con đường cổ điển*** (classical pathway) và ***con đường nhánh*** (*alternative pathway*) và con đường lectin. Kết quả của cả ba con đường đều dẫn tới sự tạo thành ***phức hợp tấn công màng*** (membrane attack complex), làm thủng màng tế bào và giết tế bào.

Bổ thể còn tham gia vào nhiều hiện tượng sinh học như làm tan hồng cầu, tan vi khuẩn, kết dính miễn dịch (bám vào thụ thể trên mặt ĐTB để tăng quá trình thực bào), gây phản vệ (giải phóng histamin khỏi tế bào mast, gây dẫn mạch, tăng tính thấm thành mạch làm hạ huyết áp và gây co thắt cơ trơn).

#### 7.1.2.7. *Quá mẫn*

Quá mẫn là hiện tượng ĐUMD quá mức dẫn đến tổn thương bệnh lý (phá huỷ các mô) khi cơ thể tiếp xúc với KN lần thứ hai hoặc các lần tiếp theo. Quá mẫn được chia thành 4 loại :

– *Loại 1* được gọi là **quá mẫn phản vệ** hay là **dị ứng**, xảy ra khi có sự tương tác giữa IgE nằm trên bề mặt tế bào mast hay bạch cầu kiềm với KN làm phá bong, giải phóng các chất hoạt mạch, ví dụ histamin. Các chất này gây dẫn mạch, làm co cơ trơn. Quá mẫn xảy ra rất nhanh (< 30 phút) nên còn gọi là quá mẫn tức khắc.

– *Loại 2* hay **quá mẫn gây độc tế bào** xuất hiện 5 – 12 giờ sau khi tiếp xúc với KN. Nguyên nhân do KT gắn trực tiếp với KN trên mặt tế bào đích, hoạt hóa chuỗi bổ thể để làm tan tế bào đích. Ví dụ, khi truyền máu khác nhóm hoặc bệnh tan máu ở trẻ sơ sinh do KN Rh.

– *Loại 3* hay **bệnh phức hợp MD** xảy ra sau 3 – 8 giờ, hình thành phức hợp MD bao gồm KN hòa tan – KT (IgM hoặc IgG) – bổ thể lắng đọng ở thành mạch gây viêm. Các thành phần của bổ thể (C3a, C5a) là chất hoá hướng động lôi kéo bạch cầu trung tính tiết enzym phá huỷ mô.

– *Loại 4* được gọi là **quá mẫn muộn** hay quá mẫn qua trung gian tế bào, gây tổn thương do tương tác giữa KN trên bề mặt tế bào đích với tế bào T<sub>C</sub> miễn cảm đặc hiệu với KN đó. Tế bào T<sub>C</sub> tiết lymphokin diệt tế bào đích.

## 7.2. VIRUT VÀ HỆ THỐNG MIỄN DỊCH

Virut là nguyên nhân gây bệnh chủ yếu và phổ biến ở người và động vật, nhất là ở trẻ nhỏ và động vật còn non. Hầu hết virut gây bệnh ở thể nhẹ, người bệnh có thể bình phục hoàn toàn sau một thời gian nhất định mà không hề biểu hiện bất kỳ triệu chứng nào. Tuy nhiên, cũng có nhiều virut gây bệnh trầm trọng và có tỷ lệ tử vong cao.

Virut có thể xâm nhập vào cơ thể theo 4 con đường chính như đã trình bày ở chương 5 :

- Qua da và niêm mạc (thông qua vết cắn, vết đốt, qua ghép tạng, tiêm chích, truyền máu và quan hệ tình dục).
- Qua đường hô hấp (hít, thở).
- Qua đường dạ dày – ruột (ăn uống).
- Bẩm sinh (mẹ truyền sang con qua nhau thai hay sữa mẹ).

Sau khi vào cơ thể, virut nhân lên tại nơi chúng xâm nhập tạo ổ nhiễm ban đầu rồi từ đó lan toả khắp cơ thể. Giống như các trường hợp nhiễm trùng khác, cơ thể đáp ứng lại bằng các cơ chế miễn dịch bao gồm : **Cơ chế miễn dịch không đặc hiệu** và **cơ chế miễn dịch đặc hiệu**.

### 7.2.1. Đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu chống virut

Cơ thể có hàng loạt hàng rào bảo vệ, tuy không đặc hiệu với từng loại virut nhưng rất có hiệu quả nhằm tiêu diệt và ngăn chặn không cho virut lan toả đến các cơ quan khác nhau của cơ thể hoặc chí ít là làm chậm bước tiến của virut, tạo điều kiện cho cơ thể có đủ thời gian huy động ĐUMD đặc hiệu. Các hàng rào ấy bao gồm :

- *Da và niêm mạc*. Không cho virut thấm qua trừ khi bị tổn thương. Trên mặt da chứa tế bào chết mà virut không nhân lên được.

– *Đường hô hấp.* Dòng dịch nhày do niêm mạc đường hô hấp trên tiết ra có tác dụng ngăn chặn không cho chúng xâm nhập xuống đường hô hấp dưới.

– *Đường niệu.* Nước tiểu đẩy trôi virus bám trên thành đường niệu.

– *Nước mắt.* Virus cùng bụi bám rơi vào mắt bị dòng nước mắt trào ra cuốn chúng ra khỏi mắt.

– *Đường tiêu hoá.* Axit trong dạ dày làm bất hoạt virus kém chịu axit, axit mật phá huỷ vỏ ngoài của virus.

– *Thực bào* đóng vai trò quan trọng trong phân huỷ virus. Có hai loại thực bào :

+ Bạch cầu đa nhân trung tính tiêu diệt virus theo cơ chế thực bào.

+ Đại thực bào (hoặc tế bào đơn nhân của hệ thống lưới nội mô) bao gồm ĐTB tự do trong phế nang và màng bụng, ĐTB cố định trong hạch lympho, lách, gan (tế bào Kupffer), tế bào mô (histocytes) và tế bào thần kinh đệm (microglia).

Hoạt động của ĐTB được tăng cường nhờ KT và bổ thể thông qua hiện tượng opsonin hoá. ĐTB cũng được hoạt hoá nhờ xitokin do tế bào T tiết ra, thu hút chúng tới vùng bị nhiễm để làm nhiệm vụ thực bào (quá trình hoá hướng động).

+ Phản ứng sốt và sự tổng hợp interferon có tác dụng ngăn chặn sự nhân lên của virus.

### **7.2.2. Đáp ứng miễn dịch đặc hiệu chống virus**

Khi virus nhanh chóng nhân lên trong ổ nhiễm rồi lan tràn vào hệ thống tuần hoàn thì sẽ vấp phải hệ thống miễn dịch đặc hiệu, bao gồm *ĐUMD thể dịch* và *ĐUMD tế bào*.

#### **7.2.2.1. Đáp ứng miễn dịch thể dịch**

Là sự tạo thành KT chống lại KN virus, ví dụ protein capsit hoặc glycoprotein vỏ ngoài.

Có nhiều loại KT chống virus với chức năng khác nhau :

– *KT trung hoà* có vai trò ngăn chặn sự xâm nhập của virus vào tế bào.

+ KT có thể trung hoà virus có phenotyp pha trộn (chứa hai loại protein của hai virus khác nhau).

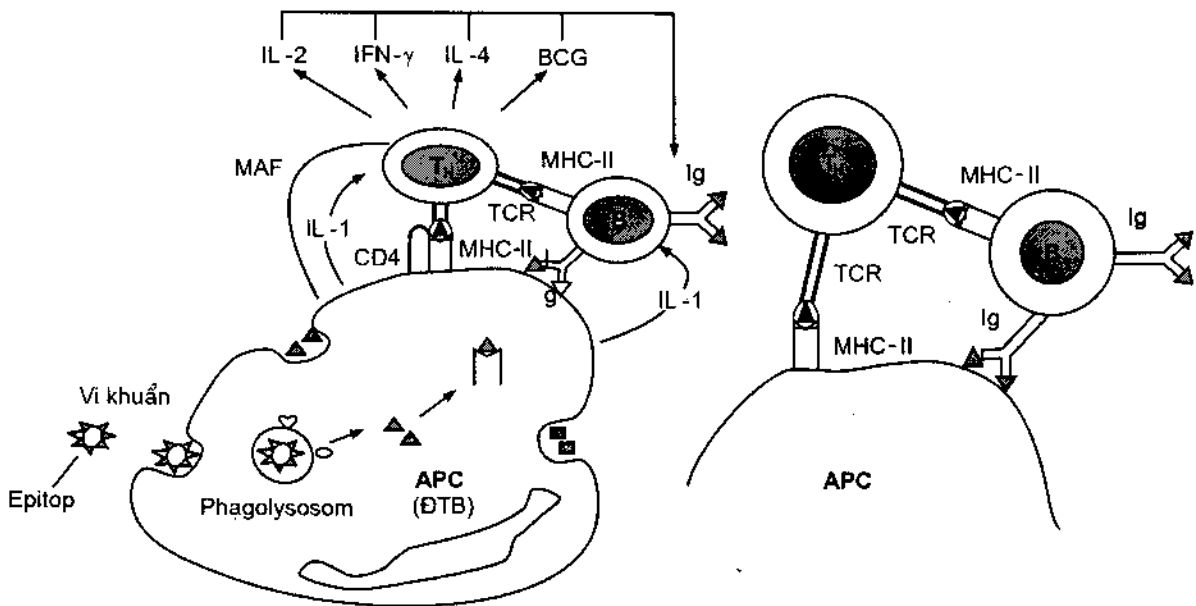
+ Một phân tử KT phản ứng chéo với hai epitop của capsome, làm thay đổi cấu trúc của capsit, phá huỷ sự tương tác giữa virus với thụ thể của tế bào, hoặc ngăn cản sự giải phóng genom của virus ra khỏi nucleocapsit.

+ KT gắn vào glycoprotein của virus ngăn cản sự dung hợp giữa vỏ ngoài virus với màng sinh chất của tế bào hoặc với màng endosom, do đó ngăn cản giải phóng nucleocapsit vào sinh chất.

– *KT trên niêm mạc* (chủ yếu là IgA) ngăn cản sự gắn virus lên bề mặt tế bào niêm mạc.

– *KT tham gia vào hoạt hoá bổ thể theo lối cổ điển* để làm tan tế bào nhiễm virus.

– *KT gắn với KN virus trên mặt tế bào nhiễm* tham gia vào phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc KT (ADCC). Trong đó tế bào K tiết chất độc diệt tế bào nhiễm virus.



**Hình 7.** Mối tương tác giữa các tế bào trong ĐUMD thể dịch.

Trên hình 7 TCR (thụ thể tế bào T) nhận diện quyết định KN (epitop) thông qua phân tử MHC – II trên bề mặt tế bào trình diện KN (tế bào APC). Tham gia vào mối tương tác là tế bào T hỗ trợ (CD4) đã biệt hoá nhờ KN. Kết quả là tế bào APC tiết ra IL – 1 kích thích tế bào T sản ra IL – 2 đồng thời tổng hợp và làm biểu hiện trên màng sinh chất của tế bào T<sub>H</sub> thụ thể dành cho IL – 2 (IL – 2 cũng đồng thời kích thích gây tăng sinh tế bào T<sub>H</sub>). Sự lựa chọn các tế bào B xảy ra do mối tương tác giữa KN và KT bề mặt tế bào B. Epitop của KN trong phức hợp cùng với MHC – II nhận mặt TCR của tế bào T<sub>H</sub>. Sau đó tế bào T tiết cytokin kích thích tăng sinh tế bào B và biệt hoá tế bào B thành tế bào plasma sản xuất KT đặc hiệu với KN đã kích thích chúng.

KT trung hoà được sản xuất nhanh chóng đã tránh cho tế bào không bị nhiễm virus. Điều này được thực hiện là nhờ tế bào B nhớ hoạt hoá và biệt hoá thành tế bào plasma sản xuất KT.

Đối với các virus có KN ổn định và có lượng serotyp không lớn thì vaccin dự phòng luôn phát huy tác dụng.

#### **7.2.2.2. Đáp ứng miễn dịch tế bào**

Trong miễn dịch chống virus, ĐUMD tế bào đóng vai trò quan trọng nhất.

##### **7.2.2.2.1. Các tế bào có chức năng miễn dịch**

Tế bào lympho T<sub>C</sub> (CD<sub>8</sub><sup>+</sup>) đóng vai trò quan trọng bậc nhất trong MD tế bào, chúng tiết protein độc perforin phá huỷ màng tế bào nhiễm virus làm thoát nội chất và giết chết tế bào.



Khi các tế bào bị nhiễm virus, trên bề mặt sẽ biểu hiện các KN virus và sẽ là mục tiêu tấn công của tế bào  $T_C$ .

Lympho T hỗ trợ –  $T_{H2}$  ( $CD_4^+$ ) tiết ra lymphokin để hoạt hoá gây biệt hoá tế bào và tăng sinh các tế bào T độc và các tế bào B sản xuất KT, trong đó tiểu quần thể  $T_{H1}$  có biểu hiện hiệu quả hơn đối với các tế bào T độc.

Các tế bào giết tự nhiên (NK) đóng vai trò quan trọng trong việc tiêu diệt nhanh các tế bào nhiễm virus mà không cần sự tham gia của các tế bào  $CD_4$  và KT.

#### 7.2.2.2.2. *Mối tương tác giữa virus và các tế bào của hệ MD*

Khả năng virus nhiễm vào các tế bào có chức năng MD làm cho việc loại trừ chúng trở nên khó khăn và phức tạp. Hơn nữa, việc phá huỷ cơ chế điều hòa MD có thể làm cho bệnh trầm trọng hơn là bản thân sự nhiễm virus.

a) *Hệ thống thực bào đơn nhân* là một mạng lưới bao gồm các ĐTB, bạch cầu đơn nhân có khả năng làm nhiệm vụ thực bào. Chúng được coi là hệ thống tham gia tiêu diệt virus trực tiếp nhất. Hệ thống này có khả năng biểu hiện hiệu ứng gây độc trực tiếp cho các tế bào nhiễm virus ARN (ví dụ virus *toga*, *paramyxo* và *orthomyxo*) và virus ADN (ví dụ virus *pox*). Tuy nhiên, trong đa số trường hợp ĐTB tỏ ra bất lực đối với các virus nằm bên trong tế bào và bản thân chúng có thể trở thành "hệ thống cho phép" (permissive system) tức là cho phép virus nhân lên và vì thế là nguyên nhân gây hiện tượng nhiễm virus trong máu (viremia) lần hai, kể từ sau khi chúng xâm nhập vào mô miễn cảm, đồng thời cần thấy rằng trong đa số trường hợp sự nhiễm virus như thế mang tính chất chuyển tiếp (transitory character) và sẽ bị mất đi khi xuất hiện các tế bào đề kháng virus, ngoại trừ trường hợp nhiễm HIV. Virus HIV có khả năng tồn tại lâu dài và nhân lên trong ĐTB. Các virus có khả năng phá huỷ chức năng của các tế bào thuộc hệ thực bào đơn nhân phải kể đến virus cúm *herpes simplex* và *Epstein – Barr*.

– Virus có khả năng xâm nhiễm vào ĐTB là do trên bề mặt ĐTB có các thụ thể phù hợp. Ví dụ, trên bề mặt ĐTB có thụ thể giống như  $CD_4$  dành cho HIV.

– Trên mặt các ĐTB đơn nhân có các thụ thể  $F_C R_\gamma$  dành cho kháng thể IgG nên các tế bào này có thể thu hút và "nuốt" các phức hợp MD (virus – KT). Nhờ có pH thấp của phagolysosom, virus được cởi áo và nhân lên trong sinh chất. Khác với ĐTB nuốt virus ngay ở giai đoạn sớm, hiện tượng này chỉ xảy ra khi đã tạo thành phức hợp MD với IgG và nó là nguyên nhân của lần sóng viremia lần hai.

b) *Tế bào lympho*. Virus nhiễm vào các tế bào có chức năng MD và phá huỷ chức năng của các tế bào này là nguyên nhân dẫn đến suy giảm MD.

– Giảm số lượng tế bào T hỗ trợ có thể dẫn đến các dạng bệnh lý miễn dịch khác nhau. Ví dụ : HIV nhiễm vào tế bào  $CD_4^+$  giết chết tế bào này dẫn tới suy giảm MD rồi phát triển thành AIDS. Virus thuộc họ *Arenaviridae* gây bệnh viêm màng não dẹt cùng nhiễm chọn lọc vào tế bào  $CD_4^+$  dẫn đến làm giảm nghiêm trọng hoạt động của các tế bào  $CD_8^+$  làm nhiệm vụ gây độc tế bào.

– Nhiễm virus vào các tế bào có chức năng MD cũng gây suy giảm MD thứ cấp nhưng thường không kèm theo sự thay đổi về thành phần số lượng các tiểu quần thể tế bào. Hiện nay đã xác định thấy một số loại virus như virus *Dengue*, cúm, *herpes simplex*, sởi, bại liệt,... có khả năng gây nhiễm và làm mất hoạt tính của các tế bào có chức năng MD dẫn đến làm thay đổi phản ứng với KN và với các chất gây phân bào (mitogen), phá huỷ sự hợp tác giữa các tế bào lympho T và B.

Các biểu hiện lâm sàng chủ yếu của việc nhiễm virus vào các tế bào của hệ thống MD là mất khả năng dị ứng hay quá mẫn (nhất là giai đoạn cấp tính) và bội nhiễm vi khuẩn lần hai.

– Còn có các cơ chế khác tạo thiếu hụt MD chuyển tiếp khi nhiễm virus :

Các tế bào nhiễm tiết các yếu tố hoà tan gắn với KT trước khi KT tương tác với KN. Ví dụ, tế bào lympho nhiễm HIV tiết ra gp120 phong bế KT đặc hiệu virus.

Các tế bào nhiễm có khả năng tiết các yếu tố có tác dụng ức chế các tế bào không nhiễm. Ví dụ, một trong các yếu tố được tạo thành trong chu trình tan của virus *Epstein – Barr* biểu hiện tính chất của IL – 10 và ức chế hoạt tính của tế bào  $CD_4^+$ .

Nhiều loại virus (ví dụ virus cúm, *Dengue*, viêm não do ve...) hoạt hoá không đặc hiệu tế bào T – ức chế đồng thời ảnh hưởng xấu đến khả năng MD.

## 7.3. BỆNH LÝ MIỄN DỊCH TRONG NHIỄM VIRUS

### 7.3.1. Các bệnh phức hợp miễn dịch

Một lượng lớn phức hợp MD được tạo thành ở thời điểm virus nhân lên mạnh mẽ nhất là do KN virus có trên mặt tế bào nhiễm nhiều nhất đồng thời KT kháng virus cũng được tạo thành nhiều nhất. Khi nhiễm virus trong máu (viremia), phức hợp cũng lưu hành theo máu đi khắp cơ thể. Chúng có thể đọng lại ở các mô khác nhau gây viêm cục bộ mà trước tiên là hoạt hoá bổ thể và các thành phần tế bào gây viêm thông qua thụ thể  $F_C$ . Đa số các phức hợp này sẽ bị loại trừ khỏi dòng máu nhờ các thực bào đơn nhân. Tuy nhiên, như phần trên đã trình bày, nhiều loại virus có thể phá huỷ chức năng của các tế bào này nên chúng có thể tuần hoàn lâu dài trong máu.

– Nhiễm virus *cytomegalo* (CMV) bẩm sinh luôn kèm theo tăng cường hình thành phức hợp MD lắng đọng trong thận dẫn tới phát triển bệnh thận ở trẻ nhỏ.

– Virus viêm gan B tạo phức hợp MD lưu hành lâu dài ở bệnh nhân nhiễm cấp. Phức hợp MD gồm KN bề mặt (HBsAg) và KT lắng đọng trong khớp, thận, mao mạch của da, dẫn tới phát triển các bệnh viêm khớp, viêm cầu thận và viêm mao mạch.

– Các bệnh MD do các virus khác gây ra, thông qua phức hợp MD phải kể đến các bệnh tăng bạch cầu đơn nhân do nhiễm trùng, sốt xuất huyết *Dengue*, u lympho Burkitt, viêm não.

– Trong nhiễm virus, không phải chỉ các thành phần của virus mới là KN mà ngay cả các thành phần tế bào đã bị biến đổi do virus cũng là KN. Chúng có thể kích thích cơ thể tổng hợp KT. Tuy nhiên, về mặt hình thái các KN mới này vẫn giống như các phân tử bình thường nên KT do chúng kích thích tạo thành có thể tương tác nhầm với các phân tử bình thường để gây bệnh tự miễn.

– Trong quá trình hình thành phức hợp MD khi tương tác với KN, KT có thể bị thay đổi do sắp xếp lại cấu hình và do đó bản thân chúng trở thành tự KN (autoantigen – KN của bản thân). KN này kích thích cơ thể tạo ra kháng KT chống lại Ig của bản thân.

### **7.3.2. Nhiễm tiếp virus sau khi phức hợp miễn dịch đã phân ly**

Khi được bao bọc trong nang (capsule), virus ở trạng thái phức hợp MD (tức là gắn với KT) vẫn giữ được cấu trúc của mình. Khi phức hợp phân ly, chúng lại có khả năng tái nhiễm vào các tế bào miễn cảm mới. Sự thường xuyên tái tạo phức hợp MD và khả năng virus tái nhiễm sau khi phân ly khỏi phức hợp được xem là một trong những cơ chế hình thành nhiễm mãn tính.

Tính chất của phức hợp MD phụ thuộc vào mức độ phù hợp và vào loại KT. Ví dụ, IgM có mức độ phù hợp thấp nên phức hợp dễ phân ly và do đó virus có khả năng tái nhiễm vào tế bào mới. Ngược lại IgG có mức độ phù hợp cao, phức hợp MD xâm nhiễm trực tiếp vào các thực bào đơn nhân.

Phân tử IgA dạng dime tạo phức hợp với virus *Epstein – Barr* ở màng niêm mạc đồng thời trên mặt tế bào niêm mạc xoang mũi lại có thụ thể dành cho IgA dạng dime. Vì vậy, khả năng lây nhiễm EBV cao và xác suất ung thư biểu bì mũi hầu lớn, mặc dù về mặt tự nhiên virus này có xu hướng lây nhiễm vào tế bào lympho B.

### **7.3.3. Các tổn thương mô do phản ứng miễn dịch chống virus**

Bản chất tự nhiên của phản ứng bảo vệ là loại trừ hiện tượng ký sinh nội bào ra khỏi cơ thể. Điều đó có nghĩa là cơ thể phải "hy sinh" chính các tế bào đã bị nhiễm của mình. Phản ứng gây độc tế bào chống virus và hiệu quả gây bệnh tế bào (CPE) của virus đã gây hậu quả không thể hồi phục được, nhất là đối với các mô có khả năng hồi phục thấp. Ví dụ :

Trong thí nghiệm nhiễm virus LCV gây viêm màng não màng mạch lympho bào vào chuột trưởng thành có thể làm cho chuột chết nhanh chóng, nhưng nếu nhiễm vào chuột non hoặc chuột trưởng thành đã gây ức chế MD thì sẽ dẫn đến dung nạp hoặc chuyển thành dạng mãn tính. Tình trạng này cũng thấy khi nhiễm các virus khác. Ví dụ, nhiễm virus cúm loại đã thích nghi vào chuột kèm theo chất ức chế MD thì chuột cũng không bị chết.

Viêm gan mãn tính là do tác động trực tiếp của cơ chế MD gây độc tế bào lên tế bào gan đã nhiễm HBV. Trong khi bản thân virus thì biểu hiện tính gây độc tế bào (CPE) yếu và thường không đủ mức giết chết tế bào. Điều này được chứng minh qua kết quả nghiên cứu ở chuột chuyển gen chứa các KN virus trên bề mặt tế bào gan và đã quan sát được sự phát triển của phản ứng gây độc tế bào do các tế bào  $CD_8^+$  thực hiện.

Vấn đề không kém quan trọng là virus có khả năng tạo thành KN mới (neoantigen). KN này là sự kết hợp giữa virus và một số thành phần của tế bào chủ, do đó làm cho các tế bào còn lại chứa các thành phần này cũng là mục tiêu tấn công của cơ chế MD. Điều cần lưu ý nữa là *hiện tượng bắt chước phân tử* (molecular mimicry), nhờ đó virus có thể hoạt hoá tế bào lympho B một cách không đặc hiệu và tổng hợp KT đặc hiệu kép tức là vừa phản ứng với KN của virus vừa phản ứng chéo với KN của tế bào vật chủ có cấu trúc giống KN của virus.

## 7.4. CƠ CHẾ THOÁT KHỎI MIỄN DỊCH

Bất kỳ tác nhân gây bệnh nào cũng có xu hướng tìm cách thoát khỏi cơ chế bảo vệ của cơ thể. Các virus gây bệnh rất đa dạng. Chúng có nhiều cách khác nhau để thoát khỏi sự chống trả quyết liệt của cơ thể để có thể nhân lên bình thường.

### 7.4.1. Gắn xen vào genom của tế bào

Genom của một số virus ADN hoặc virus *retro* có thể gắn xen vào nhiễm sắc thể (NST) của tế bào và có thể truyền cho các tế bào lân cận theo cơ chế truyền ngang (horizontal transfer) hoặc cho các tế bào thế hệ sau theo cơ chế truyền dọc. Sự thay đổi genom của các tế bào không thực sự lớn. Tế bào biểu hiện lượng KN virus là tối thiểu nên chúng vẫn tồn tại yên ổn và không bị sức ép giám sát của hệ thống MD.

### 7.4.2. Sự lan truyền virus giữa các tế bào

Một số virus (ví dụ virus *herpes*, HIV, *parvomyxo*) có khả năng đi từ tế bào này sang tế bào khác trong tế bào một lớp, là do các tế bào hội nhập với nhau tạo tế bào khổng lồ đa nhân hoặc hợp bào chứa virus. Virus không ra khỏi tế bào do đó không bị hệ MD tấn công.

### 7.4.3. Virus nhiễm vào loại tế bào không chịu sự giám sát của hệ thống MD

Trong cơ thể người có một số loại tế bào mà trên bề mặt không biểu hiện KN MHC – I, do đó không bị các tế bào của hệ thống MD nhận diện, ví dụ neuron thần kinh hay thủy tinh thể ... Nếu virus nhân lên trong các tế bào ấy thì sẽ không tạo được phức hệ MHC – I – peptit để đưa ra bề mặt tế bào cho các tế bào lympho nhận diện.

### 7.4.4. Một số trường hợp khác

Ví dụ ở virus *adeno* khi nhiễm vào tế bào thấy có hiện tượng ức chế biểu hiện phức hệ MHC – I – peptit virus. Sở dĩ như vậy vì có sự ức chế hoạt hoá protein đặc hiệu làm nhiệm vụ vận chuyển phức hệ này ra mặt tế bào nhiễm.

### 7.4.5. Sự biến đổi KN

Hiện tượng này được thấy rõ ở virus *retro*. Trong quá trình nhân lên của virus HIV có sự sai sót trong tổng hợp ADN. Đó là do sai sót trong mối tương tác với enzym phiên mã ngược. Kết quả là xảy ra đột biến ở đoạn gen mã cho glycoprotein gp120, làm mất đi khả năng tổng hợp KT sớm chống virus.

### 7.4.6. Khả năng ức chế miễn dịch

Một số virus, chẳng hạn virus *pox*, trong quá trình nhân lên đã tiết phân tử hoà tan thuộc loại IFN và TNF –  $\alpha$  (yếu tố hoại tử ung thư) phong toả hoạt động của các chất này của tế bào.

Trong quá trình nhân lên, virus đậu bò cũng tạo thành protein tiết, tương tự như chất ức chế bổ thể C<sub>4</sub> và có khả năng kìm hãm hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển.

Sự nhân lên của virus viêm gan B kèm theo sự tổng hợp một lượng lớn phân tử KN bề mặt HBsAg. Phân tử này gắn với KT tạo thành tấm lá chắn đặc hiệu giúp virus thoát khỏi tác động của KT.

## *Chương 8*

# CÁC BIỆN PHÁP CHỐNG VIRUT

### 8.1. HOÁ TRỊ LIỆU

Mặc dù hơn nửa thế kỷ qua chất kháng sinh đã được sử dụng có hiệu quả như một vũ khí lợi hại góp phần đẩy lùi nhiều loại bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn và cả vi nấm, thế nhưng đối với virus thì lại tỏ ra không có hiệu quả. Cho đến nay, chưa có một kháng sinh nào chống virus có mặt trên thị trường. Cách đây còn chưa lâu phương thức tốt nhất đối với các bệnh virus vẫn là "phòng bệnh hơn chữa bệnh", tiêm phòng vacxin, kiểm soát vectơ truyền bệnh và đến khi bị nhiễm virus thì chỉ còn trông cậy vào khả năng MD của cơ thể và nghe theo lời khuyên của bác sĩ "Hãy nghỉ ngơi và ăn nhiều hoa quả". Gần đây, hàng loạt chất hoá trị liệu chống virus đã được giới thiệu và cho phép dùng trong lâm sàng nhưng cũng chỉ có hiệu quả đối với một số trường hợp nhất định.

Việc lựa chọn thuốc chống virus gặp rất nhiều khó khăn bởi vì quá trình nhân lên của virus phụ thuộc hoàn toàn vào tế bào. Thuốc chống virus phải có tính chọn lọc cao, sao cho chúng chỉ làm bất hoạt các enzym đặc hiệu của virus mà không ảnh hưởng đến các enzym của tế bào, nếu không sẽ rất độc đối với tế bào hoặc dễ gây nên các phản ứng phụ cho người dùng. Các chất chống virus có thể tác động vào một hoặc nhiều khâu của quá trình nhân lên của virus trong tế bào. Khâu xâm nhập, "cởi áo", tổng hợp các thành phần của virus, lắp ráp và giải phóng virus ra khỏi tế bào. Việc sử dụng thuốc cũng là một nghệ thuật. Có thể dùng riêng (đơn trị liệu) hoặc dùng phối hợp các chất có cơ chế tác dụng khác nhau theo kiểu cocktail (đa trị liệu) để ngăn chặn sự phát triển tính kháng thuốc ở virus.

Dưới đây là các thuốc sắp xếp theo tác dụng vào các giai đoạn khác nhau của quá trình nhân lên của virus. Hầu hết là các chất tác động ở giai đoạn sớm, đến nay hầu như chưa tìm thấy chất nào tác động ở giai đoạn lắp ráp (hình 8.1, 8.2, 8.3).

#### 8.1.1. Các chất ức chế sự hấp phụ và cởi áo

##### ***8.1.1.1. Các chất kháng gp120 và các phân tử CD4 tái tổ hợp ức chế sự nhân lên của HIV trong tế bào nhiễm***

Phân tử tái tổ hợp giống như kháng thể Ig trong đó vùng biến đổi tức vùng quyết định KN của Ig được thay thế bởi trung tâm gắn của CD4 nên dễ dàng gắn với gp120 của virus như phản ứng KN – KT. Các thử nghiệm lâm sàng còn đang tiếp tục nhưng ưu điểm của nó là có thời gian bán huỷ lâu hơn so với CD4 tự nhiên, làm cho chúng không gắn được vào thụ thể trên màng sinh chất của tế bào T4.

##### ***8.1.1.2. Các phân tử tái tổ hợp kết dính tế bào typ 1***

Phân tử này là receptor cho 80 – 90% trong số 130 chủng virus *rhino*. Trong số này có 50 – 60% gây bệnh đường hô hấp. Các chất này ngăn cản sự bám dính của virus vào tế bào.

### **8.1.1.3. Amantadin và Rimantadin**

Amantadin (1 – adamanamin hydroclorua) và chất tương tự với nó là rimantadin ( $\alpha$  – metyl – 1 – adamantanemetylamin hydroclorua) là các chất amin đối xứng, có hiệu lực trong dự phòng và điều trị virus cúm A nhưng không có tác dụng đối với cúm B và C. Cả hai chất này đều ngăn cản sự nhân lên của virus thông qua sự tương tác với protein M2 của virus cúm A, do đó ngăn cản quá trình "cởi áo".

Amantadin cũng ngăn cản sự phiên mã. Sự tích lũy trong lysosom sẽ làm tăng pH của lysosom gây phân huỷ hemagglutinin của virus cúm A bởi lysosom. Hemagglutinin không thể thiếu để giúp nucleocapsit xâm nhập vào tế bào chất.

Amantadin và rimantadin được bào chế ở dạng uống. Với bệnh nhân 1 – 9 tuổi liều dùng mỗi ngày 4,4 – 8,8 mg/kg thể trọng, chia làm hai lần, không vượt quá 150mg/ngày. Với bệnh nhân lớn tuổi thì uống mỗi ngày 200mg, chia làm hai lần. Một đợt điều trị 5 – 7 ngày. Mặc dầu hai chất có cấu trúc hoá học gần giống nhau nhưng được tính lại khác nhau. Amantadin không bị chuyển hoá và bài xuất hầu như hoàn toàn qua thận với thời gian bán huỷ 12 – 17 giờ, còn rimantadin thì lại bị chuyển hoá triệt để thành các dẫn chất hydroxyl hoá. Thời gian bán huỷ là 30 giờ.

Khoảng 5 – 10% người dùng thuốc thấy xuất hiện tác dụng phụ nhẹ như mất ngủ, hơi nhức đầu, lo âu, thiếu tập trung tư tưởng, có thể xuất hiện ảo giác, ăn không ngon, buồn nôn hay táo bón. Các triệu chứng thường mất đi sau khi ngưng uống thuốc. Hãn hữu có trường hợp dùng amantadin thấy xuất hiện các cơn co giật và suy tim.

Đã phân lập được virus cúm A kháng amantadin. Đó là các thể đột biến ở gen tổng hợp protein M2.

### **8.1.2. Các chất ức chế ADN – polymeraza của virus**

Một thành tựu lớn trong nỗ lực tìm kiếm thuốc chống virus là phát hiện ra các chất có cấu trúc tương tự nucleosit (tương tự purin và pirimidin) tác động vào enzym ADN – polymeraza của virus. Các loại chất này không có nhóm 3' – OH nên không gắn được với các nucleosit khác, do đó làm cho sợi ADN đang tổng hợp không kéo dài thêm. Các chất này có ái lực với ADN – polymeraza mạnh hơn các nucleosit tự nhiên khác. Chúng thường là các chất ức chế ADN – polymeraza  $\gamma$  của ty thể.

Tất cả các thuốc loại này đều có phản ứng phụ vì chúng không chỉ ức chế tổng hợp ADN của virus mà còn của tế bào.

#### **8.1.2.1. Vidarabin**

Vidarabin (9 –  $\beta$  – D – arabinofuranosyladenin, adeninarabinosit) là chất tương tự nucleosit adenosin, được sử dụng trong lâm sàng để chống virus *herpes simplex* (HSV) gây viêm não và HSV gây viêm nhiễm ở trẻ sơ sinh và đã làm giảm hẳn tỷ lệ tử vong do các bệnh này. Vidarabin còn có tác dụng invitro chống các virus khác như thủy đậu *Zona (varicella zoster virus – VZV)*, virus cự bào ở người (CMV), virus đậu bò (*vaccinia*), HIV – 1 và EBV.

Để chữa viêm não do HSV thường truyền tĩnh mạch theo liều 15 mg/kg/ngày suốt 12 giờ trong 10 ngày, có thể xuất hiện phản ứng phụ như buồn nôn, run rẩy, viêm tĩnh mạch nơi truyền. Thuốc khó tan nên khi truyền phải dùng nhiều nước và do đó ảnh hưởng tới bệnh nhân bị phù não. Để trị viêm não do *herpes* thì acyclovir có hiệu quả hơn.

Để chữa nhiễm *herpes* ở trẻ sơ sinh cũng có thể truyền tĩnh mạch và cho kết quả không kém acyclovir. Cũng có thể dùng vidarabin để chữa viêm giác mạc do virus *herpes*. Dùng thuốc mỡ 3% bôi 5 lần/ngày bên trong túi kết mạc dưới của mắt, cách 3 giờ và liên tục trong 5 – 7 ngày.

Mặc dù cơ chế tác dụng chính xác của vidarabin còn chưa rõ, nhưng người ta cho rằng dưới tác động của kinaza (enzym xúc tác chuyển nhóm photphat) của tế bào, vidarabin bị photphoryl hoá rồi gắn vào sợi ADN mới của virus và của tế bào, để ngăn cản sự tổng hợp ADN. Cơ chế thứ hai là chất ức chế cạnh tranh của ADN – polymeraza của cả virus và tế bào. Do không có nhóm 3' – OH nên không gắn được với các nucleosit khác để kéo dài chuỗi ADN. Mặc dù chống được HSV đã kháng acyclovir nhưng không chống được HSV trong nhiễm HIV.

**8.1.2.2 Cytozinarabinozit** (ara-C-cytarabin, 1- $\beta$ -D-arabinfuranosilcytozin) là chất có cấu trúc tương tự ara – A nhưng độc hơn và tác dụng chọn lọc ít hơn. Dùng trong hoá trị liệu ung thư.

### **8.1.2.3. Dẫn xuất của dezoxuridin halogen hoá**

Để có hoạt tính chống virus thì phải chuyển hoá thành nucleosit. Thuốc được phosphoryl hoá nhờ timidinkinaza của virus rồi gắn vào ADN của virus do đó tạo ra các protein sai khác với mã ban đầu của virus. Do có độ độc cao nên thuốc chỉ được sử dụng một cách hạn chế.

– *Idoxuridin* (5 – iodo – 2' – dezoxuridin ; iododezoxuridin, IUD) là chất được tổng hợp hoá học, có khả năng chống một số nhóm virus nhất định. Chất này được hoạt hoá nhờ timidinkinaza của cả tế bào và virus, do vậy dạng hoạt tính của nó có cả ở trong tế bào nhiễm virus lẫn trong tế bào bình thường.

Do có phản ứng phụ nên idoxuridin chỉ được dùng hạn chế trong các trường hợp như viêm giác mạc do virus *herpes*.

– *Triptoridin* (Triptotimidin ; viroptic) có cấu trúc tương tự timidin, có tác dụng chống virus chứa ADN như virus *herpes*, đậu mùa, virus *adeno* tốt hơn là idoxuridin. Sở dĩ có hoạt tính mạnh hơn là vì có tốc độ phosphoryl hoá cao hơn 15 – 20 lần nhờ timidinkinaza đặc hiệu của virus. Dung dịch 1% cho hiệu quả điều trị viêm giác mạc do virus *herpes* cao hơn so với idoxuridin hoặc so với điều trị bằng thuốc mỡ vidarabin.

### **8.1.3. Các chất có cấu trúc tương tự nucleosit được hoạt hoá chọn lọc nhờ timidinkinaza của virus**

*Acyclovir* [9 – (2 – hydroxyetoxymetyl) guanin ; acycloguanosin] là chất có cấu trúc tương tự guanosin có khả năng ức chế sự nhân lên của một số virus *herpes* như

HSV – 1, HSV – 2, virus thủy đậu zona (VZV), virus Epstein – Barr (EBV) gây sốt tuyến. Do có hoạt tính kháng virus mạnh, ít độc lại dễ uống nên thường được dùng rộng rãi hơn vidarabin. Chất tự nhiên ở trạng thái trơ nên không có hoạt tính. Trong tế bào nhiễm chúng được photphoryl hóa nhờ timidinkinaza (TK) đặc hiệu của virus để chuyển thành dạng monophotphat sau đó nhờ TK của tế bào lại photphoryl hoá thành acyclovir di – , rồi triphotphat. Chất này có ái lực mạnh nên cạnh tranh gắn với ADN – polymeraza của virus mạnh hơn cơ chất tự nhiên dGTP nên nó được ưu tiên gắn vào sợi ADN đang tổng hợp của virus và kết thúc sự tổng hợp ở đây, do acyclovir thiếu nhóm 3' – OH cần cho sự tạo thành cầu nối photphodieter với nucleosit khác. Trong tế bào lành không có timidinkinaza của virus do đó acyclovir không chuyển hoá thành dạng hoạt tính để ngăn cản tổng hợp ADN. Ngoài cơ chế trên, acyclovir còn tương tác với ADN – transcriptaza tạo liên kết vững chắc khiến cho enzyme này mất khả năng tương tác với các cơ chất tự nhiên.

Sự bất hoạt của ADN – polymeraza của HSV cũng là do enzyme gắn chặt vào phức hệ acyclovirmonophotphat với đoạn môi do đó làm ngưng tổng hợp ADN.

Một số dòng virus kháng lại acyclovir là do xuất hiện đột biến ở gen TK hoặc gen ADN – polymeraza. Đột biến ở gen TK làm mất khả năng tạo TK nên gọi là TK – , dẫn đến làm giảm hoặc làm mất hẳn khả năng photphoryl hoá acyclovir. Đột biến TK làm cho virus ít độc hơn cho động vật.

#### **Liều dùng : Khác nhau tùy theo bệnh :**

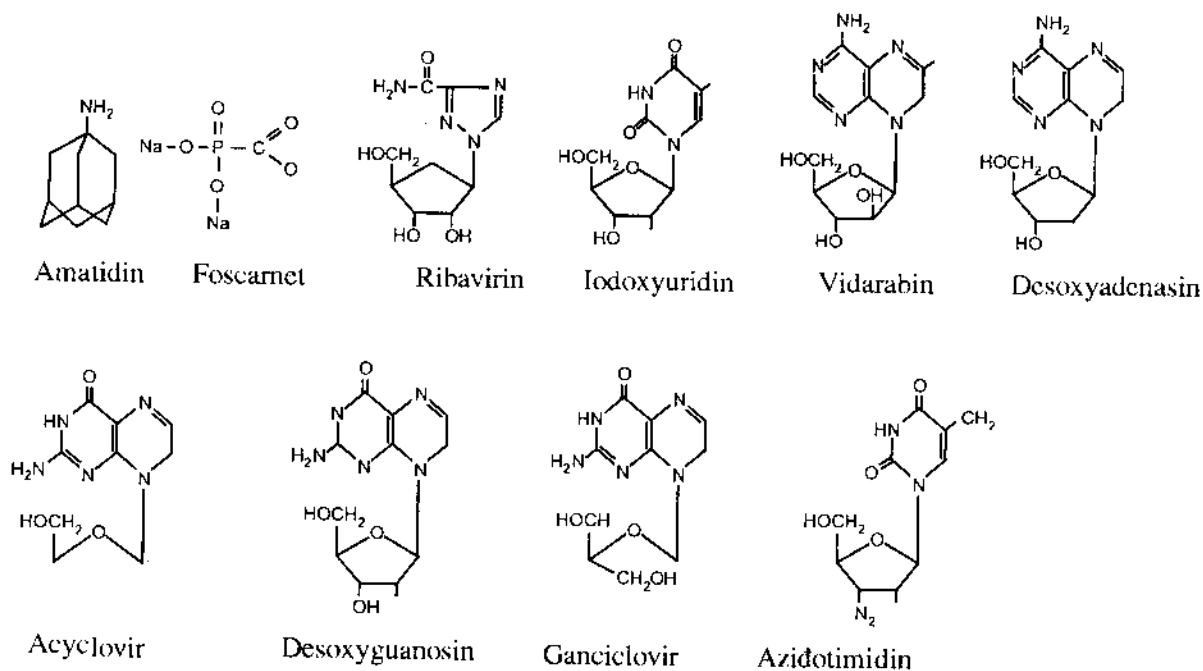
- Viêm não do *herpes simplex*. Tiêm tĩnh mạch 10 mg/kg, 8 giờ một lần trong 10 ngày.
- Bệnh do *herpes simplex* đường sinh dục (sơ nhiễm). Tiêm tĩnh mạch 5mg/kg, 8 giờ một lần trong 5 – 10 ngày. Hoặc uống 200 mg chia 5 lần/ngày trong 10 ngày. Bôi tại chỗ bằng thuốc mỡ 5%, 6 lần/ngày trong 7 – 10 ngày thay cho uống.
- Bệnh do *herpes simplex* đường sinh dục (nhiễm hồi quy). Uống 200 mg/ngày chia 5 lần trong 5 ngày.
- Bệnh *herpes simplex* da và niêm mạc. Nếu hệ miễn dịch bị tổn hại nhưng vẫn hoạt động thì tiêm tĩnh mạch 250mg/m<sup>2</sup>, 8 giờ một lần trong 7 ngày. Cũng có thể bôi thuốc mỡ 5%, 4 – 6 lần/ngày trong 7 ngày. Nếu hệ MD bị ức chế nghiêm trọng thì uống 200mg/ngày chia làm 4 lần hoặc tiêm tĩnh mạch 5mg/kg, 12 giờ một lần.
- Bệnh thủy đậu. Tiêm tĩnh mạch 500mg/m<sup>2</sup>, 8 giờ tiêm một lần trong 7 ngày.
- Bệnh mắt do *herpes zoster*. Uống 600mg/ngày chia làm 5 lần trong 10 ngày. Acyclovir ít độc, hạn hữu gây rối loạn chức năng thận.

#### **8.1.4. Các chất ức chế enzyme phiên mã ngược (RT)**

Các chất này tác động qua lại với enzyme RT của virus Retro, ví dụ HIV.

- *Zidovudin*. Tên cũ là azidotimidin (AZT) (hình 8.1) hoặc retrovir (3' – azido – 2' – 3' – dideoxytimidin) là chất có cấu trúc tương tự timidin nhưng thay nhóm – OH ở vị trí C<sub>3</sub> của pentoza bằng nitơ.





**Hình 8.1.** Công thức cấu trúc của các chế phẩm chống virus.

AZT tác dụng theo cơ chế ức chế cạnh tranh. Do có ái lực lớn hơn với enzym RT so với các cơ chất tự nhiên khác, nên ngăn cản sự tương tác của enzym này với cơ chất. Sự gắn AZT vào mạch thay cho timidin, cản trở sự gắn tiếp các nucleosit khác do chất này không có nhóm 3' – OH cần cho sự tạo thành liên kết dieste 5' – 3' giữa 2 mạch axit nucleic.

AZT ức chế mạnh HIV – 1, HIV – 2 và các virus *retro* khác. AZT là chất đầu tiên được cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ (FDA) cho phép sử dụng để điều trị bệnh nhân nhiễm HIV, cận AIDS và AIDS. Thuốc có thể làm giảm sự truyền HIV qua thai nhi.

Liều dùng cho bệnh nhân có triệu chứng là 200mg, uống cách quãng 4 giờ, sau một tháng thì giảm còn 100mg cũng uống cách 4 giờ. Trường hợp chưa phát triệu chứng thì dùng 100mg, uống cách 4 giờ khi còn thức (500mg/ngày).

AZT có thể gây phản ứng phụ như thiếu máu, gây giảm bạch cầu trung tính.

– *Zalcitabin* (2', 3' – didexoxyxitidin, ddC), còn có tên là HIVID được dùng trong điều trị nhiễm HIV khi virus đã kháng AZT cơ chế tác dụng giống như AZT.

– *Didanozin* (2', 3' – didexoxyinozin, ddI) còn có tên là VIDEX : Cấu trúc tương tự như Zalcitabin nhưng có độ độc thấp hơn.

– *Stavudin* (2',3' – didehydro – 2' – dexoxytimidin, d4T) : ức chế enzym RT giống như AZT. Gây độc cho gan và thần kinh.

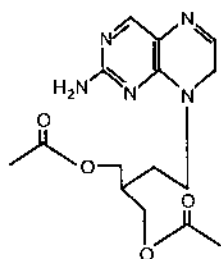
– *Lamivudin* (2',3' – didexoxy, 3'dexoxytimidin, 3TC) : Tác dụng giống AZT. Khi phối hợp với AZT thường cho hiệu quả chữa AIDS cao hơn.

– *Nevirapin* (dipiridodiazepinon) và *delavirdin* cũng là các chất ức chế enzym RT nhưng không thuộc loại nucleosit. Các chất này có cấu trúc rất đa dạng. Chúng không gắn vào đúng vị trí dành cho cơ chất của enzym RT mà gắn vào bên cạnh, tức phân kỳ nước của phân tử enzym gây rối loạn chức năng của vị trí này. Khi dùng riêng (đơn trị liệu) dễ gây tình trạng kháng thuốc nơi HIV.

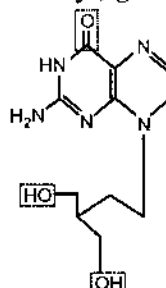
Các chất kể trên được chuyển hoá thành dạng 5' – triphosphat nhờ enzym của tế bào xúc tác. Chất này ức chế cạnh tranh với enzym phiên mã ngược của HIV để gắn vào phân tử ADN đang tổng hợp. Do không có nhóm 3' – OH để tạo cầu nối photphodester với các nucleosit khác nên chúng khóa không cho kéo dài chuỗi.

Trong thực tiễn lâm sàng đã xuất hiện HIV kháng lại AZT và các chất tương tự khác như ddC, 3TC, ddI và d4T. Do vậy người ta khuyên nên dùng phối hợp nhiều loại thuốc với cơ chế tác dụng khác nhau. Ví dụ, một loại "cocktail" gồm 3 loại thuốc (tam liệu pháp) bao gồm một chất là chất tương tự nucleosit, một chất không phải là chất tương tự nucleosit và một chất là chất ức chế proteaza (PI).

Famcyclovir: 9-(4-acetoxy-3-acetoxymethylbut-1-yl) guanin (Famvir)

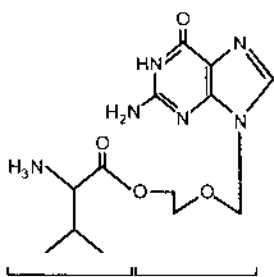


Famcyclovir

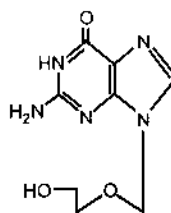


Pencyclovir

Valaciclovir : L-valyl ester của acyclovir



Valin Acyclovir



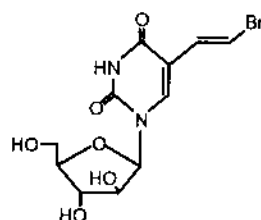
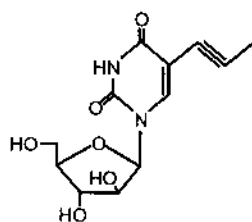
Acyclovir

**Hình 8.2.** Ví dụ về thuốc dựa trên các chất tương tự nucleosit được cải tiến để điều chế thuốc uống chống virus *herpes* Famcyclovir – thuốc uống có hoạt tính mạnh hơn acyclovir 5 lần. Famcyclovir là tiền chất và trong cơ thể chúng được chuyển thành dạng hoạt tính (pencyclovir). Sự biến đổi cấu trúc của Famcyclovir thành pencyclovir được đóng khung theo đường chấm

(-----). Valaciclovir là thuốc uống mạnh hơn acyclovir 3 – 4 lần.

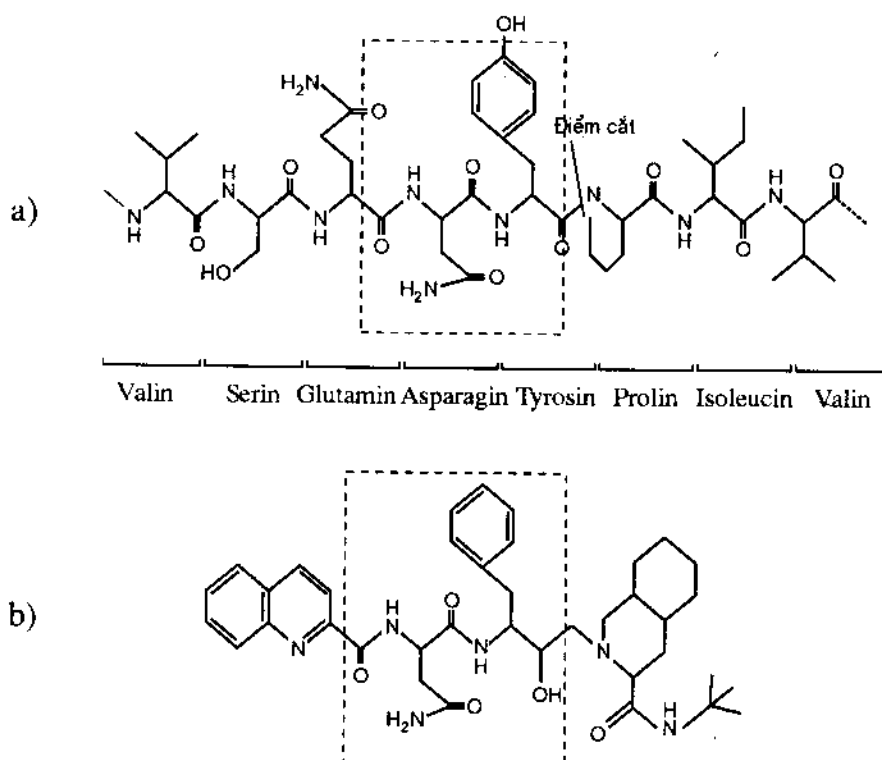
Trong cơ thể gốc valin bị cắt để tạo thành acyclovir.

### 5- Propynyl-ara-U: 1- $\beta$ -D-arabinofuranosyl]-5 propynyluracil (882C)



Brovavir: 1- $\beta$ -D-arabinofuranosyl-E-5-[2-bromovinyl] uracil

**Hình 8.3.** Ví dụ về các loại thuốc dựa trên các chất tương tự nucleosit có hoạt tính mạnh hơn trong điều trị VZV, 5 – propynyl – ara – : hoạt tính chống VZV mạnh hơn 10 lần so với acyclovir, hoạt tính chống virus *herpes* tuy kém hơn nhưng lại ít độc hơn. Brovavir chống virus *herpes* invitro mạnh hơn hàng ngàn lần so với acyclovir nhưng hoạt tính chống *herpes* lại kém hơn. Khi phối hợp với các thuốc dựa trên uracil có thể gây độc nghiêm trọng.



**Hình 8.4.** a) Cơ chất tự nhiên của proteinaza ở HIV – 1 ;

b) Chất ức chế proteinaza saquinavir hoặc inviraza. Cả hai đều có phần đóng khung giống nhau.

### 8.1.5. Các chất ức chế proteaza (PI – protease inhibitors)

Trong quá trình nhân lên của HIV, các polyprotein tiền chất được tạo thành bởi các gen *gag* và *pol* luôn có kích thước lớn sẽ được cắt bởi proteaza của HIV – 1 để tạo ra

các phân tử có kích thước ngắn hơn phù hợp với cấu trúc hạt virion. Chất ức chế proteaza cạnh tranh với polyprotein để gắn vào vị trí hoạt động của proteaza, ngăn cản sự cắt polyprotein của virus dẫn đến sự tạo thành các hạt virus không có khả năng gây nhiễm. Bốn loại PI đã được đưa vào sử dụng để điều trị HIV – 1 là *indinavir*, *ritonavir*, *saquinavir* và *nelfinavir*. Ba chất đầu là các chất thuộc loại giống như peptit (peptidomimetic), còn chất sau – nelfinavir thì không phải là peptit. Do các virus kháng thuốc xuất hiện ngày một nhiều nên không nên dùng đơn độc một loại PI mà nên kết hợp nhiều loại thuốc khác nhau. Đột biến gen proteaza của HIV – 1 là nguyên nhân dẫn đến tình trạng kháng PI của virus (hình 8.4).

### 8.1.6. Các chất có cấu trúc tương tự nucleosit với phổ tác dụng rộng

#### 8.1.6.1. Ribavirin

Ribavirin (1 –  $\beta$  – d – ribofuranosyl – 1,2,4 trizol – 3 – carboxamit) (hình 8.1) còn có tên là virazol hoặc ribamidyl là chất có cấu trúc tương tự nucleosit của guanosin và inosin được tổng hợp bằng con đường hoá học. Ribavirin có hoạt phổ rộng chống 27 loại virus ARN và 12 loại virus ADN, trong đó có virus hợp bào hô hấp (RSV), virus cúm A, cúm B, virus á cúm (*parainfluenza*), virus sốt Lassa và HIV. Thuốc đã được cơ quan Quản lý thực phẩm và Dược phẩm Mỹ (FDA) chấp thuận cho sử dụng dưới dạng khí dùng để điều trị cho trẻ đang bú và trẻ nhập viện mắc chứng viêm phổi do RSV. Mỗi ống thường đóng 20mg/ml, dùng liên tục trong 3 – 6 ngày. Đối với người lớn bị RSV nặng thì thuốc hầu như không có hiệu quả.

Ribavirin cũng được dùng tiêm tĩnh mạch trong điều trị sốt lassa và có thể làm giảm tỷ lệ tử vong đáng kể ở bệnh này.

Khả năng chống virus của ribavirin có thể theo 3 cơ chế sau :

- Cạnh tranh với guanosin để gắn vào enzym xúc tác cho sự tạo thành guanosin triphosphat.
- Ribavirin triphosphat ức chế hoạt tính ARN – polymeraza phụ thuộc ARN của virus cúm và virus *La Crosse*.
- Gắn vào guanin đã methyl hoá ở đầu 5' của phân tử ARN của virus nên ngăn cản sự sao mã.

**8.1.6.2. Valacyclovir** (tên thương mại là Valtrex) là este L – valyl của acyclovir (hình 8.2), gần đây đã được cấp bằng sáng chế để trị HSV đường sinh dục và herpes zoster ở người lớn vẫn còn khả năng MD. Sau khi uống, valacyclovir nhanh chóng chuyển hoá thành acyclovir và làm tăng khả năng tiếp thu của cơ thể lên 3 – 5 lần so với khả năng này ở acyclovir uống. Do công hiệu tăng nên giảm được số lần uống so với acyclovir.

**8.1.6.3. Famcyclovir** 2[2(2 – amino – 9H – purin – 9 – yl) etyl] – 1,3 – propanediol diacetat là dẫn xuất của guanin tổng hợp, khép vòng. Sau khi uống famcyclovir được chuyển hoá thành pencyclovir. Chất này có cấu trúc giống như acyclovir, có hoạt tính kháng virus mạnh, có khả năng ức chế HSV – 1, HSV – 2 và VZV.

Khả năng tiếp thu sinh học của pencyclovir, sau khi uống liều 500 mg famcyclovir là 77% trong khi khả năng này ở acyclovir chỉ là 10 – 20%. Famcyclovir được sử dụng để điều trị bệnh zona cấp và nhiễm virus *herpes* đường sinh dục.

Cũng như acyclovir, dưới tác dụng của enzym TK của virus pencyclovir được photphoryl hoá thành dạng monophotphat sau đó nhờ kinaza của tế bào lại chuyển hóa tiếp thành pencyclovir triphotphat. Chất này ức chế ADN – polymeraza của HSV và VZV cạnh tranh với dGTP dẫn đến ức chế tổng hợp ADN và cuối cùng là ngăn cản sự nhân lên của virus. Khác với acyclovir triphotphat nó không phải là chất làm kết thúc chuỗi ADN. Việc xuất hiện HSV và VZV kháng pencyclovir là do đột biến gen TK và gen ADN – polymeraza. Các thể đột biến TK – kháng pencyclovir có thể kháng chéo với acyclovir.

Hai chất mới là trifluridin (trifluorotimidin) là đồng phân timidin đã fluor hóa và idoxuridin (5 – iodo – 2' – deoxyuridin) là đồng phân timidin đã iot hoá đang được sử dụng để điều trị viêm giác mạc do HSV.

**8.1.6.4. Gancyclovir** [9 – (1,3 – dihydroxy – 2 – propoxy) metylguanin] là một chất tương tự khác của guanosin có cấu trúc giống như acyclovir, có hoạt tính chống HSV và CMV. Hoạt tính chống CMV mạnh hơn acyclovir nhưng vì độc hơn nên chỉ dùng trong trường hợp nhiễm CMV nặng đường tiêu hoá, viêm thành phế nang hoặc viêm võng mạc.

Cơ chế tác dụng của gancyclovir cũng giống như acyclovir. Dưới tác dụng của TK của virus, gancyclovir chuyển hoá thành dạng monophotphat sau đó dưới tác dụng của kinaza của tế bào lại chuyển hoá tiếp thành gancyclovir triphotphat. Chất này hoạt động như là chất ức chế cạnh tranh của ADN – polymeraza, nhưng khác với acyclovir ở chỗ nó không phải là chất kết thúc chuỗi ADN.

Đã phân lập được các chủng đa kháng thuốc (multiresistant) cùng một lúc kháng lại gancyclovir, cidofovir và foscarnet.

**8.1.6.5. Foscarnet** (Trisodium photphonoformat) là một chất giống như pyrophotphat, có hoạt tính chống virus *herpes*, virus viêm gan B, HIV – 1. Là chất ức chế không cạnh tranh của ADN – polymeraza và enzym phiên mã ngược của HIV – 1, virus *herpes*, virus viêm gan B. Foscarnet được dùng để trị viêm võng mạc do CMV và trị nhiễm HSV và VZV đã kháng lại acyclovir. Foscarnet có độc tính mạnh do làm giảm chức năng thận. Các chủng HSV kháng lại foscarnet thường lại mẫn cảm với acyclovir, điều đó chứng tỏ vị trí gắn của acyclovir triphotphat lên ADN – polymeraza của virus có thể khác với vị trí gắn của foscarnet. Virus *herpes* kháng foscarnet là do đột biến gen ADN – polymeraza của virus.

**8.1.6.6. Cidofovir** [(S) – 1 – (3 – hydroxy – 2 – photphonylmetoxy – propyl) xytosin], viết tắt là HPMPC, có hoạt phổ chống virus *adeno*, virus *herpes*, virus *irido*, virus *papova* và virus *pox*. Đã được phép dùng để dự phòng và điều trị viêm võng mạc do CMV. Trong lâm sàng, được dùng để chống HSV đã kháng acyclovir và foscarnet.

Trong tế bào, cidofovir được chuyển hoá nhờ kinaza của tế bào thành dạng hoạt tính – cidofovir diphosphat. Điều đáng chú ý là khác với acyclovir và các chất tương tự nucleosit khác, cidofovir không cần TK của virus và các kinaza khác xúc tác. Cidofovir diphosphat hoạt động như là cơ chất khác của dGTP và là chất ức chế ADN – polymeraza. Sự gắn hai phân tử cidofovir diphosphat liên tiếp vào ADN là rất cần để kết thúc chuỗi. Vì cidofovir không đòi hỏi TK của virus để phosphoryl hoá nên nó chống được dạng TK của HSV và VZV. CMV kháng cidofovir là do đột biến gen ADN – polymeraza.

## 8.2. INTERFERON

Từ lâu người ta đã nhận thấy khi các tế bào bị nhiễm virus thì các tế bào ấy và các tế bào lân cận không bị nhiễm tiếp bởi chính các virus ấy và các virus khác. Năm 1937, Findlay và Mac Callum nhận thấy nếu nhiễm virus thung lũng Rift vào khỉ, sau đó nhiễm tiếp liều gây chết virus sốt vàng thì khỉ không bị bệnh sốt vàng. Hai ông gọi hiện tượng này là can thiệp (interference) của virus.

Năm 1957, Alick Isaacs và Jean Lindenman ở Viện nghiên cứu Y học Quốc gia (London) đã tiến hành một thí nghiệm quan trọng mang tính lịch sử. Nhiễm virus cúm sống vào phôi gà đang phát triển mà trước đó đã nhiễm virus cúm bất hoạt bằng nhiệt thì virus mới không thể nhân lên được. Nếu nghiền phôi thành hỗn dịch rồi tiêm truyền vào phôi gà khác thì cũng ngăn cản sự nhân lên của các virus trong phôi gà. Hai ông cho rằng hiện tượng này có liên quan đến sự tạo thành trong tế bào nhiễm virus một chất đặc biệt và đặt tên cho nó là *interferon* viết tắt là IFN.

### 8.2.1. Sự tạo thành interferon

Interferon không phải chỉ do virus kích thích mà còn do hàng loạt các chất cảm ứng khác (interferonogen) như các ARN lạ mạch kép, polysaccarit của vi sinh vật, polynucleotit tổng hợp (polyIC, polyGC), một số thuốc gây giãn mạch như theophyllin, pilydamol, dibazol, một số loại vacxin như vacxin phòng bại liệt Sabin, vacxin ho gà – uốn ván – bạch hầu, độc tố vi khuẩn, phức hợp KN – KT... Do đó rõ ràng thông tin để hình thành IFN không phải nằm trong genom của virus mà trong genom của tế bào.

Hiện nay người ta biết đến 22 gen ở nhiều loại tế bào khác nhau của cơ thể người có khả năng sản xuất IFN như : đại thực bào, tế bào lympho, tế bào NK, nguyên bào sợi, các tế bào thuộc các cơ quan MD trung tâm và ngoại vi (tuyến ức, tủy xương, lách, màng payer... Ở trạng thái bình thường, các gen này bị ức chế. Chính virus và các chất cảm ứng tạo interferon khác có tác dụng giải kìm hãm và hoạt hoá các gen để chúng mã hoá tạo IFN. Ở người, các gen mã cho interferon nằm trên nhiễm sắc thể số 2, 5, 9 và 12.

### 8.2.2. Phân loại IFN

Các IFN được chia làm 2 typ : typ I và typ II.

– Typ I bao gồm IFN –  $\alpha$  và IFN –  $\beta$ . IFN –  $\alpha$  có ít nhất 15 typ phụ có khối lượng phân tử khoảng 18kDa. Các gen mã hoá cho chúng 85% có tính tương đồng. Nguồn tế bào chính sản xuất IFN –  $\alpha$  là bạch cầu đơn nhân. IFN –  $\beta$  là glycoprotein với khối lượng phân tử 20kDa. Là sản phẩm đơn gen. Tế bào chủ yếu sản xuất IFN –  $\beta$  là nguyên bào sỡ.

– Typ II là IFN –  $\gamma$  hay còn gọi là IFN miễn dịch vì chúng chủ yếu do tế bào T hoạt hoá tạo thành nên thực chất cũng là một lymphokin. IFN là glycoprotein gồm hai chuỗi giống nhau với khối lượng phân tử 21 và 24kDa được mã bởi các gen giống nhau.

### 8.2.3. Tính chất của IFN

IFN dễ bị các enzym phân giải protein như trypsin, pepsin, papain phá huỷ. IFN rất bền nhiệt, hoạt tính bị mất khi đun nóng 60 – 75°C trong một giờ hoặc đun sôi 100°C trong 5 phút. Ở 4°C có thể bảo quản IFN trong nhiều tháng. IFN cũng bền ở pH thấp, ở giá trị pH 2 hoạt tính hầu như không bị mất.

IFN có tính KN yếu. Chúng xuất hiện sau 1 – 2 giờ khi tế bào bị kích thích và tồn tại trong máu một vài ngày đến một vài tuần. Sự ức chế virus của IFN không mang tính đặc hiệu bởi vì chúng không tác động trực tiếp lên virion như KT mà chỉ cảm ứng để tế bào chủ sản xuất ra chất ức chế sự nhân lên của virus. Tuy nhiên, IFN lại có tính đặc hiệu loài. Ví dụ, IFN do tế bào người sản ra chủ yếu chỉ có tác dụng ức chế sự nhân lên của virus trong tế bào người mà rất kém hiệu lực đối với tế bào chuột hoặc gà. Tương tự như vậy, IFN của tế bào chuột không có hiệu lực với tế bào người và gà. Tính đặc hiệu này do thụ thể đặc hiệu quyết định. Vì vậy, đây là sự hạn chế của IFN.

### 8.2.4. Tác dụng sinh học của IFN

– Chức năng sinh học quan trọng nhất của IFN là cảm ứng để tế bào sản ra protein ngăn cản sự khởi đầu dịch mã và phá huỷ mRNA của virus. Bằng chứng là ở các bệnh nhiễm virus như cúm, sởi, sốt xuất huyết, viêm não Nhật Bản..., vào những ngày đầu IFN xuất hiện trong máu với hàm lượng tăng dần. Lượng IFN càng tăng thì số lượng virus càng giảm và bệnh càng mau bị đẩy lùi. Nhiều người cho rằng vai trò ức chế sự nhân lên của virus chủ yếu là do IFN vì IFN được hình thành tại chỗ và nhanh chóng hơn KT đặc hiệu, còn KT xuất hiện sau chỉ có tác dụng lâu dài chống tái nhiễm.

– IFN có tác dụng ức chế sự tăng sinh nhanh chóng của tế bào ác tính, điều này cũng là do tác động ngăn cản quá trình tổng hợp protein. IFN –  $\alpha$  được dùng để ức chế sự tăng sinh của các tế bào ung thư, ví dụ ung thư bạch cầu tế bào tua (tế bào ác tính lympho B có tua sinh chất), u mạch (angioma) ở trẻ...

– IFN có vai trò hoạt hoá tế bào NK để chúng phá huỷ tế bào đích nhiễm virus.

– IFN có tác dụng tăng cường sự biểu hiện của glycoprotein MHC – I và II trên bề mặt tế bào, tạo điều kiện cho các tế bào của hệ thống miễn dịch nhận diện KN virus.

– IFN –  $\gamma$  với tư cách là lymphokin tham gia vào quá trình điều hoà miễn dịch, thúc đẩy quá trình biệt hoá của lympho T, NK, ĐTB.

– Có ý kiến cho rằng, IFN ngăn cản sự nhân lên của virus bằng cách hạn chế sự xâm nhập của virus vào tế bào, ức chế quá trình "cởi áo" và sự nảy chồi để giải phóng virus khỏi tế bào.

### 8.2.5. Cơ chế tác dụng của IFN

Khi virus hoặc các tác nhân cảm ứng sản sinh IFN khác xâm nhập vào tế bào eukaryote, sau vài giờ hoặc thậm chí sau một ngày IFN sẽ được hình thành. IFN sẽ chui qua màng sinh chất ra ngoài, gắn vào thụ thể dành cho nó trên mặt tế bào lân cận. Có hai loại thụ thể đặc hiệu dành cho IFN. Một loại dành chung cho cả IFN –  $\alpha$  và IFN –  $\beta$  và một loại dành cho IFN –  $\gamma$ . IFN tác động như một hormone, nhờ AMP vòng tác động vào nhân tế bào cảm ứng bộ gen tế bào tổng hợp ít nhất 2 enzyme là kinaza và 2, 5 – oligoadenylat syntetaza. Cả 2 loại enzyme này đều được hoạt hoá nhờ ARN kép do virus cảm ứng tạo thành. Điều đó có nghĩa là các enzyme này chỉ được hoạt hoá khi có virus xâm nhập vào tế bào. Kinaza làm bất hoạt một enzyme cần cho sự lắp ráp ribosom, do đó ức chế tổng hợp protein. Còn 2, 5 oligoadenylat syntetaza hoạt hoá enzyme ribonucleaza phá huỷ mRNA của virus và do đó cũng ức chế luôn quá trình tổng hợp protein của virus.

### 8.2.6. Sử dụng trong điều trị

Cho đến nay chưa có kháng sinh hữu hiệu chống virus, do đó IFN được xem là biện pháp lý tưởng để chống bệnh do virus gây ra. Vì tầm quan trọng như vậy nên IFN đã được đầu tư nghiên cứu và sản xuất ở quy mô thương mại. Bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN, gen tạo IFN của người được tách dòng và gắn vào *E. coli* để chúng sản ra một lượng đáng kể IFN trong nổi lên men. Nhờ vậy, người ta chế tạo được cả 3 loại IFN –  $\alpha$ ,  $\beta$  và  $\gamma$  với độ tinh khiết cao và được đánh giá là có tính công hiệu với nhiều loại virus gây bệnh.

Kết quả thí nghiệm cho thấy IFN nhỏ mũi có hiệu quả cao chống virus gây bệnh đường hô hấp mặc dù ở một số người có thể bị kích ứng niêm mạc mũi.

IFN cũng thu được kết quả rất khả quan trong các trường hợp ung thư vòm họng, ung thư não, ung thư cổ tử cung, chống virus *herpes* gây mụn rộp đường sinh dục, virus gây bệnh u nhú. Hiện nay IFN đang được dùng kết hợp với ribavirin để chống virus viêm gan B, C và được coi là thuốc phụ trợ ZDV (AZT) trong điều trị AIDS.

### 8.2.7. Hiệu quả kháng virus của yếu tố hoại tử ung thư (TNF – Tumour necrosis factor)

TNF có một số hoạt tính kháng virus tương tự như IFN –  $\gamma$ , nhưng theo một con đường khác. Người ta xử lý tế bào nuôi cấy mô bằng TNF trong 24 giờ trước khi thêm virus gây viêm miệng dạng mụn (VSV – vesicular stomatitis virus) sẽ hạn chế sự nhân lên của virus trong khi đó IFN –  $\gamma$  không có tác dụng. Ngược lại, khi nhiễm virus viêm não cơ tim (EMCV – encephalomyocarditis virus) thì IFN –  $\gamma$  lại có hiệu quả hơn so với TNF. Nhưng nếu dùng cả IFN –  $\gamma$  và TNF thì có tác dụng hiệp đồng chống virus ARN. Tác dụng tương tự cũng thấy ở virus ADN chẳng hạn đối với virus *herpes simplex* (HSV).



### 8.2.8. Chế tạo IFN

Phương pháp chế tạo IFN đầu tiên do người Phần Lan đưa ra. Ông chiết tế bào bạch cầu từ máu rồi cho nhiễm virut để các tế bào này tổng hợp IFN. Phương pháp có giá thành cao vì nguồn cung cấp hạn chế.

Năm 1980, các nhà khoa học Mỹ tách gen mã hoá IFN cấy vào tế bào nấm men để sinh IFN, sau này thường dùng *E. coli* thay cho nấm men.

Trước đây khi dùng tế bào bạch cầu, mỗi tế bào chỉ tạo 100 – 1000 phân tử IFN, nay sản xuất bằng Công nghệ Sinh học mỗi tế bào có thể cho 200000 phân tử tức là tăng 100 – 1000 lần.

Năm 1982, Trung Quốc đã sản xuất thành công IFN bằng phương pháp công nghệ sinh học.

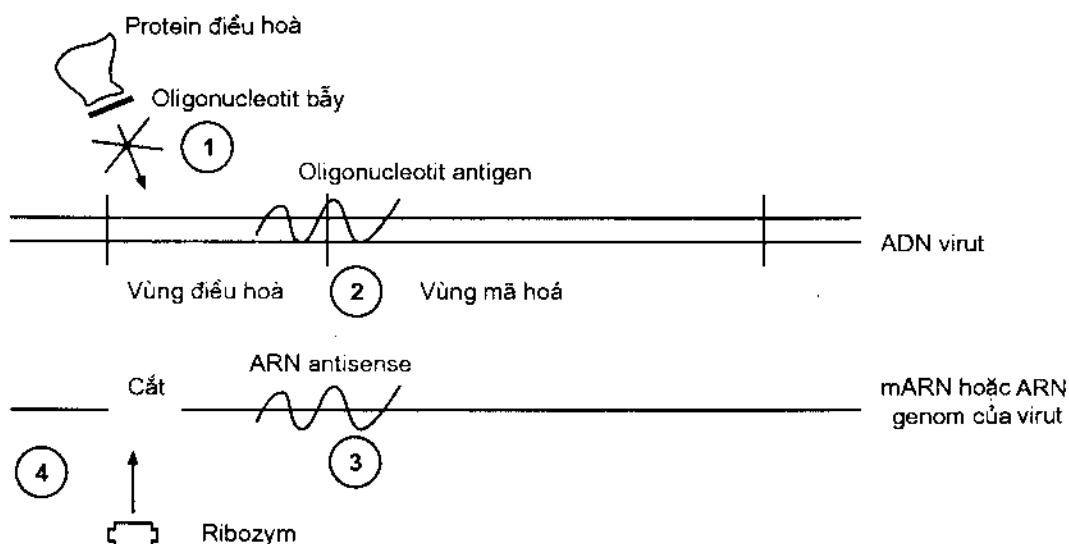
Năm 2000, Việt Nam phối hợp với các nhà khoa học Ucraina đã sản xuất thử thành công IFN –  $\alpha$  tại Viện Vacxin Nha Trang theo công nghệ dùng phage của *E.coli* làm vectơ, do đó việc chiết IFN dễ dàng hơn.

## 8.3. CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN THUỐC MỚI CHỐNG VIRUT

### 8.3.1. Thuốc dựa trên axit nucleic

#### 8.3.1.1. Gen có trình tự nucleotit ngược (đối nghĩa, antisense)

Năm 1981, Tomizawa phát hiện ra một chất ức chế quá trình sao chép gọi là ARN đối nghĩa (antisense RNA). Các mARN được sao chép từ mạch bổ sung với mã của primer nên có trình tự nucleotit ngược (gọi là antisense) (hình 8.5).



**Hình 8.5.** Thử nghiệm thuốc chống virut dựa trên axit nucleic.

1. Bẫy oligonucleotit ; 2. Anti – gen oligonucleotit ; 3. Antisense ; 4. Ribozym

(Theo Harper D.R. Molecular Virology, 2<sup>nd</sup> ed., Springer and Bios Scientific Publisher, 1998)

– ARN antisense có thể bắt cặp với những đoạn ADN tương ứng để ức chế sao chép.

ARN antisense có thể bắt cặp với mRNA để kìm hãm tổng hợp protein. Bằng kỹ thuật tách dòng có thể tạo ra ARN antisense cho một gen nào đó bằng cách quay ngược gen trên vectơ biểu hiện

– Để kìm hãm hoạt động của gen nào đó không đòi hỏi phải có cả phân tử ARN antisense mà chỉ cần một đoạn ngắn gọi là oligonucleotit antisense. Nhiều oligonucleotit antisense được tổng hợp và dùng như một loại thuốc để ức chế gen đích.

Nếu đưa oligonucleotit antisense vào tế bào nhiễm thì chất này sẽ cặp đôi với ARN genom hoặc mRNA của virus và ngăn cản sự nhân lên của virus theo nhiều cách :

+ Làm mất chức năng của ARN vì khoá nó ở dạng sợi đôi nên dễ bị phân giải bởi nucleaza đặc hiệu của tế bào.

+ Bản thân sợi ARN kép là một chất cảm ứng mạnh, tạo thành interferon tại chỗ, có tác dụng ngăn cản sự nhân lên của virus.

Để có ARN antisense có thể đưa trực tiếp oligonucleotit – ARN vào tế bào hoặc đưa một gen tổng hợp vào tế bào, để gen này tổng hợp oligonucleotit – ARN antisense.

Việc sử dụng oligonucleotit không đơn giản vì chúng dễ bị enzym phân giải và vì tế bào khó hấp thụ chúng. Tuy nhiên, nếu có sự cải biến hoá học, chẳng hạn như thay một trong các phân tử photpho trong các nhóm photphat của oligonucleotit bằng lưu huỳnh thì có thể làm cho oligonucleotit kháng lại sự tác động của enzym thuỷ phân và làm tăng nồng độ của nó trong tế bào.

Oligonucleotit cải tiến cũng đã được thử nghiệm dùng làm thuốc chống virus.

### **8.3.1.2. Anti – gen**

Một thử nghiệm tương tự là dùng các oligonucleotit đối gen – antigen (khác với antisense và dùng nhằm với antigen là KN). Anti – gen gắn vào ADN của virus tạo một vùng ngắn mà ở đây ADN xoắn kép trở thành xoắn 3 (triple helix). Vùng này bền do trong oligonucleotit có các bazơ bất thường và do được gắn về mặt hoá học các chất xen vào phân tử ADN (chất này trượt giữa các mặt của sợi xoắn kép). Sự tạo ra cấu trúc này đã ức chế phiên mã cũng như sự tương tác với các protein điều hoà trong vùng xoắn 3.

### **8.3.1.3. ARN – mồi bẫy (decoy RNA)**

Một thử nghiệm khác có triển vọng là đưa gen vào tế bào để tổng hợp các đoạn ARN bẫy (RNA – decoy) ngắn. Các đoạn oligonucleotit này tương ứng với vùng điều hoà nằm trên genom hoặc trên các bản sao genom của HIV. Chúng gắn tương ứng với protein điều hoà và ngăn cản chức năng của các protein này.

Nằm trong vùng ấy có yếu tố TAR (đáp ứng hoạt hoá trans – trans activation response) và phân tử RRE (REV – response). Các protein điều hoà như Tat (protein

hoạt hoá trans) của virus gắn vào vùng TAR trên ADN của virus, ngăn cản sự kết thúc phiên mã, còn protein Rev của virus gắn vào RRE cho phép vận chuyển mRNA. Cả 2 chức năng này rất cần cho sự nhân lên của virus. Nếu làm mất chức năng này virus sẽ không nhân lên được.

**8.3.1.4. Ribozym** là tên ghép giữa hai từ axit ribonucleic và enzym, đó là phân tử ARN có thể tự xúc tác để phân cắt bản thân nó hoặc phân cắt phân tử ARN khác.

Năm 1981, lần đầu tiên người ta phát hiện ra RN – aza P là phân tử enzym có hoạt tính xúc tác phản ứng hoàn thiện tARN mà thành phần ARN của nó là ribozym. Ribozym hoạt động như là một endonucleaza. Có một intron trong rARN của Tetrahymena (1 loại động vật nguyên sinh) có thể tự tách ra khỏi đoạn ARN sao invitro khi không có protein. Quá trình này gọi là tự ghép nối (self – splicing) và đòi hỏi phải có guanosin hoặc chất dẫn xuất đã được phosphoryl hoá dùng làm co – factor.

Trong quá trình sao chép ARN genom của viroít thực vật nhờ polymeraza sẽ liên tục tạo thành phân tử ARN dài gọi là concateme. Sau khi hoàn thành một vòng khuôn, các phân tử này sẽ gấp và tự cắt thành các monome có chiều dài đúng bằng kích thước của genom viroít.

Các nhà nghiên cứu có thể thiết kế các ribozym tổng hợp để cắt các phân tử ARN định hướng thành dạng cis hay trans. Gần đây ribozym được đặc biệt quan tâm để ngăn cản sự nhân lên của virus (hình 8.5).

### **8.3.2. Thuốc có nguồn gốc thảo mộc**

Hội nghị quốc tế gần đây họp tại Yokohama (Nhật Bản) đã nhấn mạnh tầm quan trọng của việc kết hợp nhiều loại thuốc trong điều trị HIV/AIDS. Việc sử dụng các loại thuốc có nguồn gốc thảo mộc góp phần nâng cao hiệu quả điều trị.

Nhiều thử nghiệm đã cho thấy :

- *Prostatin* chiết từ cây *Homolanthus nutans* (họ thầu dầu) mọc trong rừng Samoa (Polynesia) thường dùng để điều trị sốt vàng, trong thành phần có chất kích thích hoạt hoá tế bào T4.

- *Tricosantin* tách từ rễ cây họ bầu bí thường dùng làm thuốc phá thai ở Trung Quốc cũng có khả năng kháng HIV cao.

- *Conocurvon* chiết được từ một cây họ Bầu bí (*Conospermum*) có hoạt tính kháng HIV rất cao. Tuy nhiên, hàm lượng trong cây rất thấp, 0,0022%

- *Calanolit A* chiết từ cành và quả của cây *Calophyllum lanigerum* mọc ở Malaysia và cây tương tự là *Calophyllum teysmanni* cho chất costatolit, nhưng hoạt tính chống HIV chỉ bằng 1/3 calanolit A.

Các chất đang được nghiên cứu nhiều nhất là tricosantin, hyperixin (cây *Hypericum*) và catanospermin.

Các thuốc thảo mộc thu hái trong rừng ngày một cạn. Cây *Calophyllum lanigerium* ở Malaysia cũng không còn tìm thấy nữa. Do vậy, công tác bảo tồn nguồn thuốc thảo mộc thiên nhiên là trách nhiệm của mọi dân tộc và phải được coi là tài sản của cả nhân loại.

## 8.4. CƠ CHẾ KHÁNG THUỐC CỦA VIRUT

Cũng như các cơ thể sinh vật khác, trong quá trình tiến hoá, virus luôn biến đổi để thích nghi với điều kiện môi trường bất lợi. Do virus có cấu tạo rất đơn giản và sự nhân lên hoàn toàn phụ thuộc vào tế bào nên tần số đột biến của virus rất cao.

Vấn đề kháng thuốc của virus đã gây trở ngại rất lớn cho công tác điều trị. Tính kháng thuốc có thể xuất hiện sau một thời gian dùng thuốc nhưng thậm chí có thể chỉ sau một lần dùng thuốc và tính chất này lại được truyền cho thế hệ sau. Cơ sở của sự biến đổi di truyền tính kháng thuốc ở virus dựa vào 2 quá trình khác nhau: Đột biến và chọn lọc, trong đó môi trường luôn đóng vai trò quan trọng như là chất cảm ứng gây đột biến cũng như yếu tố chọn lọc.

Virus *herpes* kháng acyclovir là do thiếu hoặc do biến đổi cấu trúc enzym timidinkinaza.

Virus kháng gancyclovir là do chúng làm giảm mức độ phosphoryl hoá bên trong tế bào bị nhiễm. Nguyên nhân là do có sự thay đổi cấu trúc của các enzym photphotransferaza và ADN polymeraza của virus.

Virus HIV kháng lại zidovudin rất nhanh chóng do có đột biến gen mã cho enzym phiên mã ngược, dẫn đến làm giảm ái lực của enzym này với zidovudin.

Nevirapin cũng bị virus kháng lại rất nhanh, thậm chí chỉ sau vài tuần sử dụng là do có **đột biến điểm** làm thay đổi cấu trúc của các đoạn enzym phiên mã ngược tương tác với chế phẩm cytozinarabinozit (ara - C) và ribavirin có phổ tác dụng rộng tấn công vào các giai đoạn khác nhau của quá trình trao đổi chất của tế bào, do đó cho đến nay chưa thấy xuất hiện virus kháng lại các thuốc này.

Để khắc phục tình trạng trên, giới y học đã có đối sách sau:

- Phối hợp nhiều loại thuốc có cơ chế tác dụng khác nhau (đa trị liệu) theo kiểu rượu cocktail.

- Sử dụng loại thuốc tác động vào giai đoạn sớm trong quá trình nhân lên của virus.

Các công ty dược phẩm cũng đã cho ra đời nhiều loại chế phẩm thương mại dạng hỗn hợp để trị HIV như combivir (AZT + lamivudin), videx (DDI + idanosin), zerit (stavudin + D4T).

## 8.5. VACCIN CHỐNG VIRUT

Kể từ khi Edward Jenner (1749 – 1823) tìm ra phương pháp chủng mủ đậu bò cho người để phòng bệnh đậu mùa đến nay đã hơn 200 năm. Ngày nay, vaccin được coi là

thành tựu vĩ đại nhất của y học hiện đại. Công tác tiêm chủng đã được thực hiện ở tất cả các quốc gia và đã thực sự trở thành tấm lá chắn để chống nhiều bệnh do virus gây ra. Nhờ có vaccin mà hàng trăm triệu người trên thế giới đã thoát khỏi bệnh tật và thân chết. Thế nhưng vẫn còn nhiều bệnh hiểm nghèo do virus gây ra chưa tìm được vaccin dự phòng.

Vaccin là chế phẩm KN gây trạng thái MD mà không gây bệnh. Vaccin dùng để kích thích ĐUMD nguyên phát (đáp ứng lần 1) làm tăng tế bào nhớ và khả năng ĐUMD nhớ khi tiếp xúc với KN ấy trong tương lai. KN trong vaccin không cần gắn với tác nhân gây bệnh thực sự mà chỉ cần kích thích cơ thể sản xuất KT hoặc xytokin. KT hoặc tế bào T sản sinh cytokin sẽ phản ứng với KN gắn với tác nhân gây bệnh thực sự.

Đa số các vaccin vẫn được sản xuất theo phương pháp truyền thống, một số vaccin thế hệ mới như vaccin tái tổ hợp, vaccin dựa trên axit nucleic cũng đang được thử nghiệm và bắt đầu đưa vào sản xuất. Hiện nay có 4 loại vaccin :

- Vaccin giảm độc lực (attenuated) sử dụng virus sống.
- Vaccin bất hoạt (inactivated) sử dụng virus chết.
- Vaccin từng phần hay vaccin dưới đơn vị (subunit) sử dụng protein tinh sạch hoặc glycoprotein của virus.
- Vaccin tạo dòng (cloned) sử dụng peptit KN do các gen tạo dòng của virus mã hoá, trong đó có vaccin dựa trên ADN.

### **8.5.1. Vaccin giảm độc lực**

Đa số các vaccin giảm độc lực là vaccin chống virus. Người ta tuyển chọn các virus đã đột biến cho nhân lên nhiều lần trong tế bào nuôi cấy ở nhiệt độ thấp. Ví dụ, vaccin Sabin dạng uống chống bệnh bại liệt là loại điển hình của vaccin sống giảm độc lực được sản xuất từ những năm 1950. Đó là hỗn hợp gồm 3 serotyp virus *polio* khác nhau về di truyền, có khả năng nhân lên trong tuyến nước bọt và đường tiêu hoá nhưng không xâm nhập được vào mô thần kinh nên không gây chứng bại liệt. Virus được làm giảm độc lực bằng cách cấy truyền liên tục trong tế bào thận khỉ. Vaccin này rất ổn định và gây MD kéo dài. Virus xâm nhập vào tế bào màng nhày và ống tiêu hoá nên kích thích tạo IgA. Từ năm 1963 vaccin đã được đưa vào chương trình tiêm chủng mở rộng ở phạm vi toàn cầu.

Tương tự như vậy các vaccin sởi, quai bị, sởi Đức (rubella) và sốt vàng cũng dùng các chủng virus giảm độc lực. Ưu, khuyết điểm của các loại vaccin được tóm tắt trong bảng 8.1.

**Bảng 8.1. ƯU ĐIỂM VÀ NHƯỢC ĐIỂM CỦA CÁC LOẠI VACXIN ĐANG LƯU HÀNH**

| Loại vacxin                | Ưu điểm                                                                                                                                                             | Nhược điểm                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Vacxin giảm độc lực (sống) | Đơn giản, dễ sản xuất<br>Giá thành rẻ, tương đối ổn định<br>Gây MD kéo dài<br>Không cần tiêm nhiều lần                                                              | Có thể gây bệnh nhẹ<br>Có thể chuyển thành dạng gây bệnh<br>Virus có thể bị chết cần bảo quản lạnh<br>Có thể bị nhiễm virus.<br>Chứa genom virus có thể gây bệnh hoặc ung thư.                                         |
| Vacxin bất hoạt (chết)     | Đơn giản, dễ sản xuất.<br>Giá thành rẻ, ổn định.<br>Không cần bảo quản lạnh.<br>Khả năng nhiễm virus sống rất ít                                                    | Cần nuôi tạo lượng virus lớn, có thể cần tá chất hỗ trợ.<br>Tinh MD có thể không cao<br>Có thể phải tiêm nhắc lại nhiều lần.<br>Chứa genom virus có thể gây bệnh hoặc ung thư.                                         |
| Vacxin từng phần tinh sạch | Gây ĐUMD định hướng với từng phần của virus.<br>Không trở lại thành virus để lây nhiễm<br>Khả năng nhiễm virus sống thấp<br>Ổn định, có thể không cần bảo quản lạnh | Sản xuất phức tạp, cần chất hỗ trợ<br>Giá thành thường cao<br>Cần hệ thống nuôi để thu lượng virus lớn<br>Tinh MD có thể không cao<br>Có thể phải tiêm nhắc lại nhiều lần<br>Có thể chứa cả hạt virus hoặc genom virus |
| Vacxin tách dòng           | Gây ĐUMD định hướng với từng phần của virus.<br>Không trở lại thành virus để lây nhiễm<br>Khả năng nhiễm virus sống thấp<br>Ổn định, có thể không cần bảo quản lạnh | Nghiên cứu phức tạp, chi phí cao<br>Cần chất hỗ trợ<br>Tinh MD có thể không cao<br>Có thể cần tiêm nhắc lại nhiều lần                                                                                                  |

### 8.5.2. Vacxin bất hoạt hay vacxin chết

Virus được giết chết bằng hoá chất để chúng không còn khả năng nhân lên nữa. Ví dụ, điển hình là vacxin chống bại liệt Salk dạng tiêm. Vacxin chứa 3 serotyp virus *polio* nuôi cấy mô, làm bất hoạt bằng  $\beta$  – propiolacton hoặc formalin. Hai liều 1ml tiêm bắp hoặc tiêm dưới da cách nhau 3 năm sau đó được tiêm nhắc lại 2 liều nữa. Vacxin chết an toàn vì virus không nhân lên được nhưng lượng KN cũng không tăng lên. Muốn có mức IgG cao thì phải tiêm nhắc lại nhiều lần nên cũng gây phiền phức.

Vacxin đại được sản xuất từ não cừu nhiễm virus dại. Dung dịch não 4% chứa virus được làm bất hoạt bằng dung dịch phenol 0,5% ở 37°C. Có thể cấy virus vào phôi vịt và

làm bất hoạt bằng  $\beta$  – propiolacton (BPL). Hiện nay virus được cấy vào tế bào nuôi cấy mô.

**8.5.3. Vacxin từng phần** là vacxin không dùng toàn bộ hạt virion mà chỉ dùng một vài thành phần của virion. Ví dụ, dùng protein capsit hay glycoprotein vỏ ngoài, do đó còn gọi là vacxin dưới hạt (subvirion) hay dưới đơn vị (subunit). Sở dĩ không dùng virus nguyên vẹn là vì các lý do sau :

- Nhiều loại virus không có khả năng nhân lên trong các tế bào nuôi cấy (virus viêm gan B).
- Một số virus được coi là rất nguy hiểm nên không đảm bảo an toàn khi sản xuất, kể cả vacxin sống lẫn vacxin chết (ví dụ HIV).
- Một số vacxin nguyên vẹn có thể ảnh hưởng đến cơ thể do gây phản ứng phụ (vacxin cúm).

Các protein capsit hoặc glycoprotein vỏ ngoài (gp120 của virus HIV hoặc hemagglutinin của virus cúm) thường gắn vào receptor trên bề mặt tế bào. Chúng có thể thu được từ huyết tương bệnh nhân sau đó làm bất hoạt (ví dụ HBsAg) hoặc có thể sản xuất được bằng kỹ thuật tái tổ hợp ADN (HBsAg).

#### **8.5.4. Vacxin tạo dòng**

Gen mã hoá cho một KN của virus gây bệnh cũng có thể được tách rời đưa vào vật chủ thông qua vectơ là plasmit hay virus (virus *vaccinia*). Virus nhân lên và biểu hiện KN là sản phẩm của gen tạo dòng. Ví dụ, trước đây để sản xuất vacxin viêm gan B người ta phải dùng huyết tương của người bị viêm gan B mãn tính làm nguyên liệu để tách tinh sạch KN bề mặt HBsAg. Vacxin này rất đắt tiền song với chiến lược tiêm phòng vacxin như hiện nay thì nguồn cung cấp huyết tương không thể đáp ứng, hơn nữa việc thanh lọc để loại tác nhân gây bệnh ra khỏi huyết tương là rất phức tạp, nếu không cẩn thận có thể gây hậu quả khôn lường.

Phương pháp mới là sản xuất vacxin viêm gan B tái tổ hợp. Gen mã cho HBsAg được tách bằng enzym giới hạn sau đó gắn vào plasmit. Biến nạp plasmit tái tổ hợp vào *E.coli* rồi chuyển vào *Pichia pastoris* (có hăng dùng *Saccharomyces cerevisiae*). KN này có khả năng đáp ứng MD bảo vệ mà không gây bệnh. Do sản xuất ở quy mô công nghiệp nên giá thành rẻ. Ở Mỹ trước kia một liều 100USD thì nay chỉ còn vài USD. Ở Việt Nam, Viện Vệ sinh Dịch tễ học Hà nội cũng bắt đầu nghiên cứu sản xuất loại vacxin này.

Virus *vaccinia* là virus thuộc chi *Orthopoxvirus* có nguồn gốc từ virus đậu bò (*cowpox*), đã được sử dụng trong một thời kỳ lịch sử dài làm vacxin chống bệnh đậu mùa (*smallpox*). Virus *vaccinia* có khả năng nhiễm vào nhiều loại vật chủ nhưng không gây bệnh và có khả năng nhân lên trong nhiều loại tế bào nuôi cấy, thậm chí vào nhiều dòng tế bào mà ở đó chúng không hoàn thiện được chu trình nhân lên, do đó tế bào không bị tan nên rất thuận tiện để làm vectơ. Virus *vaccinia* tái tổ hợp có thể biểu hiện gen sớm tạo ra protein KN (ví dụ KN bề mặt của virus viêm gan B – HBsAg). KN này kích thích lâu dài ĐƯMD qua trung gian tế bào.

### 8.5.5. Vacxin dựa trên ADN

Gen mã hoá cho KN của virus gây bệnh được tạo dòng rồi gắn vào plasmit. Đưa plasmit tái tổ hợp vào cơ thể bằng cách vi tiêm hoặc bằng súng bắn gen.

- Thường được tiêm vào cơ thể để đưa gen trực tiếp vào một số tế bào và các tế bào xung quanh mũi tiêm cũng có thể hấp thụ được gen.

- Súng bắn gen dùng để bắn plasmit vào tế bào nằm trên bề mặt của cơ thể (qua da và niêm mạc) nhờ sử dụng tốc độ cao của vi đạn đạo (microprojectile giống như tên lửa đẩy). Vi đạn là các hạt vàng hay vonfram có kích thước cực nhỏ (1 – 4nm) được bao bọc bởi ADN và được gắn vào viên đạn lớn. Khi bắn, ngòi nổ làm thuốc cháy tạo áp lực lớn đẩy viên đạn lớn đi với vận tốc cao trong nòng. Đầu súng có tấm chắn, ở giữa có lỗ, ngăn không cho viên đạn lớn ra khỏi nòng nhưng đẩy được vi đạn bắn ra qua lỗ theo hình loe.

- Khi đạn ở trong tế bào, các plasmit tái tổ hợp chui vào nhân phiên mã rồi chui qua màng nhân để tổng hợp protein KN trên riboxom của tế bào. Protein KN có thể chui qua màng ra khỏi tế bào để trở thành KN tự do kích thích ĐUMD thể dịch (sản xuất KT) hoặc được chế biến, phân cắt bên trong tế bào thành các peptit rồi đưa ra bề mặt tế bào để kích thích ĐUMD qua trung gian tế bào (thông qua tế bào T độc).

- Vacxin dựa trên ADN rất an toàn vì gen độc được loại trừ, hiệu lực ổn định và dễ bảo quản, nên thuận tiện cho sử dụng ở các vùng sâu vùng xa.

- Có thể thiết kế một loại vacxin đa giá do trên cùng một plasmit chứa nhiều gen mã hoá cho các protein KN khác nhau. Vacxin này sẽ rất tuyệt vời vì có thể đơn giản hoá được tiến trình tiêm chủng mở rộng.

Hội nghị bàn về vacxin chống HIV diễn ra hồi đầu năm 2001 tại Philadelphia (Mỹ) cho thấy công cuộc nghiên cứu chế ngự AIDS đã thu được kết quả nhảy vọt. Nhiều loại vacxin đang được thử nghiệm trên người, trong đó đáng chú ý là vacxin dựa trên ADN đã tỏ ra có khả năng tăng cường MD đáng kể nơi người sử dụng. Chắc chắn không bao lâu nữa bệnh AIDS sẽ không còn là mối hiểm hoạ lớn nhất của loài người.

Người đặt nền móng cho việc nghiên cứu và sản xuất vacxin ở Việt Nam là Yersin, học trò xuất sắc của Louis Pasteur, người bạn của nhân dân Việt Nam. Ông đã thành lập Viện Pasteur Việt Nam – chi nhánh hải ngoại đầu tiên của Viện Pasteur Paris tại Đà Lạt.

Trải qua nhiều bước thăng trầm của lịch sử, trong bối cảnh của nền kinh tế gặp rất nhiều khó khăn, việc nghiên cứu và sản xuất vacxin đã không những phát triển mà còn đạt được những tiến bộ đáng khâm phục. Trong số 10 KN dùng cho tiêm chủng mở rộng hiện nay thì Việt Nam đã sản xuất được 9 loại. UNICEF đánh giá Việt Nam là nước đứng hàng thứ hai trên thế giới về thành tích tiêm chủng mở rộng. Năm 2000, Phó chủ tịch nước Nguyễn Thị Bình đã trình trọng tuyên bố trước thế giới : Việt Nam đã thanh toán xong bệnh bại liệt. Khó khăn còn nhiều nhưng những gì Yersin mơ ước đang được thực hiện.



## B - PHẦN CHUYÊN ĐỀ

### CÁC VIRUT GÂY BỆNH Ở NGƯỜI VÀ ĐỘNG VẬT

**Bảng B.1. ĐẶC ĐIỂM VIRUT ADN GÂY BỆNH CHO NGƯỜI**

| Họ virut                | Số sợi ARN           | Vỏ ngoài | Capsit   | Kích thước $\Phi$ (nm) | Chi đại diện (bệnh)                                                                                                                                                                                                                              |
|-------------------------|----------------------|----------|----------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Poxviridae</i>       | Kép                  | +        | Phức tạp | 200 – 300              | <i>Orthopoxvirus</i> (đậu mùa)                                                                                                                                                                                                                   |
| <i>Herpesviridae</i>    | Kép                  | +        | Đa diện  | 150 – 200              | <i>Simplexvirus</i> (HSV – 1)<br><i>Varicellovirus</i> (thủy đậu)<br><i>Cytomeganovirus</i> (khuyết tật bẩm sinh)<br><i>Lyphocryptovirus</i> – EBV (bạch cầu đơn nhân gây nhiễm, u Burkitt)<br><i>Roseolovirus</i> (HHV – 6) (ban đào – roseola) |
| <i>Papillomaviridae</i> | Kép                  | –        | Đa diện  | 45 – 55                | <i>Papillomavirus</i> (mụn cóc, ung thư cổ tử cung, ...)                                                                                                                                                                                         |
| <i>Polyomaviridae</i>   | Kép                  | –        | Đa diện  | 45 – 55                | <i>Polyomavirus</i> (bệnh não bạch cầu nhiều ổ tiến triển)                                                                                                                                                                                       |
| <i>Adenoviridae</i>     | Kép                  | –        | Đa diện  | 60 – 90                | <i>Mastadenovirus</i> (viêm họng, viêm kết mạc)                                                                                                                                                                                                  |
| <i>Hepadnaviridae</i>   | Kép, có một phần đơn | +        | Đa diện  | 42                     | <i>Orthohepadnavirus</i> (viêm gan B)                                                                                                                                                                                                            |
| <i>Parvoviridae</i>     | Đơn                  | –        | Đa diện  | 18 – 26                | <i>Erythrovirus</i> (B19)                                                                                                                                                                                                                        |

**Bảng B.2. ĐẶC ĐIỂM VIRUT ARN GÂY BỆNH CHO NGƯỜI**

| Họ virus                | Số sợi ARN            | Vỏ ngoài | Capsit  | Kích thước $\Phi$ (nm) | Chi đại diện (bệnh)                                                                                                                                           |
|-------------------------|-----------------------|----------|---------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Picornaviridae</i>   | Đơn, (+)              | –        | Đa diện | 22 – 30                | <i>Enterovirus</i> (bại liệt)<br><i>Rhinovirus</i> (cảm lạnh thường)<br><i>Hepatovirus</i> (viêm gan A)                                                       |
| <i>Caliciviridae</i>    | Đơn, (+)              | –        | Đa diện | 35 – 40                | <i>Norovirus</i> (viêm dạ dày – ruột cấp)                                                                                                                     |
| <i>Hepeviridae</i>      | Đơn, (+)              | –        | Đa diện | 27 – 34                | <i>Hepevirus</i> (viêm gan E)                                                                                                                                 |
| <i>Astroviridae</i>     | Đơn, (+)              | –        | Đa diện | 30                     | <i>Astrovirus</i> (viêm dạ dày – ruột)                                                                                                                        |
| <i>Flaviviridae</i>     | Đơn, (+)              | +        | Đa diện | 37 – 50                | <i>Flavivirus</i> (sốt vàng, viêm não Nhật Bản, sốt Denge, ...)<br><i>Hepevirus</i> (viêm gan C)                                                              |
| <i>Togaviridae</i>      | Đơn, (+)              | (+)      | Đa diện | 50 – 70                | <i>Rubivirus</i> (rubella)                                                                                                                                    |
| <i>Coronaviridae</i>    | Đơn, (+)              | +        | Xoắn    | 80 – 160               | <i>Coronavirus</i> (cảm thường, SARS, ...)                                                                                                                    |
| <i>Retroviridae</i>     | Đơn, (+)<br>2 đoạn    | +        | Đa diện | 80 – 100               | <i>Deltaretrovirus</i> (bệnh bạch cầu)<br><i>Lentivirus</i> (AIDS)                                                                                            |
| <i>Paramyxoviridae</i>  | Đơn, (–)              | +        | Xoắn    | 125 – 250              | <i>Paramyxovirus</i> (cảm lạnh, nhiễm đường hô hấp)<br><i>Pneumovirus</i> (viêm phổi, cảm lạnh)<br><i>Morbillivirus</i> (sởi)<br><i>Rubulavirus</i> (quai bị) |
| <i>Filoviridae</i>      | Đơn, (–)              | +        | Xoắn    | 790 – 970              | <i>Filovirus</i> (Ebola, Marburg)                                                                                                                             |
| <i>Rhabdoviridae</i>    | Đơn, (–)              | +        | Xoắn    | 75 x 130 – 240         | <i>Lyssavirus</i> (dại)                                                                                                                                       |
| <i>Orthomyxoviridae</i> | Đơn, (–)              | +        | Xoắn    | 80 – 120               | <i>Influenzavirus</i> (cúm)                                                                                                                                   |
| <i>Bunyaviridae</i>     | Đơn, (–)<br>phân đoạn | +        | Xoắn    | 90 – 100               | <i>Bunyavirus</i> (viêm não)<br><i>Hantavirus</i> (viêm phổi)                                                                                                 |
| <i>Arenaviridae</i>     | Đơn, (–)<br>phân đoạn | +        | Xoắn    | 50 – 300               | <i>Lassavirus</i> (sốt xuất huyết)<br><i>Deltavirus</i> (viêm gan D)                                                                                          |
| <i>Reoviridae</i>       | Kép,<br>phân đoạn     | –        | Đa diện | 78 – 80                | <i>Rotavirus</i> (tiêu chảy)<br><i>Coltivirus</i> (sốt Coloradodove)                                                                                          |

**Bảng B.3. CÁC THỤ THỂ CỦA TẾ BÀO DÀNH CHO VIRUT GÂY BỆNH Ở NGƯỜI**

| Họ                      | Virut đại diện              | Thụ thể của tế bào                                    |
|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------|
| <i>Adenoviridae</i>     | <i>Adeno typ 2</i>          | Integrin $\alpha_v \beta_3$ & $\alpha_v \beta_5$      |
| <i>Coronaviridae</i>    | <i>Corona 229 E ở người</i> | Amino peptidaza N                                     |
|                         | <i>Corona OC 43 ở người</i> | Axit N – axetyl – 9 – axetyl neuraminic               |
| <i>Hepadnaviridae</i>   | Virut viêm gan B            | Thụ thể dành cho IgA                                  |
| <i>Herpesviridae</i>    | <i>Herpes simplex</i>       | Heparan sulphat proteoglycan + mannoza – 6 – photphat |
|                         | <i>Varicella zoster</i>     | Heparan sulphat proteoglycan                          |
|                         | <i>Cytomegalo</i>           | Heparan sulphat proteoglycan + thụ thể bậc 2          |
|                         | <i>Epstein – Barr</i>       | Receptor dành cho bề mặt CD21 (CR2)                   |
|                         | <i>Herpes 7 ở người</i>     | Dấu ấn glycoprotein của tế bào T4 (CD4)               |
| <i>Orthomyxoviridae</i> | Cúm A                       | Neu – 5 – Ac (axit neuraminic) ở nhóm glycosyl        |
|                         | Cúm B                       | Neu – 5 – Ac (axit neuraminic) ở nhóm glycosyl        |
|                         | Cúm C                       | Axit N – axetyl – 9 – 0 axetyl neuraminic             |
| <i>Paramyxoviridae</i>  | Sởi                         | Protein điều hoà bề mặt CD46 (MCP)                    |
| <i>Picornaviridae</i>   | <i>ECHO – 1</i>             | Integrin VLA – 2 ( $\alpha_2 \beta_1$ )               |
|                         | <i>Polio</i>                | Protein họ IgG                                        |
|                         | <i>Rhino</i>                | Phân tử bám ICAM – 1                                  |
| <i>Poxviridae</i>       | <i>Vaccinia</i>             | Thụ thể của yếu tố sinh trưởng biểu bì                |
| <i>Reoviridae</i>       | <i>Reo serotyp 3</i>        | Thụ thể adrenalin $\beta$                             |
| <i>Retroviridae</i>     | HIV                         | Glycoprotein CD4 của tế bào T                         |

## VIRUT ADENO, HỌ ADENOVIRIDAE

### 9.1. GIỚI THIỆU

Họ *Adenoviridae* bao gồm các virus *adeno* chứa ADN chuỗi kép, capsit hình khối đa diện, không có vỏ ngoài. Virus này được bắt đầu nghiên cứu từ năm 1953 khi Rowe và Huebner phân lập từ hạch hạnh nhân (*adenoid*) bị cắt bỏ trong ca phẫu thuật của một đứa trẻ, vì thế nên được gọi là virus *adeno*. Thuật ngữ *adeno* bắt nguồn từ tiếng Hy Lạp "aden" có nghĩa là tuyến. Tất cả các virus nhân lên được trong tế bào nuôi cấy in vitro hạch hạnh nhân đều được gọi là virus *adeno*. Virus *adeno* thường đặc hiệu với một số loài vật chủ có quan hệ gần gũi, gây nhiễm tiềm ẩn đường hô hấp trên tạo ra triệu chứng giống như cảm lạnh. Đôi khi virus gây viêm phổi nghiêm trọng ở trẻ em, một số ít gây nhiễm mắt. Một số trường hợp nhiễm ở trẻ em nhưng không biểu hiện triệu chứng. Một số có khả năng tạo khối u khi tiêm vào lợn gặm nhấm nhưng lại không tạo khối u ở điều kiện tự nhiên. Khi nhiễm vào tế bào nuôi cấy mô sẽ gây huỷ hoại tế bào (CPE). Một số có khả năng gây ngưng kết hồng cầu.

Virus *adeno* có dạng hình khối đa diện 20 mặt đối xứng điển hình. Virion có đường kính 70 – 90nm. Lõi ADN liên kết với protein VP – VII. Capsit được cấu tạo bởi 252 capsome và 240 hexon. Mỗi capsome lại được bao quanh bởi 6 capsome khác và 12 penton (mỗi penton có 5 hexon ở mỗi đỉnh). Mỗi penton gắn với một sợi glycoprotein đỉnh (virus ở động vật có vú) hoặc hai sợi (virus ở chim). Đầu sợi phồng lên dạng cầu với đường kính 4nm, đóng vai trò ngưng kết hồng cầu và là nơi gắn thụ thể của tế bào miễn dịch.

Genom ADN kép, dạng thẳng, có kích thước 33 – 45kbp, liên kết với protein ở đầu 5'. Ở đầu chuỗi ADN có đoạn lặp lại ngược chiều (ITR – inverted terminal repeat). Genom mã hoá cho một lượng lớn protein cấu trúc và không cấu trúc. Protein cấu trúc gồm 10 phân tử trong đó 3 phân tử polypeptit tạo hexon, 1 phân tử polypeptit tạo penton và 1 phân tử glycoprotein tạo sợi đỉnh. Cả 5 phân tử này nằm trên bề mặt hạt virus còn các protein khác nằm bên trong hạt.

KN của virus *adeno* rất phức tạp, 3 KN chính là penton, hexon và sợi. Các đơn vị penton và sợi mang KN đặc hiệu typ. KT trong huyết thanh sẽ tương tác với các KN này trong phản ứng trung hoà và ức chế ngưng kết hồng cầu. Các đơn vị hexon mang quyết định KN đặc hiệu nhóm. Chúng tương tác với KT trong phản ứng kết hợp bổ thể. KN này dùng để phát hiện virus *adeno* và KT do chúng tạo thành.

Khi cho virus *adeno* nhân lên trong tế bào nuôi cấy còn phát hiện nhiều KN không mang tính nhiễm. Các KN này có vai trò nhất định trong xác định typ và nhóm.

## 9.2. PHÂN LOẠI

Họ *Adenoviridae* gồm 2 chi : *Mastadenovirus* gây nhiễm ở động vật có vú, kể cả người và *Aviadenovirus* gây nhiễm ở chim. Hai chi này hoàn toàn khác nhau về KN. Các virus *adeno* ở người được chia thành 6 chi phụ (ký hiệu từ A đến F) dựa vào tính tương đồng của ADN. Theo định nghĩa, các virus có phân tử ADN tương đồng trên 50% thì thuộc cùng một chi phụ, nếu tính tương đồng nhỏ hơn 20% thì virus thuộc các chi phụ khác nhau.

Ở mỗi chi phụ, các serotyp virus *adeno* được xác định chéo nhờ phản ứng trung hoà. Cho đến nay, người ta đã phát hiện ra 47 typ ở người trong đó các typ từ 40 – 47 chỉ mới phát hiện trong 20 năm trở lại đây. Có thể còn nhiều typ khác chưa được phát hiện. Một số nhà virus học thích phân loại theo loài hơn là theo serotyp nhưng trong lâm sàng, người ta lại thích phân loại theo typ hơn. Vì thế trong chương này, chúng tôi sử dụng thuật ngữ serotyp.

## 9.3. QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN CỦA VIRUS ADENO

Sau khi gắn sợi glycoprotein dính vào thụ thể của tế bào, virus xâm nhập vào tế bào theo kiểu nhập bào. Protein capsit bị phân giải trong tế bào chất, gắn màng nhân, còn lõi lọt vào trong nhân để bắt đầu sao chép trong nhân. ADN virus chuyển thành dạng ADN – histon.

Quá trình phiên mã được thực hiện nhờ ADN – polymeraza của tế bào chủ và do đó tạo thành một số bản phiên mã. Các bản phiên mã này thực hiện quá trình ghép nối, loại bỏ intron, gắn mũ và đuôi poly A để tạo thành các mARN khác nhau.

- Các gen sớm (các vùng E1a, E1b, E2a, E3 và E4) biểu hiện trước khi sao chép ADN.

- Các gen muộn (các vùng L1, L2, L3, L4 và L5) chỉ biểu hiện sau khi khởi đầu sao chép ADN.

- Các gen trung gian (các vùng E2b và IV92) có thể được biểu hiện khi có hoặc không tổng hợp ADN.

Vùng E1a mã hoá cho protein điều hoà hoạt động của các gen sớm khác đồng thời tham gia vào biến nạp. Các bản phiên mã ARN được gắn mũ và đuôi để vận chuyển ra tế bào chất làm nhiệm vụ dịch mã.

Quá trình sao chép ADN cần phải có protein ở đầu chuỗi (TP – terminal protein), ADN – polymeraza và một số protein khác của virus và của tế bào. Đầu tiên protein TP được tổng hợp dưới dạng tiền chất của TP (pre TP), có khối lượng phân tử 80000 sau đó liên kết với các sợi ADN mới tạo thành, được coi là chất mồi để bắt đầu tổng hợp ADN, đến giai đoạn lắp ráp sẽ bị phân giải thành TP trưởng thành có khối lượng phân tử 55000.

Về nguyên tắc, sự khởi đầu sao chép ADN chuỗi kép, dạng thẳng có thể tiến hành ở một trong hai đầu hoặc đồng thời cả hai đầu nhưng ở virus *adeno* thì chỉ được bắt đầu sao chép từ một đầu. Hai sợi được sao không đồng thời. Đầu tiên, hai sợi của chuỗi ADN kép được tách ra, sợi (+) được dùng làm khuôn để tổng hợp sợi (-) bổ sung. Sản phẩm thu được là một chuỗi kép và một chuỗi đơn (-). Chuỗi đơn (-) có hai đầu lặp lại và trái chiều nên có thể bắt cặp và khép vòng, rồi sau đó một sợi (+) bổ sung sẽ được tổng hợp từ đầu 3'. Kết quả là tạo thành một chuỗi kép mới. Cơ chế này rất đáng chú ý vì nó không cần tổng hợp các đoạn Okazaki trên sợi mồi như trong trường hợp sao chép ADN thông thường.

Sau sao chép ADN là quá trình tổng hợp protein mồi mà chủ yếu là protein cấu trúc. Quá trình này xảy ra trong tế bào chất. Các protein cấu trúc sau khi được tổng hợp sẽ được vận chuyển vào nhân. Tại đây, chúng tự lắp ráp tạo thành vỏ capsit, sau đó ADN được đóng gói trong vỏ để tạo virion hoàn chỉnh. Hàng nghìn virus được tích lũy, tế bào ngừng hoạt động và tan rã, virus ổ ạt chui ra ngoài.

#### 9.4. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG

Bảng 9 trình bày một số bệnh do virus thuộc các serotyp chính gây nên. Tuy nhiên đây chỉ là một phần trong toàn bộ các bệnh dịch do virus *adeno* gây ra. Phần lớn các bệnh lây nhiễm do virus *adeno* có thể không chẩn đoán được vì hai lý do chính. Thứ nhất là không biểu hiện triệu chứng. Thứ hai là quá trình lây nhiễm và nhân lên của virus không đi kèm với dịch bệnh. Chẳng hạn như một lượng lớn serotyp được phân lập từ phân của bệnh nhân không biểu hiện triệu chứng bệnh đường ruột, bên cạnh đó trẻ em mang amidan chứa virus trong một thời gian dài cũng khá phổ biến. Tuy nhiên một số trường hợp nhiễm virus *adeno* lại có các hội chứng rõ ràng.

**Bảng 9. CÁC BỆNH LIÊN QUAN ĐẾN SEROTYP CỦA VIRUT ADENO**

| STT | Tên bệnh                                              | Đối tượng bị nhiễm                                                                              | Serotyp liên quan |
|-----|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 1   | Sốt viêm họng cấp :<br>– Bệnh địa phương<br>– Dịch    | Trẻ nhỏ, thiếu niên                                                                             | 1, 2, 5, 6        |
|     |                                                       | Trẻ nhỏ, thiếu niên                                                                             | 3, 4, 7           |
| 2   | Viêm mũi họng kết mạc                                 | Trẻ ở tuổi đi học                                                                               | 3, 7              |
| 3   | Bệnh đường hô hấp cấp                                 |                                                                                                 | 4, 7, 14, 21      |
| 4   | Viêm phổi                                             | Trẻ em                                                                                          | 1, 2, 3, 7        |
| 5   | Viêm kết mạc hạch                                     | Các lứa tuổi                                                                                    | 3, 4, 11          |
| 6   | Dịch viêm giác – Kết mạc                              | Người lớn                                                                                       | 8, 19, 37         |
| 7   | Haemorrhagic cystitis<br>(Viêm bàng quang xuất huyết) | Trẻ nhỏ, thiếu niên                                                                             | 11, 21            |
| 8   | Tiêu chảy, nôn mửa                                    | Trẻ nhỏ, thiếu niên                                                                             | 40, 41            |
| 9   | Nhiễm rải rác                                         | Ở người suy giảm MD. Ví dụ :<br>bệnh nhân AIDS, người ghép tạng<br>(thận, tim, phổi, tủy xương) | 5, 34, 35, 43, 47 |

#### **9.4.1. Bệnh đường hô hấp**

Virut *adeno* thường gây bệnh đường hô hấp trên ở thể nhẹ với các triệu chứng như : sốt, chảy nước mũi và ho. Hầu hết các bệnh này là do các typ từ 1 đến 7 gây nên. Các typ 1, 2, 5, và 6 thường liên quan đến quá trình lây nhiễm khu vực ; còn các typ 3, 4, và 7 thường gây nên các dịch bệnh. Nhìn chung, các bệnh này ít gây nguy hiểm nhưng ở một số ít trường hợp có thể tiến triển tới viêm phổi, đặc biệt là ở trẻ nhỏ. Ở trẻ lớn hơn và người ở tuổi vị thành niên thì phần lớn virut *adeno* gây bệnh cảm lạnh. Chẳng hạn như một số vụ lây nhiễm virut *adeno* trong các doanh trại quân đội. Nguyên nhân của vụ dịch này là ở khu đóng quân, các quân nhân phải thực hiện các bài tập với cường độ cao đồng thời vì sống tập thể nên dễ bị lây, dẫn đến thành dịch, các vụ dịch này có thể nghiêm trọng cả về số lượng cũng như mức độ. Ngoài ra, virut *adeno* còn gây nhiễm mắt dẫn đến các vụ dịch sốt viêm họng, viêm kết mạc.

Ở một số bệnh nhân nhiễm virut *adeno* xuất hiện triệu chứng rất giống với ho gà. Trong một số trường hợp, người ta phát hiện thấy sự đồng nhiễm với vi khuẩn ho gà (*Bordetella pertussis*). Tuy nhiên, một số ý kiến cho rằng triệu chứng ho gà thực sự là do vi khuẩn gây nên.

#### **9.4.2. Bệnh lây nhiễm mắt**

Virut *adeno* có liên quan đến một số vụ dịch viêm màng kết ở Anh. Các vụ này thường xảy ra ở các xưởng đóng tàu. Trước đây, người ta cho rằng nguyên nhân gây

bệnh là do các phôi sắt bắn vào mắt khi hàn và tán sắt. Sau này mới phát hiện ra nguyên nhân thật sự là do nhiễm virus *adeno* từ dịch cơ thể, nước rửa mắt và dụng cụ y tế trong xưởng đóng tàu. Việc sử dụng các dụng cụ y tế được khử trùng kỹ và thuốc mỡ tra mắt một liều đã làm cho hiện tượng này không còn phổ biến. Hầu hết các vụ dịch trên được xác định là do virus typ 8 gây nên (đôi khi do typ 19 và 37). Typ 8 là typ virus không dễ phân lập, do vậy không thể dễ dàng chẩn đoán qua các trường hợp lẻ tẻ (trừ các vụ dịch). Lây nhiễm mắt do typ 8 thường không biểu hiện triệu chứng có hệ thống.

Nhiều serotyp khác gây nên viêm màng kết, góp phần gây nên các vụ dịch sốt viêm họng – kết mạc.

#### **9.4.3. Bệnh lây nhiễm đường ruột**

Các typ chính gây bệnh đường hô hấp (typ 1 đến 7) thường được phân lập từ phân, riêng ở trẻ nhỏ thì có thể phân lập được cả từ miệng. Có rất ít bằng chứng cho thấy virus *adeno* gây bệnh đường ruột. Tuy nhiên, khi kiểm tra mẫu phân của trẻ em bị tiêu chảy, người ta đã quan sát thấy virus *adeno* điển hình với số lượng lớn. Đáng ngạc nhiên là trong nuôi cấy tế bào, người ta lại không thể phân lập được virus *adeno* điển hình về hình thái. Cho đến nay, đã xác định rằng các virus *adeno* này là serotyp chưa biết đến và ký hiệu là typ 40 và 41. Hai typ này đóng vai trò đáng kể trong các vụ dịch tiêu chảy khu vực ở trẻ em, đôi khi chỉ đứng sau virus *rota*. Theo tổng kết ở một số phòng thí nghiệm thì số vụ tiêu chảy do virus *adeno* chiếm khoảng 1/3 trong tổng số vụ do virus gây ra. Cũng như các virus tiêu chảy khác, virus *adeno* ít xuất hiện trong phân ở những đứa trẻ bình thường. Cho đến nay vẫn chưa phân biệt được các typ gây bệnh và không gây bệnh có mặt trong phân. Liệu các typ này có gây nhiễm đường hô hấp hay không? Đó là một trong những hướng nghiên cứu mới trong tương lai.

Người ta phát hiện được 6 typ virus *adeno* mới (ký hiệu từ 42 đến 47), trong đó 5 typ từ 43 đến 47 có trong phân của bệnh nhân AIDS, riêng typ 47 còn phân lập được từ phân của trẻ nhỏ khỏe mạnh. Tiêu chảy mãn tính là đặc trưng ở các trường hợp AIDS. Tuy nhiên, tiêu chảy mãn tính do virus *adeno* vẫn chưa được nghiên cứu sâu.

#### **9.4.4. Các bệnh khác**

Trong một số báo cáo đề cập đến một số typ virus *adeno* (chủ yếu là typ 21 và 22) được phân lập từ nước tiểu của trẻ em bị viêm bàng quang xuất huyết. Ngoài ra, còn có công bố về kết quả phân lập virus *adeno* từ đường sinh dục nam và nữ, các virus này có thể lây truyền qua đường tình dục, tuy nhiên không gây bệnh nghiêm trọng. Không thấy có bằng chứng nào về mối liên quan giữa virus *adeno* với hệ thần kinh và khối u ở người. Bằng thực nghiệm đã chứng minh rằng virus *adeno* có thể gây cảm ứng biến đổi tế bào nuôi cấy mô chuột đồng dẫn đến hình thành khối u ở các động vật thực nghiệm. Trong điều kiện thí nghiệm có thể tạo ra thể lai giữa virus *adeno* và SV40 ở khỉ. Thể lai này mang một phần genom SV40 và không còn khả năng gây bệnh cũng như gây ung thư ở người.



## 9.5. KHẢ NĂNG GÂY BỆNH

Virus *adeno* chủ yếu lây nhiễm vào niêm mạc (đường hô hấp, ruột và mắt) nhưng không phải tất cả các trường hợp nhiễm đều gây bệnh. Các vùng khác nhau thì xuất hiện các serotyp phù hợp. Tuy nhiên, nguyên nhân sâu xa của hiện tượng này vẫn chưa được rõ, có lẽ sự phân bố của các serotyp dựa vào sự phân bố của các receptor đặc hiệu. Các tế bào nhiễm virus sẽ chết, nhưng một số nghiên cứu cho thấy sự thải virus qua đường ruột và đường hô hấp ở đứa trẻ bình thường kéo dài hàng tuần đến hàng tháng. Các tế bào mang virus ở đường hô hấp là tế bào lympho (amidan và hạch hạnh nhân), ở đường ruột là mảng Peyer tương ứng. Tuy nhiên, điều này chưa được khẳng định.

Dù nhiễm virus *adeno* ở bất kỳ vị trí nào cũng đều có thể lan sang đường ruột. Các chủng nhiễm đường hô hấp thường phân lập được từ phân, tuy nhiên không thể khẳng định rằng nguyên nhân duy nhất của hiện tượng này là sự thải virus từ đường hô hấp. Sẽ hợp lý hơn nếu cho rằng sự thải virus từ phân xảy ra sau quá trình nhiễm thứ cấp ở đường ruột, mặc dù trong hầu hết các trường hợp đều không biểu hiện các triệu chứng đường ruột.

Hiện nay, ý nghĩa của 5 serotyp mới (từ 43 đến 47) đối với bệnh AIDS vẫn chưa được biết rõ. Tất cả các virus *adeno* phân lập từ phân nhờ nuôi cấy tế bào hiện nay chưa từng được phát hiện. Vậy các serotyp này có nguồn gốc từ đâu, liệu chúng có phải là kết quả của đột biến hay tái tổ hợp không?

## 9.6. CHẨN ĐOÁN PHÒNG THÍ NGHIỆM

### 9.6.1. Phát hiện bằng kính hiển vi điện tử

Có thể quan sát thấy các virus trong các mẫu phân nhờ kính hiển vi điện tử, tuy nhiên không thể xác định được các serotyp. Khi quan sát thường thấy các typ 40 hay 41 xuất hiện trong phân với mật độ cao (có thể đạt tới  $10^{10}$  hạt/g). Khi virus có mặt trong phân thì không có nghĩa là virus phải có mặt ở mũi – hầu hay ở mắt.

### 9.6.2. Phát hiện bằng KN virus

Có thể phát hiện virus trong dịch mũi – hầu bằng phản ứng MD huỳnh quang bằng cách cho KT đặc hiệu nhóm (KT đơn dòng hay đa dòng) tác dụng trực tiếp với dịch hút (không cần dùng gạc nhưng với điều kiện là phải chứa các tế bào đường hô hấp). Sự phát hiện các tế bào nhiễm virus cho thấy bệnh nhân đang bị lây nhiễm nghiêm trọng. Ngoài ra, có thể phát hiện virus bằng phản ứng MD enzym. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ có thể phát hiện KN virus mà không chỉ ra vị trí của KN. Vì thế, không thể phân biệt virus trong tế bào đường hô hấp (niêm mạc) quan trọng về mặt lâm sàng hay chỉ là thể ẩn không biểu hiện lâm sàng.

### 9.6.3. Phát hiện bằng ADN

Một phương pháp khác có thể phát hiện trực tiếp virus trong phân là điện di trên gel polyacrylamit. Sau khi điện di thì phân tử ADN toàn vẹn sẽ xuất hiện dưới dạng một dải

băng đơn gắn dính của gel. Tuy nhiên, để khẳng định chắc chắn thì phải xử lý với enzym giới hạn và điện di nhiều lần. Điều này dẫn đến có thể phân biệt được các typ 40, 41 và các typ đặc trưng, đồng thời có thể phát hiện thấy cả dưới typ. Phương pháp này được dùng để chẩn đoán 2 typ 40 và 41 (là hai typ khó nuôi cấy trong tế bào) và thay thế cho phương pháp chẩn đoán bằng kính hiển vi điện tử.

#### 9.6.4. Phát hiện bằng nuôi cấy tế bào

Virus có mặt trong đường hô hấp (dịch hút mũi – hầu, dịch tiết từ họng), trong nước mắt, phân và đôi khi trong cả nước tiểu đều có thể phân lập bằng nuôi cấy tế bào. Tốc độ phân lập virus *adeno* có ý nghĩa rất lớn, nếu kéo dài hơn 12 ngày thì ít có ý nghĩa trong lâm sàng đặc biệt là với các typ 1, 2, 5 và 6.

Các virus *adeno* gây bệnh tiêu chảy lại khó phân lập bằng nuôi cấy tế bào hơn các virus *adeno* khác cùng có mặt trong phân. Tuy nhiên, các typ gây tiêu chảy có thể nhân lên phần nào trong tế bào G293 (đòng tế bào thận phôi người đã bị biến đổi bởi virus *adeno*), các KN được hình thành trong tế bào mang tính đặc hiệu typ và có thể phát hiện bằng phản ứng MD huỳnh quang sử dụng KT đặc hiệu typ.

#### 9.6.5. Phát hiện bằng huyết thanh học

Nồng độ KT tăng lên cho thấy sự nhiễm virus, tuy nhiên có trường hợp nhiễm virus nhưng không thấy xuất hiện KT, nhất là ở trẻ sơ sinh. Phản ứng cố định bổ thể thường được sử dụng để xác định KN đặc hiệu nhóm. Phản ứng MD enzym cũng xác định KN đặc hiệu nhóm và typ, nhưng không được sử dụng rộng rãi. Phản ứng trung hoà có tính đặc hiệu typ và nhạy hơn cả nhưng cũng ít được sử dụng. Hai phản ứng MD enzym và trung hoà được dùng chủ yếu trong nghiên cứu hoặc chẩn đoán hỗ trợ tại phòng thí nghiệm.

### 9.7. ĐIỀU TRỊ

Cho đến nay vẫn chưa có thuốc đặc trị chống virus *adeno*. Đa số trường hợp nhiễm virus có khả năng tự giới hạn, chỉ có một số ít gây hậu quả nghiêm trọng và thường xuyên nên chưa cần thiết phải nghiên cứu thuốc chống virus *adeno*.

### 9.8. DỊCH TỄ HỌC

Virus *adeno* gây nhiễm khu vực, các typ từ 1 đến 7 lây lan dễ dàng giữa các cá thể, đặc biệt là qua các giọt nhiễm. Trong vùng dịch, đặc biệt ở những nơi đông dân cư, virus thường lây nhiễm qua đường phân – miệng. Hai typ 40 và 41 gây dịch bệnh tiêu chảy, (thường lây qua giọt nhiễm).

Khi xác định typ phụ nhận thấy typ 7 có 8 typ phụ (kiểu typ nguyên dương ký hiệu là 7b, các typ phụ còn lại được ký hiệu từ 7a đến 7g) khác nhau về vùng phân bố. Các typ phụ của typ 40 và 41 chưa được xác định.

Chỉ có một phần nhỏ trường hợp lây nhiễm virus *adeno* được khẳng định về virus học. Vì thế, những kiến thức dịch tễ học về virus *adeno* còn quá ít ỏi. Rất có thể trong quần thể sẽ có những nhóm cá thể chịu nhiều tổn thương do virus *adeno* hơn các nhóm khác, chẳng hạn như trẻ em bị viêm phổi và có lẽ cả bệnh nhân AIDS. Chính vì phạm vi hoạt động rộng của virus *adeno* nên cần tiến hành nghiên cứu sâu hơn về virus này.

## 9.9. PHÒNG, CHỐNG

Như đã trình bày ở trên, nhu cầu về vaccine chống virus *adeno* không phải là cấp thiết. Hiệu quả của vaccine như thế nào? Đó chính là câu hỏi cần đặt ra. KT lưu thông trong máu có thể tránh tái nhiễm virus *adeno*. Kết quả nghiên cứu trên người tình nguyện cho thấy sự tái nhiễm ít khi gây bệnh. Tuy nhiên, trên thực tế trong các doanh trại quân đội vẫn xảy ra các vụ dịch do virus *adeno*. Điều này thôi thúc các nhà khoa học thử nghiệm các loại vaccine chống virus dưới dạng viên con nhộng. Vaccine có tác dụng phòng bệnh và được chỉ định dùng trong quân đội.

Một vấn đề quan trọng khác là vấn đề vô trùng dụng cụ và sản xuất ra các ống thuốc tra mắt một liều là cách tốt nhất để phòng tránh lây nhiễm virus *adeno*. Tuy nhiên, viêm kết mạc là bệnh không thể tránh khỏi khi bị sốt viêm họng kết mạc.

## 9.10. CÁC VIRUS ĐI KÈM

Các virus này được gọi là AAV (*adenovirus associated virus*) là thành viên của họ *Parvoviridae*. Các AAV có đường kính là 22nm, thường có dạng lục giác nhiều hơn là dạng tròn, chứa ADN đơn, không đầy đủ. AAV thuộc chi *Dependovirus* có nghĩa là phụ thuộc vào virus *adeno* (hoặc virus *herpes simplex*) để hoàn thiện chức năng. AAV thực sự (hay còn gọi là virus vệ tinh của virus *adeno*) không gây bệnh, có thể phát hiện một số lượng lớn AAV trong phân của bệnh nhân tiêu chảy cùng với các virus khác và một lượng nhỏ virus *adeno* kèm theo. Không một AAV nào có thể nhân lên trong nuôi cấy tế bào.

# VIRUT PARVO, HỌ PARVOVIRIDAE

## 10.1. GIỚI THIỆU

*Parvoviridae* là họ virus có kích thước nhỏ, không có vỏ ngoài, genom là ADN chuỗi đơn, dài. Gây nhiễm cả ở động vật có xương sống và không xương sống. Quá trình lắp ráp xảy ra trong nhân.

Họ *Parvoviridae* có 2 họ phụ là *Densovirinae* với 1 chi là *Densovirus* và *Parvovirinae* với 3 chi là *Dependovirus*, *Parvovirus* và *Erythrovirus*.

– *Densovirus* là nhóm virus *parvo* gây bệnh ở côn trùng, bộ Cánh vẩy (Lepidoptera), cũng có thể ở cả bộ Hai cánh (Diptera) và bộ Cánh thẳng (Orthoptera).

Virus chứa genom ADN chuỗi (–) hoặc (+) nhưng được bọc trong các hạt riêng. Virus thường nhân lên trong ấu trùng, thiếu trùng và cả ở côn trùng trưởng thành. Khi nhân lên cần phải có sự hỗ trợ của các virus khác được gọi là virus hỗ trợ (helper virus). Virus thường kết thành đám trong nhân tạo thể vùi.

– *Dependovirus* là nhóm virus kết hợp với virus *adeno* (AAV – adeno associated virus). Đây là virus không hoàn thiện, muốn nhân lên chúng phải cần sự đồng nhiễm và trợ giúp của virus *adeno*. Các thành viên của *Dependovirus* gây nhiễm ở nhiều loại động vật khác nhau, kể cả ở người nhưng chưa có triệu chứng gây bệnh cho người. AAV – 1 và AAV – 4 gây nhiễm chủ yếu ở khỉ. AAV – 2 và AAV – 3 gây nhiễm ở người, còn các AAV khác gây nhiễm ở chó, bò, cừu, ngựa và chim.

– *Parvovirus* là nhóm virus *parvo* độc lập, khi nhân lên không cần sự trợ giúp của virus khác. *Parvovirus* gây nhiễm ở nhiều loại động vật, là tác nhân gây chết chó, mèo. Đa số virion của *Parvovirus* chỉ chứa một chuỗi ADN đơn, (–), ở đầu 3' và 5' của chuỗi ADN không có đoạn lặp lại nhưng lại có trình tự palindrom (trình tự đoạn xuôi ngược như nhau).

Đầu 3' hình thành một cấu trúc bậc 2 hình chữ T, còn đầu 5' hình thành cấu trúc dạng kẹp tóc. Quá trình sao chép tiến hành từ một vị trí ở đầu 3' để tạo chuỗi ADN kép dạng RF. Từ RF tổng hợp mARN và genom ADN (–) giống như ở các virus ADN (–) khác. Mặc dù khi nhân lên không cần sự hỗ trợ của các virus khác nhưng lại cần sự hỗ trợ của tế bào. Điều này biểu hiện rõ trong chu kỳ tế bào (ở cuối pha S và đầu pha G2). Do vậy, ở các mô đang phân chia, sự nhân lên của virus xảy ra rất mạnh mẽ. Virus gây nhiễm trong hệ đường ruột, hệ tạo máu, trong bào thai. Tính miễn cảm đối với virus liên quan đến giai đoạn nhất định của quá trình biệt hoá tế bào. Vì thế, sự lây nhiễm virus *parvo* sẽ kèm theo các triệu chứng đặc trưng như mất điều vận tiểu não ở mèo hay rối loạn phát triển ở người.

– *Erythrovirus* là các virus *parvo* nhân lên trong tiền tế bào hồng cầu ở tủy xương mà không cần sự hỗ trợ của các virus khác, trong đó có virus B19 gây bệnh ở người.

Virus *parvo* tương đối bền khi ở điều kiện bất lợi. Ví dụ : chúng có thể tồn tại ở 56°C trong vòng 1 giờ, ở pH 3 – 9, chịu được sự tác động của một số enzym proteaza và dung môi lipid. Chúng bị bất hoạt ở 80°C trong 5 phút bởi formaldehyt, hydroxylamin,  $\beta$  – propiolacton, các chất oxy hoá hoặc dưới tia tử ngoại.

## 10.2. CÁC VIRUS PARVO GÂY BỆNH Ở ĐỘNG VẬT

Ở giai đoạn chu sinh, FPV (feline parvovirus) gây bệnh mất điều vận ở mèo con, vì lúc này lớp hạt ngoài của tiểu não đang phân chia mạnh nên trở thành mục tiêu cho virus tấn công. Khi động vật thôi bú thì các tế bào biểu mô (crypt epithelial cells) có chu kỳ tế bào kéo dài 8 – 12 giờ nên rất mẫn cảm với FPV. Hậu quả của nhiễm virus là viêm ruột.

Ở chó, khi nhiễm CPV (canine parvovirus) trong giai đoạn chu sinh sẽ bị viêm cơ tim vì ở chó con, cơ tim phát triển mạnh và có chỉ số gián phân cao. Song nếu CPV nhiễm vào chó lớn thì không gây viêm ruột.

Bạch cầu cũng là mục tiêu tấn công của FPV và CPV, do đó chó, mèo từ 2 – 4 tháng tuổi nếu bị nhiễm virus thì dễ bị bệnh giảm bạch cầu và viêm ruột.

Ở con trỉ, khi bị nhiễm MEV (mink parvovirus) thường bị viêm ruột nghiêm trọng. Đây là triệu chứng đặc trưng nhất ở giai đoạn chu sinh. Ngoài ra, trỉ cũng bị nhiễm bởi một virus *parvo* khác gây bệnh Aleut (ADV – aleutian disease virus). Ở con kit mới sinh, ADV gây nhiễm đường hô hấp cấp vì chúng nhiễm vào phế nang typ II. Tuy nhiên, các tế bào này chỉ bị mẫn cảm với virus nhiễm sinh sản khi chúng mới đẻ, còn về sau chúng nhiễm dai dẳng trong trung tâm mầm của hạch lympho, trong tương bào của nhiều cơ quan, tăng  $\gamma$  – globulin huyết và gây chết do suy thận mãn mà nguyên nhân là viêm tiểu cầu thận do phức hợp miễn dịch.

Ở loài gặm nhấm, virus *parvo* thường gây triệu chứng ở các vật chủ tự nhiên. Ngoài ra, chúng cũng thường gây nhiễm ở lợn (PPV – pig parvovirus). Người ta đã phân lập được PPV trong tinh dịch, âm đạo, mẫu mô của lợn bị thiếu năng sinh sản. Khi lợn bị nhiễm virus trong thời kỳ mang thai sẽ truyền cho thai, gây chết lưu.

Năm 1994, phát hiện thấy virus SPV (simian parvovirus) gây bệnh thiếu máu nghiêm trọng ở khỉ kèm theo nhiễm dai dẳng. Điều này có thể là do sự đồng nhiễm với virus *retro* ở khỉ gây ức chế MD.

## 10.3. VIRUS PARVO GÂY BỆNH Ở NGƯỜI – VIRUS B19

Virus B19 được Cossart và đồng sự phân lập lần đầu tiên năm 1975 khi kiểm tra HBsAg trong máu người bằng kỹ thuật điện di MD đối lưu.

### 10.3.1. Mô tả

– Virus B19 có dạng hình khối đa diện, không có vỏ ngoài, đường kính trung bình 26nm, genom là ADN chuỗi đơn (5600 nucleotit) với cấu trúc đặc trưng. Ở hai đầu có trình tự palindrom lặp lại ngược chiều. ADN có thể là chuỗi (+) hoặc chuỗi (–) được

đóng gói riêng trong các hạt khác nhau. Tỷ lệ các chuỗi này là tương đương nên khi tách ADN chúng có thể bắt cặp với nhau để tạo chuỗi lai (ADN kép). Trong virus B19, vùng mã hoá cho tất cả các protein đều nằm ở chuỗi (+). Đồng thời, trên 2 chuỗi này còn có hai khung đọc lớn bao trùm hết toàn bộ genom và hai khung đọc nhỏ hơn.

- Capsit có 2 protein là VP1 và VP2.

- Có 9 bản phiên mã được xác định trong tế bào nhiễm. Tất cả các bản phiên mã đều khởi đầu từ một promoter chung nằm ở phía trái đơn vị bản đồ 6. Một bản phiên mã tạo từ khung đọc lớn phía trái dùng để dịch mã tạo protein cấu trúc. Trong khi đó, 4 bản phiên mã của khung đọc lớn phía phải dùng để tổng hợp protein VP1 và protein có cấu trúc nhỏ hơn là VP2. Ngoài ra, 4 bản phiên mã từ khung đọc nhỏ mã hoá cho protein có khối lượng phân tử 11 kDa và 7,5 kDa với chức năng còn chưa rõ.

Protein phi cấu trúc lớn NS1 (71kDa) gắn vào ADN của tế bào tiến hành hoạt hoá dạng transpromoter P6. Đây là protein gây độc đối với tế bào động vật có vú. NS1 cùng tham gia vào sự sao chép ADN của B19. VP1 và VP2 được hình thành từ một khung đọc nên có cấu trúc giống nhau.

### **10.3.2. Triệu chứng lâm sàng của các bệnh do virus B19 gây ra**

B19 có thể gây bệnh nhẹ không biểu hiện triệu chứng, bệnh đường hô hấp, gây ban đỏ, đau khớp hoặc thiếu máu trầm trọng.

- *Bệnh nhẹ*

B19 gây nhiễm khá phổ biến ở trẻ em, bệnh thường nhẹ (50% không biểu hiện triệu chứng). Các trường hợp biểu hiện triệu chứng liên quan đến bệnh đường hô hấp nhưng không đặc hiệu. Bệnh biểu hiện giống như cúm, nhất là ở giai đoạn khi virus xuất hiện trong máu (viremia).

- *Bệnh ban đỏ truyền nhiễm*

Thường rất hay gặp ở trẻ em từ 4 – 11 tuổi, còn được gọi là bệnh thứ 5 vì theo cách phân loại cũ đây là bệnh thứ 5 trong số 6 loại bệnh ban đỏ ở trẻ em. Thông thường, bệnh biểu hiện nhẹ, xuất hiện các vết ngoại ban đỏ ở mặt giống như má bị tát nên còn được gọi là bệnh "tát má". Đôi khi trước đó bị sốt nhẹ sau đó lan nhanh xuống mình và chi, đôi khi biểu hiện dạng rất sần, dạng sỏi hoặc dạng lưới, mọng nước, xuất huyết hoặc ngứa. Ban đỏ chỉ tồn tại vài ngày rồi lặn. Có thể kèm theo triệu chứng về bệnh bạch huyết hoặc khớp. Bệnh khớp ít gặp ở trẻ nhỏ mà thường thấy ở người lớn. Ban đỏ thường giống rubella nhưng vết đỏ thường không có dạng lưới. Nếu không xét nghiệm tại phòng thí nghiệm mà chỉ dựa vào đặc điểm lâm sàng có thể lẫn với rubella, dị ứng hoặc sốt do virus. Riêng với trẻ nhỏ, nếu xuất hiện ngoại ban trên má thì có rất nhiều khả năng do B19. Một số trường hợp còn xuất hiện vết màu tím.

- *Bệnh khớp*

Nhiễm B19 ở người lớn chủ yếu biểu hiện đau khớp. Khoảng 80% ở phụ nữ và 10% ở trẻ em khi bị nhiễm B19 có biểu hiện đau khớp. Bệnh khớp do B19 rất giống bệnh khớp do rubella. Viêm khớp có đặc điểm đối xứng hay viêm ở các khớp nhỏ (bàn tay, cổ tay, đầu gối, mắt cá). Triệu chứng về khớp mất đi sau 2 tuần nhưng cũng có trường hợp kéo dài vài tháng.

#### *– Cơ kích phát bất sản nhất thời*

B19 là nguyên nhân chủ yếu gây cơn kích phát bất sản phát sinh đột ngột ở những người bị bệnh tan máu mãn tính. Hầu hết các bệnh tan máu đều có thể bị nhiễm virus B19 như bệnh hồng cầu hình liềm, thiếu hụt enzym hồng cầu, bệnh hồng cầu do di truyền, bệnh thiếu máu vùng biển (thalassemia). Ở các bệnh nhân này lượng globulin giảm, tế bào lưới ở máu ngoại vi bị biến mất. Trong tuỷ xương không có tiền tế bào hồng cầu. Sự hình thành tế bào hồng cầu ngưng lại trong 5 – 7 ngày gây thiếu máu rất trầm trọng, đe dọa tính mạng người bệnh. Vì thế, ở pha cấp cần truyền máu kịp thời. Sau 1 tuần, tuỷ xương mau chóng phục hồi, hồng cầu tăng, hemoglobin trở về trạng thái ổn định. Các sự kiện trên mang tính kích phát và nhất thời.

#### *– Nhiễm B19 ở bệnh nhân thiếu hụt MD*

Nhiễm B19 có thể gây thiếu máu mãn tính ở các cá thể suy giảm MD (như hội chứng Nezelof, ung thư bạch cầu, nhiễm HIV). Virus xuất hiện trong máu ở giai đoạn cơ thể thiếu máu và do đó chỉ có thể có ĐUMD yếu ớt. Thông qua hình ảnh của tuỷ xương có thể thấy sự biểu hiện điển hình của bệnh kích phát bất sản phối hợp với bệnh thiếu máu.

#### *– Nhiễm B19 ở phụ nữ có thai*

Một số trường hợp nhiễm B19 có thể làm tăng tỷ lệ sẩy thai hoặc thai chết lưu, do thai bị thiếu máu nặng hoặc suy tim do xung huyết. Không có bằng chứng cho thấy B19 gây dị tật bẩm sinh. Hầu hết, phụ nữ mang thai nhiễm virus B19 đều sinh nở đủ tháng và bình thường.

### **10.3.3. Chẩn đoán**

- Dùng kỹ thuật MD điện di đối lưu (CIE) để phát hiện virus trong mẫu huyết thanh.
- ELISA để xác định IgM đặc hiệu virus.
- PCR để xác định ADN của virus trong mô và trong máu.

### **10.3.4. Điều trị**

Hầu hết các bệnh do B19 gây ra thường ở thể nhẹ, bệnh có thể tự khỏi mà không cần điều trị, riêng ở ba trường hợp gây thiếu máu trầm trọng thì phải truyền máu :

– Ở bệnh kích phát bất sản nhất thời cần truyền máu để giúp cơ thể chống đỡ một thời gian khi tế bào máu ngừng sinh sản, sau đó cơ thể xuất hiện ĐUMD nhanh chóng để tiêu diệt virus.

– Ở bệnh nhân thiếu hụt MD không có khả năng tạo KT trung hoà, do đó cần truyền máu và immunoglobulin của người bình thường trong 10 ngày, nhờ thế mà có thể làm hết virus trong máu.

– Nhiễm B19 ở bào thai làm mất khả năng MD. Việc truyền máu vào tử cung là phương pháp bù đắp sự thiếu máu, nhờ vậy đứa trẻ có thể được sinh đủ tháng và bình thường.

## Chương 11

# VIRUT PAPOVA, HỌ PAPOVAVIRIDAE

### 11.1. GIỚI THIỆU

*Papova* là tên chung chỉ virus thuộc họ *Papovaviridae*. Họ này gồm hai chi là *Papillomavirus* và *Polyomavirus*. Tên của họ virus là do ghép từ hai chữ đầu của hai tên chi (pa – và po –). Đây là nhóm virus có kích thước nhỏ, capsit hình khối đa diện, chứa genom ADN và thường được quan tâm do có khả năng gây khối u.

Virus *polyoma* (poly = nhiều, oma = khối u) là nhóm virus có tính đặc hiệu loài cao. Cho đến nay chưa có tài liệu nào công bố virus *polyoma* gây khối u ác tính ở người. Các thành viên của virus *polyoma* đã được biết đến bao gồm : virus K ở chuột, SV40 ở khỉ, BK và JC ở người (tên hai virus bắt nguồn từ tên hai bệnh nhân đầu tiên). Các virus này chỉ gây u ác ở động vật. Virus *papilloma* nói chung viết tắt là PV, riêng loài gây bệnh cho người viết tắt là HPV (human papillomavirus). Đây là nhóm virus ADN đặc hiệu loài, gây nhiễm chọn lọc cho biểu mô da và niêm mạc ở người và động vật. Virus *papilloma* không nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Mọi kiến thức có được về virus này đều nhờ các nghiên cứu bằng sinh học phân tử.

Virus *papilloma* gây bệnh mụn cóc, u xơ biểu mô và thường gây tổn thương nhẹ (u lành). Tuy nhiên, cũng đã phát hiện thấy virus này gây bệnh ung thư ở thỏ, bò và gia cầm.

### 11.2. VIRUT PAPILLOMA

Virus *papilloma* có đường kính 50 – 55nm, không có vỏ ngoài. Vỏ capsit cấu tạo từ 72 capsome. Genom là ADN chuỗi kép, khép vòng, siêu xoắn, chứa khoảng 7900 cặp bazơ. Có tới 70 typ gây nhiễm cho người. Các typ này được xác định bằng cách lai ADN của typ nghiên cứu và các typ đã biết. Nếu mức độ tương đồng nhỏ hơn 50% thì coi như là typ mới.

#### 11.2.1. Quá trình nhân lên

– ADN của virus được tìm thấy trong các tế bào gốc của biểu mô, còn hạt virion hoàn chỉnh thì lại tìm thấy trong lớp tế bào thượng bì. Điều này được quan sát ở các tế bào sừng đã biệt hoá ở giai đoạn cuối. Như vậy, có mối liên quan giữa quá trình nhân lên của virus và quá trình biệt hoá mô. Ở các tế bào nhiễm sinh sản thì ADN tồn tại ở dạng episom, còn khi bị tổn thương ác tính thì ADN virus gắn vào vị trí bất kỳ trên genom của tế bào.

– Vùng E (e – early : gen sớm) của ADN chứa các khung đọc mở mã hoá cho các protein tham gia vào quá trình sao chép, phiên mã và chuyển dạng tế bào.



**Bảng 11. CÁC BỆNH DO CÁC TYP HPV GÂY RA**

| Bệnh                               | Các typ HPV phối hợp                        |
|------------------------------------|---------------------------------------------|
| Mụn cóc sâu ở bàn chân             | 1, 4                                        |
| Mụn cóc thông thường               | 1, 2, 4, 41                                 |
| Mụn cóc thường có ở người bán thịt | 7                                           |
| Mụn cóc xẹp                        | 3, 10, 27, 41                               |
| Mụn cóc trung gian                 | 10, 26, 28                                  |
| Nốt ruồi biểu mô                   | 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 25, 29, 36, 46, 47 |
| Condilum dưới da                   | 6, 11, 40, 45, 51                           |
| Khối u nội biểu mô chưa phân hoá   | 33, 35, 42, 45, 51                          |
| Bệnh Bowen (ung thư biểu mô)       | 16, 31                                      |
| U gai thanh quản                   | 6, 11, 30                                   |
| Tăng sản biểu mô ở bệnh Heck       | 13, 32                                      |
| U gai kết mạc                      | 6, 11                                       |
| Các bệnh khác                      | 37, 38                                      |

- Vùng L (l – late : gen muộn) có hai khung đọc mở mã hoá cho protein capsit.
- Cả hai protein E1 và E2 đều cần cho quá trình nhân lên.
- Vùng kiểm soát dài (LCR – long control region) làm nhiệm vụ kiểm soát quá trình phiên mã.
- Khi gắn vào enhancer nằm trong vùng LCR, protein E2 sẽ thúc đẩy hai gen E6 và E7 phiên mã. Hai gen này chịu trách nhiệm gây chuyển dạng tế bào. Protein E6 tương tác với protein p53 còn protein E7 tương tác với protein nguyên bào lưới, do đó làm bất hoạt chúng dẫn đến làm mất khả năng ức chế quá trình tăng trưởng của tế bào, làm tế bào chuyển sang dạng ung thư.
- Khi protein E1 bất hoạt thì ADN virus sẽ gắn xen vào vị trí bất kỳ trên NST của tế bào chủ. E4 làm xẹp khung tế bào, còn E5 ở một số typ HPV có hoạt tính gây chuyển dạng tế bào.

### **11.2.2. Đặc điểm lâm sàng và bệnh sinh**

#### **11.2.2.1. Mụn cóc ở da**

Bệnh thường xuất hiện khi tuổi còn trẻ. Biểu hiện lâm sàng tùy thuộc vào typ HPV và vị trí gây nhiễm. Mụn cóc thông thường thấy ở bàn tay biểu hiện ở các u lồi, cứng, màu nâu. Mụn cóc bàn chân khác với mụn cóc ở các nơi khác là luôn ăn sâu. Có thể phân biệt với chai chân ở chỗ nếu cạo đi sẽ thấy mao mạch bị tắc và dễ bị chảy máu. Mụn cóc dẹt thường thấy ở trẻ em, mọc ở mặt, cổ, ngực, mặt gấp của cánh tay và chân.

#### **11.2.2.2. Mụn cóc hậu môn – sinh dục**

Mụn cóc sinh dục còn được gọi là codylomata acuminata thường mọc ở da, niêm mạc, cơ quan sinh dục và quanh hậu môn. Con đường lây lan chủ yếu qua quan hệ tình dục.

Đối với nam giới, mụn thường mọc ở miệng niệu đạo rồi lan ra xung quanh hoặc cũng có thể mọc ở bất kỳ nơi nào của dương vật.

Đối với nữ giới, mụn cóc trước hết xuất hiện ở mép sau và môi nhỏ, sau lan vào âm đạo và cổ tử cung. Trong đó ở phần cổ tử cung rất khó phát hiện vì bị che khuất bởi lớp màng nhày, do đó phải sử dụng dụng cụ soi âm đạo và cần xử lý bằng axit axetic 5% để làm trắng biểu mô, trong khi đó các tế bào bình thường vẫn có màu hồng. Khoảng 12% phụ nữ phát hiện thấy có ADN của HPV trong cổ tử cung.

#### **11.2.2.3. U nhú hô hấp tái diễn**

Bệnh được đặc trưng bởi sự xuất hiện của các u nhú lành tính dạng vảy ở màng nhày đường hô hấp nhất là ở thanh quản, nguyên nhân là do nhiễm virus typ 6 và 11. Trẻ em thường bị nhiễm qua đường rốn, còn người lớn thì chủ yếu lây qua quan hệ tình dục hoặc tiếp xúc qua miệng.

Khi bị tổn thương nặng sẽ gây ra tiếng thở rít và có thể gây tắc đường hô hấp trên. Lúc đó cần phẫu thuật khẩn cấp để mở thông khí quản. Sau điều trị, bệnh thường bị tái phát và bệnh có thể lan tới phế quản cũng có khi tới phế nang, tạo thành nhiều nang dẫn đến tử vong.

#### **11.2.2.4. U nhú miệng**

HPV gây u nhú và tổn thương lành tính ở màng nhày miệng và lưỡi. Chúng lây qua tiếp xúc đường miệng và quan hệ tình dục. U nhú gây tổn thương niêm mạc miệng gọi là u nhú miệng màu đỏ. U nhú cũng có thể chuyển dạng thành dạng u ác tính.

#### **11.2.2.5. Virus HPV và ung thư**

– Các tổn thương tiền ung thư đường sinh dục :

+ Bệnh ung thư ác tính cổ tử cung xuất hiện sau khi lớp biểu mô bề mặt chuyển dạng ung thư được gọi là ung thư biểu mô trong cổ tử cung (CIN – Cervical intra – epithelial neoplasia). Quá trình tương tự xảy ra tại các vị trí khác nhau ở cả nam và nữ. PIN ở dương vật (p – penile), VIN ở âm hộ (v – vulval) và VaIN ở âm đạo (Va – vaginal). Sự chuyển dạng đầu tiên xảy ra ở lớp biểu mô sâu nhất, lớp mầm và tế bào bất thường, sau lan ra lớp bề mặt. Dựa vào sự xuất hiện các tế bào bất thường ở tất cả các lớp biểu mô đã mất khả năng phân lớp và biệt hoá, có thể chia tiến trình bệnh ra làm 3 cấp độ từ CIN – 1 đến CIN – 3.

+ Nguyên nhân chỉ xảy ra ở lớp thượng bì. 30 – 50% bệnh nhân nhiễm CIN – 3 (typ 16, 18). Sau 10 năm sẽ chuyển thành ung thư xâm nhiễm ác tính do virus (invasive cancer). Hiện tượng này ít xảy ra ở cấp độ CIN – 1 và CIN – 2.

– Ung thư tế bào sừng (tế bào vảy) :

+ Mối liên quan giữa virus mụn cóc và các ung thư da, thanh quản và đường sinh dục đã được phát hiện từ lâu. Khoảng 1/3 người bị mụn cóc loạn sản biểu bì (EV – epidermo dysplasia veruciformis) do khi còn trẻ, da đã tiếp xúc nhiều với ánh sáng mặt trời, sau sẽ chuyển dạng thành ung thư ác tính.

+ Ung thư xâm nhiễm thường xảy ra ở đường hậu môn – sinh dục. 95% ung thư xâm nhiễm ở cổ tử cung phát hiện có ADN của virus HPV.

### **11.2.3. Dịch tễ học**

– Sự lây nhiễm HPV mụn cóc thường xảy ra lúc còn nhỏ, do tiếp xúc với người hoặc dụng cụ bị nhiễm virus. Virus muốn đến được lớp đáy của da thì phải thông qua vết xước nhỏ trên da.

– Đối với người trưởng thành, sự lây nhiễm mụn cóc tình dục là do quan hệ tình dục.

– Trẻ sơ sinh bị u nhú thanh quản do mẹ truyền qua dây rốn.

### **11.2.4. Chẩn đoán**

– Xét nghiệm mô thấy hiện tượng tăng sừng hoá của lớp bề mặt, lớp đáy phình lên và mất tính mô hoá của cấu trúc biểu bì.

– Tế bào biểu mô thay đổi, xuất hiện tế bào chứa không bào.

– Xác định KN màng đặc hiệu bằng phản ứng MD.

– Khuếch đại ADN bằng phản ứng PCR, sau đó định typ bằng cách lai ADN với typ đã biết.

### **11.2.5. Điều trị**

– Phẫu thuật lạnh, dặt thuốc chấy bông, đốt điện, cắt bỏ bằng phẫu thuật laze. Gắn dây, dùng biện pháp dán băng keo vải lên mụn cóc, sau 6 ngày bóc ra, sát xà phòng rửa sạch rồi lại dán tiếp 6 ngày (tối đa không đến 2 tháng) cho đến khi mất hẳn. Khi dán sẽ tạo ĐUMD tại chỗ chống virus.

– Phương pháp đơn giản là dùng axit salicylic, tricloaxetic và formalin. Một số loại mụn cóc được điều trị bằng các chất gây độc tế bào như podophylin, bleomycin và 5 – fluorouracil. Trong đông y, dùng lá kinh giới chà xát nhiều lần, trực tiếp lên mụn cóc.

## **11.3. VIRUS POLYOMA**

*Polyoma* có vỏ capsit hình khối đa diện gồm 72 capsome, đường kính 42 – 45nm. Genom là ADN chuỗi kép chứa 5000 cặp bazơ. Giống như ở virus *papilloma*, ADN của virus *polyoma* là siêu xoắn nhưng cả hai mạch đều mã hoá cho protein của virus. Hai virus gây bệnh chủ yếu cho người là BKV và JCV.

### 11.3.1. Quá trình nhân lên

JCV vừa có tính đặc hiệu loài vừa có tính đặc hiệu mô. Khi nuôi cấy nhân tạo, chúng chỉ nhân lên trong tế bào thần kinh đệm phôi người. Sau khi tế bào bị nhiễm, thấy xuất hiện kháng nguyên T nhỏ và T lớn trong nhân, do gen sớm của ADN mã hoá sau đó mới bắt đầu phiên mã vùng gen muộn để tổng hợp protein cấu trúc VP1, VP2 và VP3. Trong tế bào nuôi cấy, virus có chu trình nhân lên trong vòng 36 – 44 giờ sau đó phá vỡ tế bào để chui ra ngoài.

### 11.3.2. Đặc điểm lâm sàng và bệnh sinh

BKV và JKV thường phân lập được từ nước tiểu và ống thận của người có thoái hoá MD, riêng JKV còn có thể phân lập từ não. Ngoài ra, genom của BKV và JKV còn được tìm thấy trong amidan, lách, hạch lympho, gan, phổi và gần đây còn phát hiện thấy trong bạch cầu.

Lây nhiễm lần đầu thường khó chẩn đoán, do không xuất hiện các triệu chứng lâm sàng đặc trưng.

BKV và JKV nhiễm ở phụ nữ mang thai khá phổ biến, thường là do hoạt hoá các virus tiềm tàng. Mặc dù không thấy có triệu chứng đặc trưng nhưng dễ dẫn đến trẻ bị đẻ non và vàng da. Không thấy có bằng chứng lây nhiễm qua nhau thai. Virus *polyoma* thường lây nhiễm ở các bệnh nhân ghép thận, gan.

### 11.3.3. Bệnh não bạch cầu nhiều ổ tiến triển (PML)

PML (Progressive multifocal leuco – encephalopathy) là bệnh não thường xảy ra ở người lớn tuổi nhưng gần đây cũng phát hiện ở bệnh nhân ghép thận trẻ tuổi hoặc bệnh nhân bị AIDS. Bệnh nhân bị mất myelin trong hệ thần kinh trung ương và ở bán cầu tiểu não. Những biến đổi duy nhất có thể nhận thấy là tế bào thần kinh đệm ít nhánh bị phồng lên bất thường, nhân chứa nhiều chất nhiễm sắc, đôi khi xuất hiện các thể ẩn nhập ưa kiềm. Virion *polyoma* có thể xuất hiện trong các tế bào này. Các tế bào sao có thể bị virus chuyển dạng thành tế bào ung thư. Nhiễm virus JCV ở bệnh nhân PML là nguyên nhân làm mất myelin, virus nhân lên trong các tế bào thần kinh đệm ít nhánh và phá huỷ bao myelin. Myelin là phức hợp gồm protein và photpholipit tạo thành bao xung quanh sợi trục của một số neuron, tạo ra sợi thần kinh myelin (hay sợi myelin). Các sợi thần kinh myelin truyền các xung động nhanh hơn sợi không có myelin. Do đó, việc mất myelin ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình dẫn truyền xung thần kinh.

### 11.3.4. Chẩn đoán phòng thí nghiệm

- BKV và JCV rất khó phân lập nên chỉ có thể phát hiện bằng cách soi dưới kính hiển vi điện tử mẫu dịch não hoặc cặn nước tiểu.

- Phát hiện KN virus bằng MD huỳnh quang gián tiếp ở các tế bào trích ra trong nước tiểu hoặc các mẫu mô não cố định bằng axeton.

- Đối với các tế bào có biểu hiện thay đổi hình thái đặc trưng, ví dụ như tế bào thần kinh đệm ở não bị sưng phồng, tế bào chất có bọt và nhân to, tế bào chuyển tiếp chứa

thể ẩn nhập có trong nước tiểu thì có thể phát hiện bằng phương pháp lai ADN. Dùng PCR để khuếch đại ADN trong dịch não tủy kết hợp với việc xác định KT trong não tủy.

– Hầu hết các phương pháp huyết thanh để xác định KT kháng BKV và JCV là phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu. Sự tăng hàm lượng IgM chứng tỏ bệnh nhân mới bị nhiễm virus.

### 11.3.5. Điều trị

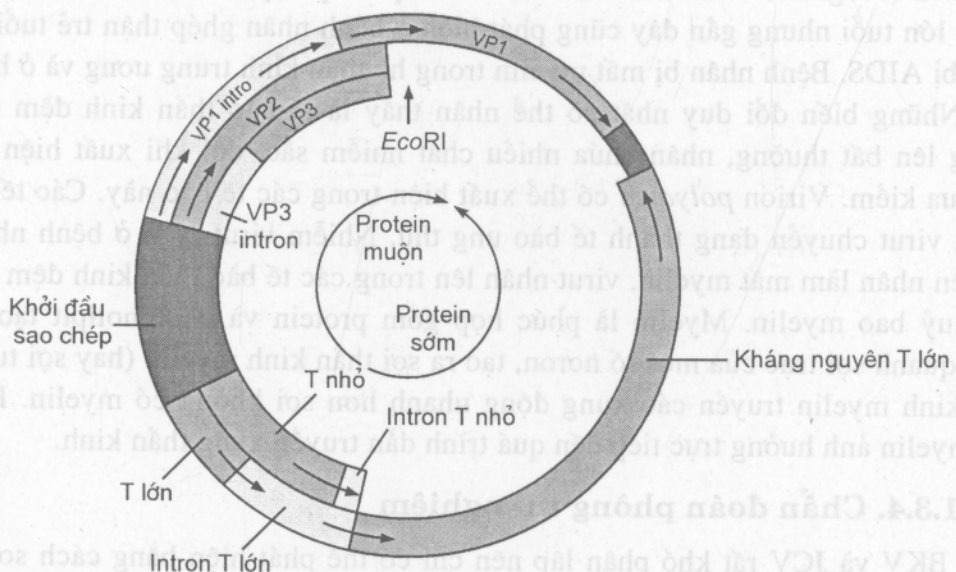
Cho đến nay chưa thấy có phương pháp điều trị PML một cách hữu hiệu mà chỉ có thể cải thiện tình hình bằng cytarabin, đặc biệt là nếu đưa vào vỏ não tủy trong một thời gian dài.

### 11.3.6. Virut SV40

SV40 là virut *polyoma*, được phân lập từ khỉ (SV – simianvirus) và là một trong những phân tử di truyền đầu tiên được nghiên cứu bằng kỹ thuật di truyền và được sử dụng rộng rãi làm vectơ đưa gen vào tế bào eukaryota.

SV40 là virut có cấu tạo đơn giản, không có vỏ ngoài. Capsit có dạng khối đa diện, chứa 72 capsome và không chứa enzym. Ngoài protein capsit còn có protein histon, có nguồn gốc từ tế bào chủ và gắn vào ADN của virut. Protein histon đóng vai trò trung hoà điện tích âm, bắt nguồn từ nhóm photphat của ADN và làm cho ADN nén chặt lại.

Genom của SV40 gồm một phân tử ADN chuỗi kép, khép vòng với 5243 cặp bazơ, cấu trúc siêu xoắn nằm trong virion.



Hình 11. Bản đồ di truyền của SV 40

VP1, VP2 và VP3 là các gen mã hoá cho 3 protein tạo vỏ ngoài của virut

Quá trình sao chép và phiên mã tiến hành trong nhân nhưng protein sau khi được tổng hợp trong tế bào chất lại được vận chuyển vào nhân để tiến hành lắp ráp trong

nhân. Quá trình nhân lên được chia làm hai giai đoạn : *giai đoạn sớm* và *giai đoạn muộn*. Trong giai đoạn sớm, vùng gen sớm được phiên mã nhờ ARN – polymeraza của tế bào. Chỉ có một phân tử ARN được tạo thành là tiền ARN, sau đó sợi này được chế biến loại bỏ intron tạo ra hai sợi mARN (một sợi lớn và một sợi nhỏ). Trong tế bào chất, mARN dịch mã tạo ra hai phân tử protein, đó là những kháng nguyên T nhỏ và T lớn. T lớn gắn vào điểm khởi đầu sao chép của ADN mẹ.

Do ADN của virus SV40 quá nhỏ, không mã hoá được cho ADN – polymeraza của riêng mình nên chúng phải dùng ADN – polymeraza của tế bào.

Sao chép xuất phát từ điểm khởi đầu chung, tiến hành theo hai hướng. Quá trình diễn ra giống như đã được mô tả trong chương Di truyền virus, như là tổng hợp môi ARN, sự tạo thành các đoạn ADN ngắt quãng trên sợi muộn, sự nối các đoạn ngắn lại với nhau nhờ enzym ligaza, sự cuộn sợi ADN siêu xoắn nhờ hoạt động của gyraza. Sợi mARN muộn được phiên mã từ mạch ADN bổ sung với mạch ADN đã dùng làm khuôn để phiên mã ra sợi mARN sớm. Điều đó có nghĩa là cả hai mạch ADN đều được dùng để phiên mã. Phiên mã bắt đầu từ promoter nằm gần điểm khởi đầu sao chép. ARN muộn được chế biến (loại bỏ intron), gắn đuôi polyA để trở thành các mARN hoàn chỉnh dùng cho tổng hợp 3 loại protein vỏ : VP1, VP2 và VP3. Đây là các gen chống lớp, trong đó có một đoạn nucleotit là chung cho cả 3 protein. Các mARN muộn vận chuyển ra tế bào chất để tổng hợp protein vỏ, sau đó các protein vỏ lại được vận chuyển trở lại nhân để tiến hành lắp ráp. Tùy thuộc vào loại tế bào chủ mà khi xâm nhập, virus có thể nhân lên làm tan tế bào hoặc nếu không thể nhân lên được thì ADN virus sẽ cài xen vào NST của tế bào làm tế bào chủ bị thay đổi về mặt di truyền. Các tế bào này thường mất khả năng ức chế sinh trưởng và được gọi là các tế bào chuyển dạng hoặc các tế bào ung thư. Trong các tế bào này, sự chuyển dạng có thể xảy ra nếu protein sớm được tổng hợp nhưng ADN thì không thể tự sao chép được. Đồng thời, trong các tế bào chuyển dạng ADN của virus có thể cài xen vào vị trí bất kỳ trên NST tế bào chủ, chúng sẽ tổng hợp hai loại protein cần để duy trì bền vững sự gắn xen vào NST. Một khi genom virus tách khỏi NST của tế bào thì chúng có thể nhân lên tạo ra hàng nghìn virus con. Các tế bào cũng có thể thoát khỏi ung thư không phải do ADN virus tách khỏi NST của tế bào mà là do sự thay đổi quá trình điều hoà của bản thân tế bào.

## VIRUT POX, HỌ POXVIRIDAE

### 12.1. GIỚI THIỆU

*Poxviridae* là họ virus chứa ADN kép, gây nhiễm ở động vật có vú, chim, côn trùng, trong đó có nhiều virus gây bệnh quan trọng như bệnh đậu mùa, đậu mùa khỉ, viêm da mụn lầy. Họ này gồm hai họ phụ :

– *Chordopoxvirinae* gồm 6 chi : *Avipoxvirus*, *Camripoxvirus*, *Ceporipoxvirus*, *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus* và *Suipoxvirus*. Cả 6 chi này đều có quan hệ với nhau về huyết thanh học. Các virus của các chi trên có thể tiến hành tái tổ hợp với nhau.

– *Entomopoxvirinae* gồm các virus *pox* nhiễm vào côn trùng như bộ Cánh cứng (Coleoptera, ví dụ như gián), bộ Hai cánh (Diptera, ví dụ ruồi), bộ Bướm (Lepidoptera, ví dụ bướm, châu chấu) và một số virus chưa được phân loại, ví dụ virus *pox* lây nhiễm ở động vật thân mềm, virus *yaba* gây khối u ở khỉ.

Virion có kích thước lớn nhất và cấu trúc phức tạp nhất trong số các virus động vật. Tùy theo từng loại virus mà có thể có dạng hình trứng hoặc hình viên gạch với kích thước  $200 - 450 \times 170 - 260\text{nm}$ . Đáng lưu ý là kích thước của virus *pox* còn lớn hơn chút ít so với kích thước của vi khuẩn nhỏ nhất, ví dụ *chlamydia*.

Ở giữa hạt virus là lõi, lõm hai phía trông giống như quả tạ. Đối diện với hai mặt lõm là hai thể hình bầu dục, gọi là "thể bên" (lateral body) có dạng hình thấu kính.

Bao bọc lõi và hai thể bên là màng ngoài có bản chất lipoprotein. Bề mặt vỏ ngoài được bao bọc bởi các ống nhỏ đặc trưng. Virion chứa nhiều enzym tham gia vào quá trình sao chép, phiên mã và chế biến ARN.

Virus *pox* tương đối bền khi ở nhiệt độ phòng và không bị bất hoạt khi cho vào bình hút ẩm. Virion bền với ete nhưng lại bị bất hoạt bởi clorofoc hay khi đun ở  $60^{\circ}\text{C}$  trong vòng 20 phút.

Genom là một phân tử ADN kép với khối lượng  $85 - 250 \times 10^6$ . Ở một số virus *pox*, tạo hai đầu của chuỗi ADN kép, hai mạch nối lại với nhau nhờ liên kết cộng hoá trị, do đó phân tử thực chất là một chuỗi polynucleotit khép vòng liên tục.

### 12.2. QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN

Toàn bộ quá trình nhân lên của virus *pox* đều diễn ra trong tế bào chất. Hãy lấy *Orthopoxvirus* (đặc biệt là virus *vaccinia*) làm ví dụ. Đầu tiên, virus bám vào yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF) nằm trên bề mặt tế bào chủ, sau đó tiến hành dung hợp giữa màng sinh chất và vỏ ngoài hoặc chui vào theo kiểu thực bào. Hậu quả ban đầu của quá trình gây nhiễm là ức chế tổng hợp ADN, ARN và protein của tế bào chủ.

– Lõi virut được "cởi áo" trong tế bào chất và enzym của lõi bắt đầu phiên mã ADN virut.

– mARN sớm được tổng hợp nhờ ARN – polymeraza của virut, sau đó được xử lý để trở thành mARN trưởng thành có gắn mũ và đuôi (mARN sớm hình như không được cắt nối – splicing).

– mARN sớm mã hoá cho các enzym cần cho sao chép ADN và phiên mã.

Sự sao chép ADN đòi hỏi phải cắt nó để tạo đầu 3' tự do đóng vai trò làm môi. Khi ADN được sao chép mạnh mẽ thì cho phép bắt đầu tổng hợp mARN muộn để mã hoá cho các protein cấu trúc.

– Quá trình phân cắt protein cấu trúc luôn đi đôi với quá trình lắp ráp. Trong trường hợp virut *vaccinia*, virion được bao bọc bởi hai lớp màng có nguồn gốc từ bộ máy Golgi.

Virion trưởng thành được đưa ra màng tế bào để tiến hành dung hợp giữa màng ngoài của virut với màng sinh chất của tế bào. Kết quả là giải phóng virut chỉ có một lớp màng Golgi đơn.

Trong tế bào chất, vùng chuyên biệt dành cho virut nhân lên gọi là "xưởng sản xuất" virut hay "viroplasm". Khi làm tiêu bản nhuộm màu thích hợp có thể quan sát được các vùng này dưới kính hiển vi thường, ví dụ thể vùi typ B (thể vùi Guarnieri) hoặc thể vùi typ A (ví dụ ở virut đậu bò) là một cấu trúc ưa axit có thể có hoặc không chứa virion.

### 12.3. BỆNH ĐẬU MÙA

Đậu mùa là bệnh do virut thuộc chi *Orthopoxvirus* gây nên. Đây là bệnh rất hay lây, được đặc trưng bởi các triệu chứng như sốt cao, phát ban dạng mụn nước và mụn mủ với tỷ lệ tử vong cao lên đến 30%. Những người thoát khỏi cái chết thì lại bị di chứng suốt đời, để lại sẹo trên mặt hoặc bị mù. Đậu mùa là một bệnh khủng khiếp nhất mà loài người phải chịu đựng từ hàng trăm năm trước công nguyên, cho mãi đến năm 1979, bệnh mới được thanh toán trên phạm vi toàn cầu. Ba nguyên nhân dẫn đến thắng lợi này là :

1. Người vừa là ổ chứa vừa là vật chủ duy nhất của virut đậu mùa.
2. Vacxin hữu hiệu chống virut đậu mùa đã được Edward Jenner phát minh rất sớm, ngay từ năm 1796 và được dùng liên tục đến cuối thế kỷ XX.
3. Đến giữa thế kỷ XX chỉ còn một số ít vùng trên thế giới còn bị đậu mùa.

Mặc dù bệnh đậu mùa đã bị tiêu diệt nhưng có lẽ vẫn cần giới thiệu vì hiện đang tiềm ẩn nguy cơ bệnh trở lại do âm mưu của các thế lực khủng bố.

#### 12.3.1. Triệu chứng

Virut xâm nhập và nhân lên ở đường hô hấp trên. Thời gian ủ bệnh 6 – 14 ngày, lúc đầu không biểu hiện triệu chứng, 2 – 4 ngày trước khi phát ban người bệnh lên cơn sốt,



mệt mỏi, nhức đầu, đau lưng, đôi khi bị nôn mửa hoặc tiêu chảy. Bệnh tiến triển theo các giai đoạn : từ mảng ban, mụn đỏ, bong nước đến giai đoạn mụn mủ. Mỗi giai đoạn cách nhau 2 – 3 ngày. Sau 1 tuần, các nốt đậu vỡ ra, đóng vảy và để lại nhiều vết sẹo trên da.

### 12.3.2. Chẩn đoán

Ở giai đoạn đầu cần lấy bệnh phẩm từ họng, khi ban xuất hiện thì lấy bệnh phẩm từ các tổn thương trên da. Nhuộm Giemsa hay Feulgen để tìm tiểu thể Guarnieri hoặc tìm virus dưới kính hiển vi điện tử.

Xác định KT đặc hiệu (xuất hiện sau khi bị nhiễm 6 – 9 ngày, hiệu quả tăng sau 2 – 3 tuần) bằng các phản ứng huyết thanh học (kỹ thuật MD huỳnh quang, cố định bổ thể, phản ứng trung hoà, kết tủa trong gen).

Ngày nay phát hiện ADN virus gây bệnh bằng PCR.

### 12.3.3. Phòng chống

Vaccin được sản xuất từ virus đậu bò, nuôi trong màng niệu đệm phổi gà hoặc nuôi trong tế bào nuôi cấy mô. Khi xuất hiện dịch, phải cách ly tuyệt đối cho đến khi xuất hiện các vảy mụn bong. Các dụng cụ phải được khử trùng. Phải thông báo kịp thời cho WHO để nhận được tư vấn và trợ giúp kịp thời.

### 12.3.4. Các virus đậu mùa khác

– *Orf* là virus gây bệnh viêm da có mụn mủ lây, gây nhiễm ở cừu, dê rồi truyền cho người chăn nuôi qua các vết xước ở tay khi tiếp xúc với các vùng quanh miệng, mắt, mũi của con vật bị nhiễm gây tổn thương u hạt mãn tính. Chẩn đoán bằng soi kính hiển vi điện tử, phát hiện thấy các hạt hình ovan với bề mặt là các dải đan chéo theo kiểu lưới mắt cáo.

– *Đậu mùa khỉ ở người* là thành viên của virus *orthopox*, lưu hành trong rừng mưa nhiệt đới ở Trung và Tây Phi, nơi con người thường tiếp xúc với khỉ. Bệnh hiếm gặp, có triệu chứng giống bệnh đậu mùa nhưng khác ở chỗ là có hạch sưng to ở cổ và bẹn. Sốt là ổ chứa của virus đậu mùa khỉ.

– *Paravaccinia (pseudocowpox)* là virus giả đậu bò, giống như virus *orf* thường gây bệnh u hạt ở người vắt sữa hoặc người chăn nuôi qua các vết xước ở tay khi tiếp xúc với con vật bị nhiễm. Các tổn thương xuất hiện dạng hạt đỏ, lúc đầu thưa sau đó tạo thành mảng đỏ tía. Không có nang hay mụn mủ, không đau. Bệnh khỏi sau 4 – 6 tuần.

– *Đậu bò* là thành viên của virus *orthopox*, lây bệnh sang người qua các vết loét ở đầu vú bò. Virus gây tổn thương giống như các tổn thương khi tiêm chủng virus đậu mùa lần đầu. Đầu tiên là tạo thành các bong nước, sau đó thành mụn mủ rồi đóng vảy. Rất dễ nhầm với virus gây u hạt ở người vắt sữa.

## Chương 13

# VIRUT HERPES, HỌ HERPESVIRIDAE

### 13.1. GIỚI THIỆU

Virut *herpes* (ký hiệu là HV) là virut ADN thuộc họ *Herpesviridae*, căn nguyên gây nhiều bệnh ở người và động vật như : mụn rộp, loét lạnh, thủy đậu, zona, viêm kết mạc cấp, viêm miệng, viêm âm đạo, bệnh tăng bạch cầu đơn nhân.

Một số virut *herpes* có khả năng gây ung thư, một số khác lại có khả năng tiềm ẩn lâu dài trong cơ thể có khi đến suốt đời.

Có 8 loại virut *herpes* được công nhận :

1. *Herpes simplex typ 1* (HSV – 1)
2. *Herpes simplex typ 2* (HSV – 2)
3. *Varicella – zoster* (HHV – 3)
4. *Cytomegalo* (CMV) (HHV – 5)
5. *Epstein – Barr* (EB) (HHV – 4)
6. *Herpes 6* ở người (roseola)
7. *Herpes 7* ở người (không biểu hiện triệu trứng)
8. *Herpes 8* ở người (Sarcoma kaposi).

### 13.2. HERPES SIMPLEX

Trong số các virut *herpes* thì *herpes simplex* là loại đặc biệt, gây ra hàng loạt triệu chứng, tổn thương chính là tạo thành các bọt nước nhỏ (mụn rộp) nhưng cũng có thể gây biểu hiện ở nhiều dạng khác nhau.

Có 2 typ *herpes simple* :

– *Herpes simplex typ 1* (HVS – 1) là loại phổ biến nhất, thường gây loét lạnh, mụn rộp nơi miệng – mặt. Thời gian ủ bệnh của HVS – 1 ngắn, thường chỉ 3 – 5 ngày. Các tổn thương sẽ hồi phục sau 3 – 5 tuần mà không cần chữa trị. Nhưng cũng có người nhiễm virut mà không biểu hiện triệu chứng. Bệnh lây qua tiếp xúc trực tiếp. Nhiễm virut dạng tiềm ẩn cũng thường xảy ra, virut tồn tại một lượng nhỏ trong mô thần kinh.

– *Herpes simplex typ 2* (HSV – 2) là typ truyền bệnh qua đường sinh dục, tạo ra các bọt nước gây ngứa, đau rát vùng sinh dục ở cả nam và nữ. Bệnh có đặc tính dễ tái phát và rất dễ lây khi các bọt nước vỡ ra và phóng thích virut sang cơ quan sinh dục của đối tác trong khi quan hệ.

### 13.2.1. Cấu tạo của virut

Virut *herpes* có cấu trúc phức tạp, gồm 4 đơn vị hình thái khác nhau. Virut *herpes simplex* typ 1 có vỏ ngoài với các gai nhỏ trên bề mặt, đường kính 150nm. Bên trong là capsit có dạng hình khối đa diện bao gồm 162 capsome. Mỗi capsome lại gồm một số lớn protein riêng biệt. Bao phía ngoài vỏ capsit và nằm phía trong vỏ ngoài là lớp bọc vô định hình gọi là tegument. Ở giữa là một lõi chứa phân tử ADN chuỗi kép, dạng thẳng, gồm 152 – 260 cặp bazơ (lớn hơn genom virut SV40 khoảng 30 lần), có thể mã hoá cho ít nhất 84 protein khác nhau.

### 13.2.2. Quá trình nhân lên

Virut bám vào thụ thể đặc hiệu trên bề mặt tế bào, tiến hành dung hợp giữa vỏ ngoài virut với màng tế bào chất, rồi đẩy nucleocapsit vào tế bào, sau đó nucleocapsit được vận chuyển vào nhân, tiến hành cởi áo tại lỗ màng nhân và giải phóng ADN vào trong nhân. Sự có mặt của virut gây ức chế sự tổng hợp các đại phân tử của tế bào và sử dụng bộ máy của tế bào để tiến hành sao chép, phiên mã và dịch mã.

Có 3 loại mARN :

- mARN  $\alpha$  (tiền sớm – immediate early) mã hoá cho 5 protein điều hoà.
- mARN  $\beta$  (sớm sau – delayed early) mã hoá cho các enzym dùng trong sao chép ADN, bao gồm timidinkinaza và ADN – polymeraza.
- mARN  $\gamma$  (muộn – late) mã hoá cho các protein cấu trúc của virut.

Trong giai đoạn tiền sớm, khoảng 1/3 genom được phiên mã nhờ hoạt động của ARN – polymeraza của tế bào. mARN  $\alpha$  mã hoá cho protein kiểm soát dương để kích thích tổng hợp các protein  $\beta$ .

Giai đoạn sớm chỉ xảy ra sau khi tổng hợp protein tiền sớm. Ở giai đoạn này, khoảng 40% genom virut được phiên mã và khoảng 10% protein được tạo thành, trong đó có ADN – polymeraza, các enzym cần cho tổng hợp deoxiribonucleotit và một protein gắn ADN. Tất cả các enzym này đều cần cho sao chép ADN của virut. Hầu hết các protein muộn  $\gamma$  là các protein cấu trúc. Các protein này kìm hãm sự tổng hợp các protein  $\alpha$  và  $\beta$ .

### 13.2.3. Sao chép ADN

Sau khi vào nhân, genom của virut khép vòng và tiến hành sao chép theo *cơ chế vòng tròn xoay* giống như ở phage  $\lambda$ . Tuy nhiên, ở đây có 3 điểm khởi đầu sao chép, kết quả là tạo ra một sợi consateme dài, sau đó được cắt để tạo thành các sợi ADN có chiều dài genom của virut (giống như ở phage ADN).

Nucleocapsit được lắp ráp trong nhân, sau đó nảy chồi qua màng trong của nhân để tạo thành vỏ ngoài. Virut trưởng thành thoát qua lưới nội chất để ra ngoài tế bào. Cần nhớ rằng, sự lắp ráp của virut ADN có vỏ ngoài khác với virut ARN có vỏ ngoài (virut ADN lắp ráp trên màng nhân, còn virut ARN lắp ráp trên màng tế bào chất).

### 13.3. BỆNH THUỖ ĐẬU VÀ BỆNH ZONA (VARICELLA – ZOSTER)

Bệnh thủy đậu (varicella) và bệnh zoster hay zona, là hai dạng biểu hiện lâm sàng khác nhau của cùng một tác nhân gây bệnh là virus *varicella – zoster*. Bệnh thủy đậu thường xuất hiện ở trẻ em, rất dễ lây và có thể lan thành dịch, trong khi đó bệnh zona thường mắc lẻ tẻ ở người lớn và những người bị tổn thương miễn dịch.

#### 13.3.1. Virus *varicella – zoster* (VZV)

VZV có kiểu hình thái điển hình của một thành viên họ *Herpesviridae*, chi *Varicellovirus* và giống với virus *herpes simplex*. VZV được phân loại là *Herpesvirus alpha*.

Genom là chuỗi ADN gồm 125000 cặp bazơ, dạng thẳng, xoắn kép, có khối lượng phân tử khoảng  $180 \times 10^6$  Da, cấu tạo gồm một đoạn ADN dài duy nhất, ký hiệu là  $U_L$  gắn kèm với các đoạn lặp lại trái chiều ở hai đầu và ở giữa. Còn một đoạn ADN ngắn duy nhất ký hiệu là  $U_S$  cũng gắn kèm với các đoạn lặp lại trái chiều ở hai đầu và ở giữa. Genom có tất cả 4 đoạn đồng phân, hai đoạn lớn chiếm 95%, hai đoạn nhỏ chiếm 5%.

Virion có đường kính 150 – 200nm, cấu tạo gồm : capsit hình khối đa diện 20 mặt tam giác đều gồm 162 capsome. Bao quanh capsit là lớp protein vô định hình (tegument). Phía ngoài cùng là vỏ ngoài gồm 2 hoặc hơn 2 lớp màng. Vì chứa lipid nên virus dễ bị bất hoạt bởi các dung môi làm tan virus.

Virus có khoảng 30 loại protein cấu trúc và không cấu trúc, trong đó có 6 loại glycoprotein, được ký hiệu là E, B, H, I, C, L và ít nhất có một phân giống như glycoprotein của HSV.

Glycoprotein giúp cho virus bám và xâm nhập vào tế bào, đồng thời là KN để hệ thống miễn dịch nhận diện (bao gồm ĐUMD thể dịch và ĐUMD tế bào). Các nghiên cứu có sử dụng enzym giới hạn cho thấy :

- Không có sự khác biệt giữa các chủng gây bệnh varicella và bệnh zoster (zona).
- Tác nhân gây bệnh khá ổn định khi cấy truyền invitro cũng như trong cơ thể.
- Nhiều chủng VZV có thể cùng tồn tại trong một vật chủ ở dạng tiềm ẩn.
- Quá trình nhân lên giống như mọi thành viên khác của virus *herpes*.

#### 13.3.2. Dịch tễ và đặc điểm lâm sàng

##### 13.3.2.1. Bệnh thủy đậu

Bệnh thường lây qua các sol khí chứa virus, thường vào mùa mát. Hầu hết trẻ em từ 5 – 9 tuổi đều mắc. Thời kỳ ủ bệnh từ 2 đến 3 tuần với các biểu hiện phát ban, ngứa, sốt nhẹ, có mụn màu đỏ sẫm, lan rộng từ thân mình đến mặt, đầu và các chi, chúng phát triển phồng rộp lên rồi đóng vảy và rụng sau khoảng 12 ngày. Tuy nhiên, đây là bệnh ít gặp ở người lớn.

### **13.3.2.2. Bệnh zona**

Bệnh xuất hiện lẻ tẻ ở mọi lứa tuổi nhưng chủ yếu là ở người lớn mà không thấy gây thành dịch. Đa số bệnh nhân mắc bệnh không phải do tiếp xúc với người đã nhiễm bệnh mà là do sự tái hoạt hoá của virus tiềm ẩn. Sau khi nhiễm lần đầu, VZV di chuyển đến thần kinh tuỷ sống và tiềm ẩn trong hệ thần kinh tuỷ sống. Sau khi tái hoạt hoá (thường là nhiều năm sau), virus di chuyển đến da để gây ban. Biểu hiện đặc trưng của bệnh zona là viêm dây thần kinh, thường là cột sống hoặc một dây thần kinh nào đó, nổi mụn nước dọc theo dây thần kinh bị viêm (thường gặp nhất là ở vùng cột sống).

Bệnh bắt đầu bằng phản ứng sốt, mệt mỏi, khó chịu, ban đỏ rất sần phát triển nhanh chóng hình thành nang tạo mụn nước, sau đó tạo thành mụn mủ nếu bị nhiễm khuẩn. Biến chứng nguy hiểm nhất của bệnh zona là đau do viêm dây thần kinh sau nhiễm. Cũng như ở bệnh thủy đậu, bệnh zona ở bệnh nhân rối loạn miễn dịch sẽ nặng hơn so với người bình thường. Song những người khi còn nhỏ đã bị bệnh thì sẽ được miễn dịch trong thời gian rất lâu.

### **13.3.3. Chẩn đoán**

- Soi kính hiển vi điện tử tìm virus trong dịch bong nước. Tuy nhiên, cách này lại không phân biệt được VZV với các virus *herpes* khác.

- Dùng phương pháp PCR để xác định ADN, dùng 2 cặp mồi 222bp và 350bp. Sản phẩm khuếch đại được cắt bằng các enzyme giới hạn BglI và PstI.

- Các phản ứng huyết thanh dùng để xác định VZV bao gồm :

- + Phản ứng kết hợp bổ thể.

- + Phản ứng MD enzyme với KN VZV lấy từ tế bào nuôi cấy HFĐI – HFĐK đã gây nhiễm VZV.

- + Kỹ thuật FAMA (KT gắn huỳnh quang kháng KN màng – fluorescen antibody to membrane antigen).

- + Kỹ thuật ELISA để xác định KT IgM kháng VZV.

- + Kỹ thuật ngưng kết hạt Latex (gắn glycoprotein VZV) để xác định KT.

### **13.3.4. Điều trị**

Cách chữa trị gần như duy nhất là nghỉ ngơi tại giường và bôi thuốc nước calamin vào chỗ vết dộp để ngăn gãi. Cần chú ý chống choáng, chống hạ nhiệt đột ngột và xuất huyết ồ ạt. Có thể dùng acyclovir cho các bệnh nhân nặng kể cả thủy đậu và zona (ví dụ ở người tủy thương miễn dịch). VZV ít mẫn cảm với acyclovir so với virus *herpes simplex*, nhưng vì thuốc ít độc nên có thể tăng liều lượng để tạo khả năng ức chế của thuốc trong máu và mô. Famciclovir cũng có tác dụng giống như acyclovir nhưng liều dùng thấp hơn.

### **13.3.5. Phòng bệnh**

Đối với người bị tổn thương miễn dịch do bị bệnh hoặc do dùng thuốc (với các bệnh nhân ghép tạng) thì việc phòng bệnh là cần thiết. Phòng bệnh bằng miễn dịch tức là

tiêm KT đặc hiệu chống bệnh zona (zoster immunoglobulin – ZIG) lấy từ bệnh nhân bị bệnh zona. Tiêm trong vòng 10 ngày sau khi bị phơi nhiễm.

### 13.4. VIRUT CỤ BÀO (CYTOMEGALO, CMV)

Virut *cytomegalo* thuộc chi *Cytomegalovirus* gây nhiễm khá phổ biến, nhưng không phải luôn biểu hiện triệu chứng. Giống như rubella, CMV có thể lây nhiễm do mẹ truyền cho thai nhi hoặc trong khi sinh nở dẫn đến virut nhiễm vào cuống rốn. Ngày nay, CMV lây nhiễm ở mọi lứa tuổi. Ngoài việc gây các khuyết tật bẩm sinh nặng nề, CMV còn gây hàng loạt các rối loạn ở trẻ nhỏ và người lớn với các mức độ khác nhau, từ nhiễm không triệu chứng, cận lâm sàng đến hội chứng tăng bạch cầu đơn nhân do gây nhiễm ở người bình thường và nhất là những người bị tổn thương miễn dịch. Việc phát hiện ra virut CMV trong một số dịch như nước bọt, nước tiểu, sữa mẹ, nước mắt, phân, dịch âm đạo, dịch tiết cổ tử cung, máu và tinh dịch cho thấy chúng có thể nhiễm vào cơ thể theo nhiều con đường khác nhau. Ở người lớn, virut CMV thường truyền qua quan hệ tình dục, qua truyền máu và các sản phẩm từ máu cũng như qua ghép tạng. Sau khi gây nhiễm, virut có thể ở dạng tiềm ẩn và cơ thể bị mang virut suốt đời. Virut tiềm ẩn có thể tái kích hoạt để gây bệnh.

#### 13.4.1. Virut CMV

Virion trưởng thành có kích thước rất lớn, đường kính 120 – 200nm. Genom là ADN chuỗi kép, thẳng, với khối lượng phân tử  $1,5 \times 10^8$ . Ở hai đầu và giữa có các đoạn lặp lại. ADN mã hoá cho ít nhất 30 protein cấu trúc cũng như nhiều loại polypeptit khác. Capsit có dạng hình khối đa diện 20 mặt. Bao quanh capsit là lớp vỏ bọc protein vô định hình hay còn gọi là chất nền (matrix). Bao quanh nucleocapsit và chất nền là vỏ ngoài giàu photpholipit. Khi soi dưới kính hiển vi điện tử, khó có thể phân biệt về mặt hình thái giữa CMV với các virut *herpes* khác. Ở trong tế bào nhiễm thường có tỷ lệ khá lớn các hạt virut không hoàn thiện và xuất hiện các hạt hình cầu gọi là thể đậm đặc (dense bodies). Các tế bào nhiễm CMV được xem là các liên bào bị nhiễm. Chúng lớn hơn các tế bào thường từ 2 đến 4 lần và chứa một thể vùi trong nhân, có kích thước 8 – 10 $\mu$ m, đôi khi cũng thấy có thể vùi nhỏ hơn bên trong tế bào chất.

#### 13.4.2. Quá trình nhân lên

Quá trình này xảy ra trong nhân. Glycoprotein vỏ ngoài rất cần để virut hấp phụ lên bề mặt tế bào, sau đó dung hợp rồi đẩy nucleocapsit vào tế bào chất. Vỏ capsit bị phân giải, ADN sau khi được giải phóng thì vận chuyển vào nhân. Tại nhân, xảy ra quá trình sao chép và phiên mã. mARN được vận chuyển ra tế bào chất để tiến hành dịch mã. Còn các enzym và các protein cấu trúc lại được đưa vào nhân, lắp ráp sát màng trong của nhân. Vỏ ngoài của virut được tạo thành khi nucleocapsit này chui qua màng nhân. Do đó vỏ ngoài của virut CMV có nguồn gốc từ màng nhân.

CMV bị bất hoạt dưới tác động của một số tác nhân vật lý và hoá học như xử lý ở 56°C trong 30 phút, ở điều kiện pH thấp, bởi các dung môi lipid hay bị chiếu UV.

### 13.4.3. Biểu hiện lâm sàng

Trẻ em bị nhiễm qua mẹ ngay trong thời kỳ bào thai thì thường hay bị gan to và vàng da (60 – 80%). Đầu nhỏ kèm theo (hoặc không) vôi hoá não, chậm lớn trong tử cung và bị đẻ non, không thấy bị rối loạn về trí não trong những năm về sau.

– *Nhiễm CMV chu sinh* là trường hợp trẻ sơ sinh bị nhiễm trong lúc sinh, khi đi qua âm đạo, hoặc sau ngay khi sinh do sữa mẹ bị nhiễm virut. Các trẻ em này thường không biểu hiện triệu chứng nhưng việc nhiễm CMV kèm với nhiễm trùng khác, ví dụ như *chlamydia trachomatis*, sẽ có thể gây bệnh trầm trọng hơn như kém tăng cân, sung hạch, ban đỏ thiếu máu, tăng tế bào lympho không điển hình.

– *Tăng bạch cầu đơn nhân do CMV* là tình trạng trong máu có số lượng bạch cầu đơn nhân cao bất thường. Bệnh kéo dài từ 2 đến 6 tuần, sốt cao, kéo dài, mệt mỏi, khó chịu, đôi khi rét run. Thường thấy đau cơ, đau đầu, lách to. Đa số bệnh nhân hồi phục không có biến chứng. Một số ít người có thể thiếu tan máu, giảm tiểu cầu và giảm bạch cầu hạt.

– *Nhiễm CMV ở người bị rối loạn miễn dịch* thường hay nhiễm ở những người ghép tạng (thận, gan, tim) gây các hội chứng như sốt, giảm bạch cầu, viêm gan, viêm phổi, viêm ruột già và viêm võng mạc. Các triệu chứng thường xuất hiện sau 1 – 4 tháng cấy ghép. Đây là các bệnh nhân đã từng uống thuốc ức chế MD như cyclosporin A nhằm tránh thải ghép. 15 – 20% bệnh nhân ghép tuỷ xương bị nhiễm phổi do CMV, với tỷ lệ tử vong rất cao, đến 80% số người bị nhiễm. Đặc biệt nguy cơ nhiễm CMV cao ở bệnh nhân AIDS. Các hội chứng CMV ở bệnh nhân suy giảm MD là sốt kéo dài, khó chịu, kém ăn, đổ mồ hôi đêm, đau khớp, đau cơ, tiếp đó là rối loạn chức năng gan, giảm bạch cầu, tiểu cầu, tăng tế bào lympho không điển hình. Nhiễm CMV còn dẫn tới rối loạn hô hấp (thở nhanh, thiếu oxy, ho khan) và rối loạn tiêu hoá (loét dạ dày, thực quản, ruột non hay bị loét đại tràng dẫn đến chảy máu hoặc thủng).

### 13.4.4. Chẩn đoán

– *Nuôi cấy tế bào*. Dùng nguyên bào sơ phổi người (tế bào phổi phổi người) và nhận biết qua đặc điểm CPE hoặc miễn dịch huỳnh quang gián tiếp với các KT đơn dòng dạng thương mại.

– *Các phản ứng huyết thanh* bao gồm :

+ Miễn dịch enzym (EIA) để phát hiện KT kháng CMV cho kết quả nhanh, nhạy và đặc hiệu.

+ Phản ứng ngưng kết hạt Latex thụ động để phát hiện KT kháng CMV. Đây cũng là phản ứng đơn giản, nhạy và đặc hiệu. Cho kết quả nhanh trong vòng 10 – 15 phút, phát hiện được cả IgG và IgM.

+ Phản ứng kết hợp bổ thể không được nhạy bằng các phương pháp khác nhưng cũng có thể được sử dụng trong chẩn đoán CMV.

+ Phản ứng miễn dịch huỳnh quang kháng bổ thể (ACIF – anticomplement immunofluorescent test) là phản ứng miễn dịch huỳnh quang xác định KT kháng CMV. Nội dung của phương pháp là ủ kháng huyết thanh làm bất hoạt bằng nhiệt với nguyên bào sơ nhiễm CMV và cố định trên lam kính. Xác định KT kháng CMV trên bề mặt tế bào bằng cách dùng bổ thể và cộng hợp KT kháng bổ thể gắn thuốc nhuộm huỳnh quang. Phương pháp này cho kết quả nhanh (2 – 3 giờ).

+ ELISA dùng xác định IgM và IgG.

#### **13.4.5. Điều trị**

Để phòng bệnh trong ghép tạng và đối với các bệnh nhân suy giảm MD nói chung, nên dùng ganciclovir, đặc biệt cần thiết trong trường hợp ghép tủy xương. Cũng có thể dùng DHPG (dyhidroxypropoxymethylguanin) là dẫn xuất của guanosin có hoạt tính chống CMV mạnh hơn acyclovir. Foscarnet được dùng trong điều trị viêm võng mạc do CMV ở bệnh nhân AIDS.

### **13.5. VIRUT EPSTEIN – BARR (EBV)**

Virut *Epstein – Barr* mang tên hai nhà khoa học lần đầu tiên quan sát thấy chúng dưới kính hiển vi điện tử, khi nuôi cấy nguyên bào lympho từ u lympho Burkitt năm 1960. Virut EB là một virut *herpes* phân bố khắp nơi trên thế giới. Chúng được đặc biệt quan tâm vì liên quan đến ung thư ở người như u lympho dạng Burkitt, ung thư mũi – hầu.

#### **13.5.1. Virion EB**

Là thành viên của họ *Herpesviridae*, chi *Lymphocryptovirus* nên virut EB có đặc điểm của virut *herpes* : là virut có vỏ ngoài với đường kính 120nm. Capsit có cấu tạo hình đa diện gồm 162 capsome. Genom là ADN mạch kép, gồm 172 cặp bazơ, tồn tại ở cả hai dạng (dạng thẳng ở virion trưởng thành và dạng khép vòng kiểu episom ở trong các tế bào nhiễm tiềm ẩn). Cấu trúc ADN dạng thẳng bao gồm các đoạn duy nhất nằm xen với các đoạn lặp lại ở giữa và ở hai đầu. Khi khép vòng thì hai đoạn lặp lại ở hai đầu này nối với nhau. Genom virut xen vào giữa hai đoạn ở vị trí bất kỳ.

Virut EB gây nhiễm cho các tế bào dòng lympho B và một số loại tế bào khác, ví dụ tế bào biểu mô mũi hầu, tế bào biểu mô lưỡi của bệnh nhân mắc chứng tăng sinh bạch cầu lông miệng (oral hairy leukoplakia), tế bào T chưa chín ở người ghép tạng.

Trong thí nghiệm in vitro, virut EB chỉ nhiễm được vào tế bào lympho B của người và động vật thuộc bộ Linh trưởng. Mặc dù về mặt khái niệm, virut EB rất giống với virut *herpes* 8 ở người nhưng tính KN vẫn có đặc điểm riêng. Đó là khả năng chuyển tiền tế bào B và tế bào B chín thành dòng nguyên bào lympho có khả năng tiếp tục phát triển trong nuôi cấy nhân tạo. Trong các tế bào nhiễm, hiếm khi tạo được virut trưởng thành. Đa số các tế bào chuyển đổi vẫn duy trì genom virut ở dạng tiềm ẩn, với số lượng bản sao không đổi trong nuôi tế bào. Genom này biểu hiện có giới hạn phức hợp các KN nhân (*Epstein – Barr* nuclear antigen – EBNA) từ EBNA1 đến EBNA6 và biểu hiện



protein màng dạng tiềm ẩn (latent membrane protein – LMP) LMP1 và LMP2. Dựa vào sự biểu hiện EBNA (thông qua sự biểu hiện phenotyp) mà biết được tế bào đã biến đổi hay chưa.

Ở mức độ phân tử, hiện nay virus EB được phân thành hai typ A và B (có khi gọi là typ 1 và 2) dựa trên cấu trúc đa hình của các gen EBNA. Các nghiên cứu dựa trên huyết thanh học và PCR xác định rằng cả hai typ đều phân bố khắp nơi trên thế giới, trong đó typ A lưu hành rộng hơn và chuyển dạng tế bào lympho hiệu quả hơn typ B.

### **13.5.2. Chẩn đoán**

– Chỉ dùng kính hiển vi điện tử ở bệnh tăng sinh bạch cầu miệng vì các tổn thương ở lưỡi chứa virion. Ở các trường hợp khác virion ít xuất hiện trong mô nhiễm.

– MD huỳnh quang dùng để phát hiện nhanh EBNA, LMP và VCA (KN capsit) bằng KT đơn dòng.

– Xác định axit nucleic bằng PCR và lai ADN.

– Các phản ứng huyết thanh khác dùng để xác định KT kháng VCA như IgG – VCA, IgM – VCA. Ở bệnh nhân ung thư biểu mô mũi – hầu thì xuất hiện KT IgA – VCA.

### **13.5.3. Một số bệnh liên quan đến virus EB**

#### **13.5.3.1. U lympho Burkitt**

Là một loại u ác tính của hệ bạch huyết (tế bào B đơn dòng). Bệnh thường gặp ở trẻ em nhất là ở các vùng châu Phi 15° Bắc và Nam xích đạo, nhưng hiện nay cũng đã xuất hiện trên khắp thế giới. U xuất hiện ở nhiều vị trí khác nhau, nhưng nhiều nhất là ở hàm và bụng. Cũng có trường hợp còn thấy ở buồng trứng, tuyến giáp, thận, tim, dạ dày và cột sống. Có đến 50% trường hợp các biến chứng có liên quan đến hệ thần kinh. Virus EB liên quan đến việc tạo thành khối u. Trong tế bào B của bệnh nhân phát hiện thấy có ADN của virus EB. Ngoài virus, các yếu tố khác như sốt rét cũng góp phần thúc đẩy sự phát sinh ung thư. Ví dụ, xảy ra sự chuyển đoạn (hay hoán vị) giữa NST số 8 và NST số 14. Gen ung thư của tế bào (c – myc) được chuyển từ NST số 8 đến nằm gần gen mã hoá cho chuỗi nặng của Ig nằm trên NST số 14, dẫn đến gen c – myc được hoạt hoá bởi promoter của gen chuỗi nặng (xem chương ung thư). Sự sắp xếp lại gen do hoán vị xảy ra cả khi có hay vắng mặt virus EB. Vai trò của virus EB trong sự hình thành ung thư là kích thích tế bào B phân chia, tạo ra một lượng lớn tế bào B chuyển dạng và do đó làm tăng khả năng sắp xếp lại NST.

Sốt rét mãn tính sẽ làm giảm ĐUMD tế bào chống virus EB và kích thích tăng sinh tế bào B, do đó tăng cường hiệu quả của virus EB. Ung thư "dạng Burkitt" là ung thư lành tính, ít xảy ra. Chỉ có 20% trường hợp là liên quan đến virus EB.

#### **13.5.3.2. Bệnh tăng bạch cầu đơn nhân do nhiễm (infectious mononucleosis)**

Được viết tắt là IM hay còn gọi là bệnh sốt tuyến (glandular fever), là bệnh sốt do virus EB gây ra. Bệnh tác động đến các hạch bạch huyết ở cổ, nách và háng, chủ yếu thấy ở thanh, thiếu niên nhưng cũng thấy cả ở người lớn. Bệnh xuất hiện đầu tiên trong

những năm đầu đời, phổ biến ở những nơi dân cư đông đúc, điều kiện vệ sinh kém. Sau thời gian ủ bệnh khoảng 7 tuần, bắt đầu xuất hiện triệu chứng sung hạch bạch huyết, sốt, nhức đầu, viêm họng loét. Trường hợp biến chứng, bệnh tác động tới gan và gây viêm gan (làm tăng enzym gan), làm to lách, viêm màng tim ngoài hay liên quan đến hệ thống thần kinh. Tuy nhiên, các biến chứng thường ít xảy ra.

– *Chẩn đoán.* Bệnh IM thường được chẩn đoán bằng cách phát hiện thấy một lượng lớn bạch cầu đơn nhân xuất hiện trong máu. Để tránh nhầm lẫn với các bệnh do các tác nhân khác gây ra (CMV, virus Adeno) cần xác định ADN của virus EB.

– *Lây truyền.* Virus EB thường truyền qua nước bọt khi hôn nhau nên còn gọi là "bệnh hôn". Truyền qua sol khí và máu là không quan trọng. Virus EB nhân lên trong tế bào lympho B và trong các tế bào hươu – họng vì hai loại tế bào này có thụ thể bề mặt dành cho virus EB.

### **13.5.3.3. Ung thư biểu mô mũi hầu (nasopharyngeal carcinoma).**

Đây là ung thư ở khoang mũi – họng thường gặp ở nhóm người dân tộc vùng Quảng Đông, Trung Quốc hoặc ở người Eskimo. Trong các tế bào ung thư biểu mô có chứa genom virus EB, đồng thời trong huyết thanh của bệnh nhân có chứa KT kháng virus EB. Bệnh có liên quan đến yếu tố di truyền và môi trường sống. Chẳng hạn, nitrosamin có trong cá muối và cá khô của người Quảng Đông và ester pharbol có trong thuốc bắc của người Trung Quốc được xem là yếu tố tăng cường ung thư.

## **13.6. BỆNH BAN ĐÀO DO HHV – 6 (ROSEOLA)**

Ban đào do HHV – 6 thuộc chi *Roseolovirus* gây ra là bệnh dịch ở trẻ em, được đặc trưng bởi sốt cao đột ngột 3 – 4 ngày, sau đó giảm đột ngột đến nhiệt độ bình thường. Bệnh nhân thường bị đau họng, sưng hạch lympho và nổi ban hồng ở mặt, cổ, mình và chân tay. Tên bệnh (roseola) bắt nguồn từ màu hồng của ban. Bệnh còn liên quan đến bệnh xơ cứng nhiều bộ phận (MS – multiple sclerosis). Trên 75% bệnh nhân MS có kháng thể chống virus. Ở các bệnh nhân có mức kháng thể cao trong cuộc sống sau này dễ phát triển bệnh MS. Trong các tổn thương não của bệnh nhân MS có chứa HHV – 6 điển hình. Ngoài ra, bệnh nhân MS có đáp ứng tốt khi điều trị bằng interferon và các protein kháng virus.

Tế bào T4 là nơi virus nhân lên nhưng tế bào mono là nơi chúng nhiễm tiềm ẩn. Ở người lớn, HHV – 6 thường có mặt ở tế bào mono trong máu ngoại vi. Tuyến nước bọt là vị trí gây nhiễm chính của virus nên chúng chủ yếu lan truyền qua nước bọt. Nhiễm HHV – 6 mãn tính khi tái hoạt hoá có thể dẫn đến viêm phổi.

## VIRUT HEPADNA, HỌ HEPADNAVIRIDAE

### 14.1. GIỚI THIỆU

*Hepadnaviridae* được ghép từ chữ *hepa* (*hepaticus* – tiếng Hy Lạp là gan) và *dna* (*deoxyribonucleic acid*). Đây là họ virus động vật chứa genom ADN, có vỏ ngoài và có thể gây bệnh viêm gan ở người, động vật có vú và chim. Họ này bao gồm các virus gây viêm gan B ở người (HBV – hepatitis B virus), virus gây viêm gan ở sóc đất (GSHV – ground squirrel hepatitis virus), virus gây viêm gan B ở vịt (DHBV – duck hepatitis B virus), ở sóc đen (WHV – woodchuck hepatitis virus) và có lẽ cả virus gây viêm gan ở sóc cây (THBV – tree squirrel hepatitis B virus). Các virus này có cấu trúc và cách sắp xếp genom rất giống nhau chỉ khác nhau ở mối quan hệ với vật chủ. Mặc dù tất cả các virus *hepadna* đều có tính hướng gan (hepatotropic) nhưng ADN của HBV cũng được phát hiện thấy trong các tế bào tuyến tụy, lách và thận. DHBV có thể gây nhiễm vào tế bào tuyến tụy và thận của vịt.

Virion của virus họ *Hepadnaviridae* dạng gây nhiễm có đường kính 42nm, gồm một nucleocapsit, bên trong chứa genom. Nucleocapsit được bao bởi vỏ ngoài lipoprotein. Lõi chứa một protein chính (gọi là P22C ở HBV) liên kết với AND – polymeraza và một protein kinaza, có khả năng photphoryl hoá protein lõi này. Ở HBV vỏ ngoài chứa ít nhất 3 loại protein.

- "Protein chính" gồm GP 27<sup>8</sup> được glycosyl hoá và P 24<sup>8</sup> không được glycosyl hoá.
- "Protein trung bình" gồm 2 dạng đều được glycosyl hoá là GP 33<sup>8</sup> và GP 36<sup>8</sup>.
- "Protein lớn" gồm GP 42<sup>8</sup> được glycosyl hoá và P39<sup>8</sup> không được glycosyl hoá.

Genom là ADN kép, khép vòng nhưng không gắn với nhau bằng liên kết cộng hoá trị, trong đó một mạch (–) ký hiệu là L có chiều dài ổn định (3000 – 3500 nucleotit). Ở đầu 5' có protein gắn với ADN bằng liên kết cộng hoá trị, gọi là protein liên kết ADN (DNA – linked protein). Mạch kia ngắn ký hiệu là S, hay mạch (+), có đầu 5' cố định còn đầu 3' thay đổi và khác nhau về chiều dài từ 50 – 100% chiều dài của mạch (–). Mạch S có thể được kéo dài nhờ polymeraza của virus trên khuôn là mạch (–). Cấu trúc vòng của phân tử ADN là do sự bắt cặp bazơ giữa 2 đoạn đầu 5' của 2 mạch (đoạn chồng dính – cohesive overlap). Ở tất cả các virus *hepadna* đều có trật tự lặp lại cùng chiều gồm 11 cặp bazơ ở cả hai vị trí của đoạn chồng dính.

Đối với virus *hepadna* ở động vật có vú, mạch L có 4 khung đọc mở cùng hướng theo một chiều, được ký hiệu là vùng S, P, C và X.

- Vùng S gồm gen S, pre S1 và pre S2. Gen S mã hoá cho protein chính. Gen S + pre S2 mã cho protein trung bình (M), gen S + pre S2 + pre S1 mã hoá cho protein lớn (L) của vỏ ngoài.

- Vùng C gồm gen C và pre C. Gen C mã hoá cho protein lớn của lõi.
- Vùng P chèn lên toàn bộ vùng S và một phần vùng C và X, mã cho protein lớn giàu histidin có khối lượng 90000. Đây là polymeraza có hoạt tính enzym phiên mã ngược.
- Vùng X gồm đoạn chống dính mã hoá cho polypeptit chưa rõ chức năng (virut DHBV không có vùng X).

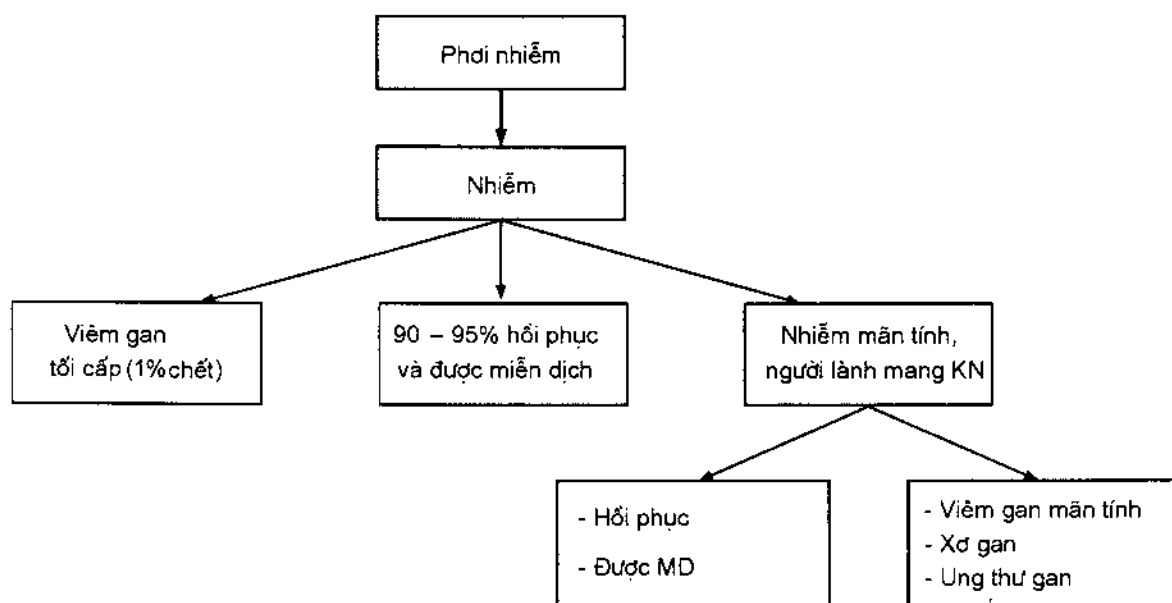
Sự biểu hiện các gen của virut thông qua ít nhất hai bản phiên mã không qua xử lý ghép nối. Không có một protein nào được mã hoá bởi mạch S.

Quá trình nhân lên của virut *hepadna* sẽ được trình bày trong phần virut HBV.

## 14.2. BỆNH VIÊM GAN B Ở NGƯỜI

Viêm gan B hay viêm gan huyết thanh là bệnh phổ biến trên toàn thế giới. Châu Á và châu Phi là những khu vực có tỷ lệ nhiễm cao nhất (khoảng 180 triệu dân châu Á và châu Phi mang mầm bệnh, chiếm 80% trong tổng số 220 triệu người mang mầm bệnh trên toàn thế giới). Ở Việt Nam, tỷ lệ người mang mầm bệnh rất cao (khoảng 10 – 20%).

Khi nhiễm virut viêm gan B (HBV) có thể dẫn đến các nguy cơ sau (hình 14.1) :



Hình 14.1. Sơ đồ các dạng nhiễm HBV

- Viêm gan cấp tính hoặc mãn tính, từ đó dẫn đến xơ gan rồi ung thư gan.
- Viêm gan do HBV là nguyên nhân của 80% các ca ung thư gan trên toàn thế giới. Trên 25% những người mắc viêm gan do HBV sẽ bị xơ gan hoặc ung thư gan.

– Ung thư gan xuất hiện nhiều nhất ở châu Á và châu Phi, nơi có tỷ lệ nhiễm HBV cao. Mỗi năm có khoảng 100000 bệnh nhân chết vì viêm gan do HBV bộc phát và cũng khoảng 100000 người chết vì xơ gan hoặc ung thư gan.

### 14.2.1. Triệu chứng lâm sàng

Khi mắc viêm gan B thường có hai trường hợp xảy ra :

– *Dạng cấp tính* được biểu hiện qua các triệu chứng lâm sàng như mệt mỏi, chán ăn, buồn nôn, mất cảm giác vị (chẳng hạn người nghiện thuốc lá khi hút không thấy vị thuốc). Vài tuần sau thấy nước tiểu sẫm màu, phân màu đất sét, da vàng. Triệu chứng lâm sàng là thay đổi chuyển hoá ở gan (hàm lượng enzym transaminaza – SGPT trong gan tăng lên). Một số trường hợp có thể chuyển sang thể tối cấp, hôn mê và chết sau vài ngày. Trước khi xuất hiện các triệu chứng kể trên, thời gian ủ bệnh kéo dài từ 2 tuần đến 6 tháng vì thế nên còn gọi là *viêm gan ủ bệnh lâu*. Ở thời kỳ ủ bệnh, virus có thể truyền sang người khác mà không hay biết.

– *Dạng mãn tính* không biểu hiện triệu chứng trong nhiều năm, do vậy cũng dễ lây cho người thân trong gia đình và cho người cùng làm việc. Nếu ở thể nhẹ, gan thương tổn ít, sẽ không ảnh hưởng đến chức năng gan. Nếu ở thể nhiễm dai dẳng, gan sẽ bị tổn thương vừa phải và nếu ở thể hoạt, gan sẽ bị tổn thương sâu sắc, có thể gây xơ gan và sau đó là ung thư gan nguyên phát. Đây là bệnh có tỷ lệ tử vong cao.

### 14.2.2. Con đường lây truyền

Viêm gan B lây truyền chủ yếu theo các con đường sau :

- Do truyền máu hoặc sử dụng các sản phẩm từ máu đã bị nhiễm HBV.
- Do tiếp xúc thông qua nước tiểu, nước bọt, do quan hệ tình dục đồng giới hay khác giới.
- Do mẹ truyền sang con qua nhau thai hoặc khi sinh nở.
- Theo các con đường khác như tiêm chích ma túy, xăm mình, châm cứu, trầy xước, dao cạo, bàn chải đánh răng....

### 14.2.3. Virus viêm gan B ở người

Năm 1964, Baruch Blumberg đã mô tả một loại KN đặc trưng ở thổ dân châu Đại Dương gọi là "KN Australia". Đến năm 1968, phát hiện thấy trong máu bệnh nhân viêm gan B mãn tính có tiểu thể hình cầu và hình sợi, đường kính 27nm không chứa ADN. Đó chính là KN bề mặt HBsAg (hepatitis B surface antigen). Hai tiểu thể này không phải là HBV hoàn chỉnh vì thiếu genom. Năm 1970, người ta phát hiện thấy trong máu bệnh nhân viêm gan B có các thể hình cầu, đường kính 42nm, bên trong chứa ADN kép gọi là tiểu thể Dane (mang tên người phát hiện). Sau này xác định chính tiểu thể Dane mới là HBV thực sự.

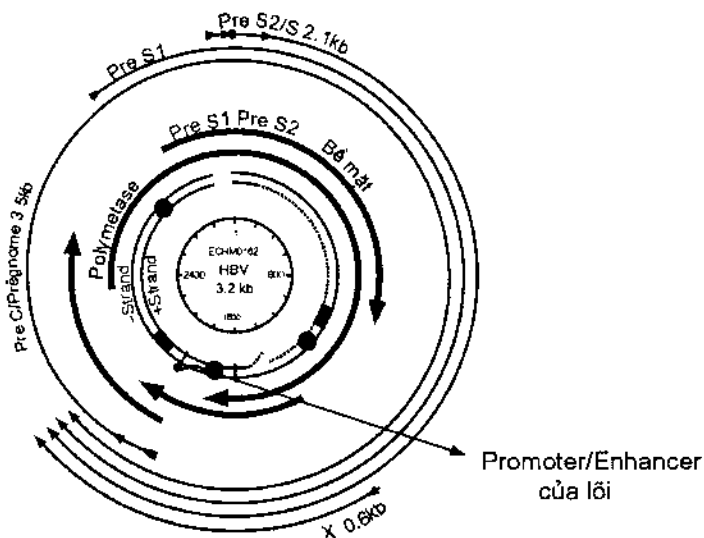
*Vỏ ngoài.* Cũng như các virus *hepadna* khác, vỏ ngoài của HBV là lipoprotein gồm 3 loại protein trong đó có một protein chiếm đa số gọi là protein chính. Phía trong vỏ ngoài là capsit gồm một loại protein.

Vỏ ngoài có KN bề mặt HBsAg, có mặt trong máu của bệnh nhân nhiễm HBV và dựa vào KN này để chẩn đoán bệnh viêm gan B. KN HBcAg (hepatitis B core antigen)

gọi là KN lõi. KN này chỉ có trong tế bào gan bị nhiễm. Do được bao bọc bởi lớp vỏ nên không có trong huyết thanh, vì thế muốn xác định không dùng phản ứng huyết thanh mà phải làm sinh thiết gan. Một KN khác là HBeAg (chữ e bắt nguồn từ Espmark, tên người phát hiện) có liên quan chặt chẽ với HBsAg và cũng được dùng để chẩn đoán viêm gan B vì KN này có mặt trong huyết thanh. Sự có mặt của HBeAg chứng tỏ HBV đang hoạt động mạnh mẽ trong tế bào gan sau đó là xuất hiện anti – HBe trong máu.

**Genom** của HBV chứa 32000 nucleotit, được xem là nhỏ nhất trong các virus ADN của động vật có vú. Đây là genom chồng lớp gồm 4 khung đọc mở S, C, P và X (hình 14.2).

– Các gen S (surface) mã cho KN bề mặt HBsAg bao gồm 3 phần : Tiền S1 hay pre S1, tiền S2 hay pre S2 và S. Vùng S và tiền S2 có chiều dài cố định, còn S1 có chiều dài thay đổi tùy theo typ virus. Các polypeptit bề mặt của HBV có liên quan với nhau vì đều có chung vùng S. Các gen S mã hoá cho 3 loại protein khác nhau là S, M và L.



**Hình 14.2.** Cấu tạo genom của HBV

+ Protein S (small) là protein nhỏ nhất (24kDa) trong số các protein bề mặt, chứa 226 axit amin. Đây là protein chính hay còn gọi là SHBsAg được mã hoá bởi gen S và được sản xuất với số lượng lớn. Các typ của virus được xác định dựa vào các typ của SHBsAg nhờ KT đơn dòng. Vùng KN có mặt ở tất cả các typ gọi là quyết định KN a. Bốn phân typ chủ yếu khác nhau là d hoặc y và w hoặc r. Hai bộ này được cặp đôi trong đó thành viên của mỗi cặp loại trừ lẫn nhau tạo nên 4 phân typ KN HBsAg là adw, adr, ayw và ayr. Ở các vùng địa lý khác nhau có sự khác nhau về các phân typ nói trên. Ở Việt Nam đã tìm thấy các phân typ ayw, ayr và adw.

+ Protein M (middle) có kích thước trung bình (31kDa), 281 axit amin do gen tiền S2 và gen S mã hoá còn gọi là MHBsAg. Đây là glycoprotein biểu hiện dưới 2 dạng gp33 và gp36 tùy thuộc vào mức độ glycosyl hoá. Vùng tiền S2 là phần ưa nước, nằm ở ngoài bào và chứa vị trí glycosyl hoá bổ sung. Protein tiền S2 không cần cho sự gây nhiễm cũng như sự tạo hình thái hạt virus. Chỉ có 10% vùng tiền S2 của protein L ở phía đầu amin là cần cho sự giải phóng virion, phần còn lại không cần cho sự giải phóng cũng như gây nhiễm của HBV.

+ Protein L (large) là protein lớn nhất (39kDa), chứa 390 axit amin do các gen tiền S1, tiền S2 và S mã hoá, còn được gọi là LHBsAg. Protein này tham gia vào việc gắn virut này vào vật chủ, lắp ráp virion và giải phóng virut ra khỏi tế bào.

– Gen C (core) là vùng mã cho protein nucleocapsit. Gen C có 2 vùng : vùng lõi (C) và vùng tiền lõi (pre C).

+ Protein lõi là chuỗi ngắn (21kDa), gồm 138 axit amin, có khả năng gắn với axit nucleic. Đây là KN lõi HBcAg. Do không có đoạn peptit tín hiệu nên không tiết ra khỏi tế bào gan nhưng tham gia vào quá trình lắp ráp virut.

Protein tiền lõi là chuỗi polypeptit dài (25kDa), gồm 212 axit amin. Được cấu tạo từ toàn bộ chuỗi ngắn cộng thêm một đoạn 29 axit amin do vùng tiền lõi mã hoá. Protein tiền lõi có đoạn tín hiệu nằm ở đầu amin hướng chuỗi polypeptit tiền lõi mới tổng hợp vào mạng lưới nội chất của tế bào. Tại đây, chúng được xử lý bằng cách loại bỏ 19 axit amin ở đầu amin và khoảng 36 axit amin ở đầu cacboxyl, sau đó được tiết ra ngoài dưới dạng HbeAg.

– Gen P là gen lớn nhất, chiếm 80% chiều dài của genom, mã hoá cho polypeptit lớn (90kDa), chứa 832 axit amin rất giàu histidin. Protein này có 2 hoạt tính :

ADN – polymeraza và enzym phiên mã ngược (ADN – polymeraza phụ thuộc ARN).

Protein P (polymeraza) có hai vùng chức năng : vùng protein cuối nằm ở đầu amin và vùng có hoạt tính ribonucleaza H nằm ở đầu cacboxyl. Protein cuối gắn đồng hoá trị với đầu 5' của sợi ADN (–) đóng vai trò quan trọng trong việc đóng gói ARN tiền genom vào capsit cũng như đóng vai trò làm mẫu trong phiên mã ngược ARN tiền genom thành ADN (–), đồng thời làm nhiệm vụ phân giải khuôn ARN và tổng hợp sợi ADN (+). Protein P cũng là thành phần cấu trúc của virut vì nó cũng được đưa vào nhân của tế bào chủ phục vụ cho việc sao chép pha sớm.

– Gen X là gen có khung đọc mở nhỏ nhất (0,7kb), mã hoá cho protein X hay HBx là một protein nhỏ (17kDa), chứa 154 axit amin. Protein X có nhiều chức năng khác nhau :

- + Thực hiện photophoryl hoá và có hoạt tính kinaza
- + Tương tác với bộ máy phiên mã
- + Thực hiện hoạt hoá trans
- + Tham gia vào việc truyền tín hiệu
- + Điều hoà chu trình tế bào
- + Chuyển dạng tế bào gan thành tế bào ung thư

HBx có thể gắn trực tiếp vào protein p53 để ngăn cản chức năng của protein này và ngăn cản sự sửa chữa ADN sai hỏng theo cơ chế cắt bỏ nucleotit (NER – nucleotit excision repair) nhờ protein p53.

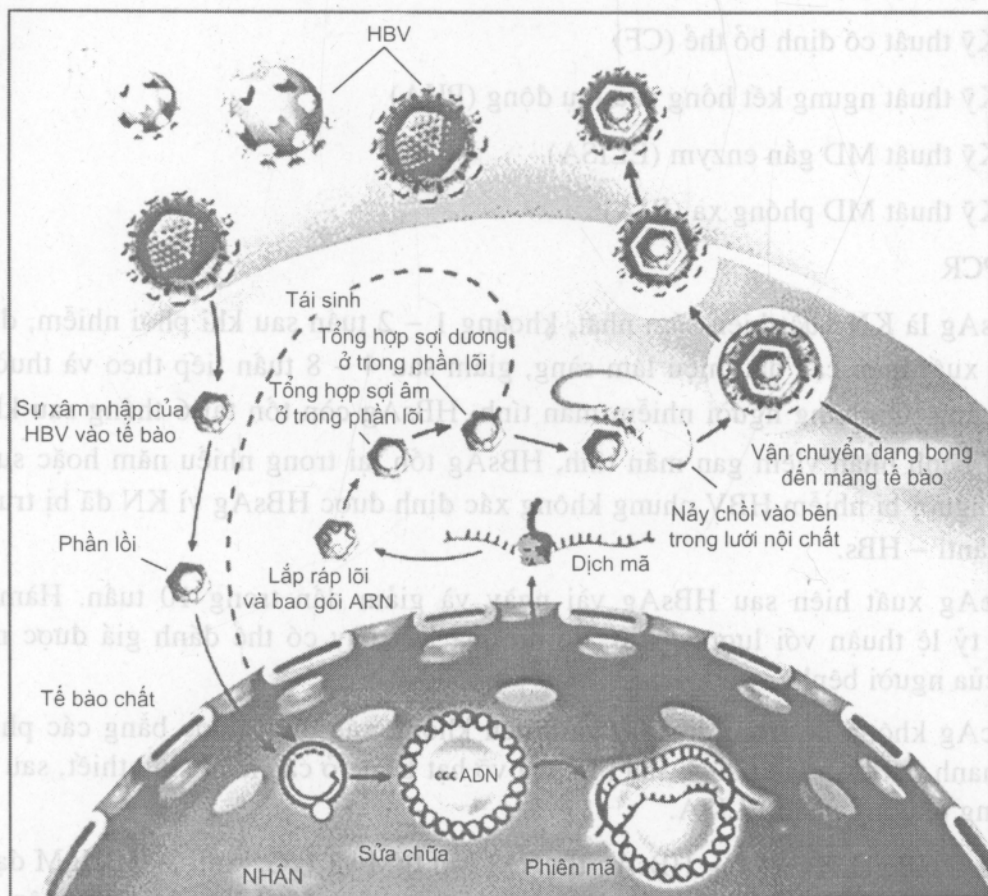
HBx cũng gắn vào protein liên kết TFIIH để ngăn cản sửa chữa ADN theo con đường NER bằng cách gắn và làm thay đổi hoạt tính của helicaza cần cho hoạt động sửa chữa ADN.

### Chu trình nhân lên (hình 14.3)

Trước hết virut HBV gắn đặc hiệu vào thụ thể dành cho IgA nằm trên bề mặt tế bào gan. Sau khi cởi bỏ vỏ ngoài, nucleocapsit di chuyển vào vùng nhân. Sau khi cởi vỏ capsit, ADN kép với 2 sợi không bằng nhau được chui vào nhân để chuyển hoá thành dạng ADN kép khép vòng, siêu xoắn (cccADN). Dạng này được dùng làm khuôn để tổng hợp 4 loại ARN 3, 5 ; 2,4 ; 2,1 ; và 0,7kb. Các mARN được gắn đuôi và di chuyển ra tế bào chất.

mARN 3,5kb gọi là ARN tiền genom dùng để tổng hợp genom. Các mARN còn lại được gọi là dưới genom dùng để tổng hợp các protein khác nhau trong đó có ADN – polymeraza (P), protein lõi C và tiền C, polypeptit X, protein bề mặt S và proteinkinaza.

Protein lõi C tạo thành nucleocapsit (HBcAg). Polypeptit tiền lõi được vận chuyển đến mạng lưới nội chất, từ đó chúng được tiết ra ngoài dưới dạng KN tiền lõi (HBeAg). ARN tiền genom được đóng gói cùng với ADN – polymeraza của virut và protein kinaza để tạo thành hạt lõi. Ở đây, tiền genom được dùng làm khuôn để tổng hợp các chuỗi ADN (-) (sợi L) theo cơ chế sao chép ngược.



Hình 14.3. Sơ đồ nhân lên của virut HBV trong tế bào gan ở vật chủ.



Protein X tương tác với các yếu tố phiên mã trong nhân được kích thích bởi tín hiệu từ tế bào chất. Protein vỏ ngoài (S) gắn vào màng lipid của bộ máy Golgi và màng lưới nội chất để sau đó nucleocapsit nảy chồi vào màng lưới nội chất và bộ máy Golgi để biến chúng thành vỏ ngoài của virus tương lai.

Polymeraza của HBV phân giải ARN tiền genom, chỉ để lại một đoạn nhỏ (29 cặp bazơ ở đầu 5') dùng làm môi cho tổng hợp ADN (+) trên khuôn ADN (-). Một số genom trưởng thành sau khi tổng hợp lại được quay về nhân để chuyển thành cccADN nhằm duy trì một lượng khuôn ổn định cho dịch mã, còn phần lớn được lắp ráp hoàn chỉnh rồi nảy chồi ra ngoài để lập lại chu trình nhân lên ở tế bào gan khác.

Trong quá trình nhân lên, virus luôn tổng hợp thừa protein vỏ nên trong huyết thanh người bị nhiễm HBV, ngoài virus hoàn chỉnh (hạt Dane) còn xuất hiện các dạng không hoàn chỉnh hình cầu, hình que hoặc hình sợi.

#### **14.2.4. Chẩn đoán**

Chẩn đoán trong phòng thí nghiệm có thể sử dụng nhiều kỹ thuật miễn dịch để xác định KN hoặc KT có trong huyết thanh của bệnh nhân.

- Kỹ thuật điện di miễn dịch đối lưu (CIEP)
- Kỹ thuật cố định bổ thể (CF)
- Kỹ thuật ngưng kết hồng cầu thụ động (PHA)
- Kỹ thuật MD gắn enzym (ELISA)
- Kỹ thuật MD phóng xạ (RIA)
- PCR

HBsAg là KN xuất hiện sớm nhất, khoảng 1 – 2 tuần sau khi phơi nhiễm, đạt đỉnh cao khi xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng, giảm sau 4 – 8 tuần tiếp theo và thường hết sau 4 tháng. Ở những người nhiễm mãn tính, HBsAg còn tồn tại 6 tháng sau khi khỏi bệnh. Ở bệnh nhân viêm gan mãn tính, HBsAg tồn tại trong nhiều năm hoặc suốt đời. Một số người bị nhiễm HBV nhưng không xác định được HBsAg vì KN đã bị trung hoà bởi KT anti – HBs.

HBeAg xuất hiện sau HBsAg vài ngày và giảm dần trong 10 tuần. Hàm lượng HBeAg tỷ lệ thuận với lượng virus, do đó qua KN này có thể đánh giá được mức độ nhiễm của người bệnh.

HBeAg không có trong huyết thanh nên không xác định được bằng các phản ứng huyết thanh. HBeAg tách được sau khi phá vỡ hạt Dane ở các mẫu sinh thiết, sau đó xác định bằng phương pháp ELISA.

Anti – HBe là KT kháng HBeAg thuộc 2 lớp IgM và IgG. Anti – HBcIgM đạt nồng độ cao ngay từ khi bệnh khởi phát và sau đó giảm xuống đến mức khó phát hiện sau vài tuần lễ. Anti – HBcIgG tồn tại lâu dài, thậm chí suốt đời.

Anti – HBe xuất hiện vào cuối giai đoạn cấp tính của bệnh, tồn tại vài tháng đến vài năm. Khi có anti – HBe tức là lúc cơ thể đang phục hồi.

Anti HBs xuất hiện sau khi HBsAg biến mất khoảng 1 tháng. Đối với bệnh nhân viêm gan tối cấp, hiệu giá anti – HBs rất cao, còn ở người viêm gan mãn hoặc người mang HBsAg mãn tính không thấy xuất hiện anti – HBs.

Khi tiêm vacxin kháng HBV cũng xuất hiện anti – HBs (bảng 14).

**Bảng 14. SỰ XUẤT HIỆN KN VÀ KT KHÁNG HBV TRONG HUYẾT THANH BỆNH NHÂN QUA CÁC THỜI KỲ**

|                  | Nhiễm cấp | Bình phục | Người lành mang KN | Viêm mãn tính |
|------------------|-----------|-----------|--------------------|---------------|
| HBsAg            | +         | –         | +                  | +             |
| HBeAg            | +         | –         | +/-                | +/-           |
| Anti HBcAg (IgM) | +         | –         | –                  | –             |
| Anti HBcAg (TgG) | +         | +         | +                  | +             |
| Anti HBs         | –         | +         | –                  | –             |
| Anti HBe         | –         | +         | +/-                | +/-           |

#### 14.2.5. Điều trị và phòng bệnh

Đã có nhiều cố gắng nghiên cứu tập trung vào điều trị bệnh nhân mang HBsAg mãn tính nhằm ngăn cản sự tiến triển thành viêm gan và hạn chế khả năng lan truyền sang người khác. Trong số các thuốc kháng virus interferon  $\alpha 2b$ , lamivudin và hepsara tỏ ra có nhiều triển vọng, nó ngăn cản sự nhân lên của virus trong tế bào gan. Tuy nhiên, biện pháp hữu hiệu và rẻ tiền nhất là tiêm phòng. Trước đây, vacxin kháng HBV được điều chế từ huyết tương bệnh nhân nhiễm HBV mãn tính. Hiện nay đã có vacxin ADN tái tổ hợp. Đây là vacxin thế hệ 2. Gen mã cho HBsAg được chuyển vào plasmid sau đó biến nạp vào *E. coli* để nhân lên rồi chuyển nạp vào nấm men *Pichia pastoris* hay *Sacharomyces cerevisiae* để biểu hiện KN.

Ở Việt Nam, vacxin viêm gan B huyết tương (HB vaccine) đã được sản xuất tại Viện Vệ sinh Dịch tễ học Trung ương năm 1997 và đã được sử dụng trong Chương trình Quốc gia Tiêm chủng mở rộng. Hiện nay, viện này đang chuẩn bị cho ra đời vacxin viêm gan B tái tổ hợp.

Vacxin được tiêm bắp (không tiêm mỡ) 3 mũi. Mũi 2 sau một tháng và mũi 3 sau 6 tháng. Mũi 4 sau 5 năm, chủ yếu cần cho những người có nguy cơ lây nhiễm cao. Hiệu quả bảo vệ sau mũi 1 là 24%, sau mũi 2 là 75%, mũi 3 là 94% và sau mũi 4 là 97%. Đã xuất hiện vacxin hỗn hợp trong đó bổ sung thêm các thành phần KN như phối hợp với KN HAV với các vacxin khác như Dpt, DpaT, với *polio* bị bất hoạt.

Ngày nay, một số biện pháp khác cũng đang được thử nghiệm như ADN antisense, ribozym, Si ARN và đã thu được kết quả rất khả quan.

### 14.3. BỆNH VIÊM GAN D

Một virus khác chưa được phân loại có liên quan đến virus viêm gan B là tác nhân Delta được phát hiện năm 1977 ở Italy. Delta là chữ thứ 4 trong bảng chữ cái Hy Lạp ngụ ý là virus viêm gan thứ 4 được tìm thấy và sau này được đặt tên là virus viêm gan D.

Đây là virus không hoàn thiện. Chúng không có gen mã hoá cho glycoprotein để gắn vào tế bào gan nên không thể tự nhân lên mà phải cần sự trợ giúp của HBV (hoặc các virus *hepadna* khác), HDV sử dụng protein vỏ ngoài do HBV cung cấp để bao bọc genom ARN của mình. Có nghĩa là chúng chỉ xuất hiện ở các cơ thể đã bị nhiễm HBV mãn tính. Những người bị nhiễm HBV thường bị đồng nhiễm thêm HDV. Vì vậy, HDV là virus gây bệnh mang genom ARN nhưng chúng tôi vẫn đề cập đến trong phần này.

Virion có kích thước nhỏ (35 – 37nm), có vỏ ngoài.

Genom là ARN đơn, khép vòng, có kích thước 1700 nucleotit, chứa nhiều gốc G – C. Giống như viroít gây bệnh thực vật, quá trình sao chép diễn ra theo cơ chế vòng tròn xoay và là virus ARN duy nhất ở động vật sao chép theo cơ chế này.

Protein bên trong (KN Delta) có khối lượng phân tử 68000. Vỏ ngoài giống như HBV, nhưng genom thì không tương đồng với genom của HBV.

#### 14.3.1. Đặc điểm lâm sàng và bệnh sinh

HDV chỉ lây nhiễm đồng thời với HBV mãn tính. Khi có mặt HDV, tính nghiêm trọng của viêm gan B sẽ tăng lên so với chỉ nhiễm HBV. Khi nhiễm đồng thời cả hai loại sẽ xuất hiện thể bạo phát và có tỷ lệ gan bị tổn thương cao. Đặc biệt, tỷ lệ tử vong cao ở bệnh nhân đồng nhiễm nhưng chỉ có KT kháng HBV. Có thể phát hiện HDV ở một nửa số trường hợp viêm gan B bạo phát liên quan đến HBsAg. Khoảng 1/10 trường hợp đồng nhiễm HDV và HBV dẫn đến bệnh lý hai kỳ. Sự bội nhiễm HDV ở người mang HBV có thể gây viêm gan cấp lâm sàng và dẫn đến sự tồn tại dai dẳng của HBV và HDV. Nếu nguy cơ bị bệnh gan tăng thì 50 – 90% các trường hợp là xảy ra ở nơi HDV tồn tại phổ biến. Tỷ lệ tiến triển thành bệnh gan sẽ tăng và vì thế trong vòng 5 năm, bệnh nhân sẽ bị xơ gan.

#### 14.3.2. Chẩn đoán

Hiện đã có sẵn các phương pháp chẩn đoán viêm gan D thông qua xác định KN Delta, KT và xác định ARN của HDV nhờ kỹ thuật RT – PCR.

#### 14.3.3. Điều trị và phòng chống

Cho đến nay không có thuốc đặc trị chống HDV. Các biện pháp chống HBV cũng có thể áp dụng đối với HDV. Việc tiêm phòng vacxin HBV sẽ là giải pháp tốt để tránh đồng nhiễm. Tuy nhiên, không có cách nào bảo vệ cơ thể đã bị nhiễm HBV khỏi sự đồng nhiễm HDV. Cách tốt nhất là ngăn chặn và tránh các nguồn lây nhiễm.

## Chương 15

# VIRUT ARBO

### 15.1. GIỚI THIỆU

Virut *arbo* là từ ghép bắt nguồn từ "arthropod born viruses" có nghĩa là virut do côn trùng chân khớp mang truyền. Virut *arbo* chiếm hơn 1/3 tổng số các virut gây bệnh cho người và động vật có xương sống. Chúng ký sinh nhưng không gây bệnh cho côn trùng. Côn trùng không những là vật trung gian truyền bệnh mà còn là vật chủ của virut. Đến nay, người ta đã phát hiện được 500 loại virut *arbo* và xếp chúng vào 5 họ khác nhau dựa vào serotyp. Đó là :

- *Togaviridae*
- *Flaviviridae*
- *Bunyaviridae*
- *Rhabdoviridae*
- *Reoviridae*.

Mỗi họ lại bao gồm các chi khác nhau. Tuy nhiên, chúng đều có các đặc điểm chung như sau : chứa ARN, có cấu tạo đối xứng (xoắn hoặc khối) và chứa một lượng đáng kể lipit, do vậy chúng dễ bị ete và clorofoc phá huỷ. Ngày nay, ngoài 5 họ virut trên còn có một số serotyp khác không do động vật chân khớp mang truyền cũng được xếp vào virut *arbo*. Đó là các virut có ổ chứa là các động vật gặm nhấm, có thể truyền thẳng sang người. Các virut này bao gồm : virut *hanta* (thuộc họ *Bunyaviridae*) và các virut thuộc họ *Arenaviridae* và *Filoviridae*.

Cách gọi tên virut thuộc các họ không theo một nguyên tắc nhất quán. Tên virut có thể bắt nguồn từ bệnh do chúng gây ra như virut sốt vàng, virut viêm não Nhật Bản, cũng có thể bắt nguồn từ tên một dòng sông (virut *Marituba*, *Nile*) hay một vùng đất xa xôi bên châu Mỹ (virut *Ilheus*) hay vùng rừng rậm châu Phi (virut *Semliki*). Tên virut cũng có thể lấy từ tên vật chủ, chẳng hạn *Veomia* là tên gọi của họ muỗi. Một số virut lại được tạm gọi tên theo chữ cái hay con số (ví dụ virut T – 48).

Các virut *arbo* có đặc điểm KN giống nhau được xác định nhờ các phản ứng huyết thanh học (phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu, hấp phụ MD gắn enzym – ELISA, phản ứng cố định bổ thể) thì được xếp vào thành nhóm gọi là nhóm huyết thanh (serogroup). Trong mỗi nhóm, các virut lại được phân chia thành các serotyp khác nhau nhờ phản ứng trung hoà.

Như đã nói ở trên, virut *arbo* gồm 5 họ. Hầu hết các serotyp thuộc họ *Togaviridae*, *Flaviviridae* và *Bunyaviridae*, còn lại thuộc họ *Reoviridae* (cụ thể thuộc chi *Orbivirus*



### 15.1.1. Đặc điểm sinh học chung

– Sau khi tiêm virus vào não chuột ở dưới 48 giờ tuổi, chuột sẽ chết do viêm não trong vòng 1 – 10 ngày. Một số virus còn làm cho chuột thối bú (3 – 5 tuần tuổi) bị chết do viêm não. Sẽ không xảy ra viêm não nếu tiêm virus kèm với tiêm kháng huyết thanh đặc hiệu kháng virus (vì virus bị trung hòa).

– Có khả năng gây ngưng kết hồng cầu của ngỗng và gà mới nở do chứa các chất gây ngưng kết hồng cầu (heamagglutinin). Phản ứng ngưng kết bị kìm hãm bởi kháng huyết thanh kháng virus (chỉ cần serotyp thuộc cùng nhóm nếu khác nhóm thì không xảy ra kìm hãm) KN có thể được phát hiện nhờ phản ứng ELISA và cố định bổ thể.

– Nhiều virus *arbo* nhân lên liên tục trong tế bào động vật có vú ở 37°C, như tế bào thận khỉ grivet (vero) và thận chuột túi má non (BKH).

– Nhiều virus *arbo* như virus Dengue và sông Ross nhân lên trong tế bào nuôi cấy mô muỗi *A. albopictus* liên tục ở 28°C hoặc thấp hơn. Quá trình nhân lên của virus được phát hiện nhờ phản ứng MD huỳnh quang.

– Một số virus *arbo* do muỗi mang, sau khi nhiễm vào đường miệng hoặc khoang ngực của một số loài muỗi thuộc chi *Culex* và *Aedes* sẽ nhân lên ở 4 – 28°C (nhiệt độ phù hợp phụ thuộc vào các loài muỗi). Ở đây, muỗi truyền virus cho động vật có xương sống mẫn cảm thông qua vết đốt. Quá trình nhân lên của virus trong mô muỗi được xác định nhờ phản ứng MD huỳnh quang đặc hiệu, đặc biệt là ở trong tuyến nước bọt và mô thần kinh trung ương. Sự mẫn cảm của muỗi đối với các virus thuộc nhóm California và Dengue lớn hơn 10 – 100 lần so với mô nuôi cấy động vật có vú hoặc chuột ỏ. Một số virus *arbo*, đáng chú ý nhất là nhóm huyết thanh California và Phlebovirus (thuộc họ *Bunyaviridae*) và Vesiculovirus (thuộc họ *Rhabdoviridae*) cũng có thể truyền bệnh qua ăn trứng.

Các virus do muỗi mang không được truyền bởi ve và ngược lại. Các virus do ruồi cát mang chỉ được truyền qua ruồi cát (loài *Phlebotomus* sp. và *Lutzomyia* sp.)

– Virus *arbo* do ve mang được nhân lên sau khi nhiễm qua đường miệng đến các ve ixodid ấu trùng hoặc thiếu trùng (là loài ve có vỏ cứng thuộc chi *Dermacentor* và *Ixodes*).

Virus được chuyển đến giai đoạn tiếp theo của ve (dạng thiếu trùng hay trưởng thành), rồi được truyền sang động vật có xương sống thông qua vết đốt của ve.

**Bảng 15.2. ĐẶC ĐIỂM ĐẶC TRƯNG CỦA VIRUT ARBO**

| Đặc điểm                                               | Các họ virus <i>arbo</i> chính |                     |                     |                      |                   |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-------------------|
|                                                        | <i>Togaviridae</i>             | <i>Flaviviridae</i> | <i>Bunyaviridae</i> | <i>Rhabdoviridae</i> | <i>Reoviridae</i> |
| Cấu trúc hình học                                      | Khối                           | Khối                | Xoắn                | Dạng đầu đạn         | Khối              |
| Đường kính                                             | 60 – 65                        | 40 – 50             | 90 – 100            | 170 × 70             | 60 – 80           |
| Axit nucleic :                                         |                                |                     |                     |                      |                   |
| – Khối lượng phân tử                                   | 4,2 – 4,4                      | 4,2 – 4,4           | 0,4 – 5,0           | 3,5 – 4,6            | 0,2 – 3,0         |
| – Số phân tử                                           | 1                              | 1                   |                     | 1                    | 10 – 20           |
| Số serotyp                                             | 28                             | 69                  | 253                 | 63                   | 77                |
| Bị bất hoạt bởi diethylene glycol hoặc natrideoxicolat | –                              | –                   | –                   | –                    | –                 |

### 15.1.2. Chu trình nhân lên

Chu trình nhân lên của virus *arbo* rất đa dạng và được xem là một trong các đặc điểm để phân loại virus. Xem các chương *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Rhabdoviridae* và *Reoviridae*.

### 15.1.3. Khả năng gây bệnh

Sau khi lây truyền virus theo đường máu hoặc qua vết đốt của động vật chân khớp, chỉ sau 1 – 2 ngày phát hiện thấy trong máu của động vật có xương sống một lượng lớn virus. Virus còn tồn tại vài ngày trong máu, đây là nguồn truyền virus sang động vật chân khớp khi chúng hút máu. Cho đến nay, chưa xác định được vị trí chủ yếu nơi virus nhân lên nhưng có lẽ là trong các tế bào lưới nội mô trong hạch lympho, trong gan và lách hoặc trong các tế bào nội mô tĩnh mạch. Khi các virus được giải phóng từ các vị trí này có thể xác định các triệu chứng không đặc trưng giống như cúm. Trong giai đoạn nằm trong máu, thường khoảng 5 – 7 ngày sau khi bị côn trùng đốt, virus tiến đến các mô đích của hệ thần kinh trung ương và da. Lúc này, các triệu chứng ban đầu sẽ giảm đi trong một thời gian ngắn, sau đó các triệu chứng đặc trưng biểu hiện trở lại. Vì vậy, quá trình này được gọi là ồm 2 kì. Sau đó, bệnh sẽ thuyên giảm hoặc dẫn tới tử vong. Ở chim và thú hoang thường chứa virus trong máu nhưng không biểu hiện triệu chứng. Khi giảm sốt phát hiện thấy KT, thường là trong vòng 2 ngày sau khi xuất hiện viêm não, KT tồn tại trong nhiều năm. KT đầu tiên là IgM xuất hiện sau 1 – 7 tuần lây nhiễm sau đó xuất hiện kháng thể IgG. Trong hệ thần kinh trung ương, virus *arbo* nhân lên và gây hoại tử các tế bào thần kinh, tiếp theo các neuron được bao bọc bởi thực bào trung bì (microglia) hình thành các nút tế bào thần kinh đậm. Sự hình thành vòng quanh mạch có mặt các tế bào đơn nhân ảnh hưởng đến nhiều thành mạch máu não. Thường có viêm

màng não đồng phát với sự tích lũy các tế bào thần kinh đơn nhân trong khoảng trống màng nhện và xung huyết ở các mao mạch lân cận. Có nhiều loại mô nhiễm virus nhưng ít khi phát triển thành bệnh biểu hiện như viêm màng não. Có rất ít thông tin về vai trò của hệ thống miễn dịch, mặc dù có thể hệ thống miễn dịch đóng vai trò trong quá trình phát sinh các hội chứng như sốc, sốt xuất huyết Dengue. Hội chứng này thường thấy ở trẻ em hay bị lây nhiễm virus *Dengue* lần thứ hai. Người ta cho rằng trong thời gian biểu hiện hội chứng thì phức hợp KN – KT được hình thành. Hội chứng dẫn đến tăng tính thấm thành mao mạch và gây sốc thông thường kèm theo xuất huyết. Tuy nhiên, người ta xác định rằng việc hấp thụ virus của đại thực bào được tăng cường khi có mặt KT dưới dạng phức hợp virus – KT bám vào receptor Fc.

#### **15.1.4. Phân lập virus**

Có thể phân lập virus trong máu ở 3 ngày đầu bị sốt (các virus này thuộc các serotyp như Dengue, sởi Ross và sốt vàng da). Ở thời điểm này, số lượng độ virus trong máu là cực đại. Có thể phân lập virus từ dịch não tuỷ hoặc làm sinh thiết não khi còn sống hay đã chết vì viêm não. Đối với trường hợp chết vì sốt vàng da thì phân lập virus từ gan. Các cách phân lập gồm :

- Cấy mẫu chứa virus vào mô động vật nuôi cấy (ví dụ tế bào vero, BHK) ủ ở 37°C bên dưới lớp agarosa cho đến khi xuất hiện vết tan tế bào (sau 7 – 14 ngày). Xác định serotyp của virus bằng phản ứng trung hoà với KT đơn dòng phù hợp.

- Cấy mẫu chứa virus vào tế bào muỗi *A. albopictus* nuôi cấy liên tục, ủ 28°C đến ngày thứ 10 kiểm tra sự có mặt của KN virus trong tế bào bằng phương pháp miễn dịch huỳnh quang.

- Cấy mẫu bệnh nhân sốt Dengue ở pha cấp tính vào muỗi đực, ủ ở 30°C trong 14 ngày. Phát hiện KN virus có trong dịch ép đầu muỗi bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang trực tiếp.

- Cấy dịch máu trong não hoặc gan ở pha cấp tính vào não chuột ổ dưới 48 giờ tuổi, kiểm tra hàng ngày cho đến ngày thứ 14 sự tiến triển của viêm màng não (hình thành bướu, tua lưới, co giật, co cứng và thậm chí bị chết). Tiến hành xác định nhóm huyết thanh trong não của chuột sắp chết bằng phản ứng ức chế ngưng kết, sau đó xác định serotyp bằng phản ứng trung hoà chuột ổ hoặc sự giảm vết tan ở mô nuôi cấy vero và BHK.

#### **15.1.5. Phát hiện ARN đặc trưng của virus arbo**

ARN virus được chiết từ huyết thanh, dịch mô của bệnh nhân hoặc tế bào mô nuôi cấy hoặc dịch nghiền tế bào muỗi. Dùng hỗn hợp guanidin – phenol. Chuẩn bị cADN nhờ enzym phiên mã ngược. Nhân một số lượng lớn đoạn bazơ bằng kỹ thuật PCR với các primer thích hợp. Phân tích các sản phẩm sau phản ứng hoặc các sản phẩm giới hạn bằng điện di gel rồi so sánh với các trình tự nucleotit mã hoá cho nucleocapsit đặc hiệu serotyp đã biết.



### 15.1.6. Chẩn đoán bằng phương pháp huyết thanh học

Đây là cách duy nhất có thể dùng để chẩn đoán viêm não trong phòng thí nghiệm. Tiến hành lấy cặp mẫu huyết thanh, một mẫu lấy trong tuần đầu tiên, mẫu còn lại lấy sau khi hồi phục vài ngày. Bằng phản ứng HI hay ELISA có thể phát hiện thấy KT tăng gấp nhiều lần chứng tỏ xảy ra quá trình lây nhiễm virus. Bằng phản ứng cố định bổ thể phát hiện thấy KT xuất hiện từ tuần thứ 2 sau khi biểu hiện bệnh và KT biến mất sau khoảng 3 năm. Kháng thể IgM đặc hiệu serotyp có thể được phát hiện trong một ngày sau khi biểu hiện bệnh nhờ sử dụng phản ứng ELISA bắt IgM, sau 6 tuần thì IgM giảm và được thay thế bởi IgG.

## 15.2. MỘT SỐ VIRUT ARBO

### 15.2.1. Virut *flavi*

*Flaviviridae* là họ các virus *arbo* nhóm B mà trước đây được xem là một chi của họ *Togaviridae*. Virion có genom là ARN mạch đơn, được bao bởi vỏ ngoài, có khả năng gây nhiễm ở nhiều loại động vật không xương sống (đóng vai trò vectơ như ve, bét, muỗi). Họ này chỉ có một chi là *Flavivirus*. Các thành viên của các chi này là tác nhân gây các bệnh quan trọng ở người và động vật.

Virion gần như có hình cầu với đường kính 40 – 50nm, bao gồm một lõi là protein gắn với genom gọi là protein C (C – ARN), protein M hình thành màng bao quanh phức hệ C – ARN và vỏ ngoài là lipoprotein. Nhô ra khỏi vỏ ngoài là glycoprotein E (haemagglutinin) có tác dụng ngưng kết hồng cầu và trung hoà KT.

Genom là ARN đơn, (+), khá dài với khối lượng phân tử  $4 \times 10^6$  và được gắn mũ ở đầu 5' nhưng hình như không có đuôi poly A ở đầu 3'. Không tạo thành mARN dưới genom (subgenomic mARN). Genom là mạch ARN có chiều dài đủ, có chức năng như là mARN duy nhất và chỉ chứa một khung đọc mở dài, điều đó chứng tỏ rằng khi dịch mã sẽ hình thành polypeptide, rồi sau đó được phân cắt nhờ proteaza thành các protein nhỏ hơn với chức năng khác nhau. Các gen mã hoá cho protein cấu trúc nằm ở phía đầu 5' (5' – C – M – E...). Một số protein phi cấu trúc cũng được tạo thành.

Ở đầu 3' có một vùng không được dịch mã tạo nên một cấu trúc thứ cấp dạng móc chặn đầu (stem – and – loop secondary structure). Quá trình tổng hợp ARN virus (kéo theo sự hình thành phân tử trung gian sao chép RI – replicative intermediates và dạng sao chép RF – replicative form) diễn ra ở vùng xung quanh nhân. Quá trình chín của virus diễn ra theo kiểu cô đặc dần chứ không theo kiểu nảy chồi và dường như xảy ra trong mạng lưới nội chất.

Virus *Flavi* có thể nhân lên trong các tế bào nuôi cấy mô của nhiều loại động vật có xương sống. Chúng tạo CPE và hình thành vết tan. Các tế bào nhiễm thường biểu hiện sự tăng nhanh mạng lưới nội chất. Sự tổng hợp protein của tế bào chủ hầu như không bị ức chế nhiều. Nhiều loại tế bào động vật không xương sống cũng bị nhiễm virus *flavi*. Chúng có thể tạo hoặc không tạo CPE.

Dựa theo typ huyết thanh, virus *flavi* có thể chia làm 7 phân nhóm. Hầu hết các virus *flavi* có tầm quan trọng y học và thú y học đều thuộc một trong ba phân nhóm sau đây :

- Phân nhóm virus Dengue gồm 4 typ virus Dengue (1 – 4).
- Phân nhóm virus Tây sông Nile (West Nile). Bao gồm virus viêm não Nhật Bản B, virus Kunjin, virus sốt thung lũng Murray, virus rocio, virus viêm não St. Louis và virus Tây sông Nile.
- Phân nhóm virus gây viêm não do ve gồm các virus rừng Kyasanur, virus Louping, virus Negishi, virus sốt xuất huyết Omsk, virus viêm não Powassan và virus viêm não do ve trong đó gồm cả dưới typ miền Đông (virus viêm não Xuân – Hè Nga) và dưới typ châu Âu (virus viêm não Trung Âu).

Một số virus *flavi* khác cũng có thể gây bệnh cho người như các virus Brazi, Bussuquara, Ilheus, RioBravo, Sepik, Sponweni, Wesselsbron và Zika. Các thành viên khác của họ này còn có thể là virus gây dung giải tế bào muỗi *Aedes albopictus* và virus sốt xuất huyết khỉ.

### 15.2.2. Virus Dengue, sốt Dengue và bệnh sốt xuất huyết Dengue

Sốt Dengue và sốt xuất huyết Dengue là bệnh nhiễm cấp do virus *Dengue* gây nên. Sốt Dengue lần đầu tiên được ghi nhận vào năm 1780 tại Philadenphia – Mỹ, sau đó được thấy nhiều ở các nước nhiệt đới và cận nhiệt đới giữa 23,5° vĩ tuyến Bắc và 23,5° vĩ tuyến Nam. Từ cuối những năm 50 trở lại đây, sốt Dengue lan tràn khắp các nước vùng Đông Nam Á, Tây Thái Bình Dương và đang trở thành một vấn đề y tế cộng đồng quan trọng. Hiện nay, mỗi năm số người mắc bệnh Dengue trên thế giới lên đến 100 triệu người. Ở Việt Nam, điểm nóng sốt Dengue là các tỉnh phía Nam, đặc biệt là các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long (An Giang, Tiền Giang, Cần Thơ...) với hàng chục ngàn người mắc bệnh hằng năm, đặc biệt là vào các tháng mùa thu từ tháng 6 đến tháng 11. Cho đến nay, không còn nơi nào ở Việt Nam là không có sốt Dengue.

#### 15.2.2.1. Virus Dengue

Virus *Dengue* thuộc chi *Flavivirus*, họ *Flaviviridae*. Vì truyền qua côn trùng nên thuộc virus *arbo*. Virus *Dengue* có 4 serotyp : D1, D2, D3, D4.

- Typ 1 (D1). Các chủng tiêu biểu là Hawaii, New Guinea A, Moshizuki.
- Typ 2 (D2) do Sabin phân lập năm 1952. Các chủng tiêu biểu là New Guinea C, B, D.
- Typ 3 (D3) do Hammon phân lập năm 1995 ở Philippin.
- Typ 4 (D4) do Hammon và Sather phân lập cũng ở Philippin.

Virus *Dengue* có dạng hình cầu, đường kính 40 – 50nm, vỏ ngoài là lớp lipid kép, chứa glycoprotein và protein có nguồn gốc từ màng sinh chất của tế bào. Vỏ capsit bao quanh axit nucleic tạo thành nucleocapsit có đường kính 30nm, chứa 32 capsome. Genom là ARN đơn, mạch (+) gồm 11000 nucleotit. Genom của virus chứa khung đọc mở duy nhất mã hoá cho các polypeptit của virus theo thứ tự :

5' – C – prM – E – NS1 – NS2A – NS2B – NS3 – NS4A – NS4B – NS5 – 3'

Trong đó, phía đầu 5' có khoảng 100 nucleotit và phía đầu 3' có khoảng 400 nucleotit không làm nhiệm vụ mã hoá. Đầu 3' còn được gắn đuôi poly A.

Ba protein cấu trúc là :

- Protein C – protein capsit chứa 112 – 113 axit amin
- Protein prM (premembrane) – tiền thân của protein màng
- Protein E (envolop) – protein vỏ ngoài được glycosyl hoá để thành glycoprotein, gồm 493 – 495 axit amin.

Bảy protein khác bao gồm 3 protein có kích thước lớn là NS1, NS2, NS5 và 4 protein có kích thước nhỏ là NS2A, NS2B, NS4A và NS4.

- NS1 là glycoprotein, KN kết hợp bổ thể
- NS3 – protein có hoạt tính serin – proteaza và helicaza
- NS5 – protein có hoạt tính ARN – polymeraza
- NS3 và NS5 cần cho sao chép ARN của virus.

Chức năng của 4 protein nhỏ còn chưa rõ, đó là các protein liên kết màng.

#### **15.2.2.2. Quá trình nhân lên**

Virus *Dengue* chủ yếu nhân lên trong đại thực bào. Genom ARN (+) làm nhiệm vụ gắn mARN vào ribosom mã hoá cho một phân tử polyprotein duy nhất. Nhờ proteaza, phân tử polyprotein này được phân cắt thành 10 đoạn, trong đó có đoạn là ARN – polymeraza.

Sợi ARN (+) được dùng làm khuôn để tổng hợp sợi ARN (-) nhờ ARN – polymeraza mới hình thành.

Sợi ARN (-) đến lượt nó lại được dùng làm khuôn để tổng hợp nên nhiều sợi ARN (+) mới. Sợi này có nhiều chức năng :

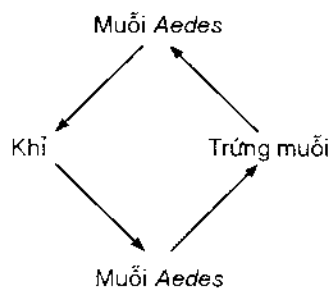
- ARN lõi (genom) của thể hệ virus mới
- mARN để tổng hợp polyprotein
- Làm khuôn để tổng hợp các sợi (+) khác nữa.

Vectơ truyền bệnh

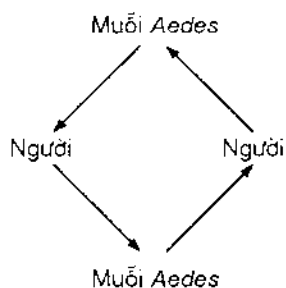
Trong tự nhiên có 3 loại vật chủ của virus *Dengue* là người, linh trưởng và muỗi. Người và linh trưởng vừa là ổ chứa vừa là vật chủ của virus. Muỗi *Aedes aegypti* là vectơ truyền bệnh chính, tuy nhiên ở các vùng thành thị *Aedes albopictus* cũng là thủ phạm. Muỗi *Aedes aegypti* phân bố khắp nơi nhưng thường sống trong nhà, đậu ở những nơi tối, hoạt động ban ngày vào lúc sáng sớm hoặc buổi chiều tối. Khác với muỗi *Culex tritaeniorhynchus* gây bệnh viêm não Nhật Bản, trước nhất phải hút máu lợn, chim hoặc gà (là ổ chứa virus), sau đó mới đốt người để gây bệnh cho người. Chu trình gây bệnh chấm dứt tại đây vì người không phải là ổ chứa virus. Do vậy, muỗi dù có đốt

người cũng không trực tiếp truyền cho người khác. Còn ở sốt xuất huyết Dengue thì ngược lại, *Aedes aegypti* sau khi đốt người bệnh sẽ bị nhiễm virus, tiếp tục đốt rồi lây bệnh cho người khác :

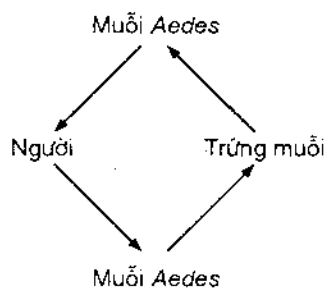
### Chu trình truyền bệnh



Vùng rừng núi



Thành phố



Vùng nông thôn

#### 15.2.2.3. Triệu chứng lâm sàng sốt Dengue

Các biểu hiện lâm sàng của sốt xuất huyết Dengue rất đa dạng. Thời gian ủ bệnh từ 3 đến 10 ngày. Bệnh được đặc trưng bởi sốt, nhức đầu, đau họng, chảy nước mắt, đau các khớp cổ, đến xuất huyết và thoát huyết tương dẫn đến sốc giảm thể tích tuần hoàn, rối loạn đông máu. Nếu không được xử lý kịp thời có thể dẫn đến tử vong. WHO đã đưa ra 4 mức độ nặng nhẹ của bệnh :

- Độ 1. Bệnh nhân sốt đột ngột, liên tục và kéo dài.
- Độ 2. Bước sang ngày thứ 3, bệnh nhân có biểu hiện xuất huyết từ nhẹ đến nặng như xuất huyết dưới da, niêm mạc hoặc xuất hiện các mảng tím bầm.
- Độ 3. Xuất hiện triệu chứng chấm đỏ li ti dưới da ở mặt trước của 2 cẳng và mặt trong 2 cánh tay, bụng, đùi, mạng sườn... Tiếp đó có thể là chảy máu cam, máu lợi, đôi khi xuất huyết ở kết mạc, đi tiểu ra máu... Trường hợp nặng, vào ngày thứ 4 – 6, bệnh nhân có thể đại tiện ra máu hoặc thậm chí nôn ra máu. Bệnh nhân có dấu hiệu suy tuần hoàn, mạch nhanh, tụt huyết áp hoặc huyết áp kẹt (chênh lệch giữa huyết áp tối đa và tối thiểu là  $\leq 20\text{mmHg}$ ) đồng thời kèm theo các triệu chứng như da lạnh, ẩm, người vật vã hoặc sốt li bì.
- Độ 4. Bệnh nhân rơi vào tình trạng nguy kịch, tiểu cầu giảm, bắt đầu biểu hiện sốc sâu, mạch nhỏ và khó bắt, huyết áp bằng không. Tình trạng này rất dễ dẫn đến tử vong.

**Cơ chế bệnh sinh :** Sốt xuất huyết Dengue là sốt Dengue có kèm theo xuất huyết. Ở lần nhiễm thứ nhất, bệnh nhân bị sốt ở mức trung bình rồi bình phục. Trong máu bệnh nhân đã hình thành KT kháng Dengue. Ở lần nhiễm sau, virus sẽ kết hợp với KT để tạo thành phức hợp virus – KT. Phức hợp này được các tế bào trình diện KN (APC) tiêu hóa và tiêu hoá. APC hoạt hoá tế bào T nhớ để tế bào này sản ra một lượng lớn

lymphokin làm vỡ mao mạch, gây chảy máu, sốc, có thể dẫn đến tử vong. Do vậy, xuất huyết là hậu quả của phản ứng quá mẫn.

#### **15.2.2.4. Chẩn đoán lâm sàng**

Do sốt xuất huyết Dengue đôi khi có những biểu hiện lâm sàng ban đầu giống như các bệnh gây sốt hoặc sốt xuất huyết thông thường, do đó rất dễ nhầm lẫn. Hiện nay, để chẩn đoán sốt xuất huyết Dengue, người ta khuyên dùng kỹ thuật ELISA nhằm phát hiện IgM đặc hiệu KN Dengue (còn gọi là kỹ thuật MAC – ELISA) ngay ngày thứ 2 sau khi bệnh khởi phát.

Gần đây, hãng Panbio – Australia đưa ra phương pháp sắc ký miễn dịch nhanh để xác định IgM và IgG trong sốt xuất huyết Dengue (Dengue fever IgM and IgG rapid immunochromatography). Các thành phần bao gồm KN Dengue và huyết thanh bệnh nhân (chứa IgM và IgG kháng Dengue) sau 7 phút là có thể đọc được kết quả.

#### **15.2.2.5. Phòng, chống**

Cho đến nay chưa có thuốc đặc trị chống sốt xuất huyết Dengue, do đó công tác phòng bệnh đóng vai trò quan trọng. Cần giữ vệ sinh khu dân cư, dọn dẹp, san lấp chỗ nước đọng, triệt phá ổ bọ gây và nơi muỗi cư trú. Dùng hoá chất diệt muỗi và *Mesocyclops* ăn bọ gây. Tẩm màn bằng permetrin. Cần chẩn đoán sớm và xử lý kịp thời :

- Bổ sung dịch thể sớm (cho uống hoặc truyền tĩnh mạch, điều chỉnh điện giải)
- Hạ nhiệt khi sốt cao (tránh dùng loại thuốc có salixylat)
- Xử trí xuất huyết và sốc
- Khi bị tím tái phải cho thở oxy.

Có thể dùng aspirin và codein để giảm đau, thuốc colamin để làm dịu ngoại ban kích thích.

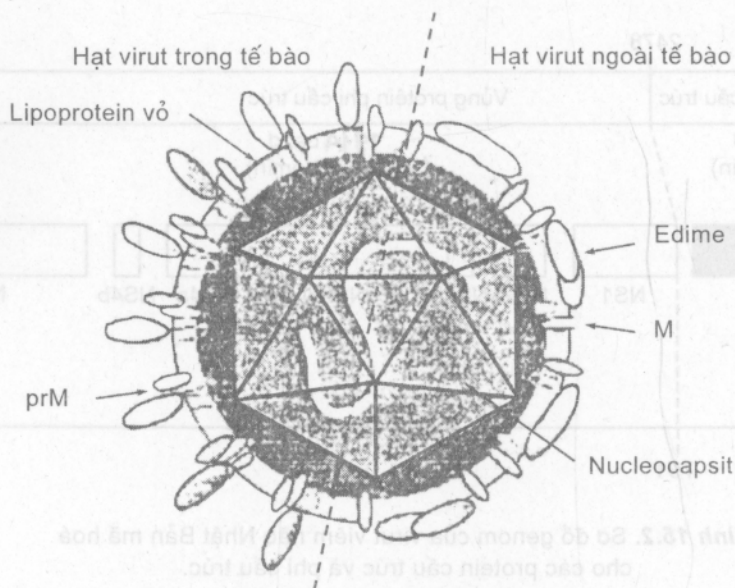
### **15.2.3. Viêm não Nhật Bản**

Viêm não Nhật Bản là bệnh lây nhiễm quan trọng của hệ thần kinh trung ương. Bệnh lưu hành ở hầu hết các nước châu Á kể cả vùng Trung Á và Ấn Độ. Tuy nhiên, bệnh thường thấy ở các nước Đông Á như Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc và ở cả 10 nước Đông Nam Á. Hàng năm trên thế giới có khoảng 50 000 trường hợp mắc với tỷ lệ tử vong 25 – 30% và 50% mang di chứng thần kinh suốt đời, để lại gánh nặng cho gia đình và xã hội. Ở Việt Nam, bệnh lưu hành ở nơi có ổ bệnh tự nhiên cả đồng bằng và miền núi nghĩa là ở vùng địa lý có những điều kiện để virus tồn tại trong tự nhiên và lưu hành khi có dịch bệnh : vật chủ, vector, điều kiện khí hậu (nhiệt độ, độ ẩm) để muỗi sinh sản. Bệnh lan truyền theo mùa, thường là vào mùa mưa, từ tháng 4 đến tháng 10 hàng năm. Tỷ lệ mắc bệnh ở vùng có lưu hành dịch viêm não Nhật Bản cao là 50 trường hợp/10 000 dân, còn ở vùng thấp nhất cũng có tỷ lệ tử vong là 40 – 50%. Ngày nay, nhờ phương pháp điều trị tích cực, tỷ lệ này giảm còn 10 – 20%.

### 15.2.3.1. Virut viêm não Nhật Bản

Virut viêm não Nhật Bản được phân lập đầu tiên từ bệnh nhi ở Tokyo năm 1935. Đây là virut *arbo*, họ *Flaviridae*, chi *Flavivirus*.

Virion có dạng hình cầu, đường kính trung bình 40 – 50nm, chứa genom là ARN (+). ARN có khối lượng phân tử  $4 \times 10^6$ , chiếm 6% khối lượng hạt virut. Genom chứa khoảng 11kb mã hoá cho 10 protein, trong đó có 3 protein cấu trúc và 7 protein phi cấu trúc (hình 15.1).



Hình 15.1. Sơ đồ cấu trúc của virut viêm não Nhật Bản

Ba protein cấu trúc là protein C (lõi), protein M (màng) và protein E (vỏ ngoài), trong đó protein E được nghiên cứu kỹ nhất. Đây là glycoprotein gắn vào thụ thể của tế bào và cũng là KN gây ngưng kết hồng cầu, tạo KT trung hoà và gây ĐUMD tế bào.

– Protein C (core – lõi) có khối lượng phân tử 13000Da, chứa 136 axit amin và giàu lizin. Protein C liên kết với ARN tạo thành phức hợp C – ARN.

– Protein pre M/M (premembrane/ membrane). PrM có khối lượng phân tử 26kDa, chứa 75 axit amin, là chất chưa được glycosyl hoá của protein M. Pr M trải qua phân cắt muối tạo thành protein M và đoạn pr (đầu  $-NH_2$ ). Đoạn này được tiết ra môi trường ngoại bào. Sự phân cắt xảy ra trước hoặc khi virut chui ra khỏi tế bào.

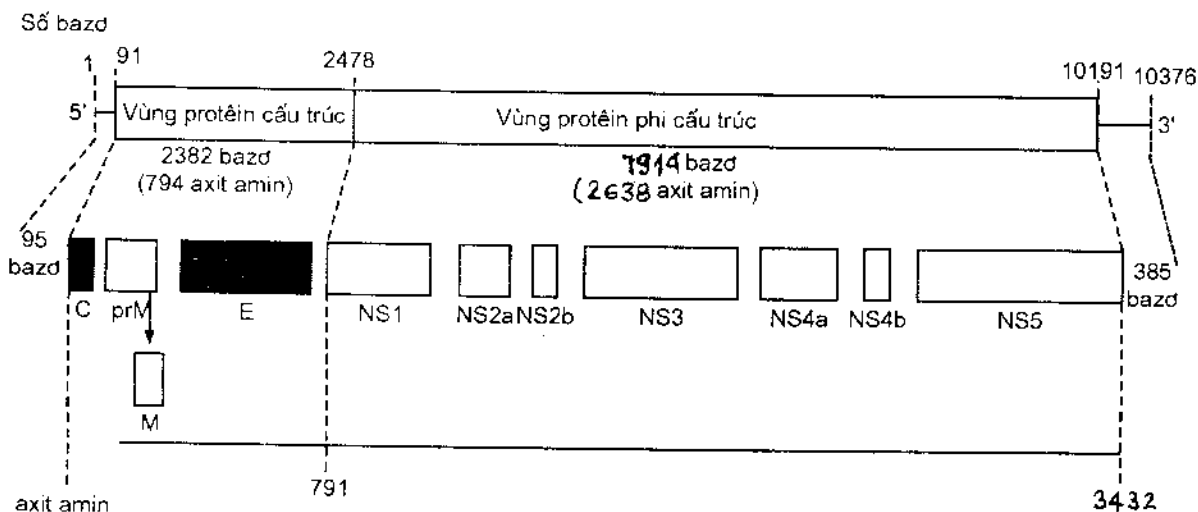
– Protein E (vỏ – envelope). Các gai nhú ra khỏi vỏ ngoài là glycoprotein E làm nhiệm vụ KN. Protein E gắn với thụ thể của tế bào chủ, tham gia vào sự dung hợp với màng tế bào và có khả năng gây ngưng kết hồng cầu.

Bảy protein phi cấu trúc là NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b và NS5. Các gen mã hoá cho các protein này được thể hiện trên sơ đồ (hình 15.2).

– NS1 là glycoprotein liên kết màng, chức năng của nó còn chưa được nghiên cứu kỹ nhưng có lẽ nó tham gia vào quá trình sao chép sớm của virut. Đột biến ở protein này cũng ảnh hưởng đến tính độc.

– NS3 là protein lớn thứ 2 trong hạt virus (68 – 70kDa), có hoạt tính enzym proteaza, helicaza và ARN triphosphatase.

– NS5 là protein cuối cùng được mã hoá bởi khung đọc mở, cũng là protein lớn nhất (khoảng 104 kDa). Protein này cũng có hoạt tính enzym methyltransferase tham gia vào sự methyl hoá mũ ở đầu 5' và ARN – polymerase. Có lẽ nó tham gia vào cấu trúc ARN – polymerase phụ thuộc ARN.



**Hình 15.2.** Sơ đồ genôm của virus viêm não Nhật Bản mã hoá cho các protein cấu trúc và phi cấu trúc.

– Các protein NS2a, NS2b, NS4a và NS4b. Chức năng của các protein này còn chưa biết rõ. Tuy nhiên, do có sự liên kết giữa phức hệ protein – ARN polymerase của virus với màng tế bào nên người ta cho rằng các protein này cần thiết cho sự định vị và hoạt động của phức hệ polymerase.

Virus viêm não Nhật Bản bền ở pH = 7 – 9, pH = 9 là điều kiện cần thiết để giữ khả năng ngưng kết hồng cầu. Virus bị bất hoạt ở 56°C trong 30 phút, tương đối bền ở –70°C. Bị bất hoạt nhanh dưới ánh sáng tử ngoại. Dễ bị mất hoạt tính bởi các dung môi hoà tan lipid như ether, desoxycholatnatri.

### 15.2.3.2. Chu trình nhân lên

Về cơ bản, chu trình nhân lên của virus viêm não Nhật Bản cũng giống như ở các virus chứa genôm ARN khác. Chúng có thể nhân lên trong các tế bào nuôi cấy mô như nguyên bào sơ của phôi gà, tế bào thận chuột đất vàng (BHK – 21), tế bào muỗi (66/36), tế bào vero... Quá trình nhân lên gồm các giai đoạn sau :

– *Hấp phụ và xâm nhập.* Virus di chuyển trong dịch gian bào để đến bám vào thụ thể của tế bào dành cho glycoprotein E, sau đó xâm nhập vào tế bào theo cơ chế nhập bào.

– *Tổng hợp các thành phần.* Sau khi cởi vỏ, ARN chuỗi (+) được dùng làm mARN để tổng hợp protein sớm (ARN – polymerase). ARN chuỗi (+) cũng được dùng làm

khuôn để tổng hợp ARN chuỗi (-) bổ sung nhờ ARN – polymeraza phụ thuộc ARN để tạo thành chuỗi RF trung gian, rồi từ đó tổng hợp chuỗi ARN (+) theo nguyên tắc bán bảo tồn. Đây là genom của virut mới. Sự tổng hợp ARN xảy ra trong tế bào chất. Các ARN mới tạo thành lại được dùng làm mARN để tổng hợp protein cấu trúc.

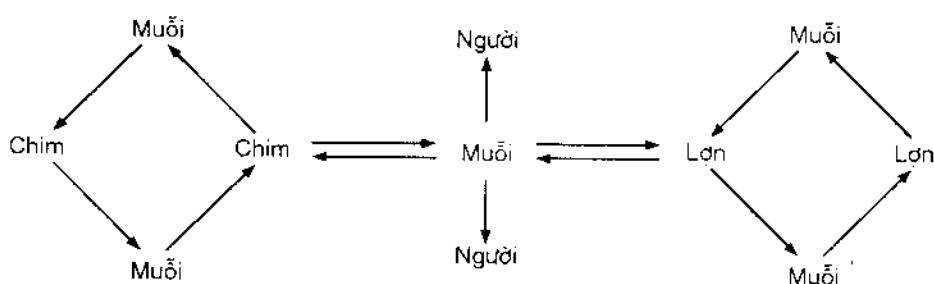
Quá trình lắp ráp và hoàn thiện virion diễn ra ở màng sinh chất, capsit hình khối đa diện bên trong chứa một chuỗi ARN. Các virion được tạo thành nằm trong các nang của mạng lưới nội chất.

– *Giải phóng.* Sau khi lắp ráp thành virion hoàn chỉnh, chúng tiến sát màng sinh chất, phá vỡ tế bào để chui ra ngoài rồi lại tiếp tục chu kỳ nhân lên ở tế bào mới.

### ***Vector truyền bệnh***

Virut viêm não Nhật Bản lây truyền qua động vật trung gian và vector. Mặc dù động vật cảm thụ với virut viêm não Nhật Bản là chuột nhắt trắng, chuột đất, khỉ, cừu, chó, mèo, dê, lợn và nhiều loại chim nhưng thủ phạm chủ yếu truyền bệnh sang người là lợn và các loài chim đầm lầy. Bệnh chỉ xuất hiện ở người khi có điều kiện sinh thái thích hợp cho sự lây truyền. Ở các động vật này virut có thể nhân lên, xuất hiện trong máu nhưng không biểu hiện triệu chứng và không truyền cho thế hệ sau.

Lợn sống gần gũi với người nên một khi nó là ổ chứa virut thì sẽ trở thành động vật quan trọng nhất trong quá trình truyền bệnh sang người. Virut viêm não Nhật Bản không lây truyền từ người sang người do tiếp xúc hoặc do muỗi đốt từ người bệnh sang người lành vì người không phải là ổ chứa. Khi nào muỗi hút máu động vật đã bị nhiễm virut (ổ chứa) rồi đốt người thì mới truyền bệnh sang người. Một khi muỗi đã bị nhiễm virut, chúng có khả năng truyền bệnh suốt thời gian tồn tại và khả năng này còn truyền sang thế hệ sau qua trứng (hình 15.3).



**Hình 15.3.** Sơ đồ lan truyền virut viêm não Nhật Bản trong tự nhiên

Năm 1938, người ta phân lập được virut viêm não Nhật Bản từ muỗi *Culex tritaeniorhynchus* và chứng minh rằng chính loài muỗi này là vector truyền bệnh. Hiện nay, virut viêm não Nhật Bản đã được phân lập từ trên 10 loài *Culex* và 4 loài *Anopheles*. Ở các nơi khác nhau có thể có các vector truyền bệnh khác nhau.

Ở Malaysia, ngoài *C. tritaeniorhynchus* thì *C. gelidus* cũng là vector truyền bệnh, còn ở nhiều vùng thuộc Ấn Độ vector chính lại là *C. vishnui*.



### **15.2.3.3. Triệu chứng lâm sàng**

Thời gian ủ bệnh ở người từ khi bị muỗi đốt đến khi xuất hiện triệu chứng là 1 – 6 ngày, cũng có khi kéo dài đến 14 ngày. Các triệu chứng có thể xuất hiện từ từ, bán cấp tính, cấp tính và đột ngột. Quá trình tiến triển của bệnh có thể theo 3 giai đoạn :

– *Giai đoạn tiền triệu chứng.* Trước khi biểu hiện các triệu chứng của hệ thống thần kinh trung ương. Giai đoạn này biểu hiện bằng sốt cao, có hoặc không kèm rét run, đau đầu dữ dội, khó chịu và buồn nôn. Lúc này không thể chẩn đoán dựa vào triệu chứng lâm sàng vì dễ lẫn với các bệnh khác.

– *Giai đoạn viêm não.* Biểu hiện các triệu chứng thần kinh trung ương (sau 3 – 5 ngày) với các biểu hiện như rối loạn vận động, trương lực cơ tăng, chân tay co cứng, cử động khó khăn hoặc lên cơn co giật. Đó là các dấu hiệu quan trọng trong chẩn đoán lâm sàng. Tử vong xảy ra ở tuần thứ nhất do nguyên nhân thần kinh.

– *Giai đoạn muộn.* Có các dấu hiệu phục hồi chậm, các chức năng thần kinh trong nhiều tuần hoặc biểu hiện các dấu hiệu tổn thương hệ thần kinh trung ương, như liệt nửa người hoặc toàn thân, có thể để lại di chứng rối loạn thần kinh suốt đời.

Tuy nhiên, đa số trường hợp bị nhiễm virus nhưng không biểu hiện triệu chứng. Bệnh nhân chỉ bị sốt nhẹ, hơi nhức đầu rồi tự khỏi. Chỉ có 2 – 3% nhiễm virus biểu hiện triệu chứng lâm sàng cấp tính, còn lại là dạng tiềm ẩn. Thông thường, người bị nhiễm virus dù có hay không biểu hiện triệu chứng đều được miễn dịch suốt đời, điều này giải thích vì sao chỉ số lâm sàng ở trẻ em cao hơn rất nhiều so với người lớn.

### **15.2.3.4. Đáp ứng miễn dịch**

Hai loại KN quan trọng nhất là protein pr M/M và protein E kích thích cơ thể tạo KT trung hoà và KT ngăn ngưng kết hồng cầu. Các virus khác là thành viên của nhóm huyết thanh viêm não Nhật Bản (JE serotype) cũng là KN bề mặt với cấu trúc tương tự như virus viêm não Nhật Bản, do đó cơ thể xuất hiện phản ứng chéo với các KT của các loài khác nhau.

### **15.2.3.5. Chẩn đoán**

Để chẩn đoán nhanh bệnh viêm não Nhật Bản người ta dùng phương pháp MAC – ELISA nhằm xác định KT đặc hiệu IgM hoặc có thể dùng phản ứng RT – PCR. Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương hằng năm đều tiến hành giám sát dịch tễ học bệnh viêm não Nhật Bản bằng bộ sinh phẩm do viện tự sản xuất. Bộ sinh phẩm này đã được ứng dụng rộng rãi trên phạm vi toàn quốc với độ chính xác cao.

### **15.2.3.6. Điều trị và phòng chống**

Cho đến nay vẫn chưa có thuốc đặc trị bệnh viêm não Nhật Bản mà chỉ có biện pháp điều trị triệu chứng. Nếu có điều kiện nên tiêm vắc xin dự phòng, nhất là ở vùng có nguy cơ lưu hành dịch bệnh.

Hiện có 3 loại vaccin :

– *Vaccin sống giảm độc lực* sản xuất trên tế bào thận chuột đất với chủng SA14 – 14 – 2: Vaccin được đánh giá là có công hiệu tốt, dễ sản xuất, giá thành rẻ nhưng độ an toàn không cao do nguy cơ hồi phục của virut.

– *Vaccin bất hoạt cũng sản xuất trên tế bào thận chuột đất*, sử dụng chủng P3. Cả hai loại vaccin trên đều do Trung Quốc chế tạo và đều chưa đạt yêu cầu của WHO. Do đó, chủ yếu chỉ dùng trên lãnh thổ Trung Quốc.

– *Vaccin bất hoạt sản xuất từ não chuột* sử dụng chủng Nakayama hoặc chủng Beijing – 1 đã được Nhật Bản nghiên cứu thành công từ 1950 đến thập niên 1960, vaccin này đã đạt độ tinh khiết cao. Năm 1988, Viện Biken Nhật Bản đã chuyển giao công nghệ sản xuất cho Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương của Việt Nam và từ năm 1992, viện này đã sản xuất được vaccin viêm não Nhật Bản đạt tiêu chuẩn của WHO, bảo đảm độ an toàn và khả năng miễn dịch 100%. Hiện nay, duy nhất chỉ có vaccin sản xuất theo công nghệ này là được WHO công nhận về tính an toàn và công hiệu, vaccin được tiêm 2 liều dưới da. Liều thứ nhất tiêm 0,5ml cho trẻ dưới 3 tuổi và 1ml cho trẻ trên 3 tuổi. Liều thứ 2 tiêm cách liều thứ nhất 1 – 2 tuần. Sau một năm tiêm nhắc lại 1 liều nữa.

Để phòng bệnh viêm não Nhật Bản cần giữ gìn vệ sinh khu dân cư, triệt phá ổ bọ gậy, lăng quăng và nơi cư trú của muỗi, sử dụng biện pháp kết hợp như đưa vào chương trình diệt côn trùng gây hại nông nghiệp hay cải tiến hệ thống tưới tiêu, tắm màn bằng thuốc diệt muỗi permethrin.

#### 15.2.4. Viêm gan C

Trước đây khi nói đến viêm gan do virut là người ta nghĩ đến HAV và HBV nhưng về sau còn phát hiện ra một số virut khác cũng gây bệnh viêm gan. Lúc đầu, do chưa phát hiện được bản chất của virut nên để tránh nhầm lẫn người ta gọi là "virut không A không B" (NA – NB). Mãi đến sau năm 1988 mới xác định được là virut *arbo* nhóm B, thuộc họ *Flaviviridae* và gọi là virut viêm gan C (HCV).

Ngày nay, viêm gan C đã trở thành hiểm họa mang tính toàn cầu vì khi nhiễm HCV có thể dẫn tới xơ gan, rồi sau đó là ung thư gan mà không có dấu hiệu báo trước. Hiện nay trên thế giới có 180 triệu người nhiễm HCV tương đương với 3% dân số, gấp 4 lần người nhiễm HIV.

##### Con đường lây truyền

HCV lây truyền chủ yếu qua đường máu và các chế phẩm từ máu. Trên 90% trường hợp viêm gan sau truyền máu có liên quan đến HCV, 30% bệnh nhân lọc máu có KT kháng HCV. Ngoài ra HCV còn có thể lây qua đường tình dục (5%) và từ mẹ sang con khi sinh nở (10%).

Ở Việt Nam, tỷ lệ nhiễm HCV ở người cho máu là 3 – 5%, ở người lọc máu là 14 – 18% và ở những người tiêm chích ma túy là 80%. Sự lây nhiễm HCV đặc biệt

nguy hiểm cho những người nhiễm HIV. Ở Mỹ, khoảng 33 – 50% bệnh nhân nhiễm HIV cũng đồng thời nhiễm HCV. Việc đồng nhiễm hai loại virus này sẽ đẩy nhanh tiến trình đến AIDS.

#### 15.2.4.1. Đặc điểm lâm sàng

Có hai dạng viêm gan do HCV gây ra :

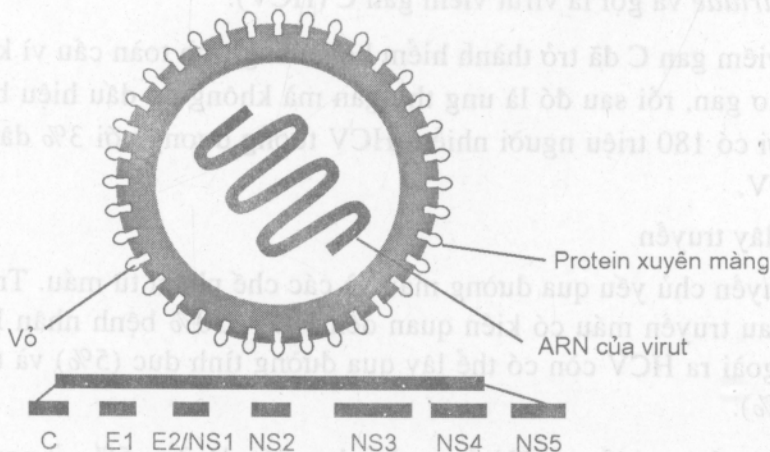
– *Viêm gan cấp*. Lúc đầu biểu hiện thông qua dấu hiệu cận lâm sàng. Đồng thời với sự tăng lượng virus là sự tăng lượng enzym gan (aminotransferaza). Enzym này đạt đỉnh cao sau 30 – 60 ngày, sau đó trở về bình thường trong vài tuần nhưng mô gan phải sau vài tháng mới hồi phục. Chỉ khoảng 5% bệnh nhân nhiễm HCV xuất hiện triệu chứng chán ăn và sau đó là vàng da.

– *Viêm gan mãn tính*. Thể hiện ở các mức độ khác nhau từ không có triệu chứng, gan không bị tổn thương đến những biểu hiện triệu chứng lâm sàng do gan bị tổn thương, rồi xơ gan trong vòng vài năm. Thông thường, triệu chứng lâm sàng xuất hiện khi bị xơ gan. Các biến chứng của xơ gan có thể là xơ gan cổ chướng, nôn ra máu do giãn tĩnh mạch thực quản, hội chứng gan não, suy giảm chức năng gan.

#### 15.2.4.2. Virus viêm gan C

HCV là virus *flavi* hình cầu, có kích thước nhỏ (30 – 60nm) (hình 15. 4), thuộc chi *Hepacivirus* – chi thứ 3 của họ *Flaviviridae*.

Vỏ ngoài chứa glycoprotein. Lõi là chuỗi ARN đơn, (+) gồm 9379 bazơ, chia làm hai vùng : **vùng cấu trúc** nằm phía đầu 5' mã hoá cho các protein cấu trúc và **vùng không cấu trúc** nằm phía đầu 3' mã hoá cho các protein không cấu trúc. Tận cùng đầu 5' là phần không dịch mã 5' – UTR (untranslated region) hay NC (non – coding) và tận cùng đầu 3' là vùng không dịch mã 3' UTR được gắn với đuôi poly A. Trong genom còn có một vùng mà trình tự nucleotit dễ bị biến đổi gọi là **vùng siêu biến** (hypervariable region – HVR). Dựa theo các phân tích di truyền thì nhìn chung HCV giống với *Pestivirus* hơn là *Flavivirus*.



Hình 15.4. Cấu trúc genom của HCV.

**Vùng cấu trúc** mã hoá cho các protein cấu trúc gồm :

– Gen C mã hoá cho protein nucleocapsit p22 (KN C22 – 3) làm nhiệm vụ gắn với ARN để tạo nucleocapsit.

– Gen E1 mã hoá cho glycoprotein vỏ ngoài gp33 (KN gp33).

– Gen E2/NS1 mã hoá cho protein vỏ ngoài gp70 (KN gp70).

**Vùng không cấu trúc** mã hoá cho các protein không cấu trúc gồm :

– Gen NS2 mã hoá cho protein gắn vào màng (p23).

– Gen NS3 mã hoá cho proteaza và helicaza (p72).

– Gen NS4 được chia thành NS4a mã hoá cho protein p10 và NS4b mã hoá cho protein p27.

– Gen NS5 được chia thành NS5a mã hoá cho replicaza và NS5b mã hoá cho ARN – polymeraza phụ thuộc ARN cần cho quá trình sao chép.

Ở hai đầu là các vùng không dịch mã.

Có 6 loại HCV khác nhau về genotyp được ký hiệu từ HCV – 1 đến HCV – 6. Genom của chúng khác nhau 31 – 34% nucleotit. Ngoài ra, còn có 40 typ phụ được ký hiệu là HCV – 1a, HCV – 1b, HCV – 2a, HCV – 2b....

#### **15.2.4.3. Chẩn đoán**

Khi xuất hiện KT kháng virus có nghĩa là bệnh nhân đã bị nhiễm virus HCV. Đa số các trường hợp là nhiễm mãn tính. KT được xác định bằng kỹ thuật ELISA với KN là protein tái tổ hợp. Ngoài ra có thể xác định ARN virus bằng kỹ thuật RT – PCR.

#### **15.2.4.4. Điều trị**

Cho đến nay vẫn chưa có thuốc đặc trị HCV. Phương pháp điều trị tốt nhất hiện nay là sử dụng IFN –  $\alpha$  kết hợp với thuốc chống virus ribavirin. Nếu điều trị liên tục sau 6 – 12 tháng, lượng virus có thể giảm 50%. Đối với IFN –  $\alpha$ 2b (IntronA) hoặc IFN – 2a (ReferonA) có thể sử dụng liều cao (3 – 6 mega – unit) 3 lần/tuần trong vòng 6 tháng. Đối với trường hợp xơ gan nặng thì cần phải ghép gan.

Biện pháp hữu hiệu và kinh tế nhất vẫn là tìm ra vacxin chống HCV. Trong khi chờ đợi, tốt nhất cần tập trung kiểm soát và ngăn chặn sự lây lan của virus.

#### **15.2.5. Viêm gan G**

Năm 1960, ở Mỹ phát hiện thấy một loại viêm gan cấp mới không giống như các viêm gan đã biết và đặt tên là virus viêm gan G (HGV). Cho đến năm 1995, người ta đã xác định được đây là virus ARN đơn, (+) chứa 9200 nucleotit và thuộc họ *Flaviviridae*. Tổ chức gen của HGV cũng giống như các thành viên khác thuộc họ *Flaviviridae* với vùng cấu trúc nằm ở phía đầu 5' còn vùng phi cấu trúc nằm ở phía đầu 3'. Viêm gan G xuất hiện ở khắp các châu lục. Ở châu Á, nước có tỷ lệ mắc virus này cao nhất là ở Lào (15%), Mông Cổ (6,6%).

Sự lây truyền của HGV cũng giống như HCV qua truyền máu và sử dụng các sản phẩm từ máu, qua ghép tạng, quan hệ tình dục, mẹ truyền sang con khi sinh nở và nhất là qua tiêm chích ma túy.

HGV gây viêm gan cấp nhưng nhẹ hơn so với viêm gan C và không biểu hiện triệu chứng. Có thể gây viêm gan mãn tính nhưng nhẹ hơn nhiều so với HCV, kéo dài 8 – 15 năm và thường cùng nhiễm với HCV, HBV và HIV.

#### **15.2.6. Bệnh sốt vàng**

Sốt vàng là bệnh sốt xuất huyết cấp tính do virus *arbo*, chi *Flavivirus* gây ra với đặc điểm là vàng da. Trong lịch sử, bệnh sốt vàng đã gây ra nhiều cái chết của thực dân châu Âu khi xâm chiếm Trung và Nam Mỹ. Bệnh thường lan truyền qua vết đốt của vector là muỗi. Ở thành phố, ổ chứa virus là người và muỗi *Aedes aegypti* còn ở trong rừng thì ổ chứa là khỉ và một số loài muỗi rừng.

##### **15.2.6.1. Đặc điểm lâm sàng**

Thời gian ủ bệnh là 3 – 6 ngày, thường không có dấu hiệu tiền triệu chứng. Bệnh khởi phát đột ngột, sốt cao, mặt đỏ bừng, mắt xung huyết. Các triệu chứng khác thường như buồn nôn, ối mửa, táo bón, đau thượng vị, nhức đầu, đau cơ. Đặc điểm nổi bật nhất là vàng da do virus gây viêm gan. Cũng thường thấy xuất huyết. Biến chứng có thể xảy ra là làm hỏng thận nhiễm độc do tăng protein niệu.

##### **15.2.6.2. Chẩn đoán**

Có thể tiến hành phân lập virus *flavi* hoặc xác định KT trong máu nhờ phản ứng ELISA hoặc phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu.

##### **15.2.6.3. Dự phòng và điều trị**

Vacxin giảm độc lực phòng sốt vàng được chế từ chủng 17D5 nuôi trong phôi gà. Tiêm một liều (0,5ml) dưới da. Tiêm nhắc lại sau 10 năm.

Bệnh không có thuốc chữa. Bệnh nhân cần được nghỉ ngơi và chăm sóc điều dưỡng, rồi tự khỏi. Trường hợp nặng cần điều trị như tiêm canxi gluconat (1g, 1 – 2 lần mỗi ngày. Để ngăn chặn xuất huyết, uống dimetyldrinat 50g (100mg dạng uống hoặc 50mg dạng tiêm cách quãng 4 – 6 giờ để giảm buồn nôn. Dùng codein (60mg) để trị nhức đầu.

## Chương 16

# VIRUT TOGA, HỌ TOGAVIRIDAE

### 16.1. GIỚI THIỆU

Virut *toga* là virut ARN sợi đơn, có vỏ ngoài nhiễm vào nhiều loại động vật có xương sống và nhiễm vào động vật chân khớp với vai trò là vectơ. Họ này cũng bao gồm các tác nhân gây bệnh quan trọng cho người và động vật, trong đó có thể gây sảy thai hoặc dị tật bẩm sinh. Virut tồn tại suốt vòng đời ở động vật chân khớp mà không gây bệnh cho chúng.

Họ *Togaviridae* gồm 4 chi :

- *Alphavirus* thuộc virut *arbo* nhóm A, gồm các virut viêm não ngựa miền Tây, viêm não ngựa miền Đông, viêm não ngựa Venezuela, bệnh Chikungunya, bệnh Mayaro, bệnh o'nyong – nyong, sốt sông Ross, virut Semliki.

- *Arterivirus* chỉ gồm virut gây viêm động mạch ngựa.

- *Pestivirus* gây nhiễm ở lợn và bò. Virut không nhân lên ở động vật không xương sống và không phải là vectơ. *Pestivirus* cũng có thể gây sảy thai và dị tật bẩm sinh.

- *Rubivirus* chỉ gồm virut *rubella*. Người là vật chủ tự nhiên duy nhất của virut này.

**Virion** hình cầu, đường kính 50 – 70nm, bao gồm nucleocapsit hình đa diện (đường kính 28 – 35nm) được bao bởi vỏ ngoài lipoprotein. Nucleocapsit được cấu tạo từ một loại protein lõi (protein C) liên kết với genom ARN. Bề mặt vỏ ngoài có các glycoprotein chính E1 và E2. Đối với virut rừng Semliki còn có glycoprotein thứ 3 – protein E3 nhưng ở *Alphavirus* protein E3 lại được giải phóng vào dịch nuôi tế bào nhiễm. Các gai glycoprotein có hoạt tính ngưng kết hồng cầu và cần cho sự hấp phụ của virut.

**Genom** của virut là chuỗi ARN đơn, (+), khá dài, khối lượng phân tử  $4 \times 10^6$ . Trong các virut kể trên, ARN được gắn mũ và đuôi poly A. Ở *Alphavirus*, ít nhất có trình tự gen như sau : 5' – nsP1 – nsP2 – nsP3 – nsP4 – C – E3 – E2 – E1 – 3' trong đó nsP1 – nsP4 là các protein không cấu trúc (các thành phần của ARN – polymeraza phụ thuộc ARN).

### 16.2. CHU TRÌNH NHÂN LÊN

Virut *toga* nhân lên trong tế bào chất. Quá trình này được nghiên cứu chủ yếu ở *Alphavirus* (virut rừng Semliki và virut Sindbis).

- Protein phi cấu trúc được tổng hợp trực tiếp từ chuỗi ARN genom (+) (42S), chiều dài đủ.

- Protein cấu trúc được tổng hợp từ chuỗi ARN (+) dưới genom (26S, chiều dài ngắn hơn genom) có gắn mũ và đuôi. Chuỗi 26S này được khởi đầu từ vị trí nằm phía trong khuôn ARN (–), có chiều dài đủ.

*Virut rubella* cũng dùng phương thức này để tổng hợp các chuỗi ARN dưới genom (26S) và chuỗi ARN chiều dài đủ (40S).

- Sự dịch mã được khởi đầu chỉ từ một vị trí để tạo ra chuỗi polyprotein sau đó được phân cắt nhờ proteaza.

- Sự tổng hợp mỗi loại ARN của virut đó là ARN (-) và ARN (+) có chiều dài đủ, ARN dưới genom.

- ARN 26S được tổng hợp vượt trội so với ARN 42S sao cho đạt được lượng protein cấu trúc lớn hơn so với protein phi cấu trúc khi ARN genom được bao bọc vỏ capsit.

- Virut trưởng thành ra khỏi tế bào theo lối nảy chồi qua màng sinh chất.

Trong tế bào động vật có xương sống, *Alphavirus* tạo CPE rất nhanh khi bị nhiễm virut. Quá trình tổng hợp protein và ARN của vật chủ bị kìm hãm nhanh chóng dẫn tới làm tan tế bào. Một số *Alphavirus* chủ yếu nhiễm tiềm ẩn và gây hại cho động vật không xương sống.

### 16.3. BỆNH RUBELLA

Rubella hay sởi Đức là bệnh nhiễm virut thể nhẹ rất hay lây, chủ yếu là ở trẻ em. Virut *rubella* là thành viên của virut *toga*, lúc đầu nhiễm vào đường hô hấp trên, nhân lên trong tế bào niêm mạc sau đó vào máu, rồi tới một số nơi trên cơ thể. Sau thời gian ủ bệnh 2 – 3 tuần, bệnh nhân bị nhức đầu, đau họng, sốt nhẹ, sưng hạch lympho ở cổ, rồi phát ban dưới dạng các chấm hồng ở mặt, sau đó lan ra khắp cơ thể. Sau một tuần, các chấm ban lặn đi nhưng bệnh nhân vẫn còn bị nhiễm virut trong 3 – 4 ngày nữa.

Ở trẻ em và thanh niên bị nhiễm virut *rubella* thường ở thể nhẹ. Nếu mắc trong thời kỳ mang thai, virut sẽ nhiễm vào thai gây hội chứng sởi Đức bẩm sinh. Hội chứng này được đặc trưng bởi sự nhân lên bất thường của virut, có thể gây dị dạng thai nhi. Nhìn chung, nhiễm virut *rubella* khi mang thai ở thời kỳ đầu sẽ để hậu quả nghiêm trọng. Tỷ lệ tử vong lên đến 25% ở các trường hợp hội chứng sởi Đức bẩm sinh. Dị tật thông thường nhất liên quan đến *rubella* là các bệnh về mắt (đục nhân mắt, tật mắt nhỏ, bệnh tăng nhãn áp và viêm màng đệm), về tim mạch (xơ cứng động mạch tuyến nội tiết, chứng hẹp động mạch ngoại vi phổi, khuyết tật vách tâm nhĩ hoặc tâm thất), về thần kinh (nhỏ đầu, viêm màng não, chậm phát triển trí tuệ). Trẻ nhỏ nhiễm virut *rubella* bẩm sinh thường chậm lớn do bị bệnh về xương, bệnh to gan và lách, bệnh giảm tiểu cầu, chứng vàng da và xuất hiện các tổn thương trên da như ban xuất huyết.

KT xuất hiện sau khi các nốt ban bắt đầu lặn. Lúc đầu phát hiện thấy cả IgG và IgM. IgM tồn tại không quá 4 – 5 tuần, còn IgG có thể tồn tại suốt đời. Tái nhiễm thường có thể xuất hiện nhưng không biểu hiện triệu chứng.

Virut *rubella* lây nhiễm qua tiếp xúc hoặc qua các hạt nước nhỏ li ti bắn ra khi thở, ho, hoặc hắt hơi.

### 16.3.1. Virut rubella

Virut *rubella* là thành viên của chi *Rubivirus*, họ *Togaviridae*. Họ này được xếp vào virut *arbo* nhưng bản thân virut *rubella* không lây truyền qua côn trùng. Cho đến nay chỉ có một typ huyết thanh.

Virion là các hạt đa hình thái, đối xứng xoắn, được bao bởi vỏ ngoài lipit kép. Kích thước trung bình 50 – 75nm. Có 3 protein cấu trúc chính bao gồm 2 glycoprotein E1 (58000Da) và E2 (42000 – 47000Da) gắn trên vỏ ngoài và protein C (protein capsit, 33000Da) nằm ở phía trong.

Genom là ARN đơn, (–). Quá trình nhân lên diễn ra trong tế bào chất. Trong quá trình chín, virut nảy chồi vào bong bóng của tế bào chất hoặc nảy chồi từ mép màng sinh chất.

Virut bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipit hoặc trypsin nhưng không bị phá huỷ bởi đông lạnh hoặc sóng siêu âm.

### 16.3.2. Chẩn đoán

Chủ yếu dùng để khẳng định sự nhiễm virut *rubella* ở phụ nữ có thai hoặc nhiễm virut *rubella* bẩm sinh.

*Các phản ứng huyết thanh.* Trường hợp mới nhiễm thì tốt nhất là xác định IgM bằng ELISA hoặc MD huỳnh quang. Kỹ thuật tan máu phóng xạ đơn (Single radial haemolysis) được sử dụng rộng rãi để xác định khả năng MD ở phụ nữ có thai hoặc ở người có nguy cơ lây nhiễm cao (các y tá khoa nhi, các cô chăm sóc hoặc nuôi dạy trẻ...) nhưng không dùng để đo hiệu giá KT và ít có giá trị chẩn đoán virut *rubella*.

### 16.3.3. Phân lập

Trước đây thường dùng phương pháp phân lập virut để chẩn đoán nhiễm *rubella* bẩm sinh trong bào thai. Hiện nay được thay bằng phương pháp PCR xác định ARN của virut. Cho virut nhân lên trong tế bào nuôi cấy mô thận thỏ RK13 và giác mạc thỏ SIRC và quan sát CPE.

### 16.3.4. Phòng, chống

Sử dụng immunoglobulin thông thường trong MD thụ động có thể làm giảm hoặc ngăn ngừa bệnh rubella ở phụ nữ mang thai nhằm giữ thai.

Tiêm chủng vacxin MMR. Cần đưa vacxin MMR (*measles, mump, rubella*) vào Chương trình Tiêm chủng mở rộng Quốc gia nhằm thanh toán 3 bệnh này ở trẻ em. Khi tạo được MD cộng đồng (herd immunity) ở mức độ cao thì 3 virut trên sẽ ít có cơ hội tồn tại trong cộng đồng.

Vacxin liều một được tiêm chủng cho trẻ em hai tuổi và liều nhắc lại khi trẻ ở tuổi đến trường. Tiêm dưới da hoặc tiêm bắp. Vacxin tạo MD tốt và lâu dài, tuy nhiên cần theo dõi cẩn thận để kiểm tra xem MD có tồn tại trong nhiều năm hay không. Đã có báo



cáo cho thấy MD chống virus sởi hình thành sau mũi tiêm thứ nhất bị yếu đi nên bệnh lại xuất hiện ở tuổi thành niên.

### ***Các phản ứng phụ***

– Thường biểu hiện nhẹ như sốt, khó chịu, ban đỏ, sổ mũi (do thành phần của virus sởi gây ra), đôi khi còn bị viêm tuyến mang tai (do thành phần của virus quai bị) và đau khớp (do thành phần của virus *rubella*), thậm chí có thể bị co giật.

– Viêm não – màng não do quai bị có thể liên quan đến một trong hai chủng vaccin đã dùng (chủng Urabe). Ở một số nước, ví dụ ở Anh dùng chủng Jeryl Lynn.

### **Chống chỉ định :**

- Tránh mang thai trong vòng một tháng sau khi tiêm vaccin.
- Không dùng cho người thiếu hụt MD (ví dụ đang dùng thuốc ức chế MD), người bị bệnh ung thư và các bệnh ác tính khác.
- Không dùng cho người mẫn cảm với protein trứng.

## Chương 17

# VIRUT FILO, HỌ FILOVIRIDAE

### 17.1. GIỚI THIỆU

Các virus *Marburg* và *Ebola* là hai thành viên của chi *Filovirus*, họ *Filoviridae*. Đây là hai loài "anh em" có nhiều đặc điểm giống nhau về hình thái, cấu tạo genom và nhiều loại protein. Cả hai đều gây sốt cấp tính trầm trọng ở người.

Virus *Marburg* được phát hiện năm 1967, khi chúng đồng thời gây bệnh cho 25 nhân viên phòng thí nghiệm ở Marburg (CHLB Đức) và Belgrat (Nam Tư cũ) khi họ tiếp xúc với khỉ mặt xanh châu Phi (*Cereofithecus aethiops*) nhập từ Uganda. Tỷ lệ tử vong 25 – 30%. Bệnh cũng còn phát hiện thấy ở Zimbabwe, Kenya và Zaire.

Virus *Ebola* mang tên một dòng sông ở Zaire. Nơi đây, năm 1976 chúng xuất hiện trong hai vụ dịch đồng thời ở Zaire và Sudan làm cho trên 500 người mắc bệnh. Tỷ lệ tử vong rất cao, ở Zaire là 90% còn ở Sudan là 60% làm cho cả thế giới sững sốt. Virus *Ebola* đã được phân lập và giải trình tự gen. Chúng ở Zaire ký hiệu là EBO – Z, còn chủng ở Sudan ký hiệu là EBO – S. Năm 1989, phân lập được loài *Ebola* mới ở khỉ nhập từ Philippin đang cách ly ở Reston – Mỹ nên ký hiệu là EBO – R. Điều này cho thấy, chưa hẳn virus *Ebola* chỉ có nguồn gốc từ châu Phi. Năm 1995, virus *Ebola* lại tái xuất hiện ở Zaire nhưng sau đó biến mất không để lại dấu vết. *Ebola* cũng còn phát hiện thấy ở Sudan, bờ biển Ngà, Gabon và Uganda.

Cả virus *Marburg* và *Ebola* đều chứa ARN đơn, (–), không phân đoạn, dài 19,1kb, khối lượng phân tử  $3,5 - 4,5 \times 10^6$ . Nucleocapsit có dạng xoắn, được bao bọc bởi vỏ ngoài chứa lipid. Virus có dạng sợi dài 790 – 1079nm, đường kính 80nm. (Đôi khi virus có thể dài đến 14 000nm). Virus cũng có thể có dạng phân nhánh hoặc khép vòng hoặc có hình số 6, có lẽ là do khi nảy chồi, nhiều nucleocapsit cùng chui ra và được bao bọc bởi cùng một vỏ ngoài. Bề mặt vỏ ngoài phủ gai dài 7nm. Hạt virus chứa 7 protein do 7 gen mã hoá, trong đó có protein N (180 kDa) là ARN – polymeraza phụ thuộc ARN, L (104 kDa) là nucleocapsit, VP35 (35 kDa) có vai trò giống như protein P ở virus *paramyxo* và *rhabdo*, GP (125kDa) là protein gai chính, VP40 (protein nền – M) cùng với VP24 tạo nên vỏ ngoài nhiều lớp và VP30.

Virus *Marburg* và *Ebola* dễ bị bất hoạt bởi dung môi lipid,  $\beta$  – propiolacton, fomaldehit, bức xạ tia  $\gamma$ , tia UV. Bền ở nhiệt độ phòng trong nhiều giờ nhưng bị bất hoạt ở 60°C trong 1 giờ.

### 17.2. QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN

Virus *Marburg* và *Ebola* có thể tấn công vào nhiều loại tế bào của cơ thể, đặc biệt là đại thực bào và tế bào gan. Chúng nhân lên trong tế bào vero. Quá trình nhân lên tương tự như ở các virus *paramyxo* và *rhabdomyxo*. Trước hết chuỗi ARN đơn, (–) sau khi giải

phóng vào tế bào chất tiến hành phiên mã nhờ ARN – polymeraza phụ thuộc ARN do chúng mang theo để tạo ra chuỗi ARN đơn, (+). Chuỗi này vừa làm nhiệm vụ khuôn để tổng hợp các sợi đơn, (-) tức là genom của các virus con cháu vừa làm luôn nhiệm vụ của mARN để tổng hợp các loại protein cho các virus mới. Nucleocapsit được hình thành và tích lũy trong tế bào chất, tạo thể ẩn nhập. Virus thành thực ra khỏi tế bào theo lối nảy chồi. Lúc đó, nucleocapsit được màng tế bào chất bao bọc, tạo thành vỏ ngoài. Khi một lượng lớn virus được tạo thành tế bào sẽ bị phá hủy.

### 17.3. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ BỆNH SINH

Đặc điểm lâm sàng của bệnh *Marburg* và *Ebola* có nhiều điểm giống nhau. Thời kỳ ủ bệnh từ 3 – 9 ngày. Có các biểu hiện ban đầu giống cúm. Bệnh nhân thường bị sốt cao (30 – 40°C) đột ngột, đau đầu, khó chịu, đau cơ, viêm kết mạc, nhịp tim chậm, tiêu chảy, mất nước và lịm đi. Một số bệnh nhân bị ban rất sần ở ngày thứ 5 – 7. Trên da đen thường khó nhận biết, cho đến khi da bị bong. Sau đó là đến nôn và đi ngoài ra máu, chảy máu mũi, lợi, âm đạo. Các triệu chứng khác gồm gan to, lách to, phù mắt, đỏ bìu hoặc âm hộ. Các biến chứng gồm viêm tinh hoàn dẫn đến teo, viêm cơ tim, đối với phụ nữ có thai thì thường bị sẩy thai và rong kinh kéo dài. Bệnh nhân chết sau 6 – 17 ngày chủ yếu là do bị sốc và mất nhiều máu.

Virus xuất hiện ở hầu hết các mô, nhưng gan là nơi cư trú chính và từ đó đi vào máu.

#### 17.3.1. Lây truyền

Virus *Marburg* và *Ebola* lây truyền từ người sang người qua tiếp xúc trực tiếp với máu, nước bọt, chất nôn mửa, tinh dịch và phân người bệnh cả bên trong và bên ngoài bệnh viện. Virus cũng lây qua quan hệ tình dục. Cho đến nay, mặc dù đã tốn nhiều công sức nhưng vẫn chưa xác định được loài vật nào đã mang virus này truyền cho người.

#### 17.3.2. Chẩn đoán

Có thể tiến hành phân lập virus từ các mẫu máu, nước tiểu, dịch huyệt của bệnh nhân. Tế bào của chuột lang Nam Mỹ nhạy cảm với virus nhưng tế bào thích hợp nhất cho nuôi cấy virus là tế bào vero. Giai đoạn đầu cấp tính, có thể quan sát thấy virus dưới kính hiển vi điện tử. Sau 7 – 10 ngày có thể xác định được KT kháng virus. Vì đây là các virus gây bệnh rất nguy hiểm nên chúng chỉ được phép nuôi trong các phòng thí nghiệm chuyên khoa cao với độ an toàn mức 4<sup>+</sup>. Bệnh nhân phải được cách ly tuyệt đối, các bệnh phẩm phải được quản lý nghiêm ngặt theo tiêu chuẩn của WHO.

#### 17.3.3. Điều trị

Hiện nay chưa có thuốc đặc trị các bệnh nói trên mà chỉ có biện pháp điều trị triệu chứng. Đã thử dùng liệu pháp IFN nhưng hiệu quả chưa rõ ràng. Công ty Vical de San Diego (Califonia) đã thử nghiệm thành công vaccin *Ebola* và đang làm thủ tục để được cấp phép. Một loại vaccin hữu hiệu chống virus *Ebola* không những rất cần cho các quốc gia có căn bệnh này hoành hành, cho các nhân viên y tế thường xuyên tiếp xúc với virus này mà còn là một vũ khí chống lại âm mưu sử dụng virus *Ebola* như một vũ khí khủng bố sinh học.

## VIRUT REO, HỌ REOVIRIDAE

### 18.1. GIỚI THIỆU

Virut *reo* là nhóm virut ARN kép, gây nhiễm đường hô hấp và đường ruột nhưng không gây bệnh đặc hiệu hay nghiêm trọng, vì thế Sabin đề nghị gọi là "virut mồ côi đường hô hấp và đường ruột" (*reo* là từ ghép các chữ đầu của cụm từ *respiratory enteric Orphan*). Từ *mồ côi* (*orphan*) được dùng ở đây vì virut được phân lập lần đầu tiên từ người mà không gây bất kỳ triệu chứng bệnh cụ thể nào. Tuy nhiên, các thành viên nhóm virut *reo* rất đa dạng, chúng gây nhiễm cho người, động vật có xương sống (kể cả chim), côn trùng và thực vật.

Ngày nay, nhóm virut đầu tiên phân lập từ động vật có vú vẫn được xếp vào chi *Reovirus*. Chúng vừa có thể phân lập được từ người mắc bệnh đường hô hấp và tiêu hoá nhưng không biểu hiện triệu chứng vừa có thể phân lập được từ người khoẻ mạnh.

Một chi còn quan trọng hơn *Reovirus* là *Rotavirus*, đây là căn nguyên gây bệnh tiêu chảy, viêm ruột ở trẻ em từ 6 – 24 tháng tuổi (thường dưới 5 tuổi) và ở động vật non. Các virut thuộc các chi *Orbivirus* và *Cortivirus* gây nhiễm cho nhiều loại côn trùng vì thế chúng cũng được xem như virut *arbo*. Virut *orbi* gây bệnh sốt ve Colorado ở người. Một số virut *orbi* khác gây bệnh viêm não ngựa và bệnh lưỡi xanh ở cừu.

### 18.2. PHÂN LOẠI

Họ *Reoviridae* bao gồm 9 chi trong đó có 4 chi gây nhiễm cho người là :

- *Orthoreovirus* gồm 3 typ huyết thanh virut *reo* typ 1, 2, 3.
- *Orbivirus* và *Lortivirus* gồm nhiều typ huyết thanh.
- *Rotavirus* gồm một số nhóm và nhiều typ huyết thanh.

**Bảng 18. PHÂN LOẠI VIRUT VÀ ĐẶC ĐIỂM CHÍNH CỦA CÁC CHI THUỘC HỌ REOVIRIDAE GÂY NHIỄM CHO NGƯỜI**

| Đặc điểm                          | Genom của virut <i>reo</i>               |                                          |                                                              |                                                              |
|-----------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
|                                   | <i>Orthoreo</i>                          | <i>Rota</i>                              | <i>Orbi</i>                                                  | <i>Corti</i>                                                 |
| Kích thước (nm)                   | 80                                       | 75                                       | 80                                                           | 80                                                           |
| Số đoạn ARN                       | 10                                       | 11                                       | 10                                                           | 12                                                           |
| Khối lượng phân tử của genom (Da) | $15,5 \times 10^6$                       | $12,2 \times 10^6$                       | $12,7 \times 10^6$                                           | $\sim 18 \times 10^6$                                        |
| Vật chủ                           | Người và các động vật có xương sống khác | Người và các động vật có xương sống khác | Người và các động vật có xương sống khác, động vật chân khớp | Người và các động vật có xương sống khác, động vật chân khớp |

### 18.3. VIRUT *REO*

Là virus hình đa diện, đối xứng, có kích thước 70 – 80nm, có vỏ capsit kép, 3 protein tạo vỏ capsit ngoài và 5 protein tạo vỏ capsit trong. Tổng cộng có 92 capsome trong đó 80 capsome có hình 6 cạnh và 12 capsome có hình 5 cạnh. Mỗi capsome 6 cạnh có 6 tiểu đơn vị và mỗi capsome 5 cạnh có 5 tiểu đơn vị, tổng cộng có 540 tiểu đơn vị. Virus *reo* không có vỏ ngoài.

Genom của virus *reo* là chuỗi ARN kép và là virus động vật duy nhất chứa genom dạng này. Các virus ARN khác ở động vật có cấu trúc sợi đơn. Khối lượng phân tử của ARN là  $10 \times 10^6$ , guanin và cytozin chiếm 44%.

Do không có vỏ ngoài nên không phát hiện thấy lipid và vì vậy không bị ete phá huỷ.

Virus bền ở nhiệt độ tương đối cao, ở 37°C sau 2 tuần vẫn phát hiện thấy virus sống sót, ở 20°C bảo quản được gần 2 năm. Khi đun ở 50 – 55°C trong 5 – 15 phút với sự có mặt của  $MgCl_2$  2M hiệu giá gây nhiễm tăng 4 – 8 lần.

Virus tương đối bền với pH axit, ở pH = 3 hiệu giá virus không giảm trong vòng 1 ngày.

#### 18.3.1. Quá trình nhân lên của virus *reo*

Đầu tiên virus bám vào bề mặt tế bào thông qua mối tương tác giữa protein bề mặt vỏ capsit (ở virus *Orthoreo* là protein  $\delta I$ , ở virus *rota* là protein VP4) với thụ thể của tế bào (đối với virus *Orthoreo* thụ thể của tế bào là  $\beta$  – adrenalin và sialoglycoprotein, còn đối với virus *rota* thụ thể chỉ là sialoglycoprotein). Sau khi gắn lên thụ thể vỏ capsit thay đổi cấu hình. Virus xâm nhập vào tế bào theo lối nhập bào rồi chuyển vào lysosom. Enzym proteaza trong lysosom phân giải capsit ngoài nhưng vẫn còn capsit trong nên lúc này virus được gọi là hạt cận virus hay dưới virus (SVP – subviral particle), sau đó các hạt SVP vào tế bào chất. Trong hạt virus luôn có mặt một số enzym như ARN – polymeraza phụ thuộc ARN, các enzym tham gia gắn mũ vào ARN là ARN methyltransferaza và guanylyltransferaza.

Các enzym này được hoạt hoá nhờ quá trình cởi vỏ để bắt đầu quá trình phiên mã bên trong hạt SVP nằm trong tế bào chất. Sợi ARN (+) trong chuỗi ARN kép không được sử dụng trực tiếp làm mARN mà chỉ có sợi ARN (–) mới được dùng làm khuôn để tổng hợp mARN nhờ ARN – polymeraza phụ thuộc ARN do virus mang theo. mARN này được gắn mũ nhưng không gắn đuôi adenyl, sau đó được đưa vào tế bào chất. Lúc đầu chỉ có 4 đoạn genom được biểu hiện, 6 đoạn còn lại được giải kìm hãm để biểu hiện nhờ tác động từ các sản phẩm của các gen sớm. Lúc khởi đầu chu kỳ nhân lên, mARN của virus dịch mã theo cơ chế dịch mã phụ thuộc mũ của vật chủ nhưng về sau virus tự tổng hợp mARN không gắn mũ (kết hợp với các hạt cận virus thế hệ mới) và thay đổi cơ chế dịch mã của vật chủ làm cho nó không phụ thuộc vào mũ, sau đó chỉ mARN không gắn mũ của virus mới được dịch mã.

Mỗi sợi ARN đơn, (+) đều tham gia vào tổng hợp genom ARN kép. Sợi ARN đơn, (+), có mũ dùng làm khuôn để tổng hợp sợi ARN (–), rồi từ đó tổng hợp sợi ARN kép

thế hệ mới. Khi protein capsit được tổng hợp đầy đủ sẽ tiến hành lắp ráp vỏ capsit trong, bao bọc quanh ARN sẽ tạo thành nucleocapsit, rồi lắp vỏ capsit ngoài, tạo virion hoàn chỉnh rồi giải phóng nhờ tan bào hoặc nảy chồi.

### 18.3.2. Đặc điểm lâm sàng và dịch tế học

Có 3 typ huyết thanh của virus *reo* gây bệnh cho người, tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có mối liên hệ rõ rệt giữa virus và bệnh ở người, thỉnh thoảng có trường hợp virus typ 3 có thể gây viêm nhiễm nhẹ đường hô hấp trên, viêm phổi, viêm não hay viêm đường tiêu hoá. Virus typ 1, 2, 3 có thể gây bệnh cho khỉ và gia súc có sừng.

Virus *orbo* gồm một số nhóm huyết thanh gây bệnh cho người qua trung gian là côn trùng (ve, muỗi). Trong máu người, virus liên kết với hồng cầu nên thoát khỏi cơ chế miễn dịch của cơ thể. Biểu hiện lâm sàng của bệnh là sốt, 10% xuất hiện ban đỏ, 70% có hiện tượng giảm bạch cầu, 3 – 7% có thể gây nhiễm vào hệ thần kinh trung ương dẫn tới viêm não hoặc viêm màng não.

## 18.4. VIRUS ROTA

Virus *rota* là nhóm chính gây viêm ruột – dạ dày ở trẻ em. Hầu như trẻ em nào đến 3 tuổi, ít nhất cũng bị nhiễm một lần. Mặc dù bệnh do virus *rota* thường ở thể nhẹ, tuy nhiên ở các nước đang phát triển chúng là nguyên nhân quan trọng gây tiêu chảy, mất nước nghiêm trọng có thể dẫn đến tử vong. Khoảng 30 – 50% các ca tiêu chảy mất nước ở trẻ em là do virus *rota*. Virus *rota* cũng gây tiêu chảy ở người lớn, ở nhiều loài động vật có vú và chim non. Hầu như các typ gây bệnh ở động vật thì không gây bệnh cho người.

Virus *rota* có cấu trúc hình khối đa diện 20 mặt với đường kính là 70nm. Ảnh chụp dưới kính hiển vi điện tử trông giống như những nan hoa cắm vào trục bánh xe. *Rota* tiếng Latinh là bánh xe, vì thế mà virus có tên *rota*. Virus *rota* có hai lớp vỏ capsit với nhiều kênh xuyên qua. Trên bề mặt vỏ capsit ngoài nhô ra 60 mẫu protein bề mặt dạng dime ký hiệu là VP4 (Viral protein 4). Capsit ngoài mang KN đặc hiệu typ còn capsit trong mang KN đặc hiệu nhóm. Đến nay đã phát hiện được 7 nhóm virus *rota* ký hiệu từ A đến G, trong mỗi nhóm lại còn có các nhóm phụ.

Nằm trong vỏ capsit trong là genom gồm 11 phân tử ARN kép. Mỗi phân tử đều có thể tách dễ dàng bằng điện di trên gel polyacrylamit. Vì genom gồm nhiều đoạn như thế nên rất dễ xảy ra sự sắp xếp lại gen và do đó có thể làm xuất hiện tính đa dạng KN. Trừ một phân tử còn mỗi phân tử ARN còn lại của genom mã hoá cho một protein VP.

– Các đoạn ARN 1, 2, 3 mã hoá cho các protein tương ứng VP1, VP2, VP3, trong đó VP2 là protein bao quanh ARN.

– Đoạn ARN số 6 mã hoá cho protein VP6 là protein vỏ capsit trong đồng thời mang quyết định KN đặc hiệu nhóm và nhóm phụ.

– Đoạn ARN số 4 mã hoá cho protein VP4, còn tùy thuộc vào từng chủng mà các đoạn 7, 8 và 9 mã hoá cho protein VP7. Các protein VP4 và VP7 cấu thành vỏ capsit

ngoài. Hai protein này mang quyết định KN đặc hiệu typ. Sau khi được tạo thành, protein VP4 lại bị phân cắt thành 2 protein nhỏ là VP5\* và VP8\*. Quá trình này làm tăng hoạt tính gây nhiễm.

- Năm đoạn ARN 5, 7, 8 (hoặc 9 tùy thuộc từng chủng), 10 và 11 mã hoá cho 5 protein không cấu trúc ký hiệu từ NSP1 đến NSP5 (non – structural protein) có chức năng khác nhau trong quá trình nhân lên của virus.

- Đến nay đã phát hiện 14 typ đặc hiệu VP7, đó là các typ G (từ chữ glycoprotein) và 20 typ đặc hiệu VP4, các typ P (P là từ chữ protein miễn cảm proteaza – proteinase sensitivity protein).

- Đã phát hiện ra một loạt virus *rota* typ G – P, nghĩa là có sự kết hợp giữa typ G và typ P.

- Bằng cách điện di các đoạn ARN của bộ gen virus, người ta thiết lập các typ gọi là "typ điện di" (electrophero type). Ngoài 2 typ điện di "dài" và "ngắn" dựa vào tốc độ chạy tương đối của đoạn 10 và 11 trong điện trường, còn có sự khác biệt nhỏ khi chạy các đoạn tương ứng khác. Điều này rất quan trọng đối với các nghiên cứu về dịch tễ học nhưng đối với mục đích giám sát và sản xuất vacxin thì vẫn phải dùng phân loại theo huyết thanh học.

Philip Dormitzer (2004) bằng kỹ thuật nhiễu xạ tia X đã xác định được protein VP4 có hai thành phần "đầu" và "thân". Protein này được biến đổi 2 lần liên tiếp giúp nó nằm trong màng tế bào để gây nhiễm. Trên bề mặt virus có 6 mấu, mỗi mấu chứa 3 protein VP4. Lân đầu enzym tiêu hoá trong ruột biến 2 trong 3 protein VP4 thành gai cứng. Đầu gai cắm vào bề mặt tế bào đích, sau đó đến giai đoạn 2, các gai cuộn lại tạo cấu trúc chiếc ô cụp với 3 bản, sau đó các bản cuộn lại làm cho "thân" gai tạo lỗ thủng trên màng tế bào. Phát hiện này có tầm quan trọng thực tiễn vì "đầu" và "thân" gai của VP4 đều là đích tấn công của hệ miễn dịch. Các protein này rất bền ở nhiệt độ thường, do đó có thể dùng để chế vacxin không cần bảo quản lạnh.

#### **18.4.1. Cơ chế gây bệnh**

Virus *rota* chỉ gây nhiễm các tế bào biểu mô đã biệt hoá trên đỉnh nhung mao (villi) ở ruột non.

Sau 10 – 12 giờ gây nhiễm, một lượng lớn virus được tạo thành, ra khỏi tế bào, tràn vào khoang ruột và sẵn sàng gây nhiễm các tế bào khác. Ta biết rằng ruột có mạng lưới mao mạch và ống dẫn chất dinh dưỡng. Khi các tế bào đỉnh của nhung mao bị phá huỷ sẽ không còn khả năng hấp thu chất dinh dưỡng, chất điện giải và nước. Do hấp thu chất dinh dưỡng kém, các chất cacbohydrat ứ đọng bên trong ruột làm tăng áp suất thẩm thấu, kéo nước vào lòng ruột dẫn đến tiêu chảy thẩm thấu, mất nước nghiêm trọng, làm mất cân bằng điện giải, gây hậu quả nghiêm trọng đối với trẻ sơ sinh, trẻ dưới 3 tuổi và đặc biệt là đối với trẻ bị suy dinh dưỡng. Cách xử lý thông thường khi nồng độ chất điện giải giảm nghiêm trọng là cung cấp các chất thích hợp bằng cách cho uống oresol hoặc đôi khi có thể truyền tĩnh mạch.

### 18.4.2. Đặc điểm lâm sàng

Thời gian ủ bệnh của virus *rota* từ 1 – 2 ngày. Bệnh nhân đột ngột bị nôn mửa kèm theo tiêu chảy (thấy ở 80% trẻ bị nhiễm) và kéo dài 2 – 6 ngày. Khoảng 30% trường hợp bị sốt cao (39°C). Khi bị nhiễm virus *rota* thường thấy xuất hiện các triệu chứng của đường hô hấp nhưng không có bằng chứng nào cho thấy virus nhân lên ở đường hô hấp. Khoảng 50% trường hợp viêm ruột, dạ dày do nhiễm virus *rota* cần điều trị tại bệnh viện. Với trẻ bị suy giảm miễn dịch có thể gây bệnh nghiêm trọng và kéo dài. Virus *rota* cũng gây nhiễm tiềm ẩn ở tuổi thiếu niên và ở người trưởng thành.

Tại các nước đang phát triển, mỗi năm có 5 triệu trẻ dưới 2 tuổi chết vì tiêu chảy thì trong đó có một triệu là do virus *rota*.

### 18.4.3. Chẩn đoán phòng thí nghiệm

Do virus *rota* thải qua phân nên việc chẩn đoán không mấy khó khăn. Lúc cao điểm có thể phát hiện thấy  $10^{11}$  hạt/ml dịch phân. Thông thường dùng phản ứng ngưng kết trên hạt latex gắn KT đặc hiệu virus *rota* hoặc ELISA. Đối với trẻ nhỏ bị tiêu chảy, có thể dễ dàng phát hiện virus dưới kính hiển vi điện tử, kỹ thuật này tương đối nhanh đặc biệt là khi có ít mẫu. Để xác định nhóm, nhóm phụ và typ có thể dùng nhiều phương pháp như ELISA, KT đơn dòng, phản ứng RT – PCR với các đoạn môi đặc hiệu gen hoặc đặc hiệu typ.

Để chẩn đoán virus *rota* trong phân của bệnh nhân tiêu chảy cấp có thể dùng phương pháp điện di trên agarose vì dễ sử dụng, cho kết quả nhanh (so với điện di trên gel polyacrylamit), độ nhạy và độ đặc hiệu không thua kém các phương pháp khác.

### 18.4.4. Dịch tễ học

Virus *rota* xuất hiện khắp nơi trên thế giới. Ở trẻ nhỏ dưới 3 tuổi thường bị nhiễm hầu hết các typ huyết thanh chính. Ở Việt Nam, mãi đến năm 1980 virus này mới được bắt đầu nghiên cứu và được xác định là nguyên nhân chính gây bệnh tiêu chảy ở trẻ em. Số trẻ bị tiêu chảy do nhiễm virus *rota* hàng năm khoảng 50%, tỷ lệ tử vong từ 4 – 8% trong tổng số trẻ dưới 5 tuổi bị chết bởi mọi nguyên nhân. Thường thì tỷ lệ trẻ em ở các nước giàu bị nhiễm virus này cao hơn so với các nước nghèo, đó là do chúng không được MD. Trong gia đình, trẻ nhỏ, người già và người bị suy giảm miễn dịch cũng dễ bị nhiễm. Ở giai đoạn cấp tính, một lượng lớn virus được thải qua phân. Khi ở ngoài cơ thể, các virus này có thể sống sót một thời gian và có thể gây nhiễm cho người khác theo con đường phân – miệng. Ở vùng ôn đới, quá trình gây nhiễm theo mùa, cao nhất là mùa xuân còn ở vùng nhiệt đới thì xảy ra quanh năm nhưng tấn suất vào mùa mưa có thể cao hơn. Ở một thời điểm nào đó, có thể cùng lúc lưu hành nhiều typ huyết thanh khác nhau. Hiện tượng cùng xuất hiện các biến chủng khác nhau về KN có thể giải thích như sau :

– Genom virus *rota* khi sao chép đã xảy ra đột biến điểm và đột biến này được duy trì trong hạt.



– Do genom chứa nhiều đoạn nên dễ xảy ra sự sắp xếp lại gen. Khi 2 typ huyết thanh cùng gây nhiễm vào một tế bào sẽ có thể xảy ra sự hoán vị KN (antigenic shift) tức là trao đổi các đoạn ARN giống như ở virus cúm A.

– Virus động vật đôi khi có thể gây nhiễm cho người và do đó làm tăng tính biến dị (có bằng chứng cho thấy virus ADRV (animal derived rota virus) nhóm B của người có nguồn gốc từ virus động vật).

– Virus *rota* gây bệnh mãn tính ở người bị suy giảm miễn dịch có thể sắp xếp lại genom và tạo ra các đoạn ARN khác thường.

– Các yếu tố kể trên có thể cùng một lúc xảy ra. Ví dụ vừa sắp xếp lại gen, vừa xảy ra đột biến.

Các sự kiện trên làm cho vấn đề nhiễm virus *rota* càng trở nên phức tạp.

#### **18.4.5. Điều trị và phòng bệnh**

Liệu pháp hữu hiệu đối với bệnh do virus *rota* là cho uống bù nước hoặc truyền dịch có thành phần đường và chất điện giải thích hợp. Do virus lan truyền theo con đường phân – miệng nên việc giữ gìn vệ sinh đồ ăn, thức uống và môi trường sinh hoạt đóng vai trò quan trọng. Nhiều trường hợp cùng một lúc nhiễm nhiều typ huyết thanh khác nhau nên việc nghiên cứu một loại vaccin đa trị "cốc tay" là cần thiết. Một vaccin sống giảm độc lực chế từ virus *rota* của bò và khỉ mang gen VP7 của virus người đang được đánh giá tính công hiệu.

Gần đây vaccin sống giảm độc lực đa giá dùng để uống mang tên Rotashield đã được sản xuất từ chủng virus *rota* ở khỉ *Rhesus* MMU 18006. Chủng này thuận lợi cho sản xuất vì có thể nhân lên trong tế bào nuôi cấy mô. Các thử nghiệm cho thấy vaccin rất an toàn và tạo miễn dịch tốt.

Hy vọng công tác dự phòng bằng vaccin này sẽ được thực hiện trong tương lai gần.

## Chương 19

# VIRUT ARENA, HỌ ARENAVIRIDAE

### 19.1. GIỚI THIỆU

*Arenaviridae* là tên họ của virus *arena* chứa genom ARN chuỗi đơn, có vỏ ngoài. Chỉ có một chi là *Arenavirus*. Loài điển hình là virus gây viêm màng não màng đệm lympho bào (lymphocytic chonomeningitis virus – LCMV).

LCMV phân bố ở khắp nơi trên thế giới. Các loài khác phân bố có giới hạn ở một số vùng nhất định và được đặt tên theo các vùng địa lý.

- Virus *Lassa* gây bệnh sốt xuất huyết trầm trọng, lần đầu tiên phân lập được ở thành phố Lassa, thuộc Tây Bắc Nigeria, ngoài ra còn thấy ở Liberia và Sierra Leone.

- Virus *Junin* gây sốt xuất huyết Achentina

- Virus *Machupo* gây sốt xuất huyết Bolivia.

Chỉ có 4 loại virus *arena* kể trên là gây bệnh nghiêm trọng ở người. Các virus *arena* khác thường gây bệnh ở động vật như virus *Mozambique*, virus *Tacaribe* (Trinidad), *Tamiami* (Florida, Mỹ), virus *Porana* (Paraguay), *Pichinde* (Colombia). Chúng gây nhiễm tiềm ẩn và dai dẳng ở các vật chủ tự nhiên có thể truyền dọc hoặc truyền ngang mà không cần vectơ.

**Virion** *arena* có dạng cầu hoặc đa hình thái, kích thước trung bình 110 – 130nm. Virus có vỏ ngoài là lipoprotein, bao bọc lõi ribonucleoprotein (RNP) và một số riboxom của vật chủ. Vỏ ngoài có nguồn gốc từ màng sinh chất. Trên bề mặt có các gai hình gậy đánh bóng chày, dài 5 – 10nm.

**Genom** là ARN đơn, ký hiệu là L (với khối lượng phân tử  $2 - 3 \times 10^6$ ) và S (với khối lượng phân tử là  $1 - 1,5 \times 10^6$ ). ARN genom kết hợp với protein cấu trúc (protein N) để tạo nucleocapsit dạng sợi, trông như chuỗi hạt dưới kính hiển vi điện tử. Các chuỗi này tạo các vòng siêu xoắn, khép vòng, có kích thước không bằng nhau, rồi được bao bởi vỏ ngoài. ARN virus thường là chuỗi (–) nhưng có loại protein virus lại được mã hoá bằng trình tự (+) trong genom (vì đây là ARN lưỡng cực – ambisense RNA). Ví dụ : protein N của virus được mã hoá bởi trình tự tương bù với một nửa ARN chuỗi S mang đầu 3', trong khi đó các glycoprotein lại được mã hoá bởi nửa đầu 5' của ARN chuỗi S.

Virus bị bất hoạt ở nhiệt độ trên 56°C và pH dưới 5,5 hay trên 8,5 và bởi các dung môi hữu cơ hoặc các chất tẩy rửa.

### 19.2. QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN

Có thể nuôi cấy virus trong một số loại tế bào của động vật có vú như tế bào vero (tế bào thận khỉ grivet) và BHK (tế bào thận chuột túi má).

Quá trình nhân lên xảy ra trong tế bào chất. Từng gen của virus được biểu hiện và điều khiển độc lập. Vì thế, mặc dù hai gen mã hoá cho nucleoprotein (N) và glycoprotein vỏ ngoài (GPC) cùng nằm trên phân tử S nhưng sự biểu hiện của chúng hoàn toàn tách biệt nhau. Trình tự cái trâm hình chữ U (hairpin sequences) ở sợi ARN genom virus và sợi bổ sung có vai trò làm ngừng hoạt động của ARN – polymeraza virus, tác động đến sự biểu hiện gen. Quá trình gây nhiễm của virus thường tạo ra các phân tử ARN chứa cả ARN virus và ARN ribosom của tế bào chủ. Cả hai phân tử S và L đều chứa trình tự nucleotit để gắn vào tiểu đơn vị 18S của rARN.

Protein N là thành phần chính của virus và của tế bào nhiễm. Khoảng vài giờ sau khi bị nhiễm, có thể phát hiện protein này trong tế bào và khi quá trình tổng hợp virus đã ngừng, protein N vẫn tồn tại. Đồng thời, cũng có thể phát hiện glycoprotein của virus bên trên màng sinh chất của tế bào sau vài giờ lây nhiễm.

Khi gen muộn biểu hiện sẽ tạo ra protein cấu trúc và chấm dứt tổng hợp protein của tế bào. Quá trình lắp ráp tạo virion mới với số lượng  $10^5$  trong mỗi tế bào.

### **19.3. VIRUS VIÊM MÀNG NÃO MÀNG ĐỆM LYMPHO BÀO** (Lymphocytic choriomeningitis virus – LCMV)

Virus LCMV phân bố khắp nơi trên thế giới. Chúng có thể lây nhiễm cho người và nhiều loại động vật nhưng chuột vừa là ổ chứa tự nhiên vừa là vật chủ lớn nhất. Ở chuột, virus nhiễm tiềm ẩn, không biểu hiện triệu chứng. Người bị nhiễm virus LCMV chủ yếu do tiếp xúc với chuột thí nghiệm hoặc dính phân, nước tiểu của chúng. Virus LCMV thường được dùng làm mô hình để nghiên cứu nhiều vấn đề y học như miễn dịch học ở động vật thí nghiệm.

#### **19.3.1. Triệu chứng lâm sàng**

Thời kỳ ủ bệnh từ 1 – 2 tuần, trạng thái ẩn thường không kéo dài. Triệu chứng giống cúm. Ở một số bệnh nhân, bệnh chia làm hai thời kỳ. Thời kỳ đầu giống cúm, thời kỳ sau là viêm màng não vô khuẩn, viêm não – màng não, viêm khớp. 50% bệnh nhân thấy mệt mỏi, đau cơ, đau hố mắt, chán ăn, buồn nôn. 25 – 50% bị đau họng, buồn nôn, loạn cảm giác, sau đó là đau ngực kết hợp với viêm phổi, rụng tóc.

Virus LCMV được chú ý và nghiên cứu nhiều trên chuột vì tầm quan trọng theo quan điểm MD học. Nếu nhiễm virus vào chuột mới sinh trong vòng 24 giờ thì sẽ không hình thành bệnh cấp tính và chuột sẽ mang virus suốt đời. Bởi vì trong thời gian này, hệ thống MD của chuột chưa hoàn thiện, khả năng ĐUMD là rất yếu. Ngược lại, nếu nhiễm vào chuột trưởng thành sẽ dẫn đến viêm màng đệm nguy kịch bởi vì ĐUMD qua trung gian tế bào sẽ tác động tới vùng CP<sub>2</sub> là một trong những KN glycoprotein vỏ ngoài của virus biểu hiện trên bề mặt tế bào nhiễm. Chuột bị nhiễm ở thời kỳ mới sinh không dung nạp virus vì nó sản xuất KT đặc hiệu, tuy nhiên khó nhận biết được phức hợp KN – KT trong đó. Một số phức hợp tích lũy trong mô (chẳng hạn như thận) và gây viêm (tiểu cầu thận bị viêm do lắng đọng phức hợp MD ở tiểu cầu thận).

### 19.3.2. Chẩn đoán

Bệnh nhân nhiễm virus LCMV khi thấy xuất hiện sự thay đổi liên quan đến viêm não thì là thời điểm có thể phân lập virus từ máu, dịch não tủy hoặc não của bệnh nhân. Có thể xác định KT trung hòa sau 6 đến 8 tuần bằng MD huỳnh quang. Chuẩn độ thấy KT tăng chậm và còn cao trong nhiều năm. Có thể dùng RT – PCR vì phương pháp này cho kết quả nhanh và chính xác.

### 19.3.3. Điều trị

Không có biện pháp điều trị đặc biệt, chủ yếu là nghỉ ngơi tại giường và điều trị triệu chứng.

## 19.4. BỆNH LASSA

Bệnh Lassa là bệnh sốt nghiêm trọng, rất dễ lây. Bệnh được phát hiện đầu tiên năm 1969 ở thành phố Lassa, Nigeria và sau đó là Liberia và Sierra Leone. Bệnh cũng còn xuất hiện ở Tây Phi, bao gồm Senegal, Gambia, Ghana, Burkina Faso. Nhiều trường hợp bệnh đã được đưa vào Mỹ thông qua loài chuột *Mastomys natalensis*. Bệnh có thể lây từ chuột sang người hoặc từ người sang người thông qua tiếp xúc với phân, nước bọt, chất nôn hoặc máu.

### 19.4.1. Triệu chứng lâm sàng

Thời gian ủ bệnh thường là 7 – 24 ngày, trung bình là 10 ngày. Các triệu chứng bao gồm : sốt, đau họng, ói mửa, ho, đau cơ, khó chịu, rét run. Một số ca thấy xuất hiện đám trắng nhạt ở vòm miệng, đôi khi giống màng giả.

Ở giai đoạn cấp tính thường bị huyết áp thấp (<90mmHg). Ở thể nhẹ, bệnh sẽ thuyên giảm dần, sang đến tuần thứ 2 và 3 thì hồi phục. Trường hợp tử vong thường xảy ra khi sốt kéo dài, bệnh nhân suy sụp trong 2 tuần đầu do sốt cao, vật vã, tràn dịch màng phổi. Nếu qua khỏi, bệnh có thể để lại di chứng như điếc và rụng tóc.

### 19.4.2 Chẩn đoán

Phát hiện KT bằng MD huỳnh quang gián tiếp, ELISA, RT – PCR.

### 19.4.3. Điều trị

Truyền ribavirin tĩnh mạch. Virus có trong dịch họng, nước tiểu. Bệnh có thể lây qua đường hô hấp, đường ruột và máu, nên cần cách ly nghiêm ngặt. Do triệu chứng lâm sàng rất giống sốt rét, thương hàn, nhiễm liên cầu, Listeria và Rickettsia nên cần xem xét tiền sử xem bệnh nhân có tới các vùng dịch bệnh không.

## 19.5. SỐT XUẤT HUYẾT NAM MỸ – VIRUS JUNIN VÀ VIRUS MACHUPO

Sốt xuất huyết Argentina do virus Junin còn sốt xuất huyết Bolivia do virus Machupo. Virus Junin lần đầu tiên được phát hiện năm 1953 gần sông Junin ở Bắc Argentina, còn

virut *Machupo* được phát hiện năm 1963 ở Bắc Bolivia. Về hình ảnh lâm sàng, sốt Bolivia rất giống sốt Achentina. Cả hai đều được phân lập từ máu bệnh nhân, từ một số loài chuột nhắt, chuột đồng và ve bét. Về mặt huyết thanh, virut *Machupo* có liên quan nhưng vẫn khác virut *Junin*. Thời kỳ ủ bệnh 1 – 2 tuần. Lúc đầu biểu hiện giống như cúm bao gồm : sốt, ngấy rét, nhức đầu, khó chịu, đau cơ, chán ăn, buồn nôn và nôn. Thân nhiệt khoảng 39 – 40°C. Trường hợp bệnh nặng có thể xuất hiện đốm xuất huyết, chảy máu lợi, ruột, dạ dày, phân đen, đi tiểu ra máu. Bệnh nhân bị mất nước, giảm huyết áp. Một số bệnh nhân có biểu hiện về thần kinh như hốt hoảng, hoang tưởng hoặc sững sờ.

Tỷ lệ tử vong thay đổi tùy theo vụ dịch, thường khoảng 3 – 15% đối với sốt Achentina và 5 – 30% đối với sốt Bolivia. Nguyên nhân tử vong là do sốc, mất máu. Nếu qua khỏi, bệnh nhân sẽ bình phục sau vài tuần.

Virut có mặt ở nhiều nơi trong cơ thể, thời điểm sau khi chết, mổ tử thi thấy có sự mất bạch cầu ở lách và tủy xương, tế bào biểu mô trong mao mạch bị vỡ. Xuất huyết là do mao mạch vỡ, rối loạn chức năng tiểu cầu. Suốt thời kỳ đầu, số lượng bạch cầu và tiểu cầu lưu động trong máu giảm là do tiền tế bào tủy xương bị nhiễm. Bỏ thể C2, C3, C5 giảm.

Sốt xuất huyết Achentina thường xảy ra ở vùng nông thôn, vào thời điểm thu hoạch ngô. Lúc đó, chuột phát triển mạnh. Sốt xuất huyết Bolivia thường xảy ra vào cuối mùa mưa cho đến cuối mùa khô (tháng 8, 9).

Vaccin Junin giảm độc lực được dùng để tiêm phòng cho cộng đồng dân cư vùng thường xuyên có dịch.

## Chương 20

# VIRUT BUNYA, HỌ BUNYAVIRIDAE

### 20.1. GIỚI THIỆU

Virut *bunya* chứa ARN đơn, có vỏ ngoài, gây nhiễm ở cả động vật chân khớp, động vật máu nóng và máu lạnh. Một số gây bệnh cho người và động vật, ví dụ như sốt xuất huyết. Chúng truyền qua côn trùng như ruồi cát (*Phlebotomus* spp), muỗi, ve bét... virut cũng có thể truyền qua các sol khí. Họ này được chia làm 5 chi dựa vào kích thước ARN, kích thước và bản chất của protein, bản chất của vectơ côn trùng.

– *Bunyavirus* gồm 16 serotyp, trong đó có nhóm *Bunyamwera*, nhóm *California* và nhóm *Simbu*.

– *Hantavirus* gồm virut *Hantaan* gây bệnh sốt xuất huyết Triều Tiên. Đây là trường hợp ngoại lệ vì chúng không phải virut *arbo* nhưng có thể truyền sang người qua phân và nước tiểu của bọ gặm nhấm.

– *Nairovirus* gồm 16 nhóm huyết thanh, trong đó có nhóm gây sốt xuất huyết Crimean – Congo, nhóm gây bệnh cừu Nairbi.

– *Phlebovirus* chỉ gồm một nhóm huyết thanh, gây bệnh sốt do ruồi cát *Phlebotomin*. Đáng chú ý là sốt thung lũng Rift.

– *Unkuvirus* chỉ gồm một nhóm huyết thanh. Có nhiều vật chủ, ngoài động vật chân khớp còn có cả chim và các loài gặm nhấm.

Virut có hình ovan hoặc hình cầu, đường kính 90 – 100nm, chứa 3 phân tử ARN đơn, (–) hoặc lưỡng cực, ký hiệu là L, M và S với khối lượng phân tử lần lượt là 2 – 5 ; 1 – 2,3 và 0,3 – 0,8 x10<sup>6</sup>. Có 3 loại protein chính là protein nucleocapsit (N), glycoprotein (G1 và G2) và một protein lớn (L).

Vỏ ngoài lipoprotein chứa protein G1 và G2.

Phân tử ARN khép vòng, xoắn (nhưng không liên kết cộng hoá trị) liên kết với protein N tạo ribonucleoprotein (gọi là protein ARN – N). Như vậy, mỗi phân tử ARN (–) khép vòng nằm trong một capsit riêng và cả 3 capsit được bao bởi vỏ ngoài.

Hoạt tính ngưng kết hồng cầu và quyết định KN gắn với KT trung hoà là do glycoprotein bề mặt.

Virut nhân lên trong tế bào chất. Tất cả các thành viên thuộc chi *Bunyavirus* đều có các đoạn genom (–), trong đó :

– ARN – S mã hoá cho protein N và một protein không cấu trúc (NS8) nhờ khung đọc chồng lớp.

– ARN – M mã hoá cho glycoprotein G1 và G2 và ít nhất một protein không cấu trúc nữa (NSm).

– ARN – L mã hoá cho protein L

Khi lắp ráp, virion này chồi tạo thành túi bề mặt nhẵn nằm trong hoặc gần bộ máy Golgi. Một số thành viên khi nhả lên trong tế bào chất nuôi cấy mô có thể tiến hành dung hợp các tế bào. Virut bị bất hoạt bởi các dung môi lipid và các chất tẩy rửa.

## 20.2. VIRUT HANTA

Virut *Hanta* mang tên dòng sông Hantaan ở Hàn Quốc, là tác nhân gây *sốt xuất huyết kèm hội chứng về thận*, thường được gọi là sốt xuất huyết Hàn Quốc. Hằng năm ở châu Á có 200000 người mắc bệnh, trong đó riêng ở Trung Quốc có 4000 – 20 000 người mắc bệnh. Virut gây nhiễm mãn tính ở các loài gặm nhấm nhưng không biểu hiện triệu chứng và không gây bệnh. Nhưng ở người thì chúng lại gây bệnh nghiêm trọng.

Ba hội chứng chính của bệnh :

- *Sốt xuất huyết kèm triệu chứng về thận*. Đây là bệnh nghiêm trọng, gồm các triệu chứng sốt, suy thận, xuất huyết, đau bụng, thay đổi chất điện giải dẫn đến huyết áp cao, sốc, bình phục chậm. Tỷ lệ chết khoảng 5%.

- *Viêm thận phù*. Sốt ở mức trung bình, kèm theo các dấu hiệu loạn chức năng thận. Khoảng 50% bệnh nhân bị đau bụng.

- *Hội chứng bệnh phổi do virut Hanta*. Bệnh thường rất nặng với tỷ lệ tử vong cao, lên đến 50%. Sốt kèm suy hô hấp trầm trọng và sốc tim, một số bệnh nhân bị tràn dịch màng phổi.

**Các hội chứng đặc trưng của 4 loại virut *Hanta* :**

- *Virut Hanta*. Lưu hành ở Triều Tiên, vùng Viễn Đông của Nga, Trung Quốc (có liên quan đến chuột), gây bệnh sốt xuất huyết kèm theo hội chứng thận.

- *Virut Punmala*. Gây bệnh ở chuột đồng và có thể ở các loài gặm nhấm khác tại vùng Scandinavia và Tây Âu, gây dịch viêm thận.

- *Virut Sin nombre* (chưa có tên). Gây hội chứng viêm phổi. Các vật chủ tự nhiên là chuột, hươu, chủ yếu lưu hành ở miền Tây nước Mỹ.

- *Virut Seoul*. Lan tràn khắp thế giới gây nhiễm ở chuột nhưng rất hiếm gây bệnh cho người.

**Chẩn đoán.** Sử dụng phương pháp huyết thanh học, phương pháp MD huỳnh quang hoặc ELISA.

## 20.3. ĐIỀU TRỊ

Đối với bệnh nặng có thể dùng ribavidin tiêm ven nhưng hiệu quả không ổn định.

## Chương 21

# VIRUT ORTHOMYXO, HỌ ORTHOMYXOVIRIDAE

### 21.1. GIỚI THIỆU

*Orthomyxoviridae* là họ virus đa hình thái, có vỏ ngoài, genom là ARN đơn, (-), phân đoạn. Trước đây, các virus *orthomyxo* và *paramyxo* đều được xếp chung vào một họ là *Myxoviridae* do chúng có cấu trúc và khả năng lây bệnh giống nhau, nhưng về sau được tách thành 2 họ riêng là *Orthomyxoviridae* và *Paramyxoviridae* do phát hiện thấy chúng còn nhiều đặc điểm cơ bản không giống nhau.

Virus *Orthomyxoviridae* là tác nhân chủ yếu gây bệnh đường hô hấp trên ở người, động vật, gia cầm và chim, trong đó có cúm typ A, B và C. Các typ virus này khác nhau ở KN bề mặt. Virus cúm A gây các dịch cúm chính. Virus cúm B thường gây bệnh nhẹ nhưng cũng có thể bộc phát thành dịch vào mùa đông, đặc biệt là ở trẻ em. Virus cúm C chưa thấy biểu hiện gây bệnh nguy hiểm cho người.

### 21.2. VIRUT CÚM

Virus cúm typ A và B thuộc chi *Influenzavirus*, là tác nhân gây bệnh cúm tản phát hoặc bùng phát thành dịch. Các chủng thuộc typ A cũng gây bệnh ở lợn, ngựa, chim, gia cầm, hải cẩu và cá voi. Virus được lan truyền qua các sol khí khi con vật thở, lan theo dòng nước hoặc do tiếp xúc trực tiếp.

Virion có vỏ đa hình thái, thường có hình cầu với cấu trúc xoắn, đường kính 80 – 120nm, nhưng đôi khi cũng thấy dạng sợi dài đến vài  $\mu\text{m}$ . Virus cúm có genom nhiều đoạn, ở typ A và B có 8 đoạn ARN đơn, (-) với tổng khối lượng  $5 \times 10^6$ , còn ở typ C có 7 đoạn. Trong virion có chứa enzym ARN – polymeraza phụ thuộc ARN, enzym này cần cho quá trình phiên mã vì genom là ARN chuỗi (-). Protein capsit kết hợp với ARN tạo nucleocapsit đối xứng xoắn.

Nucleocapsit được bao bọc bởi màng protein nền M1 (M : Matrix), phía ngoài màng lại được bao bởi vỏ ngoài là lớp lipid kép có nguồn gốc từ màng sinh chất của tế bào chủ. Protein M2 đâm xuyên và nhô ra khỏi vỏ ngoài, tạo thành các kênh ion, làm cho pH trong endosom thay đổi.

Bề mặt virus có 2 loại gai mọc nhô ra : *hemagglutinin* (H) và *neuraminidaza* (N). Gai là hemagglutinin vì virus gây ngưng kết hồng cầu của một số loài.

– Gai H dài 10nm gồm 3 tiểu đơn vị glycoprotein giống nhau gộp lại (trime). Mỗi tiểu đơn vị cấu tạo gồm 2 chuỗi polypeptit kí hiệu là HA1 và HA2, gắn với nhau bởi cầu nối disunphua. Trong hạt virus, phân tử hemagglutinin gắn vào màng lipid của vỏ ngoài ở vùng kỵ nước, phía đầu – COOH của HA2. Epitop của KN hemagglutinin rất dễ bị biến



đổi là do luôn có sự biến đổi trong ARN genom, làm thay thế axit amin tại một số vị trí trên phân tử HA1. Sự thay đổi này nằm ở vị trí gắn hemagglutinin vào thụ thể của tế bào. HA chứa peptit dung hợp, khi ở pH trung tính nó vùi vào trong gai, nhưng ở pH thấp thì peptit lại nhô ra ngoài. Các peptit dung hợp tạo lỗ, lồng vào lớp lipid kép của màng tế bào chủ làm cho màng tế bào chủ và vỏ ngoài của virut dung hợp với nhau.

– Xen giữa các gai H là các gai N hình nấm. Đầu gai có cấu tạo hình hộp do 4 tiểu đơn vị có dạng gần như hình cầu giáp nối với nhau mà thành. Đầu được nối với cuống chứa vùng kỵ nước, nhờ thế mà gai N cắm sâu vào vỏ ngoài của virut.

Thụ thể của tế bào dành cho hemagglutinin có cấu tạo từ axit sialic (còn gọi là neuraminic) liên kết với gốc đường trong glycoprotein bằng dây nối glycozit. Enzym neuraminidaza (silidaza) phân giải thụ thể ở màng nhày đường hô hấp bằng cách cắt liên kết glycozit, giải phóng axit neuraminic. Động tác này cho phép virut đi qua màng nhày và thoát khỏi các chất ức chế "không đặc hiệu". Neuraminidaza cũng phá huỷ thụ thể dành cho hemagglutinin trên bề mặt hồng cầu mặc dù tế bào này không phải là đối tượng gây nhiễm. Neuraminidaza cũng tham gia vào khâu cuối, giải phóng virut ra khỏi tế bào.

Virut typ A có 16 loại gai H và hầu hết các gai này có ở virut gây nhiễm ở động vật (chim, gà, vịt, ngỗng, gà tây, lợn, ngựa và một số loại động vật có vú khác). Ba loại gai H quan trọng có ở virut gây bệnh cho người là H1, H2, H3. Trước đây còn có H0 và HW (H lợn), nhưng về sau 2 gai này được coi là H1.

Có 9 loại gai N, trong đó N1 và N2 là quan trọng nhất vì gây bệnh cho người.

### **21.2.1. DANH PHÁP**

WHO quy định cách viết dành cho virut cúm bao gồm typ virut, địa điểm phân lập, năm phân lập, kí hiệu gai H và N. Ví dụ :

A/ Singapore/ 57/ H2N2 – gây dịch cúm ở châu Á năm 1957

A/ Hongkong/ 68/ H3N2 – gây dịch cúm ở Hongkong năm 1968

A/ Japan/ 57/ H2N2 – gây dịch cúm ở Nhật Bản năm 1957

Đó là các chủng khác nhau ở kháng nguyên H.

Nếu virut gây bệnh phân lập được từ động vật thì còn phải ghi loại động vật. Ví dụ :

A/ swine/ New – Jersey/ 76/ H1N1 gây bệnh ở lợn New Jersey.

A/ duck/ Ukraina/ 63/ H3N8 gây bệnh ở vịt.

### **21.2.2. Đặc điểm lý hoá**

Vỏ ngoài virut là lớp lipid kép nên dễ bị phá huỷ bởi các dung môi hoà tan lipid (như ete, desoxycholat, formol...). pH thích hợp là 6,5 – 7,9. Ở pH axit hay quá kiềm, thì khả năng gây nhiễm giảm.

Ở 56 – 60°C, virus bị mất độc tính trong vòng mấy phút, tuy nhiên khả năng gây ngưng kết hồng cầu vẫn còn. Ở nhiệt độ trong phòng virus có thể tồn tại trong 2 tháng. Khi nuôi trong túi niêu phôi gà, nếu để ở 4°C thì virus có thể tồn tại trong mấy tháng. Khi bảo quản trong ống nghiệm ở – 70°C thì giữ được hàng năm mà hiệu giá không giảm. Tia bức xạ có thể gây bất hoạt virus nhưng không phá huỷ được KN.

**Bảng 21. PROTEIN CỦA VIRUS CÚM**

| Đoạn ARN | Protein | Khối lượng phân tử | Vị trí trong virion         | Chức năng                                                  | Tỷ lệ (%) so với protein cả hạt | Ghi chú                                                                     |
|----------|---------|--------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| 1        | PB2     | 0,87               | Giữa                        | Phiên mã ARN                                               | 1                               | Polymeraza khởi đầu phiên mã                                                |
| 2        | PB1     | 0,96               |                             |                                                            | 1                               | Protein gắn mũ                                                              |
| 3        | PA      | 0,85               |                             |                                                            | 1                               | Kéo dài phiên mã                                                            |
| 4        | HA1     | 47,5               | Gai                         | Gắn vào receptor của tế bào. Dung hợp vỏ ngoài với endosom | 25                              | Glycoprotein gai H chuyển hoá thành HA1 và HA2                              |
| 5        | NA      | 48 – 63            | Gai                         | Neuraminidaza                                              | 30                              | Neuraminidaza                                                               |
| 6        | NP      | 50 – 60            | Giữa                        | Cấu trúc dưới đơn vị nucleocapsit                          | 4                               | Protein cấu trúc của nucleoprotein xoắn                                     |
| 7        | M1      | 0,28               | Dưới lớp lipid kép vỏ ngoài | Thành phần cấu trúc chính                                  | 38                              | Protein nền liên quan đến lắp ráp và nảy chồi                               |
|          | M2      | 11 – 15            | Xuyên màng                  | Kênh ion                                                   |                                 | Protein không cấu trúc. Thay đổi pH trong endosom bị phong bế bởi amantadin |
| 8        | NS1     | 0,25               | Giữa                        | Ức chế vận chuyển mARN, splicing                           | Vệt                             | Protein không cấu trúc với chức năng chưa rõ                                |
|          | NS2     | 0,13               |                             | Chưa rõ                                                    | Vệt                             |                                                                             |

### 21.2.3. Quá trình nhân lên

Trước hết, gai H của virus gắn vào receptor có chứa axit neuraminic của tế bào chủ, rồi tiến hành nhập bào tạo endosom. Tiếp đó, xảy ra quá trình dung hợp giữa vỏ ngoài của virus với màng endosom. Điều này thực hiện được là nhờ gai H chồi lên khi pH trong endosom thấp. Sau khi dung hợp, ribonucleoprotein và ARN – polymeraza chui vào tế bào chất. Việc "cởi áo" làm hoạt hoá ARN – polymeraza của virus. Phân tử mARN được phiên mã trong nhân từ các chuỗi ARN khuôn đơn, (–) của virus khi sử dụng mỗi là đoạn 10 – 13 nucleotit cắt ra từ đầu 5' của mARN có gắn mũ của vật chủ,

sau đó được gắn đuôi PolyA cũng lấy từ mARN của tế bào chủ. Enzym cắt mỗi là endonucleaza do virus mang theo. mARN mới hoàn thiện của virus ra khỏi nhân, vào tế bào chất để tiến hành tổng hợp protein. Virus cúm là virus ARN duy nhất tiến hành sao chép genom trong nhân.

Kết quả quá trình phiên mã từ 8 đoạn ARN genom (–) tạo ra được 10 phân tử mARN, bởi vì đoạn 7 và 8 mỗi đoạn phiên mã tạo ra 2 phân tử mARN. 6 phân tử (1 – 6) dịch mã cho ra 6 protein, còn 2 phân tử (7 – 8) do có 2 khung đọc nên mỗi phân tử tạo ra 2 protein. Điều này được thực hiện không phải do sử dụng mARN đa gen (polycistronic) thực sự như ở prokaryota, bởi vì ribosome ở eukaryota chỉ nhận diện bộ ba khởi đầu AUG nằm sát đầu 5' của mARN.

Như vậy, từ 1 ARN đã cho ban đầu, chúng chỉ tạo được 1 protein. Hai đoạn 7 và 8 tiến hành phiên mã cho 2 mARN có chiều dài đủ. Mỗi trường hợp tổng hợp một loại protein bổ sung do dịch mã từ mARN đã được chế biến nhờ bộ máy cắt ghép (splicing) của tế bào chủ. Giống như các gen chồng lớp, một lần nữa đây là ví dụ cho thấy các virus ARN đã tận dụng tối đa genom nhỏ bé của mình như thế nào.

Khác với đa số virus ARN, protein cấu trúc sau khi được tổng hợp lại được chuyển vào nhân và quá trình lắp ráp tạo ribonucleoprotein xảy ra trong nhân. Các glycoprotein HA và NA được tổng hợp trên mạng lưới nội chất hạt sau đó được di chuyển tới các vùng chuyên biệt trên màng sinh chất. Protein M cũng di chuyển đến màng và liên kết với màng nhờ gai HA và NA. Ribonucleoprotein và ARN – polymeraza cũng từ nhân di chuyển ra tế bào chất rồi tới màng sinh chất, nơi đã có protein M và các gai HA, NA. Virion ra khỏi tế bào theo lối nảy chồi với sự tham gia của neuraminidaza. Nếu enzym này bị ức chế thì virion không được giải phóng.

Genom phân nhiều đoạn của virus cúm là nguyên nhân dẫn đến sự thay đổi KN liên tục. Có 2 kiểu thay đổi KN :

– *Thay đổi lớn*. Hiện tượng *hoán vị KN* (antigenic shift) xảy ra khi có 2 hay nhiều chủng virus, với nhiều đoạn ARN khác biệt nhau về mặt di truyền, cùng lúc xâm nhiễm vào 1 tế bào. Các đoạn genom hoán vị với nhau. Ví dụ : thay đoạn mã hoá cho hemagglutinin của người bằng đoạn của động vật, kết quả là tạo ra chủng virus mới với KN H thay đổi, làm cho virus kháng lại KT đã được hình thành trong ĐUMD lần trước.

Biến chủng virus có thể lây nhiễm vào vật chủ mới mà chủng bố mẹ chúng không có khả năng gây nhiễm. Sự hoán vị KN được coi là nguyên nhân gây ra các vụ đại dịch cúm.

– *Thay đổi nhỏ*. Một khái niệm khác liên quan đến sự thay đổi KN nhưng ở mức độ thấp gọi là *biến thể KN* (antigenic drift). Do đột biến ngẫu nhiên xảy ra ở gen mã hoá cho hemagglutinin dẫn đến sự thay đổi một số axit amin trong protein hemagglutinin (mặc dù về cơ bản, hemagglutinin vẫn là protein như cũ). Chủng virus biến thể KN trở thành chủng được chọn lọc trong quần thể do chúng có khả năng nhiễm vào kí chủ chưa miễn dịch. Hiện tượng biến thể KN tăng lên từ mùa này sang mùa khác đã gây khó khăn cho

việc sản xuất vắc xin hữu hiệu phòng ngừa dịch cúm. Sự biến thể KN là nguyên nhân gây ra các vụ dịch nhỏ, tản phát.

#### **21.2.4. Triệu chứng lâm sàng**

Sau khi bị phơi nhiễm, thời gian ủ bệnh từ 1 đến 5 ngày nhưng thường là 3 ngày. Lúc đầu sốt cao  $39^{\circ}\text{C}$  từ 1 đến 3 ngày, bệnh nhân cảm thấy khó chịu, toàn thân ớn lạnh, ho, sổ mũi, nhức đầu khủng khiếp, có thể tiến tới khó thở rồi nghẹt thở, kèm theo các rối loạn về thính giác và thị giác. Nhiều người bị nhiễm cả đường hô hấp trên và dưới. Trong trường hợp không phức tạp, sự gây nhiễm tự giới hạn và bệnh nhân tự hồi phục trong vòng 1 tuần. Tuy nhiên, nếu ở trường hợp phức tạp, bệnh có thể trở nên trầm trọng thậm trí có thể dẫn đến tử vong. Đó là trường hợp bị biến chứng đi kèm viêm phổi do virus hoặc vi khuẩn hoặc do cả hai.

Virus cúm typ B cũng gây các triệu chứng như typ A nhưng nhẹ hơn và đôi khi liên quan đến cả đường tiêu hoá. Typ C thường gây nhiễm đường hô hấp trên ở trẻ em, nhưng không gây sốt và không bùng phát thành dịch.

#### **21.2.5. Dịch tễ học**

Nhân loại luôn đứng trước nguy cơ tấn công của virus cúm. Dịch cúm được mô tả từ cách đây trên 2000 năm. Bệnh cúm thường xảy ra vào mùa đông. Hầu như mùa đông nào cũng có cúm. Đây là bệnh lây lan nhanh hơn bất kỳ bệnh truyền nhiễm nào khác. Chúng lan truyền như rắc bột và nguy hiểm như một đám cháy. Đại dịch cúm là sự bộc phát bệnh trên phạm vi toàn cầu, khi xuất hiện một chủng virus cúm mới lây lan rất nhanh và tàn công con người, trong khi cơ thể chưa kịp có những ĐUMD bảo vệ thích hợp. Trong lịch sử, các đại dịch cúm luôn để lại các hậu quả hết sức nặng nề về nhân mạng, gây xáo trộn xã hội và đánh đòn mạnh vào nền kinh tế toàn cầu.

Có 3 đại dịch cúm đã xảy ra trong thế kỉ XX, mỗi đợt hoành hành khắp thế giới trong 1 năm kể từ khi bộc phát.

##### **Cúm A**

– Năm 1918 – 1919, xảy ra đại dịch cúm Tây Ban Nha do virus typ A – H1N1. Đây thực sự là cơn ác mộng vì chỉ trong vài tháng trên thế giới đã có hơn 1 tỷ người mắc bệnh (chiếm 1/2 dân số thế giới thời bấy giờ) cướp đi sinh mạng trên 20 triệu người, gấp đôi số tử vong trong toàn bộ chiến tranh thế giới lần thứ nhất, Mỹ có 500 000 người chết, nhiều người chết sau vài ngày nhiễm bệnh, một số khác do biến chứng sau đó. Gần một nửa số người tử vong là những người khoẻ mạnh, còn trẻ hoặc trung niên. Dịch cúm cũng góp phần kết thúc sớm thế chiến lần thứ nhất vì số binh lính chết do cúm còn lớn hơn chết do súng đạn. 85 năm sau, vào năm 2004 các nhà khoa học Mỹ đã làm sống dậy virus cúm Tây Ban Nha, làm xôn xao dư luận thế giới.

– Năm 1957 – 1958, dịch cúm châu Á do virus A – H2N2 đầu tiên xuất hiện ở Trung Quốc vào cuối tháng 2 – 1957, sau đó lan tràn khắp thế giới làm thiệt mạng hàng triệu người. Tính đến tháng 6 – 1957 ở Mỹ đã bị chết 70000 người.

– Năm 1968 – 1969, dịch cúm HongKong do virus typ A – H3N2, xuất hiện ở HongKong đầu năm 1968, sau đó lan tràn khắp thế giới. Cuối 1968, lan sang Mỹ làm thiệt mạng 34000 người.

Ngoài 3 đại dịch trên, trong các năm đều có các vụ dịch tản phát xảy ra ở các nước do virus typ A – H1N1 và H3N2

– Năm 1977, chủng H1N1 gây dịch "cúm đỏ" (Red flu) hay cúm Nga (Russian flu) là do tái xuất hiện của chủng A – H2N2 do biến đổi nhỏ (drift) trong kháng nguyên HA và NA.

– Năm 1989, chủng A – H3N2 gây dịch lan rộng làm nhiều người chết ở Anh sau nhiều năm gây bệnh tản phát.

– Năm 1995 – 1996, virus typ A – H3N2 Wuhan đổ bộ vào lãnh thổ CHLB Đức làm cho 8,5 triệu người phải nằm liệt giường, cướp đi 28000 sinh mạng.

– Từ năm 1997 đến nay, cả hai chủng A – H3N1 và A – H1N1 cùng lan truyền ở nhiều nước trên thế giới, nhưng chỉ thấy chủng A – H3N2 thường gây biến đổi KN dạng nhỏ.

### **Cúm B**

Virus cúm B cũng luôn bị đột biến thay đổi KN (biến thể nhỏ). Bệnh không trầm trọng bằng cúm A. Các chủng sau đây đã được xác định :

– Năm 1973 xuất hiện chủng mới cúm B HongKong.

– Năm 1979 xuất hiện chủng B Singapore.

– Năm 1988 xuất hiện chủng B Yamagata.

Hiện nay, lưu hành chủng B biến đổi KN dạng nhỏ từ chủng B Yamagata.

### **Cúm C**

Về phương diện hình thái và đặc điểm lý hoá, virus cúm C cũng giống như virus cúm A và B nhưng khác ở chỗ genom chỉ chứa 7 đoạn ARN, (–) và chỉ có một loại KN bề mặt là HA. Virus cúm C được phân lập từ lợn, nhưng hầu hết lại gây bệnh cho người, tuy nhiên thường chỉ gây bệnh nhẹ ở đường hô hấp trên. Biến đổi KN dạng nhỏ diễn ra chậm còn biến đổi dạng lớn (shift) chưa thấy xảy ra.

#### **21.2.6. Chẩn đoán**

Để chẩn đoán phòng thí nghiệm, trước hết có thể phân lập virus từ dịch mũi họng (ngóáy họng, đờm), cho nhân lên trong tế bào thận khỉ, thận bào thai người ở 33° C trong 18 giờ hay trong màng ối phôi gà (8 – 12 ngày ấp) trong 48 – 72 giờ. Xác định sự có mặt virus bằng các phản ứng miễn dịch (kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang, phản ứng ngưng kết hồng cầu...).

Để xác định nhanh, có thể lấy mẫu tế bào vòm họng bong ra thu được bằng cách rửa. Dùng các kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang, ức chế ngưng kết hồng cầu với kháng huyết thanh đặc hiệu dưới typ.

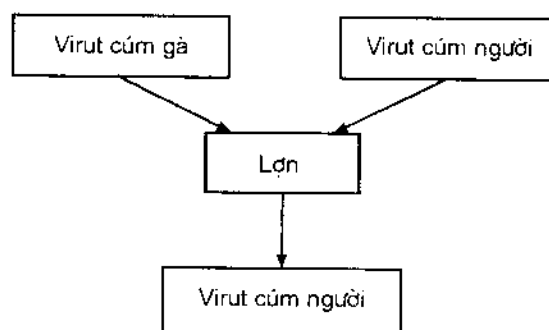
Phương pháp rất nhạy và phổ biến hiện nay là xác định ARN bằng phản ứng RT – PCR.

### 21.3. CÚM GIA CẦM

Trong số 16 typ dưới H của cúm A thì chỉ có H1, H2 và H3 là gây bệnh cho người còn lại là gây bệnh cho động vật. Trong số dưới typ N thì chỉ có N1 và N2 là gây nhiễm cho người. Virut cúm gây bệnh cho động vật lông vũ gọi chung là virut cúm gia cầm hay virut cúm gà. Chim, gà, vịt là ký chủ tự nhiên của nhiều loại virut cúm typ A.

Các virut cúm typ A thông thường của gia cầm thường không gây nhiễm cho người và cũng không lây lan từ người này sang người khác, thậm chí virut cúm gà cũng không dễ lây lan sang các loại chim hoang dại. Sở dĩ như vậy là do tính đặc hiệu của thụ thể virut với thụ thể của tế bào. Tuy nhiên, cũng có một số trường hợp virut cúm gà gây bệnh cho người và đặc biệt nguy hiểm là virut cúm gà đã biến đổi KN, tức là tạo ra chủng virut tái tổ hợp mang thụ thể của virut cúm người.

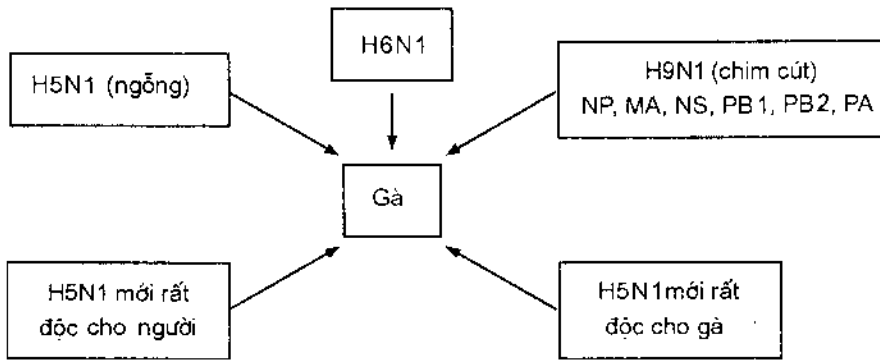
Động vật là ổ chứa virut cúm gây bệnh cho người. Khác với các nước phát triển, động vật được nuôi cách ly trong trại chăn nuôi, còn ở các vùng nông thôn ở các nước đang phát triển, gia cầm, lợn và người sống gần gũi với nhau. Trong điều kiện chật trội, virut cúm lây lan rất nhanh chóng. Mặc dù gia cầm không truyền virut cho người nhưng lại truyền cho lợn và lợn có thể truyền cho người. Vì virut cúm người và cúm gia cầm đều có thể truyền cho lợn, do đó chúng có thể hoán vị các đoạn ARN genom, tạo ra chủng virut mới tái tổ hợp. Điều đó giải thích tại sao cúm vẫn là bệnh luôn có nguy cơ bộc phát thành dịch.



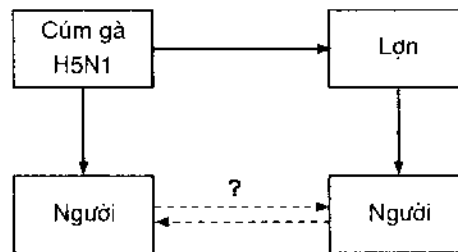
#### 21.3.1. Những vụ nhiễm virut gia cầm ở người

Từ năm 1997 trở lại đây đã có nhiều vụ nhiễm virut gia cầm sang người.

Năm 1997 tại HongKong, virut typ A chủng H5N1 đã gây ra dịch cúm gà lớn, khiến phải tiêu diệt hàng triệu con gà. Đây là chủng tái tổ hợp nhận H5 của virut A – H5N1 ở ngỗng, phần N1 lấy từ virut A – H6N1 ở một động vật khác và các gen mã hoá cho các protein NP (protein cấu trúc), MA (protein nền), NS (protein không cấu trúc), PB1 (protein gắn mũ), PB2 (polymeraza) và PA (protein kéo dài phiên mã) là lấy từ virut A – H9N2 ở chim cú. Chủng H5N1 tái tổ hợp mới rất độc đối với người và đối với gà, trong khi chủng H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> của ngỗng lại không độc với người, mặc dù vẫn chứa KN H5 và N1 nhưng các gen mã hoá cho các protein khác lại không giống nhau.



Trong đợt dịch này có 18 người nhập viện và 6 người chết. Cơ chế truyền bệnh cho người có thể minh hoạ bằng sơ đồ sau :



Như vậy, virus cúm A – H5N1 có thể lây nhiễm từ gà qua lợn rồi sang người, hoặc cũng có thể trực tiếp từ gà sang người. Năm 2004, tại Thái Lan đã có nhiều con hổ bị chết vì nhiễm virus cúm A – H5N1 do ăn phải thịt gà bị bệnh. Nếu virus H5N1 biến đổi gen tìm được con đường lây trực tiếp từ người sang người thì loài người lại một lần nữa đứng trước hiểm hoạ khôn lường.

Năm 1999 : hai trường hợp nhiễm virus gia cầm A – H5N1 tại HongKong nhưng không gây tử vong. Một số ca bị nhiễm virus typ H9N2 cũng được thông báo ở Trung Quốc trong hai năm 1998 – 1999.

Năm 2003 : hai trường hợp nhiễm virus A – H5N1 là người HongKong sang Trung Quốc du lịch trong đó có 1 người chết.

Năm 2003 : xảy ra một dịch virus cúm gà chủng A – H7N7 tại Hà Lan làm 80 người bị mắc bệnh, chủ yếu là nhiễm vào mắt và một vài triệu chứng đường hô hấp, trong đó có 1 người chết.

Năm 2003 : một đứa trẻ HongKong bị nhiễm virus cúm gia cầm chủng A – H9N2. Em này được nhập viện kịp thời và đã bình phục.

Năm 2004 : Đợt cúm gà lớn do chủng A – H5N1 đã bộc phát ở nhiều quốc gia Đông Á và Đông Nam Á, Trung Quốc, Việt Nam, Thái Lan, Nhật Bản, Hàn Quốc, Đài Loan, Indonesia, Lào, Campuchia,....

Ở Việt Nam dịch bộc phát vào cuối tháng 12 – 2003, chỉ trong thời gian ngắn đã lây lan ra khắp nước. Đến tháng 3 năm 2004 đã phải tiêu huỷ khoảng 30 triệu con gà. Trong đợt dịch đã có 70 người mắc virus cúm A, trong đó có 27 ca tử vong. Tháng 8 năm 2004, Việt Nam lại tái xuất hiện cúm gà và đã phát hiện 2 ca tử vong vì H5N1. Bệnh chỉ lắng xuống vào mùa hè, đến mùa đông 2005 lại tái phát, lan ra 30 tỉnh thành và phải tiêu huỷ hàng trăm ngàn gia cầm.

Khi gà bị cúm, nhiều bộ phận của gà có thể chứa virus. Virus theo sol khí bay ra môi trường khi gà thở, rớt rãi văng ra khi gà vẩy mớ, virus có trong máu (viremia), có nhiều ở vỏ trứng và trong lòng đỏ. Do vậy, những người nuôi gà và giết mổ gà đều thuộc nhóm người có nguy cơ lây nhiễm cao. Các chủng virus mới gây đại dịch sẽ còn tồn tại và lưu hành trong nhiều năm.

Theo các chuyên gia của WHO các trường hợp tử vong ở Việt Nam là do virus cúm gà lây sang người chứ không có trường hợp nào là người lây sang người.

### **21.3.2. Điều trị và phòng bệnh**

Ngày nay đã có thuốc trị bệnh cúm do virus gây ra :

- Amantadin (symmetrel)
- Rimantadin (flumadin) – dẫn xuất của amantadin
- Zanamivir (releza)
- Oseltamivir (tamiflu).

Cả 4 loại này đều có cơ chế tác dụng ngăn cản sự nhân lên của virus bằng cách tác động vào vị trí hoạt động của enzym neuraminidaza, làm bất hoạt enzym này. Thuốc amantadin và rimantadin còn khoá kênh ion ở M2 ngăn cản virus cúm A (nhưng không ngăn cản virus cúm B) cởi vỏ. Rimantadin ít có phản ứng phụ hơn amantadin, song cả 2 chất này đều không chống được cúm B và đã xuất hiện hiện tượng kháng thuốc. Zanamivir có hiệu quả thấp hơn, còn oseltamivir (tamiflu) lại khá đắt, chỉ dùng khi đã xuất hiện triệu chứng.

### **Vaccin**

Biện pháp tốt nhất có thể ngăn chặn dịch cúm là dùng vaccin. Vaccin dưới đơn vị (subunit) bao gồm 3 chủng : 2 chủng cúm A – H1N1, A – H3N2 và một chủng cúm B. Virus được nuôi trong phôi gà, làm bất hoạt và tách KN bề mặt. Vaccin dùng tiêm bắp hàng năm. Chống chỉ định đối với những người bị dị ứng protein trứng và phụ nữ có thai. Vaccin rất an toàn, tuy nhiên cũng có trường hợp xuất hiện triệu chứng Guillain – Barré (viêm đa thần kinh với liệt lên, thường bắt đầu từ chân). Cho đến nay (năm 2005) vaccin cúm A – H5N1 vẫn đang ở giai đoạn thử nghiệm tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Hà Nội.

Một số phòng thí nghiệm trên thế giới nghiên cứu vaccin di truyền ngược (reverse genetics based vaccine) từ chủng PR/8/34, vaccin sản xuất từ virus rỗng ruột VLP (virus like particle) và vaccin dùng vectơ (vectors vaccine) và đã thu được kết quả rất triển vọng



## VIRUT PARAMYXO, HỌ PARAMYXOVIRIDAE

### 22.1. GIỚI THIỆU

*Paramyxoviridae* là họ virus có genom ARN (-), không phân đoạn. Họ này gồm các virus quan trọng gây bệnh cho người và động vật như sởi, quai bị, á cúm, hợp bào hô hấp, toi gà Newcastle, sốt chó (canine distemper), sốt trâu bò (rinderpest) và một số bệnh đường hô hấp khác.

Virion thuộc loại đa hình thái, thường có hình cầu với đường kính 50 – 200nm, chứa 5 – 7 polypeptit và một phân tử ARN đơn (-), dài, khối lượng  $5 - 7 \times 10^6$ . Bao quanh nucleocapsit đối xứng xoắn là màng M có cấu tạo từ protein M không được glycosyl hoá. Phía ngoài màng M là vỏ ngoài với các gai glycoprotein bề mặt dài khoảng 8nm.

Virion bị bất hoạt bởi các dung môi hoà tan lipid, chất tẩy rửa, formaldehit, các chất oxy hoá...

Có thể xâm nhiễm vào nhiều loại tế bào nuôi cấy mô. Xâm nhập nhờ dung hợp giữa vỏ ngoài virus với màng sinh chất của tế bào chủ. Quá trình phiên mã và nhân lên đều diễn ra trong tế bào chất. Virion trưởng thành chui ra ngoài theo nối nảy chồi. Các tế bào nhiễm thường bị tan, nhưng cũng xảy ra nhiễm ôn hoà hoặc dai dẳng. Cũng thường xảy ra sự dung hợp tế bào với nhau để tạo thể hợp bào, thể vùi...

### 22.2. PHÂN LOẠI

*Paramyxoviridae* được phân loại dựa trên cấu trúc virion và hoạt tính neuraminidaza, họ này gồm 2 họ phụ là *Paramyxovirinae* và *Pneumovirinae*.

*Paramyxovirinae* gồm 3 chi :

– *Paramyxovirus* bao gồm các virus sởi, á cúm typ 1 ở người, typ 1 ở chuột (sendai), typ 2 ở người, typ 3 ở người, bò, cừu, typ 4 ở người, typ 5 ở chim, chó và khỉ. Virion có cả gai hemagglutinin và hoạt tính neuraminidaza.

– *Morbillivirus* bao gồm nhóm các virus gây bệnh sởi, carré ở chó, hạch ở trâu bò. Virion có gai hemagglutinin nhưng không có neuraminidaza.

– *Rubulavirus* bao gồm virus typ 5 ở khỉ, virus quai bị, virus toi gà Newcastle, virus cận cúm typ 2, 4a, 4b ở người.

*Pneumovirinae* gồm 1 chi là *Pneumovirus* :

*Pneumovirus* bao gồm các virus hợp bào hô hấp (RSV) gây bệnh đường hô hấp ở người, đặc biệt là ở trẻ em như viêm phế quản, cảm lạnh thường, viêm phổi. Các thành

viên khác là virus hợp bào hô hấp ở bò, viêm phổi ở chuột virion không có gai hemagglutinin và neuraminidaza.

Các virus thuộc họ này gây ra một số bệnh :

## 22.3. BỆNH SỞI

Sởi (measles) còn có tên là rubeola (tiếng Latinh rubeus là đỏ) hoặc morbilli bắt nguồn từ tên chi, là bệnh sốt phát ban cấp tính do virus sởi gây ra. Bệnh sởi được mô tả từ cách đây 2000 năm và luôn được coi là bệnh rất phức tạp. Nhờ có vaccin sởi và Chương trình Tiêm chủng mở rộng Quốc gia mà bệnh sởi ít xảy ra ở các nước phát triển, nhưng ở các nước đang phát triển vẫn được coi là bệnh nguy hiểm và điều quan trọng là có thể gây biến chứng ở trẻ em, dẫn đến tử vong. Hiện nay, mỗi năm trên thế giới có khoảng 50 triệu người mắc bệnh trong đó có 4 triệu người chết. Ở Việt Nam, bệnh sởi vẫn còn là bệnh nguy hiểm đối với trẻ em, mỗi năm có khoảng 15000 đến 20000 trẻ em mắc bệnh sởi.

### 22.3.1. Virus sởi

Virus sởi là thành viên của chi *Morbillivirus* thuộc họ *Paramyxoviridae*. Virus sởi chỉ có một typ, không có typ phụ, là dạng đa hình thái. Dạng hình cầu, đường kính 120 – 250nm, trung bình là 150nm.

Genom là một chuỗi ARN (–) với khối lượng phân tử  $5 \times 10^6$ , chứa 16 000 nucleotit và có hằng số lắng là 52S. Genom kết hợp với ARN – polymeraza phụ thuộc ARN được bao bọc bởi vỏ capsit tạo nucleocapsit với cấu trúc đối xứng xoắn. Nucleocapsit được bao bởi màng protein M. Đây là protein nền (matrix) kỵ nước. Phía ngoài màng M là vỏ ngoài có cấu tạo từ lớp lipit kép.

Trên bề mặt vỏ ngoài nhô ra các gai H (haemagglutinin) và F (fusion). Gai H giúp virus gắn vào thụ thể của tế bào miễn dịch, còn gai F là peptit dung hợp, giúp vỏ ngoài virus dung hợp với màng sinh chất của tế bào. Điều khác biệt cơ bản với các virus *paramyxo* khác là **virus sởi không có hoạt tính neuraminidaza**. Virus sởi có 6 loại protein, trong đó có 3 loại protein tạo phức với ARN genom (L, NP và P) và 3 loại protein tham gia vào kết cấu của vỏ (H, M và F).

Protein P hay protein polymeraza (protein photphoryl hoá và protein L đều có liên quan đến chức năng polymeraza và tham gia vào sự hình thành nucleocapsit. Protein H và F là hai KN chính. Protein H là KN ngưng kết hồng cầu, còn protein F là KN tan máu. Hoạt tính tan máu liên quan đến khả năng gây huỷ hoại tế bào sớm, đồng thời giúp virus dễ dàng xâm nhập vào tế bào. Hoạt tính tan máu không biểu hiện nếu không có hoạt tính ngưng kết hồng cầu.

Virus sởi không bền do có vỏ lipit kép nên dễ bị bất hoạt bởi dung môi hoà tan lipit (cồn, ete...). Nó cũng dễ bị mất hoạt tính bởi hơi nóng.

**Bảng 22. CÁC THÀNH PHẦN PROTEIN CỦA VIRUT SỞI**

| Thành phần             | Khối lượng phân tử (kDa) | Vị trí trong hạt                           | Chức năng                                                                                                                                                 |
|------------------------|--------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| L : Protein lớn        | 180 – 200                | Trong nucleocapsit, liên kết với ARN genom | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Có hoạt tính polymeraza</li> <li>– Là thành phần của phức hợp phiên mã</li> </ul>                                |
| H : Ngưng kết hồng cầu | 79 – 80                  | Glycoprotein xuyên màng                    | Hấp phụ trên màng tế bào và hồng cầu                                                                                                                      |
| P : Polymeraza         | 70 – 72                  | Trong lõi, liên kết với nucleoprotein      | Polymeraza I                                                                                                                                              |
| NP : Nucleoprotein     | 60                       | Protein chính, nằm trong capsit            | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Có hoạt tính polymeraza</li> <li>– Có chức năng bảo vệ ARN virut</li> </ul>                                      |
| A : Actin              | 43                       | Protein chính ở trong nucleocapsit         | – Không rõ chức năng, có thể là phần actin của tế bào chủ                                                                                                 |
| M : Protein nền        | 36 – 37                  | Bao quanh nucleocapsit                     |                                                                                                                                                           |
| F : Protein dung hợp   | 41 (F1)<br>18 – 20 (F2)  | Glycoprotein vỏ ngoài                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Chức năng bám dính, dung hợp, phân giải màng tế bào để virut xâm nhập</li> <li>– Có hoạt tính tan máu</li> </ul> |

### **22.3.2. Quá trình nhân lên**

#### **22.3.2.1. Hấp phụ và xâm nhập**

Giai đoạn này xảy ra rất nhanh. Virut bám vào thụ thể trên màng sinh chất của tế bào. Thụ thể dành cho virut sởi là protein điều hoà bổ thể CD 46 (complement regulator CD 46) đồng thời cũng là protein cofactor màng (membrane cofactor protein). Vỏ ngoài virut dung hợp với màng sinh chất của tế bào chủ, sau đó bị phân giải để đưa nucleocapsit vào tế bào.

#### **22.3.2.2. Sao chép và phiên mã**

Genom ARN (–) được dùng làm khuôn để tổng hợp mARN nhờ ARN – polymeraza phụ thuộc ARN có sẵn trong virion, mARN có 3 tiểu đơn vị là 18, 22 và 35S.

mARN được gắn đuôi polyA ở đầu 3' dùng để dịch mã tạo protein, trong đó có ARN – polymeraza thứ cấp dùng để sao ARN (–) 52S thành chuỗi ARN (+) 52S (có chiều dài đủ), không được gắn đuôi polyA để rồi chuỗi này lại được dùng làm khuôn tổng hợp ARN (–) 52S, là genom của virut mới.

#### **22.3.2.3. Dịch mã**

Protein cấu trúc đầu tiên được tổng hợp là protein nucleocapsit, sau đó protein H và F được tạo thành quanh vùng nhân, thông qua màng của bộ máy Golgi để gắn vào các vị

trí đặc hiệu trên màng sinh chất của tế bào chủ. Protein M cũng được đưa ra phía màng sinh chất để tạo màng trong M.

#### **22.3.2.4. Lắp ráp và phóng thích**

- Các glycoprotein gắn vào vị trí chuyên biệt trên màng sinh chất. Gai H và F hướng ra ngoài.

- Protein màng M xếp phía trong màng sinh chất.

- Nucleocapsit sau khi được lắp ráp, vận chuyển tới vị trí nằm dưới M rồi ra ngoài theo lối nảy chồi, trong khi màng sinh chất của tế bào vẫn tiếp tục được khôi phục. Các đám nucleocapsit thừa sẽ tập hợp dưới dạng thể vùi (inclusion).

Trong quá trình nhân lên, virus không phá vỡ nhanh tế bào, ngược lại tế bào vẫn có khả năng trao đổi chất trong một thời gian, tuy nhiên quá trình diễn ra chậm chạp.

#### **Có 2 phản ứng của tế bào đối với sự nhiễm virus :**

- Tạo tế bào khổng lồ đa nhân. Virus gây xáo trộn chức năng phân chia. Các tế bào liên hợp với nhau tạo tế bào khổng lồ.

- Tạo tế bào hình sợi hoặc hình con thoi, ngược lại hiện tượng trên, các tế bào co rút lại và dài ra. Tế bào loại này có tính gây nhiễm giảm nhưng hiệu giá ngưng kết và khả năng hình thành interferon lại tăng.

#### **22.3.3. Triệu chứng lâm sàng**

Sởi là bệnh rất hay lây, thường lan truyền qua các sol khí chứa virus, nhiễm vào đường hô hấp trên hoặc đường mắt và cũng có thể truyền qua tiếp xúc trực tiếp.

Thời gian từ lúc phơi nhiễm (tiếp xúc) đến khi xuất hiện triệu chứng đầu tiên là 8 – 15 ngày với biểu hiện mệt mỏi, khó chịu, sốt cao (39 – 40°C). Trên má có thể xuất hiện các đốm đỏ tâm trắng gọi là **đốm Koplik**. Từ ngày thứ 3 đến thứ 5, bắt đầu xuất hiện các vết ban màu hồng hơi nhô cao, lúc đầu ở sau tai, trán, sau tới mặt, rồi khắp cơ thể. Các nốt ban tồn tại khoảng 3 ngày thì mất dần. Ở người trưởng thành, sốt có thể kéo dài, ban rất sần nhiều hơn và có xu hướng biến chứng cao hơn như viêm phổi, nhiễm tai giữa.

Virus sởi có thể nhân lên ở nhiều loại tế bào khác nhau, lúc đầu là tế bào biểu mô đường hô hấp, sau đó vào hệ bạch huyết rồi vào máu. Virus lan sang các tế bào bạch cầu vùng hạch gây nhiễm và gây hoại tử các tế bào nội mô (gan, lách, tủy) (trong khoảng 3 – 5 ngày). Virus cũng có thể nhân lên trong các tế bào lympho B, T, đại thực bào, bạch cầu đơn nhân (nhưng không nhân lên trong bạch cầu đa nhân) và do đó gây suy giảm miễn dịch.

ĐUMD tế bào đóng vai trò quan trọng trong cả giai đoạn bệnh lý và phục hồi bệnh. ĐUMD thể dịch hình thành ngay sau khi ban xuất hiện. Đầu tiên là tạo IgM, sau đó là IgG và IgA trong huyết thanh và dịch tiết. KT kháng protein N được sản xuất nhanh và nhiều, được xác định ngay ở giai đoạn nhiễm tiên phát bằng kỹ thuật kết hợp bổ thể. KT kháng protein F có tính trung hoà nhưng phát hiện tốt nhất bằng phản ứng ức chế ngưng

kết hồng cầu khi (HI). KT kháng protein H là KT tiên phát, xác định được bằng phản ứng trung hoà trên tế bào nuôi cấy và bằng kỹ thuật HI. IgG kháng protein H đóng vai trò quan trọng trong xác định tính miễn dịch chống virus sởi.

#### **22.3.4. Phòng bệnh và điều trị**

Bệnh sởi hầu như không có thuốc chữa hữu hiệu. Trong trường hợp không có biến chứng thì không cần điều trị. Trong trường hợp nặng có biểu hiện suy dinh dưỡng thì cần hỗ trợ bằng vitamin A (400000 UI, đường uống) trong 2 ngày liên tiếp ngay sau khi chẩn đoán sởi. Cần theo dõi chặt chẽ để phòng và trị nhiễm trùng thứ cấp do vi khuẩn.

Biện pháp chủ yếu vẫn là tiêm phòng vaccin. Vaccin sởi hiện nay là MMR, kết hợp giữa KN sởi với sởi Đức (rubella) và quai bị (mumps). Một liều MMR (0,5ml) chứa ít nhất 1000CCID<sub>50</sub> của chủng sởi Moraten, ít nhất 5000CCID<sub>50</sub> chủng quai bị Jeryl Lynn và ít nhất 1000CCID<sub>50</sub> chủng rubella RA 27/3 (MMR II – Merck) (vaccin 3 trong 1). Có thể có vaccin sởi phối hợp với rubella mà không có thành phần quai bị (MR – Vax II, Merck) (vaccin 2 trong 1). Vaccin MMR dùng tiêm chủng cho trẻ em 12 tháng tuổi, liều sau vào tuổi 11 hoặc 12. Vaccin cũng dùng cho người lớn.

Do khả năng biến dị thấp, nên đối với sởi có thể đạt miễn dịch kéo dài 20 năm hoặc suốt đời. Từ 1963, nhờ Chương trình Tiêm chủng mở rộng nên Việt Nam đã giảm được 99% các ca sởi, những người còn bị sởi thường là do không tiêm phòng.

### **22.4. BỆNH QUAI BỊ**

#### **22.4.1. Đặc điểm lâm sàng**

Bệnh quai bị còn gọi là bệnh viêm tuyến mang tai, xảy ra quanh năm nhưng thường vào mùa đông hoặc mùa xuân. Bệnh lây truyền qua các sol khí do bệnh nhân thở ra khi tiếp xúc. Bệnh thường xảy ra ở trẻ em và ở tuổi thanh thiếu niên từ 5 – 18 tuổi, nhưng cũng có thể gặp ở cả người lớn. Thời gian ủ bệnh từ 14 – 25 ngày, trung bình là 16 – 18 ngày. Biểu hiện của bệnh là sốt, có thể cao 39 – 40°C kéo dài 3 – 4 ngày, kèm theo nhức đầu, buồn nôn, mệt mỏi. Có tới 1/3 ca nhiễm không biểu hiện các triệu chứng này. Đặc điểm đặc trưng của quai bị là đau và sưng một hoặc nhiều tuyến nước bọt mang tai, nhưng không tạo mủ, đôi khi lan sang cả tuyến dưới lưỡi hoặc tuyến dưới hàm trên. Lúc đầu bệnh nhân bị sưng to và đau một bên mang tai, sau đó có thể lan sang cả hai bên làm cho mặt bệnh nhân to ra.

Diễn biến bệnh thường nhẹ và tự khỏi sau một tuần, sau đó được miễn dịch suốt đời. Vì thế, tỷ lệ mắc bệnh ở người lớn rất thấp do đã bị mắc từ khi còn nhỏ.

Trong một số ít trường hợp, virus có thể gây các biến chứng như viêm tinh hoàn, thường xảy ra một bên ở nam giới trưởng thành, dẫn đến teo và có thể là nguyên nhân gây vô sinh. Hãn hữu cũng có thể gây vô sinh do viêm buồng trứng ở phụ nữ. Các biến chứng có thể gặp nhưng rất hiếm là viêm não, viêm màng não, viêm đa khớp, viêm tụy, điếc một tai, viêm vú, viêm thận và viêm màng ngoài tim. Phụ nữ có thai thời gian đầu có thể bị sảy thai. Người là vật chủ duy nhất của virus quai bị.

### 22.4.2. Virut quai bị

Virut quai bị là thành viên của chi *Rubulavirus*, họ *Paramyxoviridae*. Giống như các virut *paramyxo* khác, virion có dạng đa hình và có vỏ ngoài, đường kính 100 và 600nm. Nucleocapsit xoắn gồm ARN mạch đơn, (–) và 3 protein liên quan nucleocapsit là L, NP và P. Hai protein L và P tham gia vào tạo hoạt tính của ARN – polymeraza phụ thuộc ARN, NP là protein capsit. Hai glycoprotein bề mặt là protein F (dung hợp) và protein HN (hemagglutinin – neuraminidaza) là các gai nằm trên mặt vỏ ngoài. Protein HN giúp cho virut bám vào thụ thể bề mặt của tế bào chủ, còn protein F giúp vỏ ngoài virut dung hợp với màng sinh chất của tế bào, để đưa nucleocapsit vào tế bào. Protein F cũng có tác dụng làm tan hồng cầu. KT kháng protein HN trung hoà virut. Protein liên kết với màng gọi là protein M (matrix) được phân bố dọc theo mặt trong của màng sinh chất của tế bào để tiến hành lắp ráp virion. Bằng kỹ thuật ức chế ngưng kết hồng cầu (HI) và phản ứng trung hoà chỉ có thể xác định được một KN của virut quai bị. Sự khác biệt về KN giữa các chủng có thể xác định bằng KT đơn dòng đặc hiệu.

Virut quai bị bị bất hoạt bởi dung môi lipid, các chất tẩy rửa, formaldehyt, các chất oxy hoá hoặc xử lý nhiệt. Giống như các virut *paramyxo* khác, hoạt tính gây nhiễm bị mất trong vòng 4 giờ khi giữ trong môi trường thiếu protein.

### 22.4.3. Chẩn đoán phòng thí nghiệm

- Phân lập virut. Lấy bệnh phẩm là nước bọt, máu hoặc nước tiểu cấy vào màng ối phôi gà hoặc tế bào nuôi cấy (nguyên bào sơ phôi gà hoặc tế bào vero).
- Huyết thanh học sử dụng các kỹ thuật ức chế ngưng kết hồng cầu, cố định bổ thể, phản ứng trung hoà hoặc ELISA (tìm IgM và IgG đặc hiệu).
- PCR xác định genom.

### 22.4.4. Phòng bệnh

Cho đến nay chưa có thuốc đặc trị, do đó biện pháp tốt nhất là cách ly, nghỉ ngơi tại nhà và có thể dùng paracetamol để giảm sốt và giảm đau. Trong vụ dịch, có thể phòng bệnh cho trẻ bằng cách tiêm globulin kháng quai bị, nhưng chỉ có tác dụng trong thời gian ngắn. Vacxin quai bị gồm có vacxin giảm độc lực và vacxin bất hoạt. Vacxin giảm độc lực có khả năng miễn dịch cao hơn (90 – 95% có miễn dịch bảo vệ). KT đáp ứng với vacxin tồn tại ít nhất trong vòng 8 năm. KT có thể truyền từ mẹ sang bào thai và sau một vài năm đứa trẻ mới hết KT của mẹ.

## 22.5. BỆNH Á CÚM

Virut á cúm (*parainfluenzaevirus* có tiếp đầu ngữ para có nghĩa là cận, nên còn được gọi là cận cúm) gây bệnh đường hô hấp trên ở cả trẻ em và người lớn. Có 4 typ virut á cúm ký hiệu từ PIV – 1 đến PIV – 4.

PIV – 1 là nguyên nhân chính gây viêm thanh quản, khí quản và phế quản, mặc dù typ 2 và 3 cũng gây các bệnh này nhưng ở thể nhẹ hơn.

PIV – 1 và PIV – 3 thường gây nhiễm ở trẻ nhỏ, lan truyền ở nhà trẻ và trường học. Các bệnh á cúm thường xảy ra quanh năm. Typ 1 và typ 2 thường luân phiên nhau gây bệnh theo từng năm vào mùa thu hoặc đầu đông. PIV – 3 gây dịch ở địa phương, rất hay lây, xảy ra quanh năm và chiếm 1/3 trường hợp bị bệnh. Typ 3 cũng gây viêm phổi và viêm phế quản nhưng rất hiếm. Typ 4 thường lưu hành ở châu Phi và gây bệnh nhẹ đường hô hấp trên.

### 22.5.1. Virut á cúm

Virut á cúm thuộc họ *Paramyxoviridae*, trong đó PIV – 1 và PIV – 3 thuộc chi *Paramyxovirus*, còn PIV -- 2 và PIV – 4 thuộc chi *Rubulavirus*. Nucleocapsit của PIV có cấu trúc đối xứng xoắn chứa genom ARN đơn, (-), không phân đoạn, được bao bởi vỏ ngoài. PIV có 6 protein cấu trúc bao gồm protein HN, protein F (dung hợp), protein NC (nucleocapsit), protein P (photpho – protein), protein M (matrix) và protein L (lớn hơn protein F). Chức năng của các protein này giống như đã trình bày ở các virut *paramyxo* khác.

### 22.5.2. Quá trình nhân lên

Virut gắn gai H vào thụ thể chứa axit sialic nằm trên bề mặt tế bào, sau đó gai F tiến hành dung hợp vỏ ngoài của virut với màng sinh chất của tế bào để đưa nucleocapsit vào tế bào chất. Genom ARN (-) phiên mã nhờ ARN – polymeraza phụ thuộc ARN do virut mang theo để tạo mARN có kích thước dưới genom (subgenomic RNA) rồi tiến hành dịch mã tạo các protein sớm đặc hiệu virut, trong đó có ARN – polymeraza phụ thuộc ARN mới. Enzym này dùng để tổng hợp chuỗi ARN (+) có chiều dài đủ, dùng làm khuôn để tổng hợp nhiều bản sao genom ARN (-). Các chuỗi ARN (-) mới tạo thành cũng được dùng để phiên mã tạo mARN muộn dành cho tổng hợp protein cấu trúc. Các protein HN, F được lắp vào màng sinh chất. Các thành phần của virut được lắp ráp tạo túi và đưa ra màng để nảy chồi. Virut ra khỏi tế bào nhờ hoạt tính neuraminidaza của protein HN. Khi protein HN gắn trên màng sinh chất của tế bào nhiễm sẽ làm cho các tế bào này kết dính với hồng cầu tạo nên hiện tượng hấp phụ hồng cầu (haemadsorption).

### 22.5.3. Triệu chứng lâm sàng

Bệnh phổ biến nhất ở trẻ em là bệnh đường hô hấp trên, cấp tính, kèm sốt (thường không quá 38 – 39°C, nhưng cũng có trường hợp lên đến 40°C), sổ mũi nhẹ và rất khó phân biệt với các bệnh cúm hay bệnh đường hô hấp khác do virut. Khi mới phát bệnh thường bị viêm cổ nhẹ, ho không đờm. Trong nhiều trường hợp bị khàn tiếng và viêm tắc thanh quản. Đây là biểu hiện nghiêm trọng nhất của bệnh á cúm ở trẻ nhỏ. Sốt giảm nhanh hoặc kéo dài 2 – 3 ngày. Ở người bị bệnh đường hô hấp dưới thì sốt kéo dài khoảng một tuần.

### 22.5.4. Chẩn đoán phòng thí nghiệm

Có thể phân lập và xác định virut nhờ cấy truyền dịch mũi họng vào phôi gà hoặc vào tế bào vero. Có thể tìm KN trong tế bào đường hô hấp của người bệnh bằng kỹ thuật

miễn dịch huỳnh quang (IF). Các phản ứng huyết thanh khác như cố định bổ thể (CF), ức chế ngưng kết hồng cầu (HI) phản ứng trung hoà với mẫu huyết thanh bệnh nhân lấy ở giai đoạn cấp hoặc bình phục có thể dùng để chẩn đoán khẳng định bệnh á cúm. Các typ PIV có các KN chung với nhau và với các virus *paramyxo* khác như Newcastle, quai bị, do đó có thể phản ứng chéo với các huyết thanh của nhau, làm cho việc xác định trở nên khó khăn nếu như không tiến hành phân lập. Có thể dùng KT đơn dòng đặc hiệu (MAbs để xác định các KN này). Sử dụng PCR sẽ cho kết quả chính xác hơn.

#### 22.5.5. Phòng, chống

Các bệnh do virus á cúm gây ra thường ở thể nhẹ loại trừ trường hợp gây viêm tắc thanh quản và viêm phổi ở trẻ em. Chưa có thuốc chữa đặc trị và chưa có vacxin hữu hiệu. Do vậy, biện pháp tốt nhất là nghỉ ngơi và điều trị triệu chứng như dùng thuốc giảm sốt hay giảm đau (ví dụ : acetaminophen). Nếu bị ho có thể dùng thuốc ho (ví dụ : dextromethophan).

### 22.6. VIRUT HỢP BÀO HÔ HẤP

Virus hợp bào hô hấp viết tắt là RSV (respiratory syncytial virus) là tác nhân chính gây bệnh đường hô hấp dưới ở trẻ nhỏ như viêm tiểu phế quản và viêm phổi. Các tế bào nhiễm virus có thể dung hợp với nhau để tạo thể hợp bào. Ở vùng ôn đới, bệnh xảy ra vào mùa đông và đầu xuân, còn ở các vùng nhiệt đới thường xảy ra vào mùa mưa. Mỗi đợt dịch thường kéo dài từ 2 – 5 tháng, cao điểm trong 1 – 2 tháng. Chỉ có 1 typ huyết thanh, nhưng có vài biến đổi về chủng.

#### 22.6.1. Mô tả virus

Mặc dù cũng là thành viên của họ *Paramyxoviridae* nhưng RSV không có các gai hemagglutinin và neuraminidaza nên chúng được xếp vào chi riêng là *Pneumovirus*.

Virion đa hình thái, có kích thước 90 – 130nm, chứa ARN đơn, (–), thẳng, không phân đoạn, khối lượng phân tử  $5 \times 10^6$ . Nucleocapsit đối xứng xoắn được bao bởi vỏ ngoài với các gai glycoprotein F và G, dài 12 ~ 15nm.

Có ít nhất 10 loại protein :

- Protein N, P, L nằm bên trong nucleocapsit :
- + Protein P và L có hoạt tính polymeraza dùng cho phiên mã và sao chép, trong đó protein P được phosphoryl hoá mạnh, còn protein L có kích thước lớn (250kDa).
- + Protein N có kích thước trung bình, là protein chính của nucleocapsit.
- Protein F và G là gai bề mặt, trong đó protein G cần cho sự hấp phụ, còn protein F (dung hợp) cần cho sự xâm nhập của virus vào tế bào.
- Protein M và M2 (22kDa) nằm phía trong vỏ ngoài trong đó protein M tham gia vào quá trình lắp ráp virion còn protein M2 còn chưa rõ chức năng.

Quá trình nhân lên cũng giống như các virus *paramyxo* khác.



### **22.6.2. Triệu chứng lâm sàng**

Thời gian ủ bệnh từ 2 – 8 ngày, trung bình là 5 ngày. Lúc đầu nhiễm vào đường hô hấp trên, sau lan xuống gây bệnh đường hô hấp dưới với các biểu hiện :

– *Cảm lạnh* thường mắc ở trẻ nhỏ, đặc biệt với trẻ dưới 5 tuổi, đôi khi cũng mắc ở trẻ lớn hơn, bao gồm các biểu hiện ho, hắt hơi, nghẹt và chảy nước mũi, nhức đầu, khó chịu. Bệnh thường nhẹ, chỉ tồn tại khoảng một tuần nhưng cũng có thể nặng nếu đã bị bệnh hô hấp từ trước.

– *Viêm tiểu khí quản* đặc biệt thường thấy ở trẻ trong vòng 6 tháng tuổi. Các biểu hiện gồm sốt, ho, hắt hơi, thở gấp có tiếng khò khè. Các tiểu phế quản bị tắc do mũi nhầy ngăn không cho không khí vào phế nang. Trẻ thiếu hụt oxy dễ gây suy hô hấp.

– *Viêm phổi* chủ yếu thấy ở trẻ nhỏ. Các triệu chứng giống như viêm tiểu khí quản bao gồm sốt, thở gấp nhưng không có tiếng khò khè. Trường hợp nặng phế nang chứa máu, không khí bị đẩy ra ngoài.

Trẻ nhỏ bị nhiễm bệnh thường chứa nhiều virus RSV trong dịch đường hô hấp, đây là nguồn lây lan (trong vòng 3 – 8 ngày), KT kháng RSV không tồn tại lâu nên trẻ em dễ bị tái nhiễm.

### **22.6.3. Điều trị và phòng bệnh**

Vaccin bất hoạt chống virus đã làm tăng thêm tỷ lệ viêm tiểu khí quản và viêm phổi so với nhóm đối chứng. Nguyên nhân có thể là do một thành phần MD của bệnh ở những đứa trẻ vẫn còn KT do mẹ truyền và hình thành phức hợp MD. Sự miễn cảm có thể mang tính cơ học. Ở trẻ sơ sinh, lòng ống tiểu khí quản rất hẹp nên khi bị viêm sẽ gây bệnh nặng, còn ở trẻ lớn hơn tiểu khí quản rộng hơn nên không thấy hiện tượng này.

### **22.6.4. Chẩn đoán phòng thí nghiệm**

– Cấy dịch mũi – hầu chứa virus hoặc chọc sinh thiết phổi viêm, cấy vào tế bào cảm thụ Hep – 2, Hela rồi quan sát CPE của tế bào khổng lồ. Bệnh phẩm không được làm đông lạnh vì virus sẽ bị bất hoạt

– Xác định typ virus bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang hoặc cố định bổ thể, nhưng hiện nay kỹ thuật cố định bổ thể ít được dùng.

### **22.6.5. Điều trị**

Có thể dùng biện pháp xông nhờ mũi chụp chuyên dụng để hít hơi ribaririn, đồng thời có thể sử dụng immumoglobulin đặc hiệu RSV. Vaccin bất hoạt chống RSV có hiệu quả thấp. Đối với bệnh do RSV chủ yếu là điều trị triệu chứng giống như đối với các bệnh đường hô hấp khác như bù nước, hút dịch tiết, thở oxy, dùng thuốc chống co thắt khí quản....

## 22.7. BỆNH NEWCASTLE

Bệnh Newcastle còn gọi là bệnh Tân thành hay toi gà, là bệnh viêm đường hô hấp ở gia cầm do virus *paramyxo*, gây thiệt hại lớn cho ngành chăn nuôi gia cầm. Bệnh lây lan rất nhanh ở gà, gà tây, gà lôi, vịt, ngan, ngỗng, bồ câu do hít phải các sol khí chứa đầy virus, hoặc truyền qua thức ăn, nước uống đã bị nhiễm. Thời gian ủ bệnh từ 4 – 12 ngày. Các triệu chứng có thể biểu hiện khác nhau gồm kém ăn, tiêu chảy, chảy nước mắt, nước mũi, nước dãi, mào thâm, kèm theo các dấu hiệu về thần kinh như ủ rũ, liệt. Tỷ lệ chết có thể rất cao, có khi lên đến 100%.

### 22.7.1. Chẩn đoán

Bằng thử nghiệm HAI.

### 22.7.2. Biện pháp phòng, chống

Ở các nước phát triển, người ta thường giết cả đàn gà bị bệnh và kiểm soát chặt chẽ khâu lưu thông để khu trú không cho lây sang nơi khác.

Đối với các nước đang phát triển với nền kinh tế tiểu nông, việc diệt cả đàn gia cầm là điều khó thực hiện. Bệnh Newcastle không gây bệnh nguy hiểm cho người. Do vậy, biện pháp hợp lý là tiêm phòng vacxin cho đàn gia cầm. Australia sản xuất vacxin từ chủng V4. Chủng này không độc, có khả năng gây miễn dịch cao, chịu nhiệt độ nên có thể lan truyền tự nhiên và do vậy có thể gây miễn dịch cho gia cầm ở nông thôn. Có thể tiến hành tiêm chủng, cho uống hoặc phun vào thức ăn để gây miễn dịch cho gia cầm.

Đã có một thông bào về virus Newcastle gây viêm kết mạc thể nhẹ ở người.

## 22.8. VIÊM NÃO DO VIRUT NIPAL

Năm 1999, một bệnh viêm não mới đã xuất hiện ở Malaysia do một loại virus chưa từng được biết trước đó gây ra, được đặt tên là virus Nipal (tên địa phương phát hiện ra chúng). Bệnh nhân bị sốt cao, đau đầu dữ dội, đau cơ, buồn ngủ, co cơ và hôn mê, với tỷ lệ tử vong khoảng 30%. Các phân tích trình tự ARN và huyết thanh học cho thấy đây có thể là một chi mới thuộc họ *Paramyxoviridae*. Các nghiên cứu dịch tễ học khẳng định virus này đã truyền từ lợn sang người, 93% bệnh nhân đã tiếp xúc với lợn và trong máu lợn có chứa kháng thể kháng virus Nipal. Tại sao lợn lại bị nhiễm virus Nipal ? Người ta cho rằng vật chủ tự nhiên của virus này là dơi sống trong rừng mưa nhiệt đới. Khi làm đường cao tốc, người ta đã làm khuấy động nơi cư trú, khiến chúng di chuyển tới các trại lợn. Virus gây nhiễm qua đường hô hấp, qua niêm mạc và các vết xây xước trên da. Tuy nhiên, con đường lây truyền thực sự còn chưa được khẳng định.

## VIRUT CORONA, HỌ CORONAVIRIDAE

### 23.1. GIỚI THIỆU

Vào đầu những năm 30 của thế kỷ XX, người ta đã mô tả bệnh viêm phế quản do virus ở gà. Virus này được gọi tắt là IBV (infectious bronchitis virus). Sau đó, vào đầu những năm 50, lại phát hiện thấy virus tương tự gây nhiễm gan ở chuột và gọi tắt là MHV (mouse hepatitis virus). Vào những năm 60, khi nghiên cứu bệnh cảm lạnh ở những người tình nguyện, nhận thấy bệnh này có thể lây qua dịch mũi. Tuy nhiên, khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử thì không thấy virus *rhino* mà lại thấy virus có hình thái đồng nhất, có vỏ ngoài giống như IBV và MHV. Năm 1968, người ta đặt tên cho virus này là *corona*. Đến năm 1975, họ *Coronaviridae* chính thức xuất hiện trong danh pháp quốc tế.

Virus *corona* phân bố rất rộng trong tự nhiên. Chúng gây nhiễm cho nhiều loại vật chủ với tính hướng mô khác nhau. Ở người, virus *corona* chỉ gây viêm đường hô hấp và có thể là cả bệnh đường ruột.

Virus có cấu trúc đa hình thái (pleomorphic), đường kính 75 – 160nm, có nucleocapsit xoắn được bao bởi vỏ ngoài lipid kép. Trên bề mặt vỏ ngoài nhô ra các gai glycoprotein có dạng đặc trưng hình dùi cui gọi là peplome dài 12 – 24nm. Vì thế, khi nhuộm màu có thể nhìn thấy hạt virus có điểm xung quanh giống như hình ảnh thu nhỏ của Mặt Trời với ánh hào quang, cho nên mới có tên gọi là virus *corona* (corona – tiếng La tinh có nghĩa là điểm, hào quang). Tuy nhiên, trong một số trường hợp, hình thái và khoảng cách giữa các peplome có thể thay đổi.

Genom của virus *corona* là chuỗi ARN đơn, (+), chứa khoảng 30kb. Đầu 3' được gắn đuôi poly A.

Các protein liên quan đến virion bao gồm :

- Protein S (S – surface) cấu tạo nên các gai peplome bề mặt vỏ ngoài. Đây là KN kích thích tạo KT trung hoà.
- Protein M (M – membrane) tạo màng trung gian nằm giữa capsit và vỏ ngoài. Từ màng này mọc ra các peplome.
- Protein N gắn với genom tạo nucleocapsit. Protein N ít thay đổi, trong khi protein S thường thay đổi, dẫn đến sự thay đổi KN của virus.

Do vỏ ngoài là lớp lipid kép nên virus thường bị bất hoạt bởi các dung môi hoà tan lipid và các chất tẩy rửa.

Đối với IBV, genom được tạo thành từ 6 phân tử mARN dưới genom (subgenomic mARN), ký hiệu từ A đến F. Tất cả đều chung đầu 3' của ARN genom, gọi là ARN

chồng lớp. Mỗi đầu 5' có trình tự dẫn đầu chung, dài 70 bazơ bắt nguồn từ đầu 5' của ARN genom.

Đối với MHV, genom được tạo thành từ 7 phân tử mARN xếp chồng lên nhau, ký hiệu từ ARN 1 đến ARN 7.

## 23.2. PHÂN LOẠI

Họ *Coronaviridae* bao gồm 2 chi là *Coronavirus* và *Torovirus*. Có rất ít bằng chứng về khả năng gây bệnh cho người của chi *Torovirus*, do vậy chi này ít được quan tâm.

Các thành viên của *Coronavirus* bao gồm :

- Virut *corona* gây bệnh cho người – HCV (human corona virus). Tránh nhầm đây là một loài gây cảm lạnh thường, một loài gây nhiễm đường ruột – HECV (human enteric coronavirus) và năm 2003 đã phát hiện thêm virut *corona* gây hội chứng viêm đường hô hấp cấp – SARS (severe acute respiratory syndrome).

- Các virut *corona* khác gây bệnh cho gà (viêm phế quản), chuột (viêm gan, viêm dạ dày – ruột, viêm não), lợn (viêm ruột – dạ dày, viêm não), chó, gà tây, gia cầm, ngựa (sưng tuyến nước bọt) và mèo (viêm phúc mạc).

Các nghiên cứu về huyết thanh học cho thấy các loài kể trên có mối quan hệ với nhau về mặt KN (các protein X, M, N và S).

## 23.3. NUÔI CẤY

Đối với một số virut *corona* của động vật có vú và gia cầm, có thể nuôi dễ dàng trong phôi gà hoặc trong tế bào nuôi cấy. Tuy nhiên, đa số virut *corona* của người lại khó nuôi cấy. Phương pháp truyền thống là nuôi trong tế bào nuôi cấy phế quản thai. Virut gây bệnh SARS có thể nhân lên trong tế bào vero (tế bào thận khỉ).

## 23.4. VIRUT CORONA

### 23.4.1. Quá trình nhân lên

Trước hết, virut *corona* bám vào thụ thể của tế bào đích nhờ protein S. Sau khi xâm nhập vào tế bào, chúng dịch mã tạo ARN – polymeraza phụ thuộc ARN. Enzym này tiến hành phiên mã để tạo sợi ARN (-), rồi sợi này lại được dùng làm khuôn để tạo genom ARN (+) và mARN. mARN tiến hành dịch mã để tạo protein cấu trúc (capsit). Quá trình nhân lên xảy ra trong tế bào chất. Sau khi lắp ráp, virut nảy chồi từ bộ máy Golgi chứ không phải từ màng tế bào chất. Các protein M đã được gắn sẵn vào màng của bộ máy Golgi. Khi virut chui ra được bọc bởi protein M và nằm trong bào nang (túi). Bào nang vận chuyển đến màng tế bào chất rồi tiến hành dung hợp, sau đó được đẩy ra ngoài.

Các tế bào nhiễm virus có thể bị phân giải, nhưng chúng có thể dung hợp với nhau dưới dạng hợp bào. Trong thể hợp bào, virus có khả năng tồn tại lâu. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình nhân lên của virus là 33°C, tương đương với nhiệt độ môi trường sống của chúng ở đường hô hấp trên.

#### 23.4.2. Đặc điểm lâm sàng và bệnh sinh

Ngoài tính đặc hiệu loài đáng chú ý, virus *corona* còn có tính hướng mô rõ rệt. Một số loài chỉ gây nhiễm đường hô hấp trên, số khác chỉ gây nhiễm đường ruột. Tuy nhiên, cũng có loài gây nhiễm cả hai con đường. Nhiều virus *corona* gây nhiễm ở các cơ quan khác nhau ở động vật như gan, phúc mạc. Tính hướng mô được quyết định bởi typ virus, protein S và sự phân bố của thụ thể tế bào.

#### 23.4.3. Virus *corona* ở người

Sau khi nhiễm vào cơ thể người, virus *corona* loại thông thường gây bệnh ở đường hô hấp trên. Có tới 30% trường hợp cảm lạnh là do *corona* hoặc có thể là cao hơn nếu nhiễm phải các virus *corona* chưa được định loại. Trong đa số các trường hợp, chủ yếu là do KN OC43 và 22qE.

Đa số các trường hợp nhiễm virus *corona* ở thể nhẹ hoặc cận lâm sàng. Thời kỳ ủ bệnh từ 2 – 4 ngày, sau đó biểu hiện triệu chứng. Ngoài việc nhiễm virus còn nhiễm thêm các vi khuẩn khác làm bệnh thêm trầm trọng.

#### 23.4.4. Bệnh SARS

Giữa tháng 2 năm 2003, WHO nhận được những thông tin về bệnh viêm đường hô hấp cấp tại Quảng Đông, Trung Quốc, sau đó lan sang HongKong rồi Việt Nam. Một tháng sau, WHO lên tiếng báo động về bệnh SARS trên toàn thế giới. Chỉ trong một thời gian rất ngắn, bệnh đã lan truyền sang nhiều nước châu Á, sau đó lan sang châu Âu và đổ bộ vào cả Canada, Mỹ làm cho hàng ngàn người mắc bệnh và hàng trăm người chết. Đây là căn bệnh mà y học thế giới chưa từng biết tới. SARS đã gây tổn hại đến tốc độ tăng trưởng kinh tế của các nước có người bị nhiễm, nhất là đối với ngành hàng không và du lịch.

**Triệu chứng lâm sàng.** Bệnh khởi phát trong vòng một tuần sau khi tiếp xúc với nguồn lây. Triệu chứng biểu hiện bao gồm sốt cao, thường liên tục trên 38°C; đau mỏi các cơ, khó thở, có thể dẫn đến viêm phổi nặng, suy hô hấp và tử vong nếu không được phát hiện và xử lý kịp thời. Ở nhiều người có thể kèm theo tiêu chảy. Bệnh rất dễ lây, do đó khi phát hiện có người bị bệnh lập tức phải cách ly tuyệt đối và khoanh vùng dịch bệnh.

**Virus SARS.** Lúc đầu các nhà khoa học HongKong xác định căn nguyên của bệnh là do virus *paramyxo*, nhưng sau đó Trung tâm Kiểm soát và Phòng bệnh Atlanta (Mỹ) thông báo đã phân lập được loài virus *corona* mới khi xét nghiệm hai bệnh nhân bị bệnh SARS. Tại HongKong, nhóm nghiên cứu của bác sĩ Malik Peiris cũng phân lập được loài virus *corona* mới và thấy nó không trùng với các loài *corona* đã biết.

Loài virus *corona* mới này bắt nguồn từ đâu và tại sao lại gây ra dịch bệnh đáng lo ngại đến như vậy ? Đa số các nhà khoa học cho rằng virus *corona* gây bệnh SARS có nguồn gốc từ động vật nhưng đã bị biến đổi gen làm tăng cường tính độc. Tại HongKong, đã phân lập được virus *corona* từ nước bọt và phân của cây hương. Các virus này có trình tự gen giống 99% so với virus *corona* gây bệnh SARS ở người. Tuy nhiên, các động vật này lại không bị bệnh. Nhiều người cho rằng virus gây bệnh SARS có thể tồn tại ngoài tế bào đến 24 giờ. Do đó nguồn lây không chỉ từ các sol khí bắn ra khi ho hoặc hắt hơi mà còn có thể lây qua dụng cụ y tế và đồ dùng hằng ngày.

Năm 2004, SARS lại quay lại Trung Quốc nhưng nhờ những kinh nghiệm thu được từ những vụ dịch trước nên SARS đã bị khống chế kịp thời và không bùng phát thành dịch.

*Virion* hình cầu, đường kính 70 – 120nm chứa genom là ARN (+), đơn với chiều dài 29727 nucleotit, ở đầu 3' gắn đuôi polyA. Các gen được sắp xếp theo trình tự sau : 5' – rep (replicase) – S (spike) – E (envelope) – M (membrane) – N (nucleocapsid) – 3' và tại mỗi đầu đều có một đoạn ngắn không dịch mã. Kích thước genom của SARS – CoV ngắn hơn kích thước genom của các HCoV khác chừng 5kb. Chính sự thiếu hụt này tạo nên sự khác biệt cơ bản giữa SARS – CoV và HCoV và có lẽ liên quan đến tính độc của SARS – CoV.

- Gen rep dài 20 – 22 kb gồm hai khung đọc mở chồng lớp, ký hiệu là 1a và 1b dùng để mã hoá protein phi cấu trúc.

- Protein màng bao gồm protein S và M. Protein S là gai glycoprotein được phân cắt thành S1 và S2 nhờ proteaza. S1 có chức năng bám vào thụ thể trên bề mặt tế bào. Sự thay đổi axit amin của S1 sẽ dẫn đến sự biến đổi KN và khả năng gây bệnh của virus. Glycoprotein S2 là phần cuống của gai, ít bị thay đổi hơn. Glycoprotein bề mặt thứ hai của virus là HE, có khối lượng phân tử 65 – 70kDa, tương tự như HA ở virus cúm C. HE giúp cho virus *corona* xâm nhập và giải phóng ra khỏi tế bào.

- Protein màng (M) gắn sâu vào mạng lưới nội chất cùng với protein nhỏ hơn là protein E với khối lượng phân tử 10 – 12kDa, cần cho sự nảy chồi của virus ra khỏi màng tế bào.

- Protein N bao quanh genom ARN là một photphoprotein với khối lượng phân tử 46kDa và là thành phần chủ yếu của phức hợp nucleocapsit dạng xoắn.

### **Quá trình nhân lên**

Trước hết, gai S gắn vào thụ thể trên bề mặt tế bào, sau đó tiến hành dung hợp với màng sinh chất rồi xâm nhập vào tế bào. Toàn bộ quá trình tái bản diễn ra trong nguyên sinh chất. Đầu tiên, gen rep dịch mã từ đầu 5' tạo một protein lớn (polyprotein), sau đó nhờ proteaza do virus mã hoá phân cắt thành các protein phi cấu trúc. Đó là các enzym ARN – polymeraza phụ thuộc ARN, adenosintriphosphatase (ATP – aza) và helicaza (Hel). Các enzym này tiến hành tổng hợp phân tử ARN đơn âm với chiều dài đủ. Đến lượt ARN(–) được dùng làm khuôn để tổng hợp genom, phân tử ARN đơn, (+).

Các trình tự điều hoà phiên mã (TRS) nằm ở đầu 5' của mỗi gen, phát tín hiệu điều hoà phiên mã tạo ra các mARN dưới genom (subgenomic mRNA) có chiều dài ngắn dùng để tổng hợp các protein cấu trúc S, HE, E, M và N. Protein M và S tương tác với nhau gắn sâu vào màng lưới nội chất tiến hành glycosyl hoá. Một số protein S và HE kết hợp với protein M. Sau khi lắp ráp tạo nucleocapsit tại vị trí sát màng của lưới nội chất nơi đã gắn protein màng của virus, virion nảy chồi qua khoang lưới nội chất hoặc bộ máy Golgi rồi tạo bong ra khỏi tế bào.

### ***Chẩn đoán phòng thí nghiệm***

- Virus SARS – CoV có độc lực cực mạnh nên mọi nghiên cứu phân lập đều phải được tiến hành trong phòng thí nghiệm có độ an toàn cấp 3.
- Bệnh phẩm thích hợp để phân lập virus là dịch ty hầu.
- Virus được cấy vào tế bào thường trực thận khỉ vero E.6 (gây CPE) hoặc tế bào thai thận khỉ tiên phát (FPMKC) (không gây CPE).
- Xác định genom nhờ RT – PCR với cặp mồi Cor – p – F2 và Cor – p – F1 (CDC – Atlanta, Mỹ).
- Phương pháp ELISA xác định IgA, IgM và IgG có độ nhạy thấp.
- Phương pháp dùng phản ứng trung hoà giảm vết tan PRNT (Plaque reduction neutralization test) có độ nhạy cao nhưng phải dùng virus sống, nên cần phòng thí nghiệm an toàn.
- Phản ứng khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian vòng phiên mã ngược, (RT – LAMP) (reverse transcriptase – loop – mediated isothermal amplification) sử dụng 6 mồi trong đó có 2 mồi dạng vòng, có thể dùng để xác định virus ở giai đoạn sớm với độ nhạy cao.

### ***Phòng, chống***

Hiện chưa có thuốc đặc trị cũng như chưa có vaccine chống SARS – CoV. Biện pháp cách ly đóng vai trò quyết định trong ngăn chặn sự lây lan thành dịch. Cần tổ chức 3 khu vực cách ly : khu vực có nguy cơ cao là nơi điều trị bệnh nhân SARS. Khu vực có nguy cơ là khu vực có bệnh nhân đến khám và điều trị bước 1. Khu vực có khả năng tạo nguy cơ là khu vực có thể có người mắc dịch.

### ***Các hướng thiết kế thuốc và vaccine chống SARS – CoV***

Dựa vào các giai đoạn nhân lên của virus trong tế bào để thiết kế thuốc và vaccine chống SARS – CoV :

- Gai glycoprotein S là kháng nguyên phù hợp dùng cho sản xuất vaccine.
- Cần tạo kháng thể đơn dòng gắn vào thụ thể trên bề mặt tế bào để ngăn cản sự xâm nhập của virus.
- Cần tạo chất ức chế proteaza ngăn cản enzyme này phân cắt polyprotein thành các protein phi cấu trúc (enzyme) ngăn cản sự phiên mã.

– Muốn gây nhiễm gai glycoprotein S phải được phân cắt nhờ serinprotease, do đó cần tạo ra chất ức chế enzym này sẽ ngăn cản sự nhân lên của virus.

– Nghiên cứu miễn dịch thụ động nhờ KT kháng glycoprotein S dùng cho nhóm người có nguy cơ lây nhiễm cao.

Cùng một lúc, các nhà khoa học ở ba trường đại học là Lubeck, Wurzburg và Jena, CHLB Đức đã xác định thấy proteaza của virus *corona* gây bệnh SARS (SARS – CoV) rất giống với proteaza của virus *corona* gây bệnh cảm lạnh thường. Do vậy, có thể dùng thuốc ức chế proteaza (PI) của virus HCoV và virus *rhino* (hai virus này có các đoạn gen giống nhau) để ngăn cản sự nhân lên của SARS – CoV.

#### **23.4.5. Virus corona gây bệnh viêm ruột ở người (HECoV – Human enteric coronavirus)**

Năm 1975, ở Bristol (Anh) và phía Nam Ấn Độ đã đồng thời công bố việc phát hiện ra virus *corona* gây viêm ruột ở người nhờ soi phân người dưới kính hiển vi điện tử. Virus này có thể nhân lên trong tế bào nuôi cấy mô ruột thai người. Virus nhân lên trong tế bào chất và nảy chồi qua màng lưới nội chất trơn. Có hai serotyp HECoV trong đó có một serotyp có phản ứng huyết thanh chéo với chủng OC43 của HCoV. HECoV xuất hiện ở khắp nơi trên thế giới, đặc biệt là ở các nước đang phát triển. Ở phương Tây cũng thường gặp ở những người đồng tính luyến ái nam. Có thể lây nhiễm HECoV qua đường phân – miệng, qua nước uống hoặc qua quan hệ tình dục bằng miệng.



## Chương 24

### VIRUT CALICI, HỌ CALICIVIRIDAE

### VIRUT ASTRO, HỌ ASTROVIRIDAE

### VIRUT HEPE, HỌ HEPEVIRIDAE

#### 24.1. GIỚI THIỆU VỀ VIRUT CALICIVIRIDAE

*Caliciviridae* là họ virus lây nhiễm ở động vật có xương sống mà trước đây được coi là một chi của họ *Picornaviridae*.

Virion hình cầu, đường kính 35 – 39nm, không có vỏ ngoài, bề mặt gồ ghề, có 32 gai hình chiếc cốc đặc trưng (*Calici* có nghĩa là cái cốc), với cấu trúc hình khối đối xứng, có thể quan sát thấy dưới kính hiển vi điện tử khi nhuộm âm bản.

Capsit chứa một loại polypeptit lớn (khối lượng 60000 – 70000) và một polypeptit nhỏ (khối lượng 15000)

Genom là ARN đơn, (+), khối lượng trung bình  $2,6 - 2,8 \times 10^6$ . Đầu 3' của ARN gắn đuôi polyA, nhưng đầu 5' không được gắn mũ mà liên kết cộng hoá trị với một protein (khối lượng 10000 – 15000) cần thiết cho hoạt động lây nhiễm.

Virus nhân lên trong tế bào chất. Trong tế bào nhiễm có thể xác định được các phân tử ARN kép (có thể là dạng trung gian sao chép), ARN đơn có chiều dài đủ (bằng kích thước genom) và dưới ARN genom. Virus trưởng thành được giải phóng sau khi làm tan tế bào.

*Calici* không miễn cảm với dung môi lipid và các chất tẩy rửa nhẹ, nhưng bị mất hoạt tính ở pH 3 – 5.

Dựa vào trình tự genom, có thể chia virus *Calici* thành 3 nhóm : nhóm virus Norwalk, nhóm tác nhân núi tuyết (SMA – snow mountain agent) và nhóm virus Sapporo. Các virus khác có đặc điểm hình thái tương tự đều được gộp lại trong nhóm với tên gọi là các **virus có cấu trúc tròn nhỏ** (SRSV – small round structure viruses). Đây là các virus gây nhiễm đường dạ dày – ruột ở người.

*Caliciviridae* còn bao gồm các virus gây bệnh động vật như virus đỏ phỏng ở lợn (VESV – vesicular exanthema of swine virus), virus *calici* ở mèo (FCV – feline *calici* virus) và virus ở sư tử biển San Miguel (SMSV – San Miguel sea lion virus).

##### 24.1.1. Virus Norwalk

Virus có dạng hình cầu, bề mặt gồ ghề, đường kính 27nm, được phát hiện năm 1972, khi soi mẫu phân bệnh nhân viêm dạ dày – ruột dưới kính hiển vi điện tử. Bệnh do virus

*Norwalk* xảy ra quanh năm ở tất cả các nước. Bệnh lây qua đường phân – miệng. Nguyên nhân chính xảy ra các vụ dịch viêm dạ dày – ruột là từ thức ăn ôi thiu và nguồn nước không sạch.

**Triệu chứng lâm sàng.** Thời gian ủ bệnh 18 – 72 giờ, được đặc trưng bởi các triệu chứng như buồn nôn (ở trẻ em xuất hiện thường xuyên hơn so với người lớn), co thắt ở bụng kèm theo nôn mửa và tiêu chảy, sốt nhẹ ( $37,5 - 38^{\circ}\text{C}$ ) về đêm. Bệnh thường nhẹ, chỉ kéo dài 24 – 48 giờ rồi tự khỏi mà không cần điều trị. Một số trường hợp bị nôn và tiêu chảy nghiêm trọng (nhưng hiếm xảy ra) thì cần bù nước bằng đường uống và tiêm truyền tĩnh mạch.

### **Chẩn đoán**

Bằng phương pháp MD phóng xạ (RIA), ELISA và RT – PCR.

#### **24.1.2. Virus có cấu trúc tròn nhỏ**

Đây là virus *Calici* không điển hình, được xếp vào nhóm virus *Norwalk* (Norwalk like virus), là tác nhân quan trọng gây tiêu chảy. Virus có dạng hình cầu, đường kính 25 – 30nm, mép mờ và nhẵn, chứ không gồ ghề như virus *calici* điển hình. Nhóm virus này không có khả năng nhân lên trong tế bào mô nuôi cấy.

**Triệu chứng lâm sàng.** Thời gian ủ bệnh 24 – 48 giờ. Các triệu chứng đặc trưng như đau bụng, nôn mửa, sốt nhẹ. Bệnh kéo dài 48 – 72 giờ rồi tự khỏi mà không để lại hậu quả nào. Virus chủ yếu lây truyền qua đường phân – miệng, nhưng đôi khi cũng lây nhiễm trong bệnh viện hoặc ngoài môi trường do virus từ các đồng nôn hoặc virus bài tiết theo phân rồi từ đó nhiễm vào thức ăn, nước uống. Một số vụ dịch xảy ra là do ăn sò, ngao chưa chín, rau sống hoặc do nước nhiễm bẩn.

#### **24.2. GIỚI THIỆU VỀ VIRUS ASTROVIRIDAE**

*Astroviridae* là họ virus được phát hiện năm 1975, khi soi kính hiển vi điện tử các mẫu phân của bệnh nhân viêm dạ dày – ruột. Virus *astro* có ít nhất 7 serotyp đều gây bệnh tiêu chảy ở người, chủ yếu là trẻ em.

Virus có dạng hình cầu, với đường kính 20 – 30nm, viền ngoài nhẵn. Sở dĩ gọi là virus *astro* là vì ở giữa hạt virus có hố lõm nông, làm cho thuốc nhuộm đọng lại nên khi soi dưới kính hiển vi điện tử, thấy hình ảnh ngôi sao 5 – 6 cánh (*astro* – sao).

Genom là ARN đơn, (+). Rất khó phân biệt với SRSV.

**Triệu chứng lâm sàng.** Thời gian ủ bệnh 3 – 4 ngày. Triệu trứng là : đau bụng, nôn, sốt nhẹ, và tiêu chảy. Tiêu chảy có thể kéo dài từ 7 đến 10 ngày. Virus được thải ra ngoài theo đường phân.

**Chẩn đoán.** Cả virus *Calici* và *Astro* đều có thể chẩn đoán bằng kính hiển vi điện tử. Tất cả các virus này đều rất nhỏ nên rất khó nhận diện. Việc sử dụng kính hiển vi điện tử MD pha rắn (SPIEM) để quan sát các hạt virus đã được bao bằng KT được gắn vào lưới sẽ làm tăng độ nhạy của kính hiển vi điện tử nên có thể nhận ra virus dễ dàng hơn. Ở kính hiển vi điện tử, MD thông thường (IEM), virus phản ứng với KT ở pha lỏng nên các hạt virus kết tủa. Phương pháp này cũng có giá trị miễn là làm sao cho các hạt virus không bị quá nhiều KT che phủ. IEM cũng được dùng để xác định đáp ứng KT.

### 24.3. BỆNH VIÊM GAN E – VIRUS HỌ HEPERIDAE

Virus viêm gan E (HEV – hepatitis E virus), trước đây được xếp vào họ *Caliciviridae*, chi *Calicivirus*, tuy nhiên những nghiên cứu gần đây cho thấy chúng có nhiều đặc điểm khác với các virus *calici* điển hình nên Ủy ban Quốc tế Phân loại virus đã đề nghị xếp chúng vào một nhóm đặc biệt thuộc chi *Hepevirus*, họ *Hepeviridae*.

Virion HEV có dạng hình khối đa diện, đường kính 29nm, nhỏ hơn virus *Calici* nhưng lớn hơn virus *Picornia*. Bề mặt virus có cấu tạo phức tạp giống với các cấu trúc gai hình cốc của virus *Calici*.

Genom là chuỗi ARN đơn, (+) với các đặc điểm đặc trưng. Ví dụ, trình tự nucleotit và axit amin của chủng HEV Burma 82 không giống các virus khác. Genom dài gần 7200 nucleotit với mỗi đầu đều có một vùng ngắn không dịch mã (NTR). Đầu 5' có gắn mũ giống như hầu hết mARN ở eukaryota nhưng khác với đầu 5' của *Picornia* và *Calici* điển hình vì ở các virus này đầu 5' được gắn đồng hoá trị với protein VPg. Điều đó cho thấy quá trình sao chép và dịch mã của HEV được điều hoà theo một cơ chế khác với các virus *Calici* điển hình. Đầu 3' có gắn đuôi poly A.

Có ít nhất 3 khung đọc mở (ORF). ORF – 1 mã hoá cho protein phi cấu trúc và một số quyết định KN (epitop). ORF – 2 mã hoá cho các protein capsit chính và ít nhất một quyết định KN. ORF – 3 có chức năng còn chưa rõ, nhưng cũng mã hoá cho ít nhất một quyết định KN. Loại ORF này không tìm thấy ở virus *Calici* điển hình. Mặc dù ORF – 1 và ORF – 2 của HEV giống với của virus *Calici* về cấu tạo, cách sắp xếp và vị trí các gen nhưng không có một khung đọc ở đầu 3' giống như là của *calici* điển hình. Chức năng của các protein ở HEV còn chưa biết rõ.

**Vật chủ tự nhiên và thực nghiệm.** Người không phải là vật chủ duy nhất của HEV. KT kháng HEV còn được tìm thấy trong huyết thanh của khỉ *Rhesus*, khỉ mặt chó, chuột, lợn, gà... Mặc dù còn chưa biết là tất cả các động vật này có bị nhiễm HEV hay không hay do nhiễm một loại tác nhân khác nhưng về mặt tính KN thì tương tự như nhau. Ở một số lợn có KT kháng HEV khi phẫu thuật thấy có tiền sử bệnh viêm gan. Các thí nghiệm nhiễm HEV ở linh trưởng, đặc biệt là khỉ mặt chó, *Rhesus* và hắc tinh tinh đã làm xuất hiện virus, KN virus và KT trong mô gan.

### **24.3.1. Đặc điểm lâm sàng**

HEV là nguyên nhân gây viêm gan virus. Nhiễm virus có thể bùng phát thành dịch hoặc đơn lẻ. Viêm gan E bạo phát ít khi xảy ra ngoại trừ ở phụ nữ có thai, tỷ lệ chết lên đến 10 – 20%, đặc biệt cao nhất là ở tháng mang thai thứ 3.

Bệnh lây qua đường phân – miệng, nhất là do sử dụng nguồn nước nhiễm bẩn. Bệnh lưu hành ở các nước đang phát triển, nơi có điều kiện vệ sinh kém. HEV gây viêm gan cấp mà không chuyển thành dạng mãn tính. Hầu hết các trường hợp mắc ở mức trung bình và có thể tự giới hạn, rất khó phân biệt với các dạng viêm gan khác. Triệu chứng có thể là vàng da, đau bụng, buồn nôn, sốt và ngứa. Biểu hiện chủ yếu ở giai đoạn cấp là vàng da, nước tiểu xẫm màu, phân màu đất sét. Các dấu hiệu đặc trưng gồm sốt, đau bụng, gan to. Nhiễm HEV cận lâm sàng không bị vàng da.

### **24.3.2. Chẩn đoán**

Để chẩn đoán viêm gan E cấp có thể xác định KT IgM kháng HEV bằng phương pháp MD enzym. KN là polypeptit dạng thương mại chế từ các chủng Burma và Mexico. Cũng có thể xác định KT IgG hoặc IgA kháng HEV. Có thể xác định ARN của virus nhờ phản ứng PCR.

## Chương 25

# VIRUT RHABDO, HỌ RHABDOVIRIDAE

### 25.1. GIỚI THIỆU

*Rhabdoviridae* là một họ virus chứa ARN đơn, có vỏ ngoài, gây nhiễm ở động vật có xương sống hoặc thực vật.

Họ này gồm các tác nhân gây bệnh quan trọng như bệnh dại, viêm miệng.

Virion của virus *rhabdo* chứa 4 – 5 protein ký hiệu là L (large), G (glycoprotein), N (nucleocapsit), NS (non – structural) và M (matrix), 15 – 25% lipid (thành phần phụ thuộc vào tế bào vật chủ) và 3 cacbonhydrat.

Genom là một phân tử ARN sợi đơn, (–), dài, khối lượng phân tử  $3,5 - 4,0 \times 10^6$ . Trường thành bằng cách nảy chồi qua màng tế bào vật chủ. Các virus *rhabdo* bền ở pH 5 – 10 (không bền ở pH 3), nhưng lại mất hoạt tính nhanh khi đun nóng ở  $56^{\circ}\text{C}$ , dưới ánh sáng tử ngoại và trong dung môi hoà tan lipid.

– Các virus *rhabdo* ở động vật thường có hình viên đạn (hình trụ, một mặt dẹt, mặt kia tròn), kích thước  $170 \times 70\text{nm}$ . Virion chứa một nucleocapsit xoắn cấu tạo từ phức hệ protein N – ARN liên kết với protein L và NS và được bao bởi protein M. Toàn bộ phức hệ đó được gói trong một vỏ ngoài lipoprotein nhạy cảm với ete. Protein G hình thành những gai bề mặt dài 5 – 10nm. Các KT kháng protein G là KT trung hoà virus.

Các enzym khác nhau liên quan đến virion bao gồm : transcriptaza, proteinkinaza, các enzym gắn mũ đầu 5'.

Quá trình nhân lên của virus diễn ra trong tế bào chất.

Họ này gồm 2 chi là *Lyssavirus* và *Vesiculovirus*. Bao gồm một số thành viên như : virus sốt ngán của bò, virus gây bệnh Egtved, virus hoại tử tế bào tạo máu, virus gây bệnh đỏ cá măng, virus gây bệnh cua xanh, virus gây bệnh ở cá trắm cỏ, virus gây bệnh ở ruồi giấm, virus gây bệnh ở cá chép.

– Các virus *rhabdo* ở thực vật thường có hình que, đôi khi có hình viên đạn, kích thước  $200 - 350 \times 70 - 95\text{nm}$ . Tất cả đều chứa các protein L, M và NS, số khác có thêm các protein M1 và M2. Nói chung, mỗi thành viên chỉ nhiễm vào một hoặc một vài loài thực vật và được lan truyền bởi các vectơ đặc thù (rệp, châu chấu, bọ cày, bét).

Có hai phân nhóm của virus *rhabdo* ở thực vật (A và B), được phân biệt dựa trên vị trí lắp ráp virus, thành phần protein virion và hoạt tính transcriptaza in vitro.

+ Các thành viên thuộc phân nhóm A như virus gây hoại tử vàng rau riếp, virus gây vàng hoại tử súp lơ xanh, virus khảm lúa mì. Các virus này có cùng một đặc tính với *Vesiculovirus*, tức là các virion trưởng thành được tích lũy ở tế bào chất của vật chủ, chứa protein M và có hoạt tính transcriptaza để phát hiện thấy in vitro.

+ Các thành viên thuộc phân nhóm B. Ví dụ như virus gây lùn héo khoai tây (loài đại diện), virus gây lùn đốm cà chua. Chúng nảy chồi tại màng trong của màng nhân và tích lũy trong khoảng không gian ngoại vi của nhân, chứa các protein M1 và M2, hoạt tính transcriptaza in vitro thấp.

+ Các thành viên chưa được xếp vào nhóm virus thực vật bao gồm : Virus tiềm ẩn ở cà rốt, virus cổ linh lăng, virus gây úa gân cây mâm xôi, virus quần lá dâu tây (vector truyền bệnh là rệp). Virus khảm vàng lúa mạch, virus đốm vàng cần tây, virus khảm kê, virus khảm ngô, virus khảm yến mạch, virus gây vàng lúa trong thời gian ngắn, virus khảm lúa mì Nga, virus đốm vàng lúa mì (vector truyền bệnh là châu chấu), virus quần lá củ cải đường, virus vàng cà phê...

## 25.2. BỆNH ĐẠI

Bệnh dại (rabie có nguồn gốc từ tiếng Latinh, rabere nghĩa là điên dại) là bệnh viêm não cấp do virus từ nhiều loài động vật máu nóng khác nhau truyền cho người, nhưng thông thường nhất là chó, thông qua vết cắn hoặc các vết trầy xước. Bệnh dại được mô tả từ cách đây 2000 năm, nhưng đến nay vẫn còn là vấn đề nghiêm trọng, gây tỷ lệ tử vong cao cho người và gia súc. Mỗi năm trên thế giới có khoảng 35000 người chết vì bệnh dại. Ở Việt Nam, bệnh dại thường xảy ra vào các tháng mùa hè. Hiện tượng chó thả rông, không đeo rọ mõm và không được tiêm phòng rất phổ biến ở nước ta đã làm cho năm nào cũng có nhiều người chết vì bệnh dại.

Virus dại thuộc chi *Lyssavirus*, họ *Rhabdoviridae*, có hình đầu viên đạn, cấu trúc đối xứng xoắn, dài 180nm, đường kính 75nm.

Genom là chuỗi ARN đơn, (-), có dạng lượn sóng, được bao bọc bởi capsit. Capsit lại được bao bọc bởi vỏ ngoài với các gai bề mặt dài 10nm. Giữa capsit và vỏ ngoài là protein nền M.

Có 5 loại protein. Protein N (nucleocapsit), protein L và NS cùng cấu tạo ARN – polymeraza, protein nền (M) tạo lớp màng trong và protein G (glycoprotein gai bề mặt), chỉ có protein này kích thích tạo KT trung hoà.

Trong các tế bào thần kinh nhiễm virus dại, có chứa các *tiểu thể Negri*. Đó là các đám virus hoặc các đám thành phần của virus chưa được lắp ráp thành các hạt virus trưởng thành mà ta có thể quan sát được dưới kính hiển vi thường.

Virus bị bất hoạt nhanh ở 60°C. Ở 4°C có thể tồn tại trong vài ngày, hoặc lâu hơn khi bảo quản trong dịch mô não chứa 50% glyxerol ở 4°C. Có thể bảo quản virus lâu dài ở - 70°C hoặc đông khô.

Virus dại miễn cảm với dung môi lipid,  $\beta$  – propiolacton, các chất tẩy rửa và proteaza.

### 25.2.1. Quá trình nhân lên

Virus có thể nhân lên ở tất cả các động vật máu nóng, trong đó có thỏ, chuột lang, chuột cống trắng, chuột nhắt, đây là các động vật rất thuận tiện để phân lập virus. Virus

cũng nhân lên trong phôi gà, vịt và các tế bào nuôi cấy mô như tế bào thận chuột đồng mới đẻ, tế bào u nguyên bào thần kinh chuột, nguyên bào sơ phổi lươn bội người, nguyên bào sơ phổi gà và tế bào thần kinh khỉ vero, mặc dù sự biểu hiện CPE là rất yếu. Ba loại tế bào cuối cùng được sử dụng để sản xuất vắc xin kháng dại.

Trong mô thần kinh, virus gắn gai glycoprotein của mình vào thụ thể dành cho acetylcholin ở màng sau synap của các tế bào thần kinh cơ hoặc các thụ thể của các tế bào khác (tế bào không thần kinh).

Virus xâm nhập theo lối nhập bào, tiến hành phiên mã tạo ra 5 loại mARN nhờ ARN – polymeraza của virus để mã hoá cho 5 loại protein (N, L, NS, M và G). mARN (-) được sử dụng làm khuôn để tổng hợp chuỗi (+), rồi từ chuỗi (+) lại tổng hợp genom (-). Chỉ có các chuỗi (-) mới được lắp ráp vào virus mới. Protein M có vai trò quan trọng trong việc lắp ráp ARN, protein N liên kết với vỏ ngoài. Virion được tạo thành bằng cách nảy chồi nhờ mạng lưới nội chất của tế bào.

### 25.2.2. Đặc điểm lâm sàng

Thời gian ủ bệnh từ 4 – 12 tuần hoặc lâu hơn, có khi tới hàng năm, tùy thuộc vào vị trí vết cắn nông hay sâu, lượng virus nhiễm vào nhiều hay ít. Nếu vết cắn ở đầu hay cổ thì thời gian ủ bệnh ngắn hơn so với các vết cắn ở chân. Ngược lại, thời gian ủ bệnh của chó ngắn hơn, từ 10 – 14 ngày.

Virus dại có trong nước bọt của động vật bị nhiễm dại, xâm nhập vào trong cơ thể qua vết cắn hoặc trầy xước, chúng nhân lên trong cơ vân hoặc mô liên kết. Có thể lưu lại nhiều ngày, nhưng lúc đầu do số lượng ít nên không đủ gây ĐUMD. Khi số lượng đủ lớn, chúng sẽ di chuyển đến hệ thần kinh ngoại vi, rồi qua sợi trục đến hệ thần kinh trung ương. Sự nhân lên của virus dại trong não, đặc biệt là ở các vùng đồi thị và vùng dưới đồi là nguyên nhân dẫn đến viêm não.

Các triệu chứng gồm sốt, mệt mỏi, lo âu, giãn đồng tử, tiết nước bọt, dễ bị kích thích, sợ ánh sáng và tiếng ồn. Triệu chứng tiếp theo là co cứng và đau họng khi nuốt, do đó rất sợ nước. Bệnh nhân ở giai đoạn cuối đôi khi chỉ nhìn thấy nước cũng bị co thắt dẫn đến nghẹt thở mà chết. Khi đã lên cơn thì xem như đã cầm chắc cái chết.

### 25.2.3. Chẩn đoán

Việc chẩn đoán virus dại ở người bệnh còn sống rất khó khăn vì khó lấy bệnh phẩm và cũng không có ý nghĩa cho việc điều trị. Do đó, người ta thường chỉ tiến hành xét nghiệm trên tử thi hoặc trên động vật nghi bị dại. Các thủ tục bao gồm :

– *Tìm tiểu thể Negri*. Làm tiêu bản vết bôi mô não, nhuộm theo phương pháp Seller và Mann, soi kính hiển vi thường có thể thấy các tiểu thể Negri trong tế bào thần kinh sừng Amon, có kích thước 0,25 – 25µm, bắt màu eosin.

– *Phân lập virus*. Lấy bệnh phẩm mô não, nghiền kỹ, li tâm lấy nước nổi hoặc có thể lấy nước dãi, tiêm vào não chuột nhắt trắng 2 – 3 ngày tuổi. Sau 7 ngày, quan sát các triệu chứng như liệt mềm, co giật.

Có thể xác định KN bề mặt bằng phản ứng MD huỳnh quang hoặc tìm tiểu thể Negri trong tế bào não.

– *Xác định ARN* bằng RT – PCR.

#### **25.2.4. Điều trị**

Khi bị động vật cắn, kể cả động vật nuôi (chó, mèo) lẫn động vật hoang dại (cây, cáo, chó rừng, sóc dơi) đều phải rửa vết thương rất kỹ bằng xà phòng để loại nước bọt chứa virus. Nếu động vật nhốt lại được thì có thể làm test kháng thể huỳnh quang MD (dIFA) của mô não để xác định KN virus trong nước bọt, tuỷ sống hoặc não. Đồng thời theo dõi con vật trong vòng 10 ngày, nếu con vật không biểu hiện triệu chứng thì không cần thiết phải đi tiêm chủng. Đối với động vật hoang dại, do không thể theo dõi được nên việc tiêm chủng là bắt buộc. Mọi cách chữa trị của thầy lang đều không được công nhận vì không mang lại kết quả.

Vì thời gian ủ bệnh lâu nên việc tiêm vaccin và kháng thể MD trước khi xuất hiện triệu chứng luôn luôn đảm bảo thành công.

Vaccin dại là vaccin lâu đời nhất (chỉ sau vaccin đậu mùa). Chủng virus đầu tiên được tách ra từ bò dại được gọi là "*Louis Pasteur*". Người ta cho virus nhân lên trong phôi vịt hoặc não cừu và làm bất hoạt bằng  $\beta$  – propiolacton. Về sau, người ta cải tiến bằng cách cho nhân virus trong não chuột ỏ (2 – 3 ngày tuổi).

Mỗi lần chữa bệnh phải tiêm liên tiếp 21 mũi vào bụng, mỗi ngày một mũi với lượng lớn và rất đau đớn. Hiện nay, vaccin dại sản xuất được dùng tế bào lưỡng bội người nuôi cấy mô vào các ngày 0, 3, 7, 14 và 28 sau khi bị chó cắn. Ưu điểm của phương pháp này là không cần phụ thuộc vào động vật, giảm số lần tiêm còn 5 mũi, tuy nhiên giá thành đắt. Thuộc loại này còn có vaccin dùng tế bào vero lấy từ thận khỉ *Cercopithecus aethiops*.

Loại vaccin phòng dại mới được gọi là "*vaccin thế hệ hai*" được phát triển nhờ kỹ thuật tái tổ hợp ADN. Người ta gắn gen tái tổ hợp glycoprotein kháng nguyên của virus vào ADN của *E. coli* rồi nuôi vi khuẩn trong nổi lên men sau đó cô đặc, tinh chế, làm bất hoạt.



# HƯỚNG DẪN XỬ LÝ TRƯỜNG HỢP BỊ ĐỘNG VẬT CẢN

## I – CHÓ, MÈO NHÀ CẢN VÔ CỐ

### **1. Động vật bị nghi là mắc dại**

- Giết con vật để xét nghiệm xem có bị dại không.
- Tiêm chủng ngay vaccin và huyết thanh kháng virus dại.

### **2. Động vật không bị nghi là mắc dại**

- Quản lý và theo dõi sát sao chó mèo ít nhất 10 ngày. Nếu không mắc dại thì không cần tiêm chủng.
- Nếu xuất hiện triệu chứng dại, phải tiêm chủng ngay, vừa tiêm chủng vaccin vừa tiêm kháng huyết thanh kháng virus dại.

## II – ĐỘNG VẬT HOANG DẠI CẢN

Do không quản lý và theo dõi được nên cần xử lý ngay bằng cách rửa kỹ vết thương rồi tiêm chủng vaccin sau đó phối hợp tiêm kháng huyết thanh chống dại.

Ở Việt Nam, năm 1974 Viện Vacxin Nha Trang đã sản xuất được vaccin dại với tên thương phẩm là Rabivax – II. Đây là vaccin cổ điển được sản xuất từ não chuột ở 1 – 2 ngày tuổi, gây nhiễm bằng virus Pasteur – VP và làm bất hoạt hoàn toàn bằng  $\beta$  – propiolacton. Viện này cũng đã sản xuất huyết thanh kháng dại Anti – Rab, liều dùng tiêm bắp (không tiêm mõng) 40 IU/kg thể trọng.

Bệnh dại hiện nay vẫn còn đang là mối nguy hiểm cho con người. Do vậy, đàn chó mèo luôn phải được tiêm phòng và quản lý chặt chẽ.

## VIRUT RETRO, HỌ RETROVIRIDAE

### 26.1. GIỚI THIỆU

Virut *retro* bắt nguồn từ chữ *retro* tiếng Hy Lạp có nghĩa là ngược, vì trong quá trình nhân lên của chúng có sự phiên mã ngược. Là virut ARN nhưng khi nhân lên lại nhờ ADN trung gian. Đây là nhóm virut được quan tâm đặc biệt do nhiều lý do khác nhau :

- Là virut đầu tiên phát hiện thấy có khả năng gây ung thư.
- Có khả năng gây hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS), đang trở thành mối hiểm hoạ cho toàn nhân loại.
- Genom của virut gắn vào genom của tế bào chủ thông qua ADN trung gian. Lợi dụng đặc tính này có thể dùng virut làm vectơ đưa gen bình thường vào cơ thể thay cho gen bệnh. Quá trình này gọi là "*liệu pháp gen*" (gene therapy).
- Virut *retro* mang gen phiên mã ngược có thể sao ARN thành ADN. Enzym phiên mã ngược đang trở thành công cụ lợi hại trong kỹ thuật di truyền dùng để thiết lập ngân hàng cADN, tiến hành phản ứng RT – PCR trên mARN và xác định trình tự của axit nucleic bằng phương pháp sử dụng các dideoxynucleotit (phương pháp Sanger).

Ở chừng mực nào đó virut *retro* vừa giống virut ARN vừa giống virut ADN. Chúng cũng được xem như yếu tố di truyền nhảy (transposon) và có thể tương tự như thực khuẩn thể Mu.

Hiện tượng phiên mã ngược không phải chỉ có ở virut *retro* mà còn có ở cả virut viêm gan B (HBV) và virut khảm hoa lơ, nhưng khác ở chỗ các virut này chứa genom ADN.

Nếu ở vi khuẩn transposon (gen nhảy) có nguồn gốc từ ADN của bộ gen thì ở eukaryota phần lớn lại bắt nguồn từ ARN. Các ARN này cài xen vào bộ gen theo cách thức của virut *retro* nên gọi là *retrotransposon* hay *retroposon* và cũng mã hoá cho enzym phiên mã ngược. Như vậy, có hai loại retroposon một loại bắt nguồn từ ARN của tế bào và một loại bắt nguồn từ ARN của virut *retro*.

Retrotransposon tạo ra các hạt giống như virut nhưng chúng không thể chui ra mà chỉ nằm lại trong tế bào. Ở niêm vi khuẩn (*Myxobacteria*) và ở *E.coli* cũng phát hiện thấy enzym phiên mã ngược chuyển ARN thành nhiều đoạn ADN nhỏ (msDNA – multicopy small DNA). Enzym phiên mã ngược ở vi khuẩn được mã bởi một yếu tố di truyền ngắn gọi là *rettron*. Mặc dù nhiều đoạn ADN nhỏ được tạo thành nhưng chức năng của chúng vẫn còn chưa được rõ.

Virut *retro* có vỏ ngoài, đối xứng không nghiêm ngặt. Có nhiều loại protein. Ít nhất có hai protein vỏ ngoài và bảy protein trong, trong đó bốn là protein cấu trúc và ba là protein phi cấu trúc (enzym). Các enzym có trong virut bao gồm : Enzym phiên mã ngược, ADN – endonucleaza (integrase) và proteaza.

## 26.2. PHÂN LOẠI

Họ *Retroviridae* được chia thành ba họ phụ là : *Oncovirinae*, *Spumavirinae*, và *Lentivirinae*.

*Oncovirinae* gồm các đại diện gây khối u hoặc không gây khối u. Loại gây bệnh cho người là HTLV – 1 và HTLV – 2 (*Human T lymphotropic virus*) gây bệnh bạch cầu tế bào T. STLV (*Simian T lymphotropic virus*) là virus phân bố rộng rãi ở khỉ, gây u lympho ở linh trưởng và giống HLTV – 1 đến 90%.

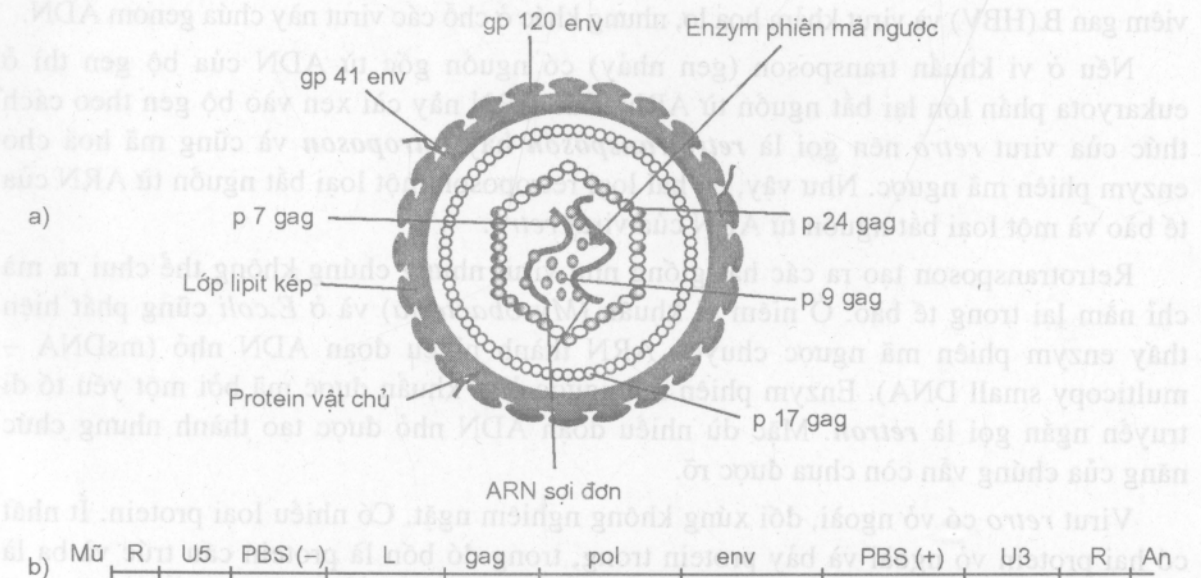
*Spumavirus* được phát hiện thấy ở một số loài động vật như mèo, linh trưởng nhưng không gây bệnh. Tên của virus bắt nguồn từ hiện tượng tạo bọt (spume) trong các tế bào nuôi cấy.

*Lentivirus* cũng là tên bắt nguồn từ hiện tượng gây nhiễm chậm (lent : chậm). Chúng bao gồm các virus gây thiếu máu do nhiễm trùng ở ngựa, thiếu máu do nhiễm trùng ở dê, virus gây thiếu hụt miễn dịch ở mèo và virus gây thiếu hụt miễn dịch ở người (HIV – 1, HIV – 2). Khi lai axit nucleic nhận thấy chúng tương đồng 40%. HIV – 2 và SIV (virus gây suy giảm miễn dịch ở khỉ) còn tương đồng đến 75%.

## 26.3. VIRUT RETRO

### 26.3.1. Genom của virus

Genom bao gồm hai phân tử ARN (+) giống nhau bắt cặp với phân tử tARN của tế bào nhờ cầu nối hydro. Mỗi sợi dài 8,5 – 9,5kb. Sau khi phiên mã được gắn mũ (7 – metylguanin tạo liên kết 5'P – 5'P) và đầu 3' được gắn đuôi polyA. Các đoạn này không được sao chép khi tổng hợp ADN. Mặc dù genom của virus *retro* rất giống với mARN, nên về nguyên tắc có thể hoạt động như là mARN nhưng trong thực tế chúng không hoạt động như vậy (hình 26.1).



Hình 26.1. a) Cấu trúc của virus *retro* ; b) Genom virus *retro* (HIV).

- Ở đầu hai phân tử đều có trình tự nucleotit giống nhau gọi là đoạn R không làm nhiệm vụ mã hoá (terminal redundancy).
- Đầu 5' của provirut có đoạn duy nhất U5 (sequence unique).
- Đoạn PBS (–) là vị trí gắn mồi (primer binding site) của mạch ADN (–) nằm gần U<sub>5</sub>. Mồi là tARN của vật chủ.
- L (leading sequence) trình tự dẫn đầu nằm cạnh PBS (–).
- Gen gag (group specific antigens) mã cho KN đặc hiệu nhóm, đó là các protein cấu trúc.
- Gen pol mã cho enzym dùng trong phiên mã ngược. Sản phẩm của gen pol có hoạt tính enzym khác nhau : polymeraza, ribonucleaza và endonucleaza. Endonucleaza có hoạt tính integraza hoặc lygaza để gắn xen ADN vào NST của tế bào.
- Các gen gag và pol nằm cạnh nhau tạo các gen liên kết gag – pol đọc mã khác với gen mã cho protein cấu trúc. Các gen này mã cho proteaza dùng để phân cắt polypeptit lớn (tiền thân) thành các protein khác nhau và các peptit.
- Gen env – các gen mã cho glycoprotein vỏ ngoài (envelope).
- P – vùng polypurin, có thể là vị trí gắn mồi để tổng hợp mạch ADN (+).
- U3 – Trình tự duy nhất nằm ở phía đầu 3' của mỗi mạch ADN của provirut.
- Cap – mũ ở đầu 5' được thêm vào sau khi phiên mã và không được sao chép khi tổng hợp ADN.
- An – đuôi polyA (dài 100 – 200 nucleotit) được thêm vào sau phiên mã và không được sao khi tổng hợp ADN.
- Các gen điều hoà phiên mã bao gồm :
  - + Gen tat (transactivator of transcription) mã cho protein p16 điều hoà sự kéo dài phiên mã. Thiếu protein này sự phiên mã sẽ kết thúc sớm.
  - + Gen rev mã cho protein rev (p19) điều hoà sự vận chuyển các ARN từ nhân vào tế bào chất, nhờ đó tổng hợp đầy đủ các protein cấu trúc.
  - + Gen vif (virus infective factor) mã cho protein p23 là yếu tố gây nhiễm, làm tăng khả năng nảy chồi giúp cho virut dễ dàng xâm nhập từ tế bào này sang tế bào khác. Nếu thiếu gen vif virut sẽ mất khả năng gây nhiễm.
  - + Gen nef (negative expression factor) mã cho yếu tố biểu hiện âm tính, đó là protein làm giảm biểu hiện của gen.

### **26.3.2. Chu trình nhân lên của virut *retro***

Đa số các nghiên cứu về chu trình nhân lên của virut *retro* được thực hiện ở lớp phụ *Oncovirinae* nhưng nói chung cũng giống với các virut *retro* khác (hình 26.2).



Quá trình này bao gồm các bước :

1. Hấp phụ và xâm nhập vào tế bào
2. Phiên mã ngược một trong hai sợi ARN để thành chuỗi ADN đơn bổ sung (cADN) tạo thành chuỗi lai ARN/cADN
3. Chuỗi ARN cũ bị thuỷ phân. Mạch cADN được dùng làm khuôn để tạo chuỗi ADN kép dạng thẳng với 2 đầu là các đoạn dài lặp lại (LTR).
4. Gắn xen ADN kép của virus vào NST của vật chủ.
5. Phiên mã tạo mARN và ARN genom. Dịch mã tạo protein sớm (polymeraza) và protein muộn (protein cấu trúc).
6. Lắp ráp trong tế bào chất (gân màng tế bào chất).
7. Nảy chồi, tạo vỏ ngoài rồi thoát ra khỏi tế bào.

Quá trình nhân lên của virus *retro* bắt đầu khi có sự tương tác giữa glycoprotein (gp) vỏ ngoài virus với thụ thể trên bề mặt tế bào nhiễm. Ví dụ ở HIV, quá trình xâm nhập vào tế bào xảy ra theo 3 bước : (1) Gắn gp120 với thụ thể CD4 của tế bào T<sub>H</sub>, tạo phức hợp gp120 – CD4. (2) Phức hợp này sau đó lại gắn với một thụ thể khác gọi là *chemokine* để loại bỏ gp120 ra khỏi virion. Ở các tế bào nhiễm khác nhau có thụ thể *chemokine* khác nhau. Ở tế bào T4 thụ thể này là CXCR4, còn ở đại thực bào và tế bào cơ trơn là CCR5. (3) Khi virion tiếp cận tế bào thì vỏ ngoài sẽ gắn với màng sinh chất thông qua gp41, tiến hành dung hợp và đẩy capsit vào tế bào chất, còn vỏ ngoài nằm lại bên ngoài. Ở tế bào tua, quá trình này chỉ gồm một bước : gp120 của HIV gắn vào thụ thể DC – SIGN trên bề mặt màng sinh chất, tiến hành dung hợp và đưa capsit vào tế bào chất. Tế bào tua bị nhiễm HIV cũng có thể đưa HIV vào tế bào T thông qua quá trình trình diện kháng nguyên.

– Đầu tiên tổng hợp sợi ADN (–). tARN của vật chủ làm nhiệm vụ mồi gắn vào vị trí PBS (–) (Primer binding site) nằm ở biên đoạn U5 phía đầu 3'. Tùy loại virus mà mồi có thể khác nhau. Đa số virus *retro* dùng mồi là tARN<sup>pro</sup>, virus gây khối u ở chuột và virus HIV lại dùng tARN<sup>lys</sup>. Ribonucleaza H phân giải sợi ARN cũ, để lại sợi cADN (–).

– Chuỗi ADN thứ hai là ADN (+) được tổng hợp trên khuôn mạch ADN (–) tạo thành chuỗi ADN kép dạng thẳng dài hơn chuỗi khuôn là do có sự lặp đoạn ở vùng U3 và U5 để sau đó tạo thành các đoạn dài lặp lại ở đầu mút của phân tử (LTR – long terminal repeats) (hình 26.2).

– LTR chứa hầu hết các tín hiệu điều hoà phiên mã, chứa một promoter, ở một số virus *retro* còn chứa một đoạn tăng cường (enhancer), các tín hiệu kết thúc phiên mã và tín hiệu để gắn đuôi polyA. Nhờ có LTR, virus xen được vào NST của tế bào giống như thể thực khuẩn Mu hay transposon ở vi khuẩn để trở thành provirus. Sự biểu hiện của gen virus được kích thích nhờ sự hoạt hoá các yếu tố phiên mã (transcription factors) của vật chủ khi gắn vào vị trí trong đoạn LTR.

– Một số bản sao ADN dạng thẳng thấm được vào nhân và gắn được vào NST vật chủ ở một vị trí ngẫu nhiên.

– Trước hoặc trong quá trình gắn xen, ít nhất phải có hai cặp bazơ bị loại khỏi mỗi đoạn LTR và một đoạn ngắn ADN của tế bào được lặp lại (duplication) sao cho virut được nằm kẹp giữa các đoạn ngắn lặp lại cùng chiều.

– Khi đã nằm trong NST của vật chủ, provirut có thể ở dạng tiềm ẩn tùy thuộc vào : vị trí gắn trên NST, sự hoạt động của promoter, trạng thái sinh lý của tế bào và sự có mặt hay thiếu vắng các chất điều hoà. Provirut cũng có thể phiên mã để tạo thành ARN genom và các mARN dùng trong quá trình tạo thành virut mới.

– Nhờ ARN – pol. II của tế bào, provirut phiên mã thành ARN. Bản phiên mã này lúc đầu có chiều dài xấp xỉ bằng phân tử ARN monomer, sau đó được gắn đuôi polyadenin ở đầu 3' và gắn mũ metylguanin ở đầu 5' sau đó tiến hành cắt nối (splicing).

– Các gen gag, pol và env mã cho các polyprotein. Protein do gen gag mã hoá bị proteaza phân cắt thành 4 hoặc 5 phân tử ngắn là thành phần của lõi virut. Gen pol biểu hiện cùng với gen gag (gen liên kết pol – gag) mã cho polyprotein tiền thân (pr180 gag – pol) (ví dụ ở virut gây ung thư bạch cầu ở chim), sau đó phân cắt nhiều lần nhờ proteaza của tế bào. Phức hợp protein thành thực có hoạt tính của enzym phiên mã ngược, ribonucleaza H và ADN – endonucleaza.

– Gen env mã cho protein thông qua mARN đã được cắt nối. Sản phẩm được phân cắt để loại bỏ peptit tín hiệu sau đó được gắn glucoza (glycosylation) rồi phân cắt tiếp tạo ra glycoprotein của vỏ ngoài. Glycoprotein vỏ ngoài có thể tiếp tục được tổng hợp cho đến khi tràn ngập vào thụ thể màng sinh chất để cạnh tranh không cho các virut khác gắn vào thụ thể này.

Khi protein virut tích lũy đến mức nhất định sẽ kết hợp với ARN để tạo nucleocapsit gắn màng tế bào chất rồi chui ra ngoài theo lối nảy chồi.

### **26.3.3. Sự lan truyền**

Tuỳ loại virut *retro* mà có thể lan truyền theo các con đường khác nhau.

– *Truyền ngang*. Do tiếp xúc trực tiếp thông qua nước bọt, qua côn trùng đốt, qua máu hoặc qua quan hệ tình dục hoặc qua sữa mẹ.

– *Truyền dọc*. Ví dụ virut *retro* ở chim có thể truyền qua trứng hoặc ở động vật có vú có thể truyền qua nhau thai vào bào thai.

Provirut cũng có thể coi là một đoạn NST và có thể được truyền qua tế bào con.

### **26.3.4. Môi tương tác di truyền**

Do hoạt động của enzym phiên mã ngược thiếu chuẩn xác nên virut *retro* không ổn định về mặt di truyền. Chúng rất dễ bị biến đổi thành các dạng khuyết tật hoặc các dạng tái tổ hợp với tần số cao. Ví dụ, tái tổ hợp có thể xảy ra giữa các genom khi các virut khác nhau cùng nhiễm vào một tế bào để tạo ra virut dị gen (heterogynous virus), trong đó hai sợi ARN monome thì mỗi sợi bắt nguồn từ một virut.

– Trong phiên mã ngược tái tổ hợp cũng xuất hiện theo cơ chế đối khuôn (copy – choice) nghĩa là cắt polymeraza khỏi mạch khuôn này để chuyển cho mạch khuôn khác hoặc chuyển các mạch ADN mới tổng hợp từ mạch khuôn này cho mạch khuôn khác để tạo phân tử tái tổ hợp.

– Tái tổ hợp cũng xảy ra giữa các axit nucleic của virus *retro* nhiễm từ ngoài vào với axit nucleic của virus có sẵn trong tế bào hoặc giữa axit nucleic của virus *retro* với axit nucleic của ký chủ. Cơ chế chính xác của tái tổ hợp này còn chưa rõ. Chúng có thể xảy ra theo cơ chế "copy – choice" hoặc theo cơ chế rút đứt rồi nối lại (breakage – and – reunion) theo đó các mạch đứt trao đổi với nhau rồi nối lại tạo thành phân tử tái tổ hợp. (Xem chương Di truyền virus).

– Việc gắn xen genom virus vào NST của ký chủ có thể dẫn đến sự sát nhập các gen của ký chủ vào genom virus, làm cho virus mất đi một số gen cần thiết cho quá trình nhân lên. Provirus khiếm khuyết này chỉ có thể nhân lên được khi có sự trợ giúp của các virus nguyên vẹn để bù cho các gen đã mất. Genom virus khiếm khuyết này có chứa một phần gen của tế bào và cũng có thể được bọc trong vỏ protein để tạo hạt virus không hoàn thiện (pseudotype). Khi nhiễm vào các tế bào khác virus này có thể đưa gen của tế bào mà chúng đã nhiễm lần trước vào tế bào mới.

### 26.3.5. Khả năng gây ung thư

Không phải tất cả nhưng nhiều loại virus *retro* có khả năng gây ung thư. Virus này có thể gây chuyển dạng tế bào, dẫn đến hình thành khối u. Sở dĩ gây được khối u vì virus mang gen ung thư (oncogen) mã cho protein gây chuyển dạng tế bào. Gen này được phát hiện thấy ở virus *Sarcoma Rous* và được gọi là gen src. Gen src mã cho photphoprotein mang hoạt tính kinaza. Enzym này gây photphoryl hoá protein và sự photphoryl hoá protein là cơ chế điều hoà sự hoạt động của protein ở eukaryota. Tùy thuộc vào protein mà sự photphoryl hoá có thể làm tăng hay giảm hoạt tính của nó. Gen chuyển dạng tương tự như src được tìm thấy ở nhiều tế bào ung thư người. Đó là gen tiền ung thư (proto – oncogen). Chúng không chỉ thấy ở động vật có vú mà còn ở cả côn trùng và tế bào nấm men. Điều đó gợi cho chúng ta thấy chúng có tầm quan trọng đặc biệt đến sự điều hoà sinh trưởng của tế bào.

Virus *retro* có khả năng gài các gen bình thường của tế bào vào genom của mình và biểu hiện đặc điểm của chúng, do vậy virus *retro* được xem là vectơ truyền gen từ tế bào này sang tế bào khác.

Trong công nghệ di truyền người ta có thể gắn các gen lạ vào virus để rồi sau đó gắn vào tế bào vật chủ thay cho các gen bệnh.

Sau đây là một số virus *retro* quan trọng và các bệnh do chúng gây ra.

## 26.4. VIRUS GÂY SUY GIẢM MIỄN DỊCH Ở NGƯỜI – HIV

Hội chứng suy giảm miễn dịch (AIDS – acquired immunodeficiency syndrome) được Donald Francis và cộng tác viên phát hiện vào 1981 – 1982 khi chứng minh có



mối quan hệ giữa trạng thái đột nhiên mất khả năng MD kèm theo sự phát triển các bệnh cơ hội và ung thư Kaposi ở những người đàn ông đồng tính luyến ái. Cũng vào thời kỳ đó, Robert Gello cho rằng nguyên nhân của AIDS là do virus *retro*. Năm 1982 Luck Montagnie ở Viện Pasteur – Paris đã phân lập thành công virus từ hạch lympho sưng của bệnh nhân đồng tính luyến ái và đặt tên là virus gây tăng sinh bạch cầu hạt (LAV – Lymphadenopathy Associated Virus). Cuối năm 1983, Gello và ctv lại phân lập được virus gây ung thư tế bào T ở người (HTLV – III Human T – cell leukaemia Virus) từ các bệnh nhân AIDS rồi sau đó chứng minh virus gây AIDS và LAV là giống nhau. Để tránh nhầm lẫn, Ủy ban quốc tế về virus đã đặt tên các virus này là HIV – virus gây suy giảm miễn dịch ở người (*Human Immunodeficiency Virus*). Hiện nay được biết có 2 loại HIV : HIV – I (mà trước đây gọi là HTLV – III hay LAV) là tác nhân chủ yếu gây AIDS và HIV – II tương tự như HIV – I nhưng ít nguy hiểm và ít lan rộng hơn.

Trải qua hơn hai thập kỷ kể từ khi phát hiện ra bệnh nhân AIDS đầu tiên, AIDS đã phát triển nhanh chóng ở khắp các châu lục và đã trở thành đại dịch gây nỗi kinh hoàng cho cả nhân loại. Theo chương trình phối hợp quốc tế về HIV/AIDS của Liên hợp quốc (UNAIDS), tính đến đầu năm 2004 có khoảng hơn 36 triệu người bị nhiễm HIV trong đó 22 triệu người đã chết. Bình quân mỗi ngày thế giới có thêm 16000 người nhiễm HIV. Phần lớn những người mới bị nhiễm đang ở lứa tuổi 15 – 24 và nguy cơ gây nhiễm HIV đối với phụ nữ và thanh niên đang tăng lên. Đa số những người nhiễm HIV ở các nước đang phát triển (95%) bao gồm các khu vực Nam Mỹ, Ấn Độ, châu Phi và Đông Nam Á. Tốc độ phát triển HIV ở Việt Nam rất nhanh chóng. Tính đến năm 2004 đã có 70000 người nhiễm HIV và hơn 6000 trường hợp tử vong do HIV. Cả 61 tỉnh thành đều có người bị bệnh. Nhiễm HIV không chỉ tập chung ở các thành phố lớn mà còn lan sang cả vùng sâu, vùng xa, vùng đồng bào dân tộc thiểu số.

#### 26.4.1. Virus HIV

**Nguồn gốc virus HIV.** Nhiều người cho rằng HIV bắt nguồn từ một loài khỉ sống trong rừng châu Phi, tuy nhiên cũng có người lại cho rằng AIDS không phải ra đời từ các thành phố hay do tiếp xúc với một loài khỉ nào đó. Chiếm nơi của nó nằm ngay trong các ngôi làng ở châu Phi (Sudan hay Zaire) và hiện hữu tại đó từ rất lâu nhưng không có cơ hội lan rộng. Dịch AIDS chỉ bộc phát khi có những thay đổi lớn về sinh thái, sự di dân,... Do con đường lây nhiễm đa dạng lại chưa có thuốc chữa hữu hiệu nên chúng nhanh chóng lan rộng ra khắp thế giới.

**Mô tả hình thái và cấu trúc.** HIV có dạng hình cầu, kích thước 100 – 120nm. Vỏ ngoài có cấu tạo từ lớp lipid kép với các gai glycoprotein. Mỗi gai có hai tiểu đơn vị glycoprotein có khối lượng 41kDa ký hiệu là gp41 cắm xuyên màng lipid kép và glycoprotein có khối lượng 120kDa (gp120) gắn với gp41 nhờ cầu nối disulfua tạo thành gp160. Phía trong vỏ ngoài có cấu trúc hình cầu được cấu tạo từ protein có khối lượng 17kDa nằm giữa vỏ ngoài và lõi. Bên trong là vỏ capsit hình trụ cấu tạo bởi protein có khối lượng 24kDa (p24). Trong cấu trúc hình trụ là hai sợi ARN (+), protein lõi (P7 và P9) và enzym phiên mã ngược (hình 26.1).

**Phương thức lan truyền HIV.** Có 3 con đường truyền chính :

– Lan truyền qua đường tình dục đồng giới và khác giới, trong đó nam truyền cho nữ cao hơn nữ truyền cho nam.

– Qua đường máu và các sản phẩm từ máu, bơm tiêm, tiêm chích ma túy, xăm mình, ghép tạng đã bị nhiễm HIV.

– Truyền từ mẹ sang thai nhi qua nhau thai hoặc qua sữa mẹ.

HIV không truyền qua côn trùng và nước bọt trừ khi miệng bị viêm.

**Khả năng lây bệnh**

1. Các quần thể tế bào bị HIV tấn công bao gồm :

– Các tế bào lympho T hỗ trợ ( $T_H$ ) có thụ thể  $CD4$  đặc hiệu với gp120

– Tế bào đơn nhân, đại thực bào và các tế bào tương tự, chẳng hạn tế bào tua (ở da và niêm mạc (Langerhans), ở hạch lympho), tế bào thần kinh đệm (microglia) của hệ thần kinh trung ương. Các tế bào này có thụ thể tương tự  $CD4$ . Khi bị nhiễm HIV chúng không bị chết mà ở dạng tiềm ẩn.

Các tế bào cơ trơn, ví dụ các tế bào ở thành động mạch.

2. Ở virus chính là mô lympho. Virus nhân lên liên tục trong các tế bào kể trên, thậm chí ở giai đoạn đầu không thấy biểu hiện triệu chứng.

3. Giai đoạn đầu nhiễm virus trong máu : Lúc đầu virus nhân lên chậm. Tuy tổng số tế bào  $T\ CD4^+$  giảm nhưng số lượng tế bào  $T\ CD4^+$  bị nhiễm virus trong hệ tuần hoàn tăng lên. Sau 5 – 10 ngày bị nhiễm có thể phát hiện thấy KN p42 trong máu. Sau 10 – 20 ngày lượng virus trong máu (viremia) đạt đỉnh cao và tiếp tục cao cho đến khi xuất hiện KT đặc hiệu (thời kỳ biến đổi huyết thanh). Sau khi xuất hiện KT là có thể xác định genom virus trong máu nhờ kỹ thuật PCR.

4. Giai đoạn không biểu hiện triệu chứng. Thời gian ủ bệnh có thể khác nhau (từ 10 – 15 năm) tùy thuộc người bệnh. Trong thời kỳ này hệ thống MD ít nhiều đã ngăn cản sự nhân lên của virus.

– KT trung hoà kháng gp120 và gp41. Ở bệnh nhân thiếu KT trung hoà, việc chuyển thành AIDS nhanh chóng hơn, tuy nhiên KT không ngăn cản được sự phát triển tiếp theo của bệnh.

– KT có trong phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc KT (ADCC). KT này vừa phản ứng với KN gp160 trên bề mặt tế bào nhiễm vừa phản ứng với tế bào NK, thu hút tế bào nhiễm để tế bào NK tiêu diệt.

Một số tế bào T độc ( $T_c$ ) có thể nhận mặt KN protein do các gen gag, env, nef và pol mã hoá.

5. Ức chế miễn dịch

– Sự hoạt hoá tế bào T và sự giảm liên tục số lượng tế bào  $T\ CD4$ .

Sự hoạt hoá tế bào T thúc đẩy sự nhân lên của virus do các nguyên nhân khác nhau :

- + *Nhiễm kèm*. Đại thực bào và tế bào  $CD_4^+$  có thể được hoạt hoá do có sự nhiễm kèm (ví dụ như nhiễm da liễu).
- + *Siêu KN (superantigen)* : Một số thành phần của virus hoạt động như một siêu KN. Khi tương tác trực tiếp với vùng V của thụ thể tế bào T (vùng biến đổi trên chuỗi  $\beta$  của TCR) sẽ hoạt hoá tế bào T mà không cần phải chế biến trước.
- + *Hoạt hoá tế bào tua gần HIV*. Tế bào tua nằm dưới niêm mạc và mô lympho có thể gắn với HIV và vì thế không bị nhiễm. Sự hoạt hoá tế bào tua đã gắn HIV sẽ làm cho các tế bào này cụm lại và được coi là dấu hiệu đã bị nhiễm HIV.
- + *Sử dụng cocain*. Khi thêm một lượng nhỏ cocain vào tế bào đơn nhân đã nhiễm HIV trong nuôi cấy mô thì thấy virus tăng cường nhân lên, có lẽ là do tăng cường tổng hợp yếu tố  $\beta$  – là yếu tố biến đổi sinh trưởng của tế bào đơn nhân. Điều này giải thích tần số chuyển thành AIDS cao ở những người sử dụng ma túy.
- + *Yếu tố hoại tử ung thư (TNF)* và interleukin – 6 (IL – 6) khởi xướng sự nhân lên của HIV trong tế bào đơn nhân, còn  $IFN.\alpha$  thì hoạt hoá để virus nhân lên trong các tế bào limpho.  $INF - \alpha$  cảm ứng tổng hợp protein gắn vào yếu tố nhân kB (NFkB) ở vùng LTR của genom virus. Việc gắn này hoạt hoá sự biểu hiện gen virus. Đại thực bào nhiễm HIV có thể giải phóng một lượng lớn TNF –  $\alpha$  và IL – 6 để cảm ứng sự biểu hiện HIV.

– *Nhiễm virus trong máu (viremia)*. Sự nhân lên mạnh mẽ của virus dẫn đến làn sóng thứ hai của nhiễm virus máu hơn là trong vòng 14 tháng trước khi biểu hiện triệu chứng AIDS. Làn sóng viremia trùng với thời điểm giảm số lượng KT, đặc biệt là KT chống protein p24. Ở giai đoạn cuối cùng cả hiệu giá KT lẫn viremia đều giảm, có lẽ là do sự giảm mạnh quần thể tế bào  $CD_4^+$ .

– Sự giảm số lượng lympho T là do sự nhân lên của virus gây chết tế bào T và do hiện tượng apoptosis (hiện tượng tế bào chết theo chương trình) sự liên kết giữa thụ thể  $CD_4$  và gp120 đã kích thích quá trình apoptosis. Sự kích thích KN của tế bào T nhiễm virus cũng có thể gây nên hiện tượng này.

– Sự giảm tế bào T do tạo thành hợp bào (syncytium) khi gp120 gắn lên màng tế bào T sẽ bắt đầu sự sát nhập màng của tế bào có thụ thể  $CD_4$  đã nhiễm cũng như không nhiễm virus (theo kiểu dung hợp), tạo điều kiện cho virus đi từ tế bào này sang tế bào khác và do đó làm giảm số lượng tế bào T. Sự xuất hiện hợp bào thường là dấu hiệu của nhiễm HIV ở giai đoạn cuối và nhanh chóng chuyển sang giai đoạn AIDS.

– Sự giảm tế bào T do đáp ứng miễn dịch. Khi glycoprotein của virus xuất hiện trên màng tế bào T đã nhiễm lập tức bị tấn công bởi tế bào T độc ( $T_c$ ) hoặc bị tấn công theo phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc KT (ADCC).

Sự tích lũy ADN tự do của virus trong sinh chất của tế bào T nhiễm cũng kích thích sự nhân lên của virus và gây chết tế bào. Virus cũng có thể nhiễm vào cả tiền tế bào T trong tuyến ức dẫn tới làm giảm số lượng tế bào T trưởng thành.

– Cơ chế thoát khỏi ĐU'MD. Mặc dù số lượng các tế bào chịu trách nhiệm miễn dịch bị giảm nghiêm trọng nhưng ở một số bệnh nhân vẫn thấy tăng đáp ứng miễn dịch thể dịch và còn tăng nữa ở giai đoạn AIDS.

- + HIV thoát khỏi tác động của ức chế miễn dịch là do chúng gắn xen vào NST của tế bào chủ.
- + Do hoạt động của enzym phiên mã ngược có nhiều sai sót nên tần số đột biến ở HIV rất cao. Đột biến ở vùng epitop của gp120 sẽ giúp cho virus tránh được sự nhận diện của KT hình thành ở giai đoạn sớm.
- + Cũng như đối với các virus khác, hiệu quả của đáp ứng miễn dịch thể dịch bao giờ cũng kém hơn so với đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào. Tuy nhiên, do tế bào T bị tấn công mạnh nên đáp ứng miễn dịch tế bào cũng bị hạn chế.

Ở một số ít người tuy bị nhiễm HIV nhưng không tiến triển thành AIDS. Điều đó có thể giải thích do đã bị nhiễm virus khuyết tật, do tế bào đích thiếu các thụ thể cần thiết cho virus nhân lên (CXCR4 và CCR5) hoặc do cơ thể có hệ miễn dịch đặc biệt.

#### **26.4.2. Biểu hiện lâm sàng**

Sau một thời gian dài không biểu hiện triệu chứng, 80 – 100% bệnh nhân sẽ chuyển sang dạng có triệu chứng và sau đó 50 – 100 % bệnh nhân phát triển thành AIDS.

Năm giai đoạn nhiễm HIV đã được xác định :

**Giai đoạn 1.** Đây là giai đoạn sơ nhiễm hay giai đoạn cửa sổ. Sốt cấp nhất thời liên quan đến biến đổi huyết thanh.

Thời kỳ ủ bệnh ở giai đoạn này thường kéo dài 2 – 4 tuần. Trong máu xuất hiện virus (viremia) và chưa có KT. Người bệnh thường bị sốt, viêm họng, nổi hạch, nhức đầu, khó chịu, phát ban. Triệu chứng này thấy ở 50 – 95% bệnh nhân nhưng không biểu hiện dấu hiệu đặc trưng, nên khi chẩn đoán dễ bị nhầm với các bệnh khác. Sự có mặt HIV trong máu được khẳng định thông qua xác định ARN virus bằng kỹ thuật PCR. KT kháng gp120 và gp41 xuất hiện sớm. KT kháng p24 xuất hiện sau 6 tuần. Do vậy đối với các bệnh nhân "âm tính" cần xác định KT sau 6 tuần.

**Giai đoạn 2.** Nhiễm HIV không kèm theo triệu chứng.

Nhiều bệnh nhân khi xét nghiệm huyết thanh dương tính nhưng không biểu hiện triệu chứng hoặc biểu hiện rất nhẹ như nhức đầu và nổi hạch. Lượng tế bào T  $CD_4^+$  giảm là biểu hiện rõ nhất của nhiễm HIV. Tuy nhiên, lượng tế bào T  $CD_4^+$  không giống nhau ở mỗi người, do đó cần xác định nhiều lần. Hơn nữa lượng tế bào T  $CD_4^+$  không hoàn toàn tỷ lệ thuận với mức độ trầm trọng của bệnh. Ở một số người, tuy lượng tế bào

T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> thấp nhưng không biểu hiện triệu chứng, một số người khác có lượng tế bào T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> cao nhưng lại biểu hiện triệu chứng.

– KN p24 tăng lên trong máu phản ánh mức độ nhân lên của virus mà hệ thống bảo vệ của cơ thể không kiểm soát được.

– Mức độ nhiễm cũng được thể hiện thông qua sự có mặt của nhiều loại phân tử hoà tan trong huyết thanh, có khả năng hoạt hoá bạch cầu, ví dụ như  $\beta_2$  – microglobulin, thụ thể hoà tan IL – 2 và CD8 hoà tan (chỉ do tế bào T CD<sub>8</sub><sup>+</sup> tổng hợp), neopterin (được tạo thành do hoạt hoá tế bào đơn nhân). Do vậy, đối với các bệnh nhân không biểu hiện triệu chứng cần phải kiểm tra lại không chỉ đối với việc giảm số lượng tế bào T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> mà còn phải xem xét việc tăng liên tục các phân tử hoà tan đặc trưng do sự nhiễm HIV có triệu chứng tiến triển chậm.

### **Giai đoạn 3. Nhiễm HIV có triệu chứng giai đoạn sớm.**

Việc chuyển giai đoạn từ không triệu chứng sang có triệu chứng thể hiện thông qua sốt, vã mồ hôi về đêm, tiêu chảy mãn (do nhiễm virus ở màng nhầy ruột), nổi hạch (chỉ thấy ở một số người) và đau đầu.

Ung thư Kaposi có thể xuất hiện sớm.

Bắt đầu xuất hiện các bệnh cơ hội, đặc biệt là candidoz (do *Candida albicans*) nơi miệng, tăng bạch cầu niêm mạc miệng, nhiễm trùng đường hô hấp (trên và dưới) và viêm quanh răng (nha chu).

### **Giai đoạn 4. Nhiễm HIV có triệu chứng giai đoạn muộn. Khi số lượng tế bào**

T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> càng giảm thì nguy cơ bệnh cơ hội càng tăng. Ví dụ, khi giảm xuống 200 tế bào/ml dễ bị viêm phổi và bệnh liên quan tới não do *Toxoplasma*. Khi giảm còn 100 tế bào/ml dễ bị nhiễm hỗn hợp *Mycobacterium avium* – *intracellulare* hoặc CMV, phát triển *Candida* thực quản, viêm phổi do herpes khi cơ thể đã suy kiệt. Việc giải phóng TNF là dấu hiệu bước vào giai đoạn AIDS tiến triển và cơ thể đã kiệt sức.

### **Giai đoạn 5. Nhiễm HIV giai đoạn tiến triển**

Lượng tế bào T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> giảm chỉ còn 50 tế bào/ml làm mất hoàn toàn khả năng MD. Ở giai đoạn này có thể xuất hiện tất cả các loại nhiễm trùng cơ hội.

Các biểu hiện của AIDS bao gồm :

- Nhiễm trùng cơ hội.
- Hội chứng suy kiệt tiến triển ở người lớn nhưng tốc độ suy kiệt lại diễn ra chậm ở thanh thiếu niên.
- Với bệnh nhân AIDS là thanh thiếu niên thì các nhiễm trùng thường xuyên không được xem là nhiễm trùng cơ hội, ví dụ viêm phổi do vi khuẩn tái nhiễm hoặc lao phổi.
- Một số ung thư như Kaposi, u lympho được coi là đặc trưng của AIDS.

- Các bệnh tâm thần như bệnh não (giảm trí nhớ), bệnh viêm chất trắng não.
- Viêm phổi kẽ mô lympho.

#### **Các bệnh cơ hội bao gồm :**

- *Bệnh do động vật đơn bào và ký sinh.*
  - + Tiêu chảy do *Cryptosporidium* spp. Do tổn thương tiêu tràng gây tiêu chảy liên tục nhiều tháng dẫn tới suy kiệt rồi chết.
  - + Viêm phổi do *Pneumocystis carini*. 65% bệnh nhân AIDS mắc bệnh này, có thể kèm theo u lympho mô dưới da (Sarcoma kaposi).
  - + Nhiễm giun ngoài đường tiêu hoá gây viêm phổi, viêm màng não hoặc rải rác toàn thân.
  - + Nhiễm *Toxoplasma gondii* gây viêm phổi, viêm màng não.
- *Bệnh nấm*
  - + Nhiễm *Candida albicans* gây viêm thực quản, nhiễm ở miệng tạo màng trắng ở lưỡi.
  - + *Penicillium marneffe* gây nhiễm lan toả ở da, phổi, đường tiêu hoá, nhiễm máu và nhiều cơ quan khác.
- *Các bệnh nhiễm vi khuẩn*
  - + Nhiễm lao : từ lao phổi đến lao tản mạn đường máu.
  - + Nhiễm *Mycobacterium avium* không điển hình (chủng ngoài lao) rải rác.
- *Nhiễm virus*
  - + Nhiễm virus CMV (Cytomegalovirus). Nhiễm đường tiêu hoá, hô hấp hoặc thần kinh trung ương.
  - + Nhiễm *Herpes simplex* hay gặp ở quanh miệng, bộ phận sinh dục, hậu môn, tạo ổ loét.
  - + *Herpes zoster* (bệnh zona) gây đau rát, gặp ở nhiều vùng hai bên mắt, liên sườn, dưới lưng, trên cánh sườn.
- *Các bệnh ung thư*
  - + Sarcoma Kaposi là u ác tính có liên quan đến AIDS nhiều nhất, gây tổn thương màu đỏ hồng hoặc đỏ tía, nổi thành u cục ở trên da, không đau, cứng và lan rộng. Có thể gặp ở bất cứ nơi nào trên da, ở niêm mạc mũi, trong vòm họng. Ít gặp ở tứ chi, không có ở lòng bàn tay, chân. Sarcoma Kaposi được coi là bệnh chỉ thị của AIDS.
  - + U lympho giới hạn ở não. Cũng là u ác tính khu trú ở não, gây biến đổi nhân cách, co giật.

#### **26.4.3. Chẩn đoán**

Kỹ thuật khá nhạy và đặc hiệu được dùng nhiều để chẩn đoán HIV hiện nay là MD huỳnh quang và Western blot.

**26.4.3.1. MD huỳnh quang.** Cho phép phát hiện KT kháng HIV trong huyết thanh. KN lấy từ tế bào lympho nuôi cấy mô nhiễm HIV.

– Ở giai đoạn đầu mới bị nhiễm nếu xác định KT kháng HIV bằng MD huỳnh quang sẽ không thuận tiện mà cần phải đợi sau hai tháng hoặc ở hầu hết bệnh nhân thì phải đợi sau 5 – 8 tháng thì mới xác định được KT, do vậy thời kỳ đầu có thể lựa chọn các phương pháp khác như :

+ Xác định sự có mặt của virus trong máu (viremia) bằng kỹ thuật RT – PCR.

+ Xác định KN p24 bằng phương pháp MD enzym cải tiến, trong đó xử lý bằng axit để phá hủy phức hợp MD nhằm giải phóng KN.

– Ở giai đoạn muộn việc nghiên cứu huyết thanh có thể cho kết quả âm tính giả vì hiệu giá KT giảm do virus mới được tạo thành nhiều nhờ giảm các tế bào của hệ thống MD.

– Không dùng phương pháp xác định KT để chẩn đoán nhiễm HIV ở trẻ sơ sinh vì trong máu trẻ đã có sẵn KT IgG do mẹ truyền và KT có thể tồn tại đến một năm thậm chí lâu hơn, do vậy cần dùng các phương pháp khác như :

Xác định KN p24 cho kết quả dương tính 85 – 95% ở trẻ sau 4 tháng tuổi. Nếu nhỏ hơn sẽ thiếu chính xác.

Xác định IgA đặc hiệu trong huyết thanh và trong nước tiểu. IgA được tạo thành trong bào thai và không được truyền từ mẹ sang con nên hiệu giá trong huyết thanh là thấp. IgA tiết không có khả năng tuần hoàn. Sau 3 tháng tuổi mới có hiệu giá thực sự. Ở một số trường hợp nếu xác định thấy dương tính có thể là do một phần nhỏ IgA của mẹ truyền cho con qua nhau thai hoặc bào thai và phản ứng với kháng nguyên HIV hoà tan do mẹ truyền qua nhau thai.

**26.4.3.2. Western Blot** là phương pháp thường dùng để xác định KT trong huyết thanh. Xét nghiệm cho kết quả dương tính khi phát hiện thấy KT kháng p24, p31, gp41, gp120.

#### **26.4.4. Điều trị**

**Hoá trị liệu.** (Xem thêm chương các biện pháp chống virus). Các thuốc dùng cho bệnh nhân nhiễm HIV, được xếp theo cơ chế tác dụng :

##### *a) Các chất ức chế enzym phiên mã ngược*

– Zidovudin (ZDV) tên cũ là azidotimidin (AZT) AZT có thể làm giảm lượng virus trong máu do đó làm giảm sự thiếu hụt tế bào T CD<sub>4</sub><sup>+</sup>. AZT thường được dùng cho bệnh nhân có lượng tế bào CD<sub>4</sub><sup>+</sup> > 500/ml, cho phụ nữ có thai, cho trẻ sơ sinh bị nhiễm virus qua mẹ, cho người nghi là bị nhiễm ngẫu nhiên (do tiêm chích ma túy hay do bị xâm phạm tình dục).

Sử dụng lâu dài cho hiệu quả thấp là do virus đã kháng AZT (ví dụ đột biến trong gen RT). Phản ứng phụ có thể xuất hiện ở 40% bệnh nhân như xuất huyết, giảm bạch cầu trung tính. Khi có nguy cơ biến tính cần giảm liều lượng và dùng thêm thuốc phụ

để ngăn ngừa sự ức chế tạo máu (ví dụ dùng trimetoprim và sulphametoxazol) hoặc thay hẳn các chất chống virus khác.

- Zalcitabin (ddC) được sử dụng khi virus đã kháng AZT hoặc cho bệnh nhân bị dị ứng với AZT. Thuốc này có thể gây phản ứng phụ nghiêm trọng như viêm trực tràng ngoại biên giác quan vận động và viêm tụy.

- Didanozil (ddI) được dùng để điều trị bệnh nhân cận lâm sàng và có thể kéo dài thời gian sống.

- Stavudin (d4T) ức chế enzym RT giống như AZT nhưng ít độc hơn. Mặc dù đôi khi cũng có thể độc cho gan hoặc thận.

- Nevirapin là chất kết thúc chuỗi nucleozit gắn vào màng kỵ nước của enzym RT ở vị trí khác với vị trí gắn của các chất ức chế. Nhờ thế các chủng HIV dù kháng lại các chất ức chế enzym RT vẫn bị miễn cảm với nevirapin.

#### *b) Các chất tương tác với protein điều hoà của HIV.*

- Hiện nay đang thử nghiệm các hợp chất gây bất hoạt các sản phẩm của các gen điều hoà Tat và Rev.

- Dùng vectơ là virus *adeno* mã cho đoạn ARN đối nghĩa (RNA – antisense) gắn vào vùng TAR (nơi mà protein Tat sẽ gắn) do đó ức chế sự nhân lên của virus.

*c) Các chất ức chế proteaza.* Ví dụ saquinavir, ritonavir và indinavir là các peptit tổng hợp, không bị phân giải và có thể gắn vào trung tâm hoạt động của proteaza của HIV, làm mất chức năng của proteaza. Các chất này thường được phối hợp với các chất ức chế enzym RT.

*d) Liệu pháp phối hợp.* Việc sử dụng phối hợp các loại thuốc có cơ chế tác dụng khác nhau theo kiểu pha rượu "cocktail" có thể ngăn cản tình trạng kháng thuốc đang diễn ra nhanh chóng ở virus. Ví dụ, khi phối hợp hai hay nhiều chất ức chế enzym RT có thể giảm tính kháng thuốc của các chủng do có sự đột biến nhiều nơi trong gen RT. Phối hợp hai hay nhiều chất tác dụng vào các khâu khác nhau của chu trình nhân lên có thể làm giảm hẳn tính kháng thuốc của virus. Khi sử dụng phối hợp sẽ cho phép dùng liều thấp và do đó giảm phản ứng phụ.

#### *e) Liệu pháp dự phòng*

Việc ngăn chặn bội nhiễm luôn đóng vai trò quan trọng trong điều trị HIV.

- Dự phòng viêm phổi do *Pneumocystis carinii*.

- Thường xuyên dùng trimetoprim – sulphametoxazol để phòng bệnh do *Toxoplasma*, *Nocardia*, các bệnh tiêu chảy, hô hấp do vi khuẩn. Dapsone và pentamidin là thuốc dự trữ dành cho bệnh nhân miễn cảm với trimetoprim và sulphametoxazol.

- Dự phòng viêm màng mạch võng mạc thường dùng foscarnet và ganciclovir.

- Dự phòng lao do *Mycobacterium tuberculosis* và lao thông thường nên dùng isoniazid. Dự phòng bằng vaccin (xem chương "Các biện pháp chống virus").



#### 26.4.5. Trách nhiệm và lòng nhân ái

Cách đây hơn hai thập kỷ, khi phát hiện ra HIV ít ai có thể dự đoán rằng chúng sẽ lan tràn khắp châu lục gây thảm họa cho cả thế giới. Ngày nay, tất cả các Quốc gia đều phải đối mặt với HIV/AIDS, nhưng đặc biệt là ở các nước đang phát triển thì bệnh này lại đang hoành hành rất dữ dội. Nghèo đói và dân trí thấp đã tiếp tay cho AIDS, làm băng hoại xã hội, phá huỷ các thành quả nhiều năm của mỗi quốc gia.

Hơn lúc nào hết, cộng đồng thế giới phải nhận thức rõ mức độ nghiêm trọng của AIDS để có hành động tích cực hơn cứu lấy thế giới. Mỗi thành viên trong xã hội phải đồng tâm hiệp lực trong đấu tranh chống AIDS.

HIV không lây qua đường ăn uống và các vật dụng hàng ngày, do đó bệnh nhân AIDS vẫn có thể chung sống trong gia đình và hoà nhập với cộng đồng. Không nên kỳ thị và phân biệt đối xử với họ, trái lại cần lôi kéo họ tham gia vào cuộc đấu tranh chung và giúp họ tận dụng quãng đời còn lại để sống sao cho có ích, góp phần phục vụ gia đình và xã hội. "Cùng chung sống và được yêu thương" là ước nguyện của họ và cũng là thông điệp gửi tới mọi người.

### 26.5. VIRUT UNG THƯ BẠCH CẦU TẾ BÀO T Ở NGƯỜI

Virut gây ung thư bạch cầu tế bào T ở người (*Human T – cell leukaemia lymphoma*), đôi khi còn được gọi là virut hướng lympho T (*Human lymphotropic virus*) bao gồm nhiều loại, nhưng thường quan tâm đến hai loại chính là HTLV – I và HTLV – II.

HTLV – I là bệnh địa phương ở miền Nam Nhật Bản, vùng Caribê, Malanesia, vùng nam Sahara châu Phi và Trung, Nam Mỹ. Tỷ lệ mắc ở người lớn là 5 – 27%. Ở Mỹ HTLV – I và II chiếm 0,025% ở người cho máu, 7 – 49% ở người tiêm chích ma túy.

HTLV có khả năng gây ung thư tế bào T ở người nhưng theo một cơ chế khác với các thành viên khác của virut *retro*. Chúng không có gen gây ung thư nên sự tăng sinh của tế bào T có thể là do hoạt hoá phiên mã dạng trans (transactivation of transcription) hoặc do gen tat của virut mã cho protein kích thích các gen của tế bào tổng hợp protein liên quan đến quá trình phân bào. Ngoài khả năng gây ung thư, chúng còn gây các bệnh liệt nhẹ chi dưới, co cứng nhiệt đới (tropical spastic paraparesis), một dạng viêm tuỷ sống tiến triển chậm, biểu hiện triệu chứng co cứng và mất điều hoà. Thời kỳ tiềm ẩn kể từ khi nhiễm virut đến khi xuất hiện các triệu chứng ung thư và viêm tuỷ sống kéo dài nhiều năm.

#### 26.5.1. Mô tả virut

HTLV – I và HTLV – II là thành viên của họ phụ *Oncovirinae*, khác với HIV – I và HIV – II là thành viên của họ phụ *Lentivirinae*. HTLV – I được phát hiện năm 1980 tại Nhật Bản trong tế bào T của bệnh nhân ATL (bệnh ung thư tế bào T ở người trưởng thành – Adult T – cell leukaemia). Cũng giống như virut *retro* khác, genom là hai chuỗi ARN đơn, (+), cũng chứa các gen gag, pol, env, ngoài ra còn có gen pX. Ở hai đầu của

đoạn dài lặp lại LTR. Gen gag mã cho các protein cấu trúc P19, P24 và P15. Gen protein mã cho proteaza, gen pol mã cho polymeraza phiên mã ngược, gen env mã cho glycoprotein vỏ ngoài gp24 và gp46, còn gen p<sub>x</sub> nằm giữa gen env và LTR mã cho protein điều hoà tat và rex. Genom có 3 khung đọc mở. Trình tự p<sub>x</sub> tham gia vào chuyển dạng ung thư nhưng đoạn này lại không tương đồng với genom của tế bào chủ nên có lẽ chúng không phải là oncogen thông thường.

Khi xâm nhập vào tế bào, ARN biến đổi thành ADN trung gian nhờ enzym phiên mã ngược của virus, sau đó gắn xen vào NST của tế bào. Vị trí gắn xen không đặc hiệu mà khác nhau ở các bệnh nhân ATL khác nhau nên có lẽ nó không tham gia trực tiếp vào sự hoạt hoá các gen ung thư (oncogen).

HTLV – II được phân lập năm 1982, thường ở một số quần thể dân cư da đỏ ở châu Mỹ và người lùn Pygmy ở Trung Phi với tỷ lệ mắc 7 – 9%. Ngoài khả năng gây ung thư, chưa thấy có những liên quan của virus này với các bệnh khác.

Về cấu tạo và con đường lây truyền cũng giống như ở HTLV – I. Tuy nhiên, genom của HTLV – I chỉ tương đồng một phần với genom của HTLV – II.

### **26.5.2. Chẩn đoán**

#### ***Phương pháp huyết thanh học***

- Kỹ thuật MD enzym (EIA) là một phương pháp nhạy nhưng tính đặc hiệu kém.
- Western Blot (WB) là phương pháp có độ nhạy cao và đặc hiệu cho từng sản phẩm gen.

#### ***Phương pháp xác định KN gag***

Dùng huyết thanh thử chứa KT kháng KN gag. Đây là phương pháp rất nhạy và thuận tiện.

#### ***Phương pháp sinh học phân tử***

- Lai Southern Blot (SB). Sau khi điện di ADN cho sản phẩm lai với mẫu dò HTLV – I và II. Phương pháp sẽ kém nhạy nếu lượng virus ít.
- PCR dùng để phân biệt HTLV – I và II là phương pháp có độ nhạy cao và đặc hiệu.

## VIRUT PICORNA, HỌ PICORNAVIRIDAE

### 27.1. GIỚI THIỆU

*Picorna* bắt nguồn từ chữ *pico* là nhỏ, *rna* là axit ribonucleic, là virus nhỏ hình cầu, đường kính trung bình 22 – 30nm, chứa genom ARN đơn, (+). Hầu hết virus *picorna* có hệ thống vật chủ hẹp, một số gây bệnh nghiêm trọng cho người và động vật. Họ này có 5 chi là :

- *Aphthovirus* gồm 7 serotyp chủ yếu gây nhiễm ở động vật móng guốc chẵn (ví dụ bệnh lở mồm long móng).

- *Cardiovirus* chủ yếu nhiễm vào bọ gặm nhấm, mặc dù vật chủ tự nhiên chính còn chưa rõ, chỉ có một serotyp, thường gây bệnh viêm não, viêm cơ tim (myocarditis) ở bọ gặm nhấm.

- *Enterovirus* là nhóm lớn, bao gồm các virus gây bệnh nghiêm trọng ở người và động vật. Thuộc chi này gồm có virus *polio* (gây bệnh bại liệt), *coxsackie* (gây viêm màng não, viêm họng rộp...), *Echo* (gây viêm màng não không đặc hiệu, liên quan đến nhiều bệnh đường hô hấp và tiêu hoá).

- *Hepatovirus* – nhóm virus viêm gan A.

- *Rhinovirus* là nhóm virus lây nhiễm đường hô hấp trên của động vật có vú và gây cảm lạnh thường ở người.

Gần đây phát hiện thấy một số virus *rhino* nhưng chưa được xếp vào các chi, bao gồm virus *rhino* gây bệnh cho ngựa (typ 1, 2), virus *rhino* gây bệnh cho côn trùng như gây liệt ở dế, virus typ C ở ruồi giấm, virus gây liệt ở ong...

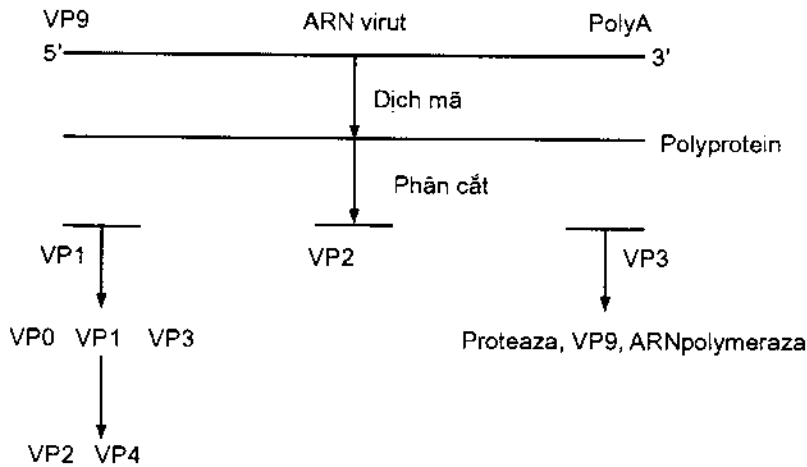
**Virion.** Capsit hình khối đa diện 20 mặt tam giác đều, gồm 60 dưới đơn vị, mỗi đơn vị chứa một phân tử gồm 4 polypeptit chính ký hiệu VP1, VP2, VP3 và VP4. Ba polypeptit đầu nằm trên bề mặt virion còn polypeptit sau nằm ở trong lõi gắn với ARN. Genom là một phân tử ARN đơn, (+), dạng thẳng, dài  $2.5 \times 10^6$ , đầu 3' có gắn đuôi polyA, còn đầu 5' liên kết cộng hoá trị với một protein do virus mã hoá, gọi là VPg.

Ở virus *cardio* và *aphtho*, gần đầu 5' của ARN còn có vùng polyC. Đó là cấu trúc thứ cấp mà chiều dài có thể khác nhau tùy chủng. Ở virus *rhino* và *entero* không có vùng này.

### 27.2. QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN

Virus nhân lên trong tế bào chất. Đầu tiên virus gắn vào thụ thể nằm trên màng sinh chất của tế bào chủ, sau đó vào tế bào theo cơ chế nhập bào và tiến hành cởi vỏ trong

endosom hoặc lysoxom. Sau khi được giải phóng khỏi capsit, ARN lập tức bắt đầu dịch mã ở vị trí gần đầu 5' để tạo thành một polyprotein. Polyprotein này lúc đầu phân cắt thành 3 protein tiền chất là VP1, VP2 và VP3. Mỗi protein lại tiến hành phân cắt tiếp (hình 27.1).



Hình 27.1. Sơ đồ sinh tổng hợp protein của virus polio.

- VP1 cắt ra thành VP1A, VP1B, VP1C và VP1D. Đó là protein capsit.
- VP2 cắt thành VP2A, VP2B. Đó là KN của vật chủ và VP2C tham gia vào tổng hợp ARN.
- VP3 tiến hành tự cắt thành VP3A, VP3B (VPg), VP3C (protease dùng phân cắt hầu hết các protein) và VP3D (ARN polymeraza làm nhiệm vụ kéo dài chuỗi ARN mới tổng hợp trên khuôn ARN. Sợi (–) được tổng hợp trên khuôn sợi (+). Đầu sợi (+) được uốn lại thành hình kẹp tóc để làm môi cho tổng hợp sợi (–). Kết quả là tạo ra một phân tử "đúp", có chiều dài gấp đôi genom.

Để lắp ráp, trước hết cần phân cắt VP1 tạo thành một protome (đơn phân gốc) 5S chưa hoàn thiện chứa VP0, VP1 và VP3. Các protome này sẽ liên kết với một genom ARN để tạo thành *tiền virion* (provirion). Trong quá trình hoàn thiện, phần lớn hoặc tất cả các phân tử VP0 đều bị phân cắt sẽ tạo thành VP2 và VP4. Sau lắp ráp, virion trưởng thành ra khỏi tế bào nhờ tan bào. Một số virus *picorna*, ví dụ HAV có thể gây nhiễm nhưng không gây tan bào.

Phân dưới đây giới thiệu một số virus *picorna* gây bệnh quan trọng ở người và gia súc như bại liệt, viêm màng não, viêm gan A, lở mồm long móng.

### 27.3. BỆNH BẠI LIỆT

Sốt bại liệt còn gọi là bệnh viêm tuỷ xám (poliomyelitis – bắt nguồn từ tiếng Hy Lạp polios là xám và myelos – tuỷ sống) là bệnh nhiễm virus cấp đường tiêu hoá nhưng lại có biểu hiện lâm sàng của tổn thương hệ thần kinh trung ương. Bệnh gây ra bởi một

trong 3 typ virus *polio* 1, 2, và 3, lan truyền qua đường phân – miệng, đặc biệt là ở nơi có tình trạng vệ sinh yếu kém. Bệnh lan truyền thường do sử dụng nguồn nước nhiễm phân. Bệnh hay gặp ở trẻ em mới sinh đến 15 tuổi, tỷ lệ mắc cao nhất là từ 1 – 5 tuổi cho nên còn gọi là bệnh bại liệt trẻ em. Các cá thể không tạo được MD khi ở tuổi ấu thơ. Người lớn cũng có thể bị mắc nếu chưa được MD. Nguy cơ nhiễm tăng lên ở phụ nữ có thai, người cắt amidan, người bị chấn thương hoặc đang dùng vaccin kháng vi khuẩn.

### 27.3.1. Triệu chứng lâm sàng

Thời gian ủ bệnh là 7 – 14 ngày kể từ khi phơi nhiễm. Lúc đầu virus nhân lên ở họng và ruột, sau vài ngày lan đến hệ bạch huyết rồi vào máu, tiếp đó theo sợi thần kinh đến tủy sống và não. Tại đây chúng vượt qua hàng rào máu não xâm nhập vào thần kinh vận động của tủy sống hoặc của cuống não. Khi tế bào thần kinh bị phá hủy, cơ sẽ bị teo và liệt.

Biểu hiện lâm sàng của bệnh bại liệt rất đa dạng, tùy thuộc vào từng loại bệnh. Ở thể nhẹ không biểu hiện triệu chứng rõ rệt như : sốt nhẹ, viêm họng, ho, đau bụng nôn mửa, ăn không ngon, ớn lạnh giống như cúm. Bệnh phục hồi nhanh và khó phân biệt với các triệu chứng của các bệnh khác. Tỷ lệ bị liệt rất thấp, các trường hợp nặng là liệt một chi (chân hoặc tay) đến 2, 3 hoặc 4 chi, liệt cơ ngực, cơ bụng, để lại di chứng suốt đời. Bệnh nặng nữa là liệt hành tủy, viêm màng não, liệt hô hấp và tử vong.

Bệnh bại liệt được chia thành các loại :

- *Viêm tủy xám dạng thui chột* (abortive poliomyelitis). Virus chỉ nhiễm vào họng và ruột gây triệu chứng giống cúm và rối loạn dạ dày.

- *Viêm tủy xám không liệt* (nonparalytic poliomyelitis). Các triệu chứng kèm cứng cơ đặc biệt là cơ cổ và lưng.

- *Viêm tủy xám gây liệt* (paralytic poliomyelitis) rất ít gặp. Các triệu chứng biểu hiện lúc đầu nhẹ sau cùng là liệt các cơ.

- *Viêm tủy xám hành tủy* (bulbar poliomyelitis) tác động đến cơ của hệ hô hấp gây suy hô hấp.

### 27.3.2. Phòng chống

Tuy không có thuốc chống bại liệt nhưng việc tiêm phòng vaccin có thể tránh được bệnh. Có hai loại vaccin đang được lưu hành. Vaccin bại liệt bất hoạt IPV (inactivated polio vaccine) còn gọi là vaccin Salk dùng để tiêm, sản xuất từ 3 chủng *polio* nuôi cấy mô, được làm bất hoạt bằng  $\beta$  – propiolacton hoặc formalin. Vaccin tạo MD trong máu tốt nhưng MD đường ruột lại kém. Vaccin Salk an toàn vì virus không nhân lên được. Hiện đã có vaccin cải tiến eIPV (enhanced – potency IPV) có tính công hiệu cao. Vaccin được khuyến cáo sử dụng 4 liều trong đợt tiêm chủng thường quy.

Vaccin thứ hai là vaccin sống giảm độc lực OPV (oral polio vaccine) còn gọi là vaccin Sabin, dùng để uống. Vaccin được sản xuất từ 3 chủng *polio*, cho nhân lên trong

tế bào thận khi. Vacxin Sabin rất an toàn và có đáp ứng KT trong máu tốt. Trẻ em uống vacxin có khả năng chống nhiễm đường tiêu hoá do hình thành IgA. Tuy nhiên, đôi khi cũng bị mắc bệnh liên quan đến việc uống vacxin OPV (VAPP – vaccine Associated Paralytic polio myelitis) mặc dù tỷ lệ rất thấp (1/800000 – 1 triệu).

Ở Việt Nam, vacxin Sabin đã được sản xuất tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương và đã góp vào sự thành công của Chương trình Quốc gia thanh toán bệnh bại liệt. Việt Nam đã tuyên bố thanh toán xong bệnh bại liệt. Tuy nhiên, còn nhiều vùng trên thế giới bệnh bại liệt vẫn đang hoành hành. Mỗi hiểm hoạ của căn bệnh này sẽ không xảy ra với trẻ em nếu các bậc phụ huynh ý thức được tầm quan trọng của việc tiêm phòng.

## 27.4. VIÊM GAN A

Viêm gan A hay còn gọi là *viêm gan nhiễm trùng*, là một bệnh viêm cấp, lây truyền qua thức ăn, nước uống, nhiễm phân hoặc lây truyền do ăn động vật hai vỏ như : sò chưa nấu chín vì chúng lọc và tích lũy virus trong nước. Mỗi năm trên thế giới có khoảng 1,5 triệu người nhiễm HAV. Tỷ lệ người mang antiHAV là 15 – 100%, còn ở Việt Nam, tỷ lệ này ở người trưởng thành là 95 – 100%.

Viêm gan A do virus ARN (HAV – Hepatitis A virus, họ *Picornaviridae*) gây ra.

Virion không có vỏ ngoài, cấu trúc hình khối đối xứng, đường kính 27nm. Capsit có 4 polypeptit ký hiệu VP1 (có khối lượng là 30000), VP2 24000 – 27000, VP3 (21000 – 23000), VP (4 7000 – 14000).

### 27.4.1. Triệu chứng lâm sàng

HAV sau khi vào đường tiêu hoá, bám vào thành ruột rồi qua thành ruột chui vào máu để đến gan. Sau khi nhân lên, các virus được bọc trong bong bóng và chui vào mật. Ở mật, virus thoát khỏi màng bong bóng để nhiễm vào các tế bào gan khác hoặc vào ruột rồi qua phân để thoát ra ngoài môi trường. Thời gian ủ bệnh thường là 2 – 4 tuần, nên đôi khi còn gọi là *viêm gan ủ bệnh ngắn*. Viêm gan A được coi là bệnh có thời hạn. Tuy nhiên, thời gian bị bệnh còn tùy thuộc vào nhiều yếu tố như liều lượng và tính độc của virus nhiễm vào cơ thể, tuổi tác người bệnh và sự hoạt động của hệ thống MD. Bệnh ở trẻ em thường nhẹ hơn ở người lớn. Triệu chứng lúc đầu bao gồm chán ăn, buồn nôn, nước tiểu sẫm màu và vàng da. Nhưng cũng có trường hợp không thấy vàng da.

### 27.4.2. Chẩn đoán

Chẩn đoán viêm gan A dựa trên xét nghiệm chức năng gan, quan sát triệu chứng lâm sàng, xác định virus dưới kính hiển vi điện tử, làm phản ứng huyết thanh để tìm KN virus hoặc KT kháng virus. Việc quan sát virus thường rất khó vì trong suốt giai đoạn cấp tính, lượng virus rất ít. Ngược lại, chúng tiết nhiều ra phân, khoảng 2 tuần trước khi xuất hiện triệu chứng lâm sàng. HAV được xác định nhờ các phương pháp RIA, ELISA, MD huỳnh quang và RT – PCR.

### 27.4.3. Phòng bệnh

Rất may là bệnh viêm gan A hiếm khi gây tử vong. Người bệnh phục hồi dần sau 2 – 6 tuần. Vẫn chưa có thuốc chữa viêm gan A ngoại trừ cho bệnh nhân nghỉ ngơi. Những người bị nhiễm có thể ngăn chặn sự phát triển của virus bằng cách tiêm KT miễn dịch chống HAV. Chế phẩm này nhận được từ máu người cho tại ngân hàng máu. Để dập tắt và ngăn chặn dịch viêm gan A, cần tăng cường vệ sinh cá nhân và môi trường. Phát hiện sớm và loại trừ nguồn lây lan. Để dự phòng cần tiêm vaccin. Vaccin bất hoạt HAVRIX (từ chủng HM175) và VAQTA (từ chủng CR3267). Vaccin giảm độc lực từ chủng H2 được dùng ở Trung Quốc.

Hiện vaccin viêm gan A tái tổ hợp đang được thử nghiệm có hiệu quả với khả năng MD cao.

## 27.5. BỆNH LỞ MỒM LONG MÓNG

Bệnh lở mồm long móng (foot and mouth disease) hay bệnh sốt aptơ lần đầu tiên xuất hiện ở Ý vào thế kỷ XVI, sau đó ở Pháp vào thế kỷ XVIII và trong suốt gần một thế kỷ sau vẫn chưa biết được căn nguyên của bệnh.

Năm 1897, hai nhà vi sinh vật học người Đức là Loeffler và Frosch đã phân lập được virus gây bệnh.

Năm 1937, Charles Mérieux đã chế được vaccin phòng bệnh.

Lở mồm long móng là bệnh nhiễm cấp virus *picorna* (chi *Aphthovirus*), có tỷ lệ lây lan rất nhanh ở tất cả động vật móng guốc chẵn như trâu bò, lợn, dê, cừu. Một số động vật như ngựa, nhím, gặm nhấm lại không bị bệnh. Bệnh này có thể lan sang người nhưng rất ít gặp. Virus lây lan qua thức ăn, nước uống hoặc qua sol khí.

### 27.5.1. Triệu chứng lâm sàng

Thời gian ủ bệnh thường vài ngày đến một tuần hoặc có thể đến 20 ngày. Triệu chứng lâm sàng như xuất hiện các mụn rộp loét chứa dịch ở niêm mạc miệng, ở chân và ở những vùng như gốc sừng và da – nơi bị nước bọt chứa đầy virus từ các mụn vỡ ở miệng bắn vào. Mụn cũng có thể xuất hiện ở núm vú. Virus cũng có cả trong máu, sữa, nước tiểu và phân. Bệnh ít khi gây chết động vật trưởng thành nhưng lại gây thiệt hại lớn về kinh tế cho ngành sản xuất thịt và sữa.

### 27.5.2. Phòng chống

Cuối thế kỷ XX và sang đầu thế kỷ XXI, bệnh lại xuất hiện ở nhiều nước châu Âu. Năm 1990, cộng đồng kinh tế châu Âu ban hành lệnh cấm tiêm phòng vaccin lở mồm long móng trên phạm vi toàn lãnh thổ các nước thành viên vì các lý do sau :

- Sẽ khó phát hiện được ổ dịch nếu toàn bộ gia súc được tiêm phòng.
- Gia súc được tiêm có thể lây virus sang gia súc ở các nước khác.

– Virut có nguy cơ thay đổi KN do đó phải chạy theo để nghiên cứu và chế vaccin mới. Chi phí cho nghiên cứu, sản xuất và tiêm phòng hàng năm sẽ rất tốn kém.

Thay cho biện pháp tiêm phòng, EU đề nghị tiêu huỷ toàn bộ đàn gia súc bị bệnh. Lệnh cấm này được sự đồng tình của nhiều tổ chức của Liên hợp quốc như Cơ quan Quốc tế Phòng chống dịch động vật (thuộc WHO), tổ chức Lương Nông của Liên hợp quốc (FAO), Ủy ban châu Âu phòng chống dịch lở mồm long móng (trực thuộc FAO). Theo nhận định của FAO, biện pháp tiêm chủng đại trà sẽ giúp cho virut vẫn tiếp tục sống trong cơ thể động vật mạnh khoẻ và từ đó có thể lây nhiễm sang các nước khác. Trong khi ở các nước cấm tiêm phòng, virut không còn nơi cư trú nên sẽ bị tiêu diệt hoàn toàn thì ngược lại, biện pháp triệt để này không thể áp dụng ở các nước đang phát triển, ở đó tiêm phòng vẫn là biện pháp hợp lý nhất.

Từ nhiều năm nay, vaccin chế từ virut bất hoạt đã được bán trên thị trường. Virut lở mồm long móng rất đa dạng, có tới 7 typ huyết thanh chính và 65 typ phụ. Do vậy, cần phải sản xuất vaccin đa giá, bao gồm các typ chính. Khi dùng trypan xanh xử lý vỏ capsit sẽ thu được protein VP1, có khả năng gây ĐUMD dùng làm vaccin. Có thể sản xuất vaccin tái tổ hợp bằng cách tách dòng gen VP1, khuếch đại bằng RT – PCR, sau đó gắn vào plasmid rồi biến nạp vào *E. coli*. Khi nuôi *E. coli* sẽ tách được một lượng lớn protein virut gắn một phần protein *E. coli* dùng để sản xuất vaccin. Tuy nhiên, vaccin này có ĐUMD không cao bằng vaccin chế từ virut nguyên vẹn bất hoạt.

Gần đây, người ta dùng KN HBcAg của virut viêm gan B làm chất mang, gắn với protein VP1. Tạo plasmid có gắn hai gen mã cho hai KN kể trên, rồi biến nạp vào tế bào hela.

Protein KN VP1 và HBcAg sẽ được tổng hợp và có khả năng gây ĐUMD tương đương với vaccin chế từ virut bất hoạt. Phương pháp này có nhiều ưu việt vì không cần phải nuôi cấy virut, vaccin an toàn, công hiệu và dễ bảo quản.

Ở người bị nhiễm virut sẽ có các triệu chứng như khó chịu, xuất hiện mụn rộp ở miệng, môi, tay, chân. Virut có thể vào cơ thể qua vết trầy xước hoặc do ăn phải sản phẩm sữa bị nhiễm virut.

## **27.6. VIRUT COXSACKIE**

*Coxsackie* là tên một địa danh ở New York, nơi lần đầu tiên phát hiện thấy bệnh do virut *Coxsackie* vào năm 1948. *Coxsackie* có 30 typ huyết thanh. Dựa vào các tổn thương bệnh lý do virut gây ra ở chuột mới đẻ, người ta chia ra làm 2 nhóm : A và B.

### **27.6.1. Coxsackie nhóm A**

Gồm 24 typ (1÷24) thường gây viêm cơ, dẫn đến liệt. Các triệu chứng biểu hiện sau nhiễm 4 – 5 ngày và tiến triển đến 4 – 5 ngày nữa thì chuột chết. Typ A23 hiện được cho là virut *echo* 9.



### 27.6.2. Cocksackie nhóm B

Gồm 6 typ, gây viêm cứng cơ, đặc trưng bởi tổn thương tại chỗ, dẫn tới run, mất điều hoà kết hợp và liệt, đồng thời gây hoại tử mô mỡ. Virut cũng gây viêm não và tủy. Thời gian ủ bệnh dài, triệu chứng có thể không biểu hiện đến 10 ngày.

### 27.6.3. Khả năng nuôi cấy

Tất cả các virut nhóm B đều nhân lên được trong tế bào nuôi cấy mô thận khỉ, trong khi đó nhóm A chỉ có A7 và A9 là nhân lên được trong tế bào Hela, HEp 2 hoặc tế bào thận thai người. Các virut nhóm A khác có thể phân lập được khi tiêm truyền vào chuột ỏ.

### 27.6.4. Khả năng gây bệnh cho người

Virut có thể vào cơ thể theo đường tiêu hoá, vào ruột và nhân lên ở đây, sau đó qua niêm mạc để vào máu, chúng vượt qua hàng rào dịch máu não và dịch máu não tủy để gây nhiễm màng não tủy. Virut thải qua phân trong vòng 2 – 3 tuần.

Tuỳ từng serotyp mà có thể gây các bệnh khác nhau với thời gian ủ bệnh là 2 – 9 ngày. Các bệnh thường gặp ở người do virut *Cocksackie* bao gồm viêm não vô khuẩn, viêm họng mụn nước, bệnh Bornholm, viêm màng ngoài tim, viêm cơ tim (hiếm gặp, chủ yếu do B1 và B5), viêm họng...

– *Viêm não vô khuẩn, liệt nhẹ*. Bệnh thường xảy ra vào mùa hè do nhiều loại virut gây ra. Trước hết là *Cocksackie* nhóm A (2, 4, 7, 9 và 10) và nhóm B (1, 2, 3, 4, 5). Virut *echo* cũng là thủ phạm gây bệnh này.

*Biểu hiện lâm sàng* bao gồm sốt, đau đầu, buồn nôn, sau 1 – 2 ngày có hội chứng màng não, dẫn đến đau cơ, liệt nhẹ (cứng cơ cổ do viêm não), các tế bào lympho và protein trong dịch não tủy tăng. Đa số bệnh nhân tự hồi phục hoàn toàn.

– *Viêm họng mụn nước (Herpangina)*. Là bệnh phát ban mụn nước ở niêm mạc, tạo các nốt trắng viêm đỏ ở vùng hầu, họng, khu vực amidan. Bệnh nhân thường bị sốt, rất họng, chán ăn, buồn nôn. Bệnh thường gặp ở trẻ nhỏ và được xem là một phần của bệnh "tay – chân – mồm". Mụn nước cũng xuất hiện ở tay và chân. Nguyên nhân là do virut *Cocksackie* nhóm A (2, 4, 5, 6, 8 và 10, đặc biệt là A16)

– *Bệnh Bornholm*. Bornholm là tên địa phương của Đan Mạch, nơi đầu tiên xuất hiện dịch năm 1930. Bệnh đau cơ như đau cơ liên sườn, đau màng phổi do *Cocksackie* B gây ra. Bệnh lây lan qua tiếp xúc. Dịch thường xảy ra vào mùa ấm ở các nước ôn đới và vào bất kỳ thời điểm nào ở các nước nhiệt đới.

*Triệu chứng bệnh* bao gồm sốt nhức đầu, các cơn đau dữ dội ở ngực dưới, bệnh tự khỏi sau một tuần. Hiện chưa có biện pháp chữa trị.

– *Viêm màng não vô khuẩn*. Nhiều virut tấn công vào hệ thần kinh trung ương gây viêm màng não tủy (màng bao bọc não và cột sống). Sở dĩ gọi là viêm màng não vô khuẩn (còn gọi là "vô trùng") vì khi xét nghiệm dịch não tủy không thấy có sự hiện diện

của vi sinh vật. Về sau các xét nghiệm huyết thanh học xác định KT đặc hiệu đã khẳng định virus là căn nguyên của bệnh. Bệnh thường xảy ra vào mùa hè...

– *Viêm cơ tim hoặc viêm màng ngoài tim* do nhiều loại virus khác nhau gây ra, nhưng 50% số trường hợp là do *Coxsackie* nhóm B.

Viêm cơ tim đặc trưng bởi mạch nhanh, tim to, ECG bất thường. Viêm màng ngoài tim (hay viêm túi màng bao quanh tim – ngoại tâm mạc), có thể là một bệnh riêng hoặc một phần của viêm toàn tim. Trường hợp cấp tính được đặc trưng bởi sốt, đau ngực, chà sát màng bao tim hoặc tràn dịch màng bao tim. Thường thấy chủ yếu ở nam giới. Bệnh nhân có thể hồi phục hoàn toàn.

– *Viêm kết mạc xuất huyết*. Bệnh do *Coxsackie* A24 và *entero* 70 gây ra. Vụ dịch lớn xảy ra vào những năm 1969 – 1971 ở Đông Nam Á và châu Phi. Bệnh nhiễm qua đường mắt. Thời gian ủ bệnh là 24 giờ, kéo dài 10 ngày sau đó bệnh nhân bình phục hoàn toàn.

## 27.7. VIRUT ECHO

ECHO là viết tắt từ Enteric, Cytopathic, Human, Orphan nghĩa là virus "mồ côi" gây bệnh đường ruột ở người. Sở dĩ gọi là "mồ côi" (orphan) vì lúc đầu người ta cho rằng chúng không liên quan đến các bệnh của người, do không thấy biểu hiện triệu chứng lâm sàng.

Nhiễm echo có thể lan rộng trong cộng đồng. Sau thời gian ủ bệnh ngắn (3 – 5 ngày), có thể xuất hiện vài triệu chứng của đường hô hấp trên hoặc tiêu chảy. Có thể xuất hiện ban không đặc hiệu, hoặc có trường hợp gây dịch viêm não lympho bào.

Các typ 4, 6, 9, 16 và 18 có thể gây viêm màng não.

Các typ 9, 16, 18 và 4 thường gây ban ở trẻ em.

Các typ 6 và 9 có thể gây viêm kết mạc.

Các 18 và 20 gây tiêu chảy.

Typ 18 gây viêm đường hô hấp trên.

Các typ 6, 9 và 11 gây nhiễm nguy hiểm ở trẻ sơ sinh.

## 27.8. VIRUT RHINO – CẢM LẠNH

"Cảm lạnh" không phải do bị nhiễm lạnh mà do bị nhiễm virus đường hô hấp trên, trong đó 1/3 các ca cảm lạnh thường là do nhiễm virus *rhino* (bắt nguồn từ tiếng Hy Lạp rhinos là mũi), nên thực chất là bệnh sổ mũi.

Đây là virus nhỏ, hình khối đa diện với đường kính 22 – 30nm, thuộc chi *Rhinovirus*. Genom là ARN đơn, (+).

Virus có thể nhân lên trong nhiều loại tế bào nuôi cấy mô phôi thai người hoặc thận khỉ ở nhiệt độ tối ưu là 33°C (thay vì 37°C như ở các virus khác).

Đa số các chủng bền ở nhiệt độ phòng, một số chủng bền ở 50°C trong 1 giờ. Virut bị bất hoạt ở pH axit (khác với virut *entero* là thành viên khác của nhóm *picorna*). Bị bất hoạt bởi cồn iôt hoặc hỗn hợp phenol – cồn, nhưng không bị bất hoạt bởi cồn, muối mật, dung môi hữu cơ.

**Triệu chứng lâm sàng.** Cảm lạnh xảy ra rất phổ biến, thường biểu hiện ở thể nhẹ như sổ mũi nghẹt mũi và rát họng. Khoảng 1/2 bệnh nhân bị sốt nhẹ, nhức đầu và khàn giọng, đặc biệt là ở người lớn. Bệnh tự khỏi trong vòng một tuần, nhưng một số trường hợp có thể kéo dài vài tuần và có thể gây biến chứng gồm viêm xoang hoặc viêm tai giữa.

**Con đường lan truyền.** Lan truyền chủ yếu do tiếp xúc. Mỗi khi hắt hơi, người bệnh làm bắn ra cả triệu virut vào không khí và trên các bề mặt (bàn, ghế, dụng cụ...). Bình quân cứ 5 – 6 phút người ta lại có thói quen dụi mắt hoặc sờ mũi, miệng một lần. Nếu tay chạm phải virut trên bề mặt các đồ dùng có virut thì sẽ có cơ hội lây nhiễm.

Bệnh thường thấy ở trẻ em trước tuổi đến trường rồi sau đó giảm dần hoặc có thể lây qua người lớn.

Tỷ lệ mắc bệnh thay đổi nhưng trung bình mỗi người mỗi năm mắc một lần.

**Miễn dịch.** Sau khi nhiễm virut *rhino*, cơ thể hình thành KT trung hoà cả ở trong máu và trong dịch đường hô hấp. IgA hình thành trong dịch đường hô hấp đóng vai trò chính trong chống tái nhiễm. Tuy nhiên, virut *rhino* có số lượng serotyp rất lớn nên đã làm tăng cơ hội nhiễm mới.

**Dịch tễ.** Nhiễm virut *rhino* xảy ra quanh năm, nhưng thường vào mùa thu và mùa xuân, vấn đề sẽ trở nên phức tạp khi trong vùng luôn luôn tồn tại một lượng serotyp lớn. Trong một cộng đồng dân cư, ở một thời điểm nhất định có thể thấy một số serotyp nhiễm theo chu kỳ, nhưng tình hình nhiễm một số serotyp có thể thay đổi theo thời gian, có lẽ là do trong cộng đồng, tỷ lệ cá thể được MD đối với các serotyp trước đây đã tăng lên.

**Chẩn đoán.** Lấy mẫu bệnh phẩm là dịch mũi hoặc dịch rửa họng cấy vào mô nuôi tế bào phôi thai người hoặc tế bào thận khỉ ở 33°C và quan sát sự biểu hiện CPE. Xác định typ bằng phản ứng trung hoà dùng kháng huyết thanh chuẩn.

## Chương 28

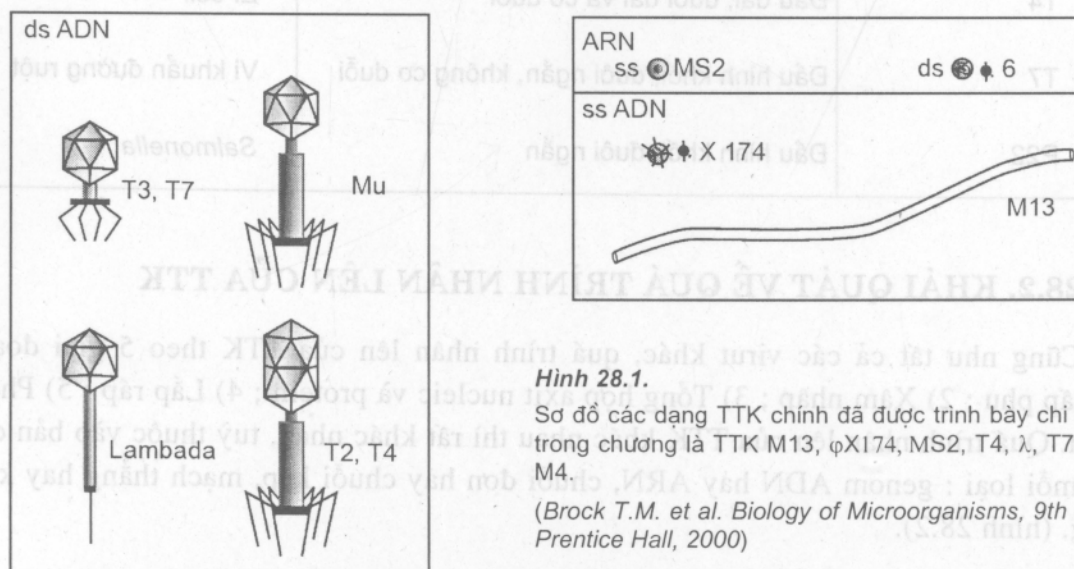
# VIRUT CỦA VI KHUẨN (BACTERIOPHAGE)

**Bacteriophage** hay gọi tắt là **phage**, với tên tiếng Việt là virus của vi khuẩn hay thể thực khuẩn (TTK), là nhóm virus phân bố rất rộng rãi trong tự nhiên, lần đầu tiên được d'Herelle – Nhà khoa học Canada phát hiện ra năm 1917. Cho đến nay, người ta nhận thấy hầu như các nhóm vi sinh vật procaryota đều có thể thực khuẩn (ví dụ : **actinophage** – thể thực khuẩn của xạ khuẩn,...). Có đến gần 3000 loại TTK, trong đó trên 90% là có đuôi. Hầu hết TTK đã được nghiên cứu đều ký sinh ở vi khuẩn đường ruột như *E.coli* và *Salmonella typhimurium*. Thông qua việc nghiên cứu kỹ quá trình nhân lên của các TTK mà người ta hiểu biết một cách tường tận quá trình nhân lên của các virus nói chung. Từ năm 1940 trở lại đây chúng được sử dụng như là công cụ của kỹ thuật di truyền.

## 28.1. HÌNH THÁI VÀ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA TTK

Cũng như tất cả các virus khác, tất cả các TTK đều có lõi là axit nucleic và vỏ capsit là protein. Vỏ protein bảo vệ axit nucleic khỏi tác động phân huỷ của nucleaza và các chất gây hư hại khác. Axit nucleic của phage có thể là ADN hoặc ARN. Có thể ở dạng chuỗi đơn hoặc chuỗi kép, thẳng hoặc khép vòng. ARN luôn ở dạng chuỗi đơn, dạng thẳng trừ trường hợp ngoại lệ của phage  $\phi 6$  có 3 phân tử ARN chuỗi kép, dạng thẳng và khác nhau ở trình tự các bazơ.

TTK có 3 dạng cơ bản : cấu trúc hình khối không đuôi, cấu trúc hình khối có đuôi và cấu trúc dạng sợi hay dạng que (hình 28.1).



Hình 28.1.

Sơ đồ các dạng TTK chính đã được trình bày chi tiết trong chương là TTK M13,  $\phi$ X174, MS2, T4,  $\lambda$ , T7 và M4.

(Brock T.M. et al. *Biology of Microorganisms*, 9th ed. Prentice Hall, 2000)

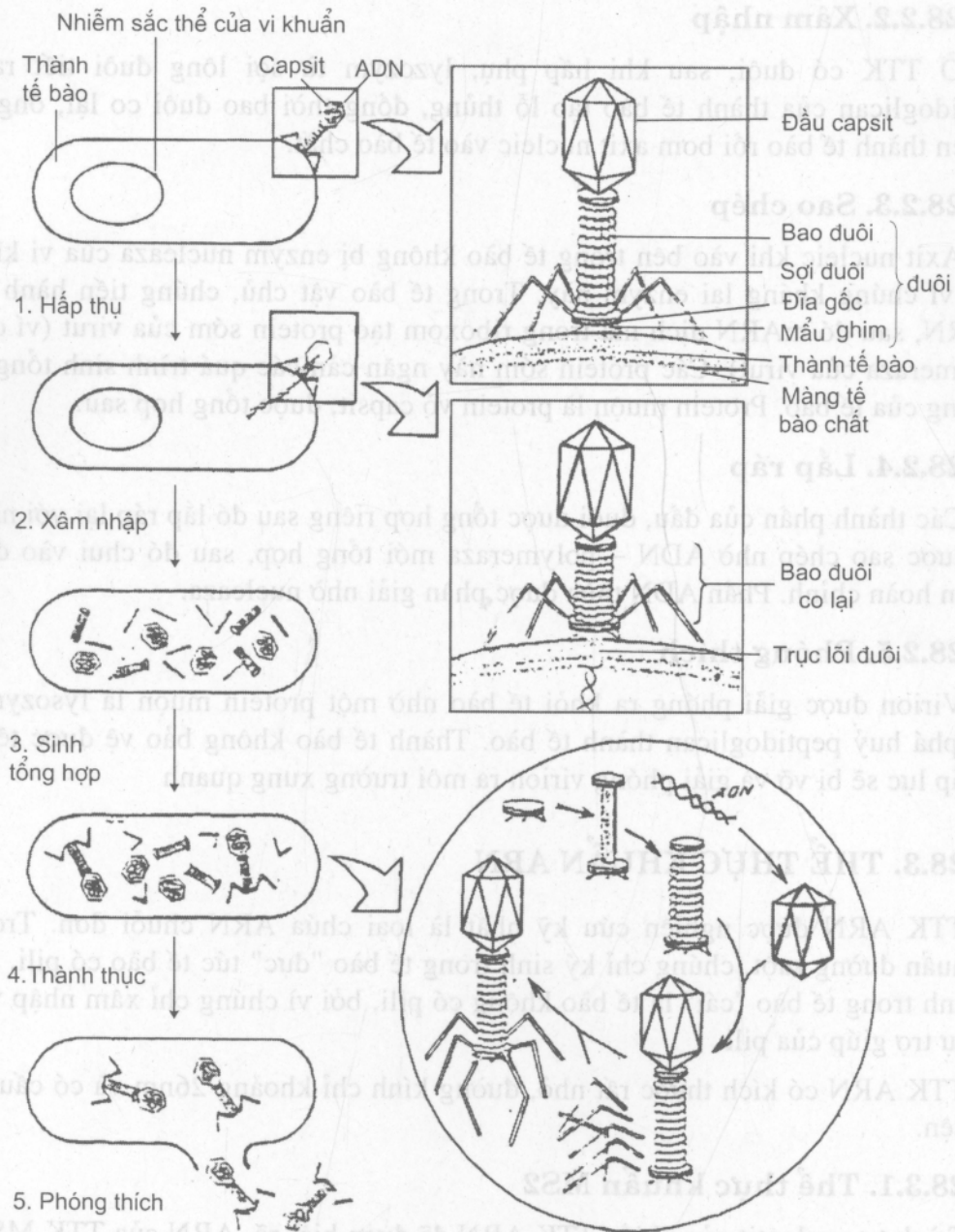
Ở một số TTK, đầu có cấu trúc hình khối kéo dài (chiều dọc dài hơn chiều ngang – T2, T4). Ở TTK dạng sợi, axit nucleic có dạng xoắn kéo dài dọc theo chiều dài của protein vỏ. Đuôi của TTK dài ngắn khác nhau tùy loại và có thể cứng hoặc mềm. Ở phía cuối đuôi có thể có đĩa gốc nối với 6 sợi lông đuôi.

**Bảng 28. MỘT SỐ BACTERIOPHAGE ĐIỂN HÌNH**

| Phage – nhóm phage  | Hình thái                               | Vật chủ chính                 |
|---------------------|-----------------------------------------|-------------------------------|
| Genom ADN kép thẳng |                                         |                               |
| $\lambda$           | Đầu hình khối, đuôi dài, không co duỗi. | <i>E. coli</i>                |
| Mu                  | Đầu hình khối, đuôi dài, co duỗi.       | Vi khuẩn đường ruột           |
| Mv – L3             | Đầu hình khối, đuôi ngắn                | <i>Acholeplasma laidlawii</i> |
| N4                  | Đầu hình khối, đuôi ngắn, co duỗi       | <i>E. coli</i>                |
| P1                  | Đầu hình khối, đuôi dài, co duỗi        | <i>E. coli</i>                |
| P2                  | Đầu hình khối, đuôi dài, co duỗi        | <i>E. coli</i>                |
| $\phi$ 29           | Đầu dài, đuôi ngắn, không co duỗi       | <i>Bacillus subtilis</i>      |
| SPO1                | Đầu hình khối, đuôi dài, không co duỗi  | <i>Bacillus subtilis</i>      |
| T4                  | Đầu dài, đuôi dài và co duỗi            | <i>E. coli</i>                |
| T7                  | Đầu hình khối, đuôi ngắn, không co duỗi | Vi khuẩn đường ruột           |
| P22                 | Đầu hình khối, đuôi ngắn                | <i>Salmonella</i>             |

## 28.2. KHÁI QUÁT VỀ QUÁ TRÌNH NHÂN LÊN CỦA TTK

Cũng như tất cả các virus khác, quá trình nhân lên của TTK theo 5 giai đoạn : 1) Hấp phụ ; 2) Xâm nhập ; 3) Tổng hợp axit nucleic và protein ; 4) Lắp ráp ; 5) Phóng thích. Quá trình nhân lên của TTK khác nhau thì rất khác nhau, tùy thuộc vào bản chất của mỗi loại : genom ADN hay ARN, chuỗi đơn hay chuỗi kép, mạch thẳng hay khép vòng. (hình 28.2).



**Hình 28.2.** Quá trình nhân lên của TTK.

### 28.2.1. Sự hấp phụ

Trong dung dịch, TTK chuyển động Brown, ngẫu nhiên và chạm vào tế bào. Đầu mút sợi lông đuôi của TTK gắn vào thụ thể nằm trên bề mặt tế bào miễn cảm nhờ các liên kết hoá học. Sự kết hợp giữa TTK và tế bào thông qua thụ thể mang tính đặc hiệu cao. Nếu thay đổi cấu trúc của thụ thể, virus sẽ không hấp phụ được lên tế bào. Ở những TTK không có đuôi, virus hấp phụ lên tế bào nhờ thụ thể ở tiên mao (TTK X ở *Salmonella*) hoặc trên pili F (f2, MS2).

### 28.2.2. Xâm nhập

Ở TTK có đuôi, sau khi hấp phụ, lysozym từ sợi lông đuôi tiết ra làm tan peptidoglican của thành tế bào tạo lỗ thủng, đồng thời bao đuôi co lại, ống trục đâm xuyên thành tế bào rồi bơm axit nucleic vào tế bào chất.

### 28.2.3. Sao chép

Axit nucleic khi vào bên trong tế bào không bị enzym nucleaza của vi khuẩn phân giải vì chúng kháng lại enzym này. Trong tế bào vật chủ, chúng tiến hành phiên mã mARN, sau đó mARN dịch mã trong riboxom tạo protein sớm của virus (ví dụ ADN – polymeraza của virus). Các protein sớm này ngăn cản các quá trình sinh tổng hợp bình thường của tế bào. Protein muộn là protein vỏ capsit, được tổng hợp sau.

### 28.2.4. Lắp ráp

Các thành phần của đầu, đuôi được tổng hợp riêng sau đó lắp ráp lại với nhau. ADN lõi được sao chép nhờ ADN – polymeraza mới tổng hợp, sau đó chui vào đầu để tạo virion hoàn chỉnh. Phần ADN thừa được phân giải nhờ nucleaza.

### 28.2.5. Phóng thích

Virion được giải phóng ra khỏi tế bào nhờ một protein muộn là lysozym. Enzym này phá huỷ peptidoglican thành tế bào. Thành tế bào không bảo vệ được tế bào khỏi sức áp lực sẽ bị vỡ và giải phóng virion ra môi trường xung quanh

## 28.3. THỂ THỰC KHUẨN ARN

TTK ARN được nghiên cứu kỹ nhất là loại chứa ARN chuỗi đơn. Trong nhóm vi khuẩn đường ruột, chúng chỉ ký sinh trong tế bào "đực" tức tế bào có pili, mà không ký sinh trong tế bào "cái" là tế bào không có pili, bởi vì chúng chỉ xâm nhập vào tế bào với sự trợ giúp của pili.

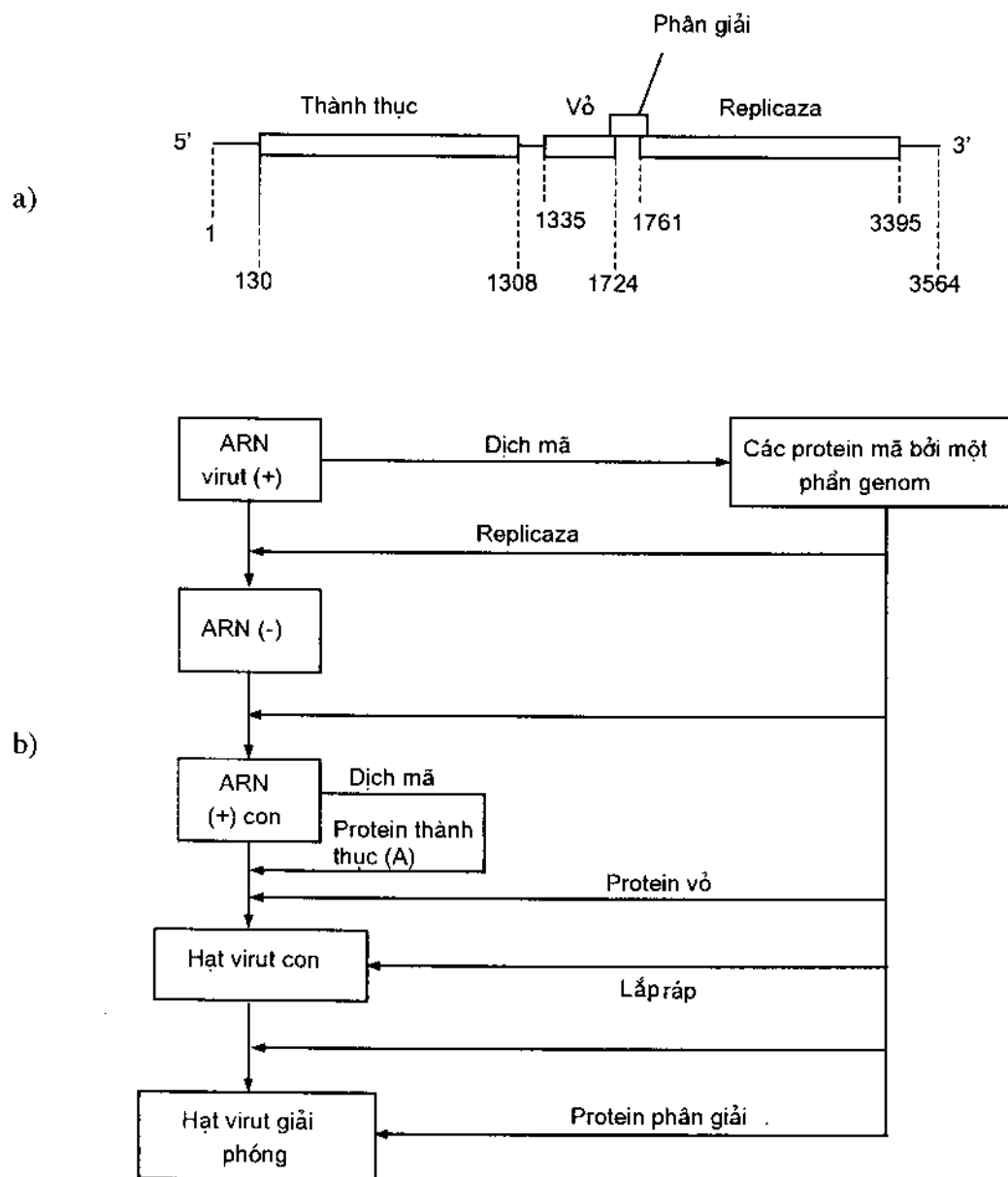
TTK ARN có kích thước rất nhỏ, đường kính chỉ khoảng 26nm và có cấu trúc khối đa diện.

### 28.3.1. Thể thực khuẩn MS2

Trình tự nucleotit của nhiều TTK ARN đã được biết rõ. ARN của TTK MS2 ký sinh ở *E.coli* là chuỗi (+) có chiều dài 3569 nucleotit. Do có trình tự nucleotit giống như ở mARN nên khi vào tế bào chúng làm cả nhiệm vụ của mARN. Sau khi vào tế bào, ARN gắn với riboxom. Tại đây tổng hợp ra 4 protein là protein thành thực (maturation protein – một loại protein có trong virion trưởng thành, chỉ có một bản sao), protein vỏ capsit, protein phân giải (liên quan đến việc làm tan tế bào, giải phóng virus) và ARN – replicaza (enzym cần cho sao chép ARN) (hình 28.3).

ARN – replicaza là một phức hợp protein gồm một phần là polypeptit do virus mã hoá và một phần là polypeptit do tế bào chủ mã hoá. Protein của vật chủ liên quan đến sự hình thành replicaza của virus là protein riboxom S1 (một trong các tiểu phần 30S của riboxom) và yếu tố kéo dài chuỗi chuyên biệt (specific elongation factor) liên quan tới

quá trình dịch mã. Như vậy, virus sử dụng protein của tế bào để sản xuất replicaza cho mình mà bình thường khi không bị nhiễm virus các protein này không có chức năng ấy.



**Hình 28.3.** a) Bản đồ di truyền của TTK MS2, các con số là vị trí nucleotit trên ARN.  
b) Các bước của quá trình nhân lên.

Virus ARN chuỗi (+) có thể phiên mã ngay sau khi tổng hợp ARN – replicaza, enzym này giúp tổng hợp ARN (-) từ mạch ARN(+) ban đầu. Chuỗi (-) lại được dùng làm khuôn để tổng hợp ra nhiều mạch (+) mới. Chuỗi ARN(+) mới được tổng hợp lại đảm nhiệm chức năng của mRNA để tiếp tục tổng hợp protein.

Trên chuỗi ARN virus, gen mã hoá cho protein thành thực nằm gần đầu 5' – P. Chỉ những gen trên mạch ARN (+) vừa được tổng hợp mới mã cho protein thành thực (mỗi hạt virus chỉ cần một bản sao). Theo cách này, số lượng protein thành thực là có hạn.



Khi ARN virus được tạo thành, nó gấp lại thành cấu trúc bậc hai. Trong số bốn vị trí khởi đầu AUG tham gia vào quá trình dịch mã tạo protein thì vị trí để dịch mã protein vỏ dễ tiếp cận nhất. Khi số lượng phân tử protein vỏ trong tế bào tăng lên, chúng sẽ gắn với ARN quanh vị trí khởi đầu AUG để dịch mã cho protein replicaza và do đó làm ngừng quá trình tổng hợp replicaza. Vì vậy, protein của virus được tổng hợp chủ yếu là protein vỏ. Mỗi phân tử ARN cần tới 180 phân tử protein vỏ giống nhau tạo capsome (MS2 là virus có cấu trúc khối đa diện đối xứng).

Một đặc điểm quan trọng khác ở MS2 là gen mã cho protein phân giải lại chồng lên gen mã hoá cho protein vỏ và protein replicaza. Đây là hiện tượng các gen chồng lớp. Điểm khởi đầu của gen phân giải không trực tiếp gắn với riboxom vì có cấu trúc bậc hai trong ARN. Khi riboxom hoàn thành tổng hợp protein vỏ, cấu trúc bậc hai ở vùng này sẽ bị phá vỡ cho phép riboxom bắt đầu đọc mã gen phân giải. Nhờ ngăn chặn hiệu quả dịch mã theo cách này mà có thể tránh được các tế bào bị phân giải sớm. Chỉ sau khi đã có đầy đủ các phân tử protein vỏ phục vụ cho việc lắp ráp virus trưởng thành thì mới bắt đầu quá trình phân giải (ở các TTK ARN khác, chẳng hạn QB, protein thành thực làm luôn chức năng protein phân giải chứ không có gen phân giải riêng).

Cuối cùng, sự lắp ráp và giải phóng virion ra khỏi tế bào là kết quả của sự phân giải tế bào. Sự nhân lên của virus ARN này rất đơn giản vì bản thân sợi ARN (+) làm luôn nhiệm vụ mARN và chỉ cần điều chỉnh trước bằng cách kéo riboxom vào các vị trí thích hợp nằm trên mARN của virus.

## **28.4. THỂ THỰC KHUẨN ADN ĐƠN, ĐA DIỆN**

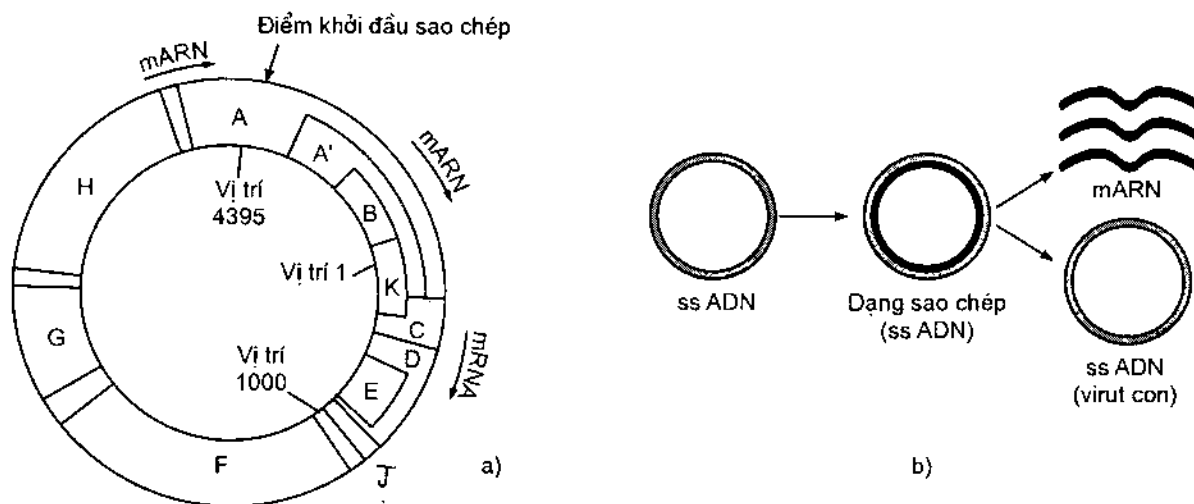
Một số TTK có genom là ADN chuỗi đơn, khép vòng. Chúng thường có kích thước rất nhỏ, đường kính khoảng 25nm. Vỏ capsit gồm khoảng 60 capsome, đó là số lượng capsome ít nhất của một virus đa diện.

### **28.4.1. TTK $\phi$ X174 và hiện tượng gen chồng lớp**

Sở dĩ TTK  $\phi$ X174 ký sinh trong *E. coli* được quan tâm nghiên cứu vì chúng chứa gen chồng lớp (overlapping genes) tức là gen nọ chồng lên gen kia. Bộ gen ở tế bào thì khác, chúng được sắp xếp kề nhau và gen mã cho mỗi loại protein nằm tách biệt với các gen khác. Tuy nhiên, ở virus nhỏ như  $\phi$ X174 thì không có đủ gen để mã cho các loại protein của mình. Do vậy, giải pháp khôn khéo cho vấn đề này là sử dụng các gen chồng lên nhau. Vì thế, các đoạn nucleotit được đọc mã nhiều lần trên các khung đọc lệch nhau. Nhờ có các gen chồng lớp mà thông tin di truyền được sử dụng có hiệu quả hơn, nhưng nó lại làm cho quá trình tiến hoá trở nên phức tạp hơn, bởi vì nếu xảy ra một đột biến ở vùng gen chồng lớp thì có thể ảnh hưởng không phải một mà đến hai hay nhiều gen.

Nhìn vào bản đồ di truyền của  $\phi$ X174 ta thấy các đoạn gen D và E chồng lên nhau. Gen E nằm hoàn toàn trong gen D. Codon kết thúc của gen D chồng lên codon khởi đầu của gen J bằng một nucleotit. Khung đọc của gen E khác với khung đọc của gen D.

Vì vậy, bất kỳ đột biến nào trong gen E cũng có thể làm thay đổi đoạn gen D. Tuy nhiên, một đột biến có ảnh hưởng đến một hay cả hai protein hay không còn tùy thuộc vào bản chất của sự thay đổi (vì mã di truyền là mã suy biến tức là có nhiều đơn vị mã cùng mã cho một axit amin) (hình 28.4).



**Hình 28.4.** Bản đồ di truyền của TTK  $\phi$ X174.

a) Bản đồ di truyền.

A – Tổng hợp ADN dạng RF

A\* – Ngừng tổng hợp ADN vật chủ.

B – Hình thành tiền chất của capsit.

C – Hoàn thiện ADN.

D – Lắp ráp vỏ capsit.

F – Protein chính của capsit.

G – Protein gai chính.

H – Protein gai phụ (hấp phụ của phage).

J – Protein lõi (bao gói ADN).

K – Chưa rõ chức năng.

E – Gây tan tế bào chủ.

Các vùng gen chồng lớp (A/B, K/B, K/C, K/A, A/C và D/E). L – vùng không mã hoá, nằm giữa các gen. Protein A\* được tạo thành khi dùng một phần trình tự mã hoá của gen A do tái khởi đầu dịch mã.

b) Các bước sao mã và phiên mã ở  $\phi$ X174

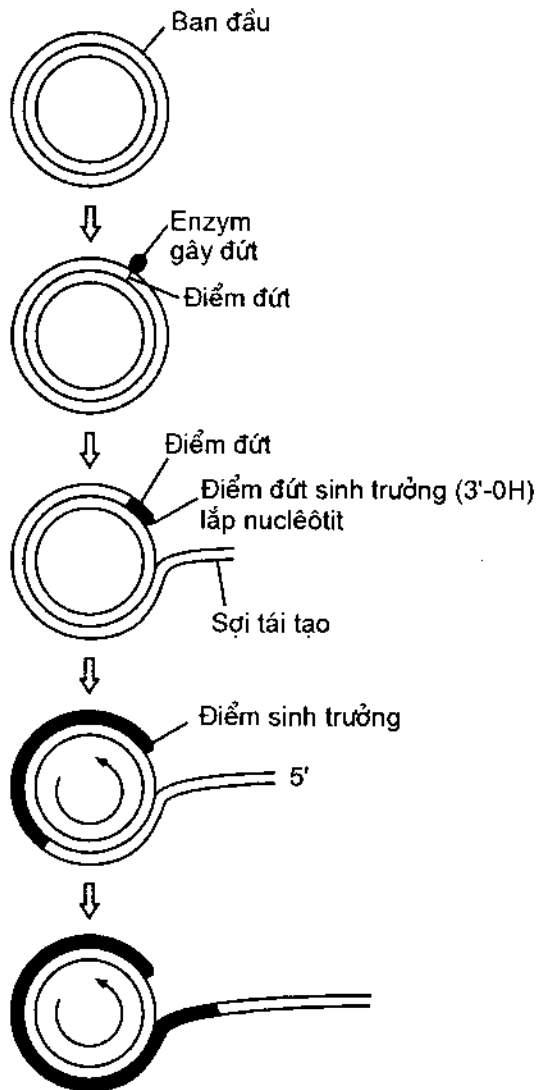
(Brock T.M. et al. *Biology of Microorganisms*, 9th ed. Prentice Hall, 2000)

Còn có các ví dụ khác về sự chồng lớp gen ở  $\phi$ X174. Protein được mã bởi gen A gọi là protein gen A. Một protein gen A nhỏ gọi là protein gen A\* được tạo thành do sử dụng chỉ một phần đoạn gen A nhờ tái khởi đầu dịch mã (reinitiation of translation) mà không cần phiên mã. Protein A\* đọc mã và kết thúc trên cùng khung đọc mARN giống như ở protein A, nhưng khác là điểm khởi đầu dịch mã không giống nhau, tức là nằm ở các codon khác.

### 28.4.2. Sao chép ADN theo cơ chế vòng xoay

ADN của  $\phi$ X174 là chuỗi đơn, khép vòng, lần đầu tiên xác định được trình tự đầy đủ vào năm 1977 bởi Frederick Sanger. Sợi ADN chứa khoảng 5386 nucleotit. Khi

ngiên cứu quá trình sao chép của virus này nảy sinh một vấn đề là : Sao chép ADN genom phải qua dạng ADN trung gian. Để chuyển dạng ADN ban đầu của TTK thành dạng sao chép (RF) cần huy động nhiều enzym của tế bào tham gia, như primaza (gắn môi), ADN – polimeraza (gắn nucleotit bổ sung vào khuôn), ligaza (hàn các đầu mạch) và gyraza (mở xoắn). RF là ADN chuỗi kép, khép vòng và cuộn mạnh.



**Hình 28.5.**

Sao chép theo cơ chế vòng tròn xoay ở TTK  $\phi$ X174. Điểm khởi đầu bị cắt đứt một mạch (+) nhờ enzym cắt (gọi là protein A). Từ điểm "sinh trưởng" ở đầu 3' – OH sợi mới được tổng hợp. Sau một vòng xoay, protein gen A sẽ rời khỏi sợi mới và hàn hai đầu nhờ enzym ligaza.

(Brock T.M. et al. *Biology of Microorganisms*, 9th ed. Prentice Hall, 2000)

Ở tế bào vi khuẩn, quá trình sao chép ADN diễn ra khác nhau giữa sợi dẫn đầu (leading strand) và sợi muộn (lagging strand). Ở  $\phi$ X174 *sự hình thành RF giống như tổng hợp sợi muộn ở tế bào*. Để sao ADN này cần có các đoạn ARN môi được tổng hợp nhờ enzym primaza (ARN – polimeraza môi) tại các điểm khởi đầu nằm ngắt quãng trên ADN khuôn. Sau đó ADN – polimeraza III nối dài mỗi ARN, tạo các đoạn ADN ngắn – Okazaki. ADN – polimeraza cắt bỏ mỗi. Các đoạn ADN ngắn được hàn hai đầu nhờ ligaza để tạo thành sợi ADN kép, hoàn chỉnh. Thông thường ở các virus khác, ngay sau khi tạo thành RF là diễn ra sao chép ADN theo cơ chế bán bảo thủ truyền thống để tạo sợi ADN trung gian dạng theta ( $\theta$ ) (hay dạng con mắt – eye replication), kết quả là tạo ra phân tử RF mới. Tuy nhiên sự tổng hợp genom của virus  $\phi$ X174 lại theo một cơ chế đặc biệt, gọi là *cơ chế vòng tròn xoay* (rolling circle replication) (hình 28.5). Vòng ADN kép bị protein A cắt đứt một sợi (+) ở ngoài tạo đầu hở 3' – OH. Sự sao chép lúc này *không cần môi*, sẵn sàng nối dài mạch. Như vậy chỉ có một sợi phía trong (sợi –) không bị đứt xoay tròn được dùng làm khuôn. Khi sợi ADN đơn con được tổng hợp đến độ dài nhất định (với  $\phi$ X174 là 5386 nucleotit) sẽ được protein gen A cắt rồi nối lại thành dạng vòng nhờ ligaza.

### 28.4.3. Phiên mã và dịch mã ở $\phi$ X174

mARN của virus được tổng hợp trực tiếp từ sợi RF. Sự tổng hợp mARN bắt đầu từ một vài điểm khởi đầu (promoter) chính trên RF và có một số điểm kết thúc. Các phân tử mARN chứa thông tin đa gen (polycistronic) được dịch mã thành nhiều loại protein của virus. Như phần trước đã nêu, protein A và protein A\* đều được tạo thành từ cùng một gen. Protein A\* được tạo thành là nhờ dịch mã từ điểm khởi đầu thứ cấp nằm trong đoạn mARN A. Hơn nữa một số protein được tạo thành từ các bản phiên mã mARN (của các khung đọc khác nhau) từ cùng đoạn ADN (gen chồng lớp). Nhờ cách này mà genom nhỏ như genom của  $\phi$ X174 có thể sao chép một cách hữu hiệu. Cuối cùng là lắp ráp các thành phần để tạo virus trưởng thành. Virus được phóng thích khi tế bào bị phân giải bởi protein gen E.

## 28.5. THỂ THỰC KHUẨN ADN MẠCH ĐƠN, DẠNG SỢI

**Thể thực khuẩn M13** – TTK M13 có dạng sợi mảnh, đường kính 6nm nhưng dài tới 860nm. TTK M13 có genom là ADN (+), mạch đơn, khép vòng, ký sinh ở *E.coli*, giống như TTK f1 và fd. Như các TTK ADN có kích thước nhỏ khác, các TTK ADN dạng sợi này chỉ gắn được vào các tế bào đực có pili (do plasmid, gọi là các yếu tố F, mã hoá) thông qua các protein phụ (g3p) của vỏ nằm ở phía đầu. Khi protein phụ này gắn vào, sẽ cảm ứng làm thay đổi cấu trúc protein chính của vỏ capsit, khiến cả hạt co lại, đẩy ADN vào tế bào chủ. Enzym của tế bào chuyển hoá ADN mạch đơn của virus thành dạng sao chép (RF).

Genom gồm 10 gen thu gọn lại, và trên genom có một vùng giữa các gen (intergenic region) có chứa điểm khởi đầu sao chép. Phiên mã xảy ra tại bất kỳ promoter nào trong số vài promoter cho đến khi đạt tới hai điểm kết thúc. Nhờ quá trình này, các gen nằm gần điểm kết thúc tạo thành nhiều bản phiên mã hơn so với các gen nằm xa và tạo cho virus điều hoà sự biểu hiện.

Sợi RF được sao chép nhiều lần theo cách sao chép của sợi ADN kép bình thường, nhưng khi khởi đầu sao chép cần phải cắt đứt sợi (+) nhờ enzym endonucleaza của virus (sản phẩm của gen 2), để hở đầu 3' – OH chứ không cần môi.

Nhờ sao chép liên tục sợi RF mà có được nhiều sợi ADN mạch đơn, (+) để bao gói tạo phage mới. Việc tổng hợp sợi (–) từ khuôn sợi (+) không được thực hiện vì sợi (+) được bao bởi protein của gen 5. Tiền virus di chuyển tới màng sinh chất, gắn với protein chính của capsit ở màng tế bào rồi chui ra theo lối nảy chồi. Khi chui ra khỏi tế bào, virus luôn có protein A ở đầu. Tế bào nhiễm M13 vẫn tiếp tục được sinh trưởng và phân chia.

Phage M13 có những đặc điểm ưu việt khiến chúng là công cụ lý tưởng cho tách dòng và chuyển đoạn ADN :

- Genom là chuỗi đơn nên có thể dùng để xác định trình tự nucleotit theo phương pháp dideoxynucleotit (phương pháp Sanger).

– Có vùng xen giữa các gen, không mã hoá nên có thể gắn xen đoạn ADN lạ. Vì có genom và kích thước hạt lớn nên có thể gắn đoạn xen lớn.

– Chỉ cần tế bào nhiễm virus giữ được trạng thái sinh trưởng thì có thể duy trì được ADN tách dòng kéo dài trong một thời gian để thu nhận liên tục ADN tách dòng.

## **28.6. THỂ THỰC KHUẨN ADN KÉP**

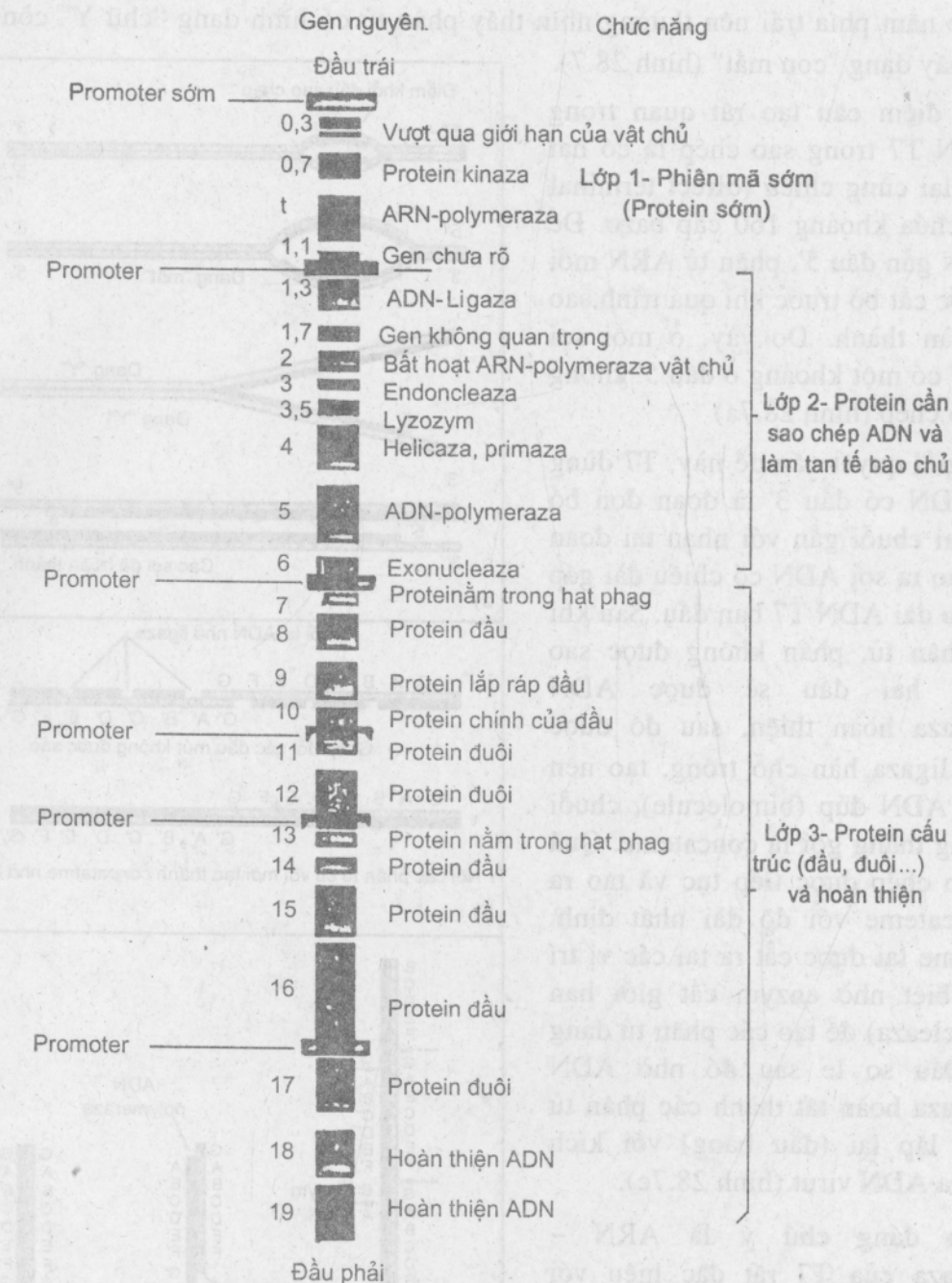
### **28.6.1. Loại có kích thước nhỏ – TTK T7**

Nhiều TTK chứa ADN sợi kép như các TTK T, P1, P2, M4 ở *E. coli*, PBSX, SP01 ở *Bacillus subtilis*, P22 ở *Salmonella*. Quá trình nhân lên ở chúng rất đa dạng. Ví dụ, TTK T7 và họ hàng gần gũi là T3 đều là virus ADN có kích thước nhỏ thuộc họ *Podoviridae* ký sinh trong *E. coli*. Một số chủng vi khuẩn đường ruột như *Shigella* và *Pasteuriella* cũng là vật chủ của T7. Cả T7 và T3 đều có đầu hình khối gắn với đuôi rất ngắn. Đầu chứa 5 loại protein còn đuôi chứa 3 – 6 loại protein. Protein đuôi và lông đuôi là phương tiện giúp TTK gắn vào thụ thể trên mặt tế bào vi khuẩn.

Genom của T7 là sợi ADN kép với 39936 cặp bazơ. Nhờ xác định đầy đủ trình tự bộ gen của T7 mà biết được cấu trúc gen và đặc điểm của sự điều hoà gen. Khoảng 92% ADN của T7 dùng để mã hoá cho protein và ít nhất có 25 gen riêng biệt đã được mô tả, nhưng không phải tất cả các gen được mã hoá một cách riêng biệt trên ADN. Cũng giống như ở  $\phi$ X174, ở đây cũng thấy hiện tượng gen chồng lớp thông qua sự tái khởi đầu dịch mã bởi một hoặc nhiều gen trong cùng một khung đọc. Sự xê dịch khung trong các gen nhất định tạo được nhiều protein khác nhau và do đó tiết kiệm được gen hơn.

Thứ tự của các gen (thể hiện trên bản đồ di truyền) ảnh hưởng đến sự kiểm soát quá trình nhân lên của virus. ADN của virus khi bơm vào tế bào luôn ở dạng thẳng. Các gen ở "đầu trái" của bản đồ được đưa vào trước, một số gen này được phiên mã ngay nhờ ARN – polymeraza của vi khuẩn, sử dụng 3 promoter gần nhau để tạo ra các phân tử mARN đa gen chồng lớp. Sau đó, những phân tử mARN này bị ribonucleaza đặc hiệu của tế bào cắt ở 5 điểm, vì thế tạo ra các mARN nhỏ hơn, mỗi phân tử mã cho 1 – 4 protein. Một trong các protein này ức chế hệ thống giới hạn (restriction system) của vật chủ. Protein này được tổng hợp trước khi toàn bộ ADN của T7 chui hết vào tế bào.

Một protein khác là ARN – polymeraza của virus. Hai phân tử mARN sớm khác mã hoá cho protein làm dừng hoạt động của ARN – polymeraza vật chủ, dẫn đến làm ngừng phiên mã của các gen sớm cũng như các gen vật chủ. Như vậy, ARN – polymeraza của vật chủ chỉ được dùng để sao chép một số gen đầu tiên và tạo thành mARN để tổng hợp ARN – polymeraza đặc hiệu của phage, sau đó ARN – polymeraza đặc hiệu này tham gia vào quá trình phiên mã chính của phage. ARN – polymeraza này của T7 chỉ dùng các promoter ở bên trái, gần giữa và giữa của bộ gen (hình 28.6).



**Hình 28.6.** Bản đồ di truyền của phage T7 có ghi số thứ tự các gen (kích thước tương đối) và chức năng của các sản phẩm gen. Quá trình phiên mã được chia làm 3 giai đoạn.

### Sao chép ADN T7

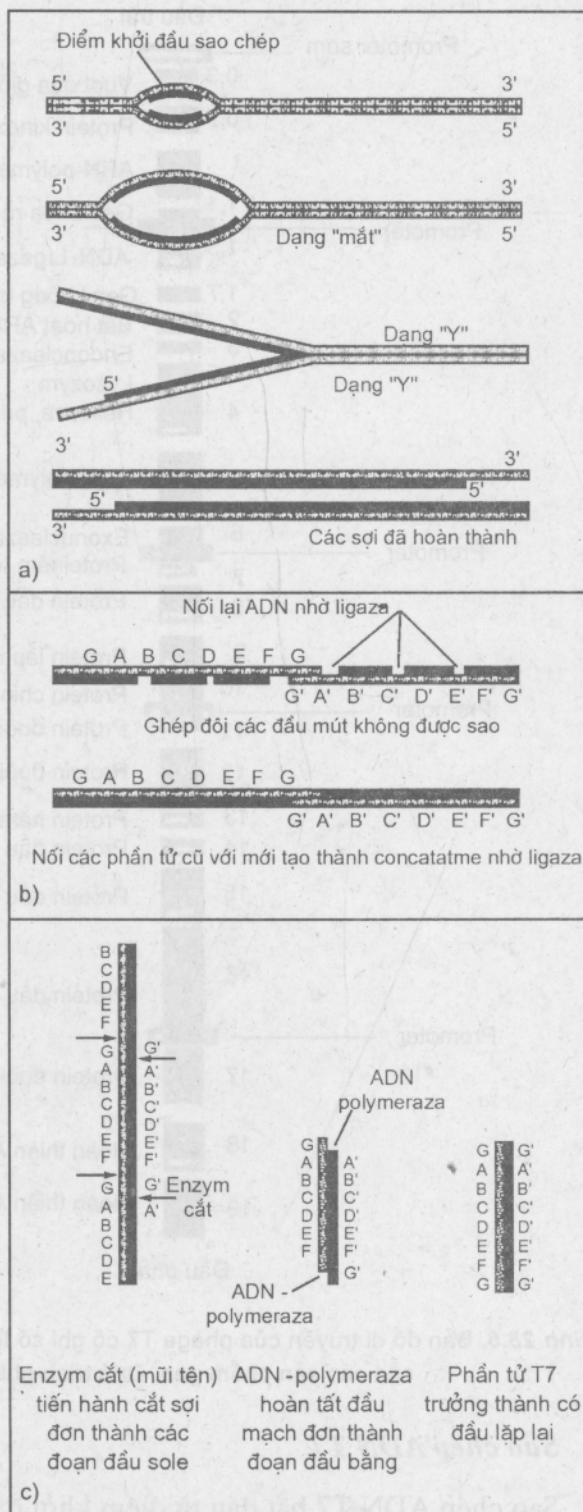
Sao chép ADN T7 bắt đầu từ điểm khởi đầu sao chép và diễn ra theo hai hướng. Mỗi hướng đều cần ARN mồi. ARN mồi theo hướng phải do ARN – polymeraza T7 tổng hợp, còn theo hướng trái là do enzym đặc hiệu của virut – primaza tổng hợp, đây là protein gen 4. Cả 2 mồi được nối và kéo dài ra nhờ ADN – polymeraza T7. Vì điểm khởi đầu

sao chép nằm phía trái nên thường nhìn thấy phân tử có hình dạng "chữ Y" còn trước đây là thấy dạng "con mắt" (hình 28.7).

Đặc điểm cấu tạo rất quan trọng của ADN T7 trong sao chép là có hai đầu lặp lại cùng chiều (direct terminal repeat) chứa khoảng 160 cặp bazơ. Để sao ADN gần đầu 5', phân tử ARN mới phải được cắt bỏ trước khi quá trình sao chép hoàn thành. Do vậy, ở mỗi sợi ADN T7 có một khoảng ở đầu 5' không được sao chép (hình 28.7a)

Để giải quyết vấn đề này, T7 dùng chuỗi ADN có đầu 3' là đoạn đơn bổ sung. Hai chuỗi gắn với nhau tại đoạn lặp lại tạo ra sợi ADN có chiều dài gấp đôi chiều dài ADN T7 ban đầu. Sau khi nối 2 phân tử, phần không được sao chép ở hai đầu sẽ được ADN polymeraza hoàn thiện, sau đó được ADN – ligaza hàn chỗ trống, tạo nên phân tử ADN dúp (bimolecule), chuỗi kép, dạng thẳng gọi là concateme. Quá trình sao chép được tiếp tục và tạo ra các concateme với độ dài nhất định. Concateme lại được cắt ra tại các vị trí chuyên biệt nhờ enzym cắt giới hạn (endonucleaza) để tạo các phân tử dạng thẳng, đầu so le sau đó nhờ ADN polymeraza hoàn tất thành các phân tử hai đầu lặp lại (đầu bằng) với kích thước của ADN virut (hình 28.7c).

Điều đáng chú ý là ARN – polymeraza của T7 rất đặc hiệu với promoter T7 nên enzym này có khả năng phiên mã hoàn toàn trên bất cứ trình tự ADN nào nằm dưới sự kiểm soát của promoter T7. ARN – polymeraza của T7 hoạt động rất mạnh, có khả năng phiên mã gấp 5 lần so với các ARN – polymeraza khác ở *E. coli*, do đó thường được dùng để biểu hiện gen trong *E. coli*.



**Hình 28.7.** Sao chép ADN ở T7. ADN chuỗi kép dạng thẳng (Brock T. M. et al. *Biology of Microorganisms*, 9th ed. Prentice Hall, 2000)



### 28.6.2. TTK ADN kép có kích thước lớn

Nhóm virus được nghiên cứu kỹ nhất thuộc loại này là các phage T chẵn, bao gồm T2, T4, T6 ký sinh ở *E.coli*. Đây là các phage lớn, có cấu trúc đầu và đuôi, chứa ADN kép và có quá trình sao chép rất phức tạp. Chúng được coi là mô hình rất tốt để nghiên cứu về virus học và sinh học phân tử. Hãy lấy thể thực khuẩn T4 làm ví dụ.

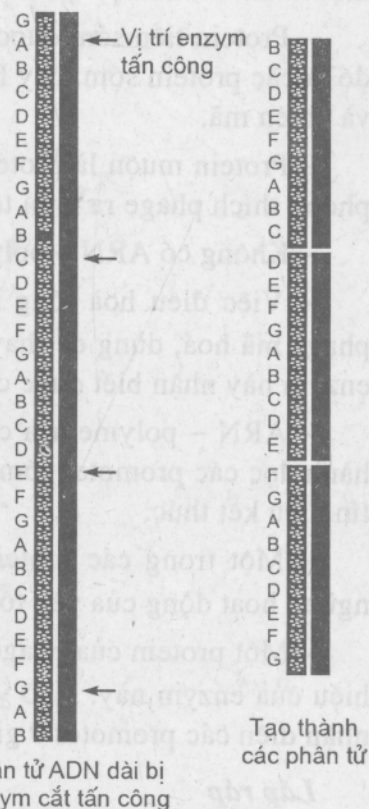
T4 có cấu tạo phức tạp gồm phần đầu và đuôi. Đầu có cấu trúc đối xứng 20 mặt, còn đuôi lại có đối xứng xoắn. Đầu có kích thước 95x 65nm hoặc hơn. Capsit gồm 212 capsome hợp thành, chứa 8 loại protein chiếm khoảng 80% toàn bộ virus. Mỗi capsome có đường kính 8nm. Đầu nối với đuôi bởi đĩa cổ hình lục giác với 6 tua. Gắn với cổ là đuôi gồm bao đuôi, ống trục đuôi, đĩa gốc hình lục giác với 6 mấu gắn với 6 sợi lông đuôi. Bao đuôi dài 95nm với 24 vòng xoắn, gồm 144 capsome. Ống trục đuôi cũng cấu tạo bởi 24 vòng xoắn nằm gọn trong bao đuôi. Khi bao đuôi co lại sẽ đẩy ống trục cắm vào thành tế bào.

T4 nhân lên trong tế bào *E.coli* đã được tóm tắt ở phần đầu chương. ADN của T4 có chiều dài gấp 650 lần chiều dài của đầu, do đó nó phải gấp khúc và nén chặt trong đầu.

Genom T4 khá phức tạp, gồm phân tử ADN lớn với  $1,7 \times 10^5$  bp. Đặc điểm hoá học của ADN T4 khác với ADN của tế bào ở chỗ bazơ 5 – dehydroxymethylcytosin được thay cho cytosin. Nhóm – OH của 5' – hydroxymethylcytosin được thay đổi do thêm gốc glucoza. Loại ADN glycosyl hoá này kháng lại hầu như tất cả các endonucleaza giới hạn của vật chủ. Do vậy, việc cải biến ADN đóng vai trò quan trọng giúp virus xâm nhập vào tế bào.

#### Sao chép ADN ở T4

Bản đồ di truyền của phage T4 luôn được biểu diễn dưới dạng đường tròn mặc dù bản thân nó có cấu trúc mạch thẳng. Sở dĩ như vậy là vì ở ADN T4 có hiện tượng gọi là **đổi đầu quay vòng** (circular permutation), nghĩa là lần lượt thay đổi trật tự các bazơ. Ở các hạt T4 khác nhau thì có trật tự các bazơ ở đầu chuỗi khác nhau, nhưng cũng giống như ở T7, T4 cũng có các đầu lặp lại, tức là một chuỗi bất kỳ sẽ có trật tự bazơ ở cả hai đầu là giống nhau. Ví dụ genom BCDEFGABC, DEFGABCDE, FGABCDEF, ABCDEFGAB. Cấu trúc này là do cách sao chép ADN ở T4 tạo thành **sự quay vòng gen** (genetic circularity) mặc dù bản thân ADN là mạch thẳng (hình 28.8).



**Hình 28.8.** Sự tạo thành genom của phage T4. Phân tử ADN dài có trình tự đã được sắp xếp, nhưng enzym lại cắt thành các đoạn bằng nhau không theo trình tự.



Quá trình sao chép ở T4 giống như ở T7, nhưng enzym cắt của T4 không nhận biết được vị trí chuyên biệt nằm trên sợi ADN dài nên chúng chỉ cắt thành các đoạn ADN có kích cỡ giống nhau của virut mà không kể đến trật tự bazơ. Do vậy, ADN của phage T4 khác nhau không chỉ có các đầu lắp lại mà còn ở trật tự nucleotit ở 2 đầu khác nhau.

### ***Phiên mã, dịch mã và điều hoà***

Quá trình điều hoà sao chép ở phage T4 phức tạp hơn ở T7 và cần có sự kiểm soát (+). T4 lớn hơn và chứa nhiều gen hơn T7. Như đã nói ở trên, ADN của T4 chứa một bazơ bất thường là 5 - dehydroxymethylcytosin, mà lẽ ra ở vi khuẩn là cytosin và một số nhóm - OH của bazơ này đã được gắn glucoza. Do vậy, các enzym cần để tổng hợp bazơ bất thường gắn glucoza phải được tạo thành sau khi virut nhiễm vào tế bào, cũng như tạo thành enzym phân huỷ tiền chất deoxycytidin triphosphat của ADN bình thường. Ngoài ra, T4 còn mã cho một số enzym có chức năng giống như enzym của vật chủ dùng trong sao chép ADN nhưng chúng được tạo thành với số lượng lớn hơn nên cho phép sự tổng hợp ADN đặc hiệu của T4 nhanh hơn. Tất cả có đến 20 protein mới được tổng hợp sớm ngay sau khi bị nhiễm.

Tóm lại, các gen T4 được chia làm 3 nhóm, một nhóm mã cho các protein tiền sớm, một nhóm mã cho protein sớm, nhóm còn lại mã cho các protein muộn.

- Protein tiền sớm được hình thành ngay sau khi nhiễm để tạo protein điều hoà, sau đó là các protein sớm, đây là các enzym replicaza tham gia vào quá trình sao chép ADN và phiên mã.

- Protein muộn là protein cấu trúc (tạo đầu, đuôi) và các enzym liên quan đến việc phóng thích phage ra khỏi tế bào.

- Không có ARN - polymeraza mới đặc hiệu của T4 được tổng hợp như ở T7.

- Việc điều hoà tổng hợp mARN của T4 đòi hỏi phải tổng hợp một protein do phage mã hoá, dùng để thay đổi tính đặc hiệu của ARN - polymeraza vật chủ, sao cho enzym này nhận biết được các promoter khác nhau của T4.

- ARN - polymeraza cải biến của vật chủ được yếu tố  $\delta$  của vật chủ trợ giúp tiến hành đọc các promoter sớm trên ADN virut và di chuyển về cuối chuỗi cho đến khi gặp tín hiệu kết thúc.

- Một trong các protein sớm của phage (do gen sớm mã hoá) có nhiệm vụ làm ngừng hoạt động của yếu tố  $\delta$  khi lượng protein sớm đã đủ mức cần thiết.

- Một protein của phage liên kết với enzym ARN - polymeraza để cải biến tính đặc hiệu của enzym này. Nhờ yếu tố  $\delta$  mới đặc hiệu do phage mã hoá, ARN - polymeraza nhận diện các promoter ở giữa để phiên mã gen muộn.

### ***Lắp ráp***

T4 thực hiện chu trình nhân lên trong vòng 25 phút. Quá trình tổng hợp các thành phần của phage diễn ra độc lập, sau đó ADN của virut chui vào đầu, rồi lắp đuôi và sợi đuôi để tạo virion hoàn chỉnh. Virut ra khỏi tế bào khi làm tan tế bào. Phage mã hoá tạo lizozym phá huỷ liên kết chéo peptit trong peptidoglican của thành tế bào. Số lượng virut mỗi lứa tuỳ thuộc vào sự tan bào xảy ra nhanh hay chậm. Nếu tế bào bị tan sớm thì

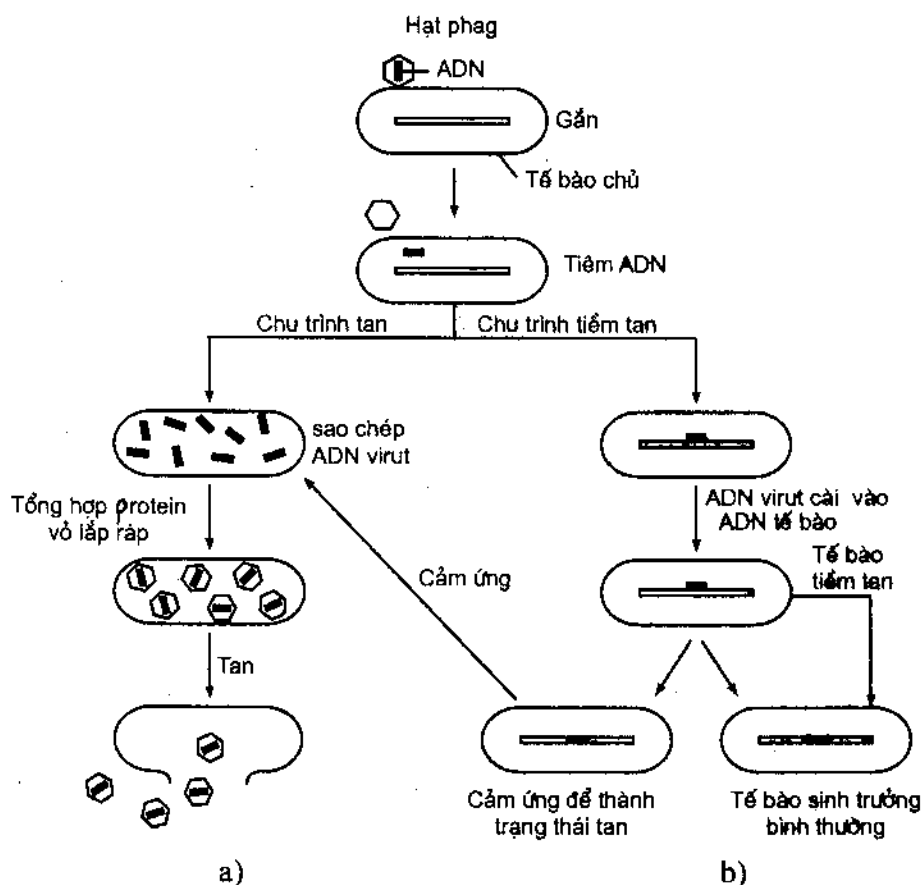
số lượng virus ít và ngược lại. Ở phage T4 dạng đại có hiện tượng ức chế tan bào, nên số lượng virus của một lứa rất lớn trong khi ở các thể đột biến tan bào nhanh, quá trình tan bào xảy ra sớm nên số lượng virus ít.

Ứng dụng ADN ligaza của T4 xúc tác cho phản ứng nối hai trình tự đầu bằng ADN ligaza của T4 nối hai trình tự ARN nhờ liên kết photphodiester được dùng trong đánh dấu phóng xạ 3 của ARN trong kỹ thuật sản xuất mẫu dò (probe)

## 28.7. HIỆN TƯỢNG TIỀM TAN VÀ PHAGE $\lambda$

### 28.7.1. Hiện tượng tiềm tan

Ở phần trước ta đã đề cập đến các virus sinh sản theo chu trình tan (lytic cycle) mà kết quả là làm chết tế bào chủ, nên gọi là **virus độc** (*virulent virus*) (hình 28.9a). Tuy nhiên, nhiều loại virus tỏ ra "*khôn khéo*" hơn, vẫn ký sinh nhưng không làm chết tế bào chủ. Virus ấy gọi là virus **ôn hoà** (*temperate virus*) (hình 28.9b).



**Hình 28.9.** Các tình huống có thể xảy ra khi virus nhiễm vào tế bào

- Chu trình tan bào. Virus nhân lên, phá vỡ tế bào rồi ổ ạt chui ra ngoài.
- Chu trình tiềm tan. ADN của virus gắn vào thể nhiễm sắc của tế bào và tế bào vẫn sinh trưởng bình thường. Trạng thái tiềm tan có thể cảm ứng chuyển thành trạng thái tan bào.

Thuật ngữ *tiềm tan* bắt nguồn từ chữ lysogeny để chỉ trạng thái virus ôn hoà ký sinh mà không giết chết tế bào. Genom của virus gắn vào genom của tế bào và cũng được nhân đôi khi tế bào phân chia. Vi khuẩn chứa virus ôn hoà được gọi là vi khuẩn tiềm tan (lysogen). Trong các điều kiện nhất định các vi khuẩn này có thể tự phát tạo ra các virion và được xác định nhờ khả năng nhiễm được vào một chủng vi khuẩn họ hàng. Trạng thái tiềm tan có thể là một đặc điểm sinh thái quan trọng, vì hầu hết vi khuẩn phân lập tự nhiên đều là "lysogen" với một hoặc nhiều phage.

Nếu tế bào chủ dù có tạo ra được một bản sao ADN virus, thì sự tan bào cũng không xảy ra, bởi vì không tạo được các protein mà virus cần cho lắp ráp, nhưng nếu tạo được một virus hoàn chỉnh, thì tế bào chủ sẽ bị tan. Khi genom của virus (ADN hoặc ARN thông qua ADN) gắn vào NST của tế bào, thì lúc đó virus ở trạng thái tiềm tan và được gọi là provirus hoặc prophage. Ở virus độc, ADN chứa các thông tin để tổng hợp các enzym và protein cần cho tái tạo virus, còn ở các provirus chúng cũng mang các thông tin giống như thế nhưng không được biểu hiện mà ở trạng thái "ngủ", bởi vì chính virus có gen chuyên biệt mã hoá tổng hợp enzym ức chế sự hoạt hoá của các gen cần cho quá trình nhân lên. Trong một số trường hợp, gen kìm hãm bị mất hoạt tính thì virus sẽ nhân lên và làm tan bào. Đôi khi prophage có thể tách khỏi ADN một cách ngẫu nhiên hoặc do xử lý tế bào bằng các tác nhân vật lý hay hoá học, như chiếu tia X, tia UV, xử lý bằng mù tạt nitơ (hơi cay nitơ), có thể phá huỷ ADN và hoạt hoá hệ thống sửa sai SOS, enzym cắt rời (excisionase) được tổng hợp sẽ tách prophage ra khỏi NST. Quá trình này được gọi là *cảm ứng tiềm tan* hay *cảm ứng prophage* (lysogenic/ prophage induction).

Không phải tất cả các prophage đều có thể cảm ứng. Ở một số virus ôn hoà, sự biểu hiện của prophage chỉ xảy ra do các tác nhân tự nhiên. Khi vi khuẩn ở trạng thái tiềm tan thì sẽ không bị nhiễm bởi các virus khác, nó giống như là được miễn dịch vậy. Có được điểm này là nhờ cơ chế ức chế nội bào do virus điều khiển. Điều gì xảy ra khi virus ôn hoà nhiễm vào tế bào không tiềm tan. Virus có thể bơm ADN của nó vào tế bào và bắt đầu tự điều khiển một chu trình sao chép giống như các virus độc, cuối cùng làm tan tế bào và giải phóng virus ra khỏi tế bào. Đồng thời virus cũng có thể trở thành prophage, lúc đó quá trình sao chép hoàn toàn do vật chủ điều khiển.

### 28.7.2. Phage $\lambda$

Phage  $\lambda$  ký sinh ở *E. coli*, là virus ôn hoà được nghiên cứu kỹ nhất. Về hình thái không có gì khác với các phage T khác, cũng bao gồm đầu hình khối với đường kính 64nm và đuôi xoắn dài 150nm. Nối với đuôi là một sợi lông đuôi dài 23nm. Ngoài protein chính của vỏ, capsit còn có một số protein phụ của vỏ.

Axit nucleic của phage  $\lambda$  là một phân tử ADN kép, dạng thẳng. Đầu 5' của mỗi sợi là một đoạn 12 nucleotit tạo thành hai đầu mút dính bổ sung (mạch đơn) gọi là *cos* (cohesive end).

#### 28.7.2.1. Tổng quát về quá trình nhân lên của phage $\lambda$

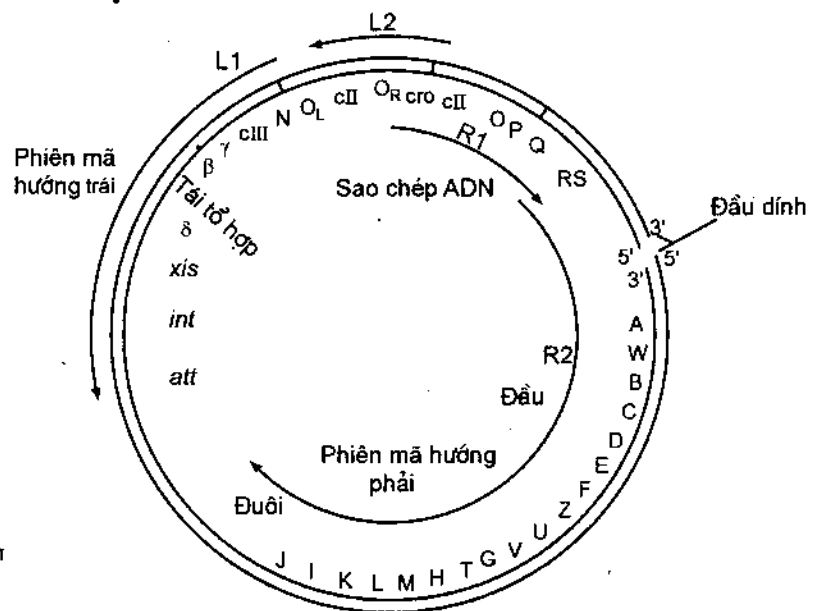
Sau khi bơm ADN vào tế bào chất hoặc sau khi prophage tách khỏi NST, ADN của phage  $\lambda$  lập tức khép vòng và bắt đầu quá trình sao chép. Quá trình này được tiến hành theo hai giai đoạn.

**Giai đoạn 1.** Từ phân tử ADN kép, khép vòng, tiến hành sao chép theo kiểu theta (hay dạng mắt) để tăng số lượng khuôn cho phiên mã và khuôn để sao chép. Sau đó, từ điểm khởi đầu tiến hành sao chép theo hai hướng đối diện nhau và kết thúc khi hai chạc ba gặp nhau (sao chép đối xứng).

**Giai đoạn 2.** Sao chép theo cơ chế vòng tròn xoay (không đối xứng). Sau khi tạo mạch đơn giống như  $\phi$ X174 thì gắn mỗi để tổng hợp mạch bổ sung, tạo phân tử dài, kép gọi là concateme. Enzym cắt do phage mã hoá nhận biết vị trí chuyên biệt trên cả hai mạch để cắt thành các đoạn có kích cỡ genom. Điểm cắt có đầu sole gồm 12 nucleotit gọi là cos (cohesive end). Sau khi cắt tạo được genom có chiều dài bằng 79 – 106% chiều dài của genom  $\lambda$  bình thường, do vậy có thể gắn thêm một đoạn gen lạ. Trên ADN của  $\lambda$  có một đoạn nằm giữa gen J và gen att (hình 28.10) không đóng vai trò quan trọng vì không đảm nhiệm chức năng gì, nên dù có thay thế nó bằng một đoạn gen lạ thì cũng không ảnh hưởng đến quá trình nhân lên của phage  $\lambda$ . Vì đặc điểm này mà phage  $\lambda$  được coi là lý tưởng dùng làm vectơ chuyển gen trong kỹ thuật di truyền.

Sau khi tổng hợp protein cấu trúc sẽ tiến hành lắp ráp để tạo thành phage hoàn chỉnh.

Phage  $\lambda$  có hệ thống điều hoà sự hoạt hoá của gen rất phức tạp (hình 28.10), quyết định hướng mà phage  $\lambda$  phải đi theo sinh tan hay tiềm tan. Dưới đây chúng ta sẽ xem xét chi tiết quá trình điều hoà này.



**Hình 28.10.** Bản đồ di truyền của phage  $\lambda$ .

Các gen được ký hiệu như sau :

att – vị trí gắn vào NST của tế bào ; int – gắn xen ; xis – gắn xen ; exo – tái tổ hợp ; cI – gen ức chế ;  $O_R$  – operator bên phải ;  $P_R$  – promoter bên phải ;  $O_L$  – operator bên trái ;  $P_L$  – promoter bên trái ; Cro – gen mã cho chất ức chế thứ hai ; N – gen điều khiển (+) tác động vào đoạn kết thúc phụ thuộc Rho. Các gen từ J đến U mã cho protein đuôi, từ Z đến A mã cho protein đầu ; cI – protein ức chế ; Cos – đầu dính ; Phiên mã gen sớm tiến hành đầu tiên, ngược chiều kim đồng hồ từ gen PL và ở bên phải là từ PR. Phiên mã chính theo chiều trái ký hiệu là L1 và phiên mã sớm theo chiều phải ký hiệu là R1. Có 3 vị trí kết thúc phiên mã do protein N tác động. Phiên mã muộn phía phải (thuận kim đồng hồ) mã cho protein đầu, đuôi và protein thủy phân, ký hiệu là R2, bắt đầu từ promoter gần gen Q. Sản phẩm phiên mã ký hiệu là L2 là bản phiên mã được điều hoà(+) từ gen PE mã cho protein ức chế.

### 28.7.2.2. Chu trình sinh tan

Sau khi xâm nhập, sợi ADN kép của phage  $\lambda$  lập tức khép vòng và biểu hiện gen. Có hai gen được biểu hiện sớm là *cI* và *Cro*. Gen *cI* mã cho protein *cI* là chất ức chế  $\lambda$ . Khi chất này được tích lũy thì sẽ ngăn cản quá trình phiên mã của các gen muộn, do đó ngăn cản quá trình sinh tan và  $\lambda$  đi vào con đường tiềm tan.

Gen *Cro* mã cho protein *Cro*. Khi protein này được tích lũy, sẽ kiểm soát chất ức chế  $\lambda$  và ngăn cản sự phiên mã các protein tham gia vào chu trình tiềm tan và  $\lambda$  đi vào con đường sinh tan.

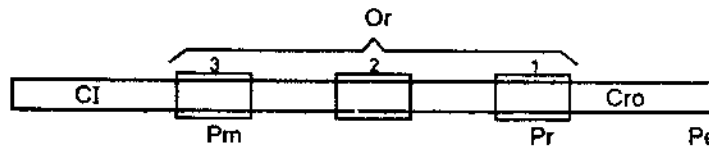
Sự tổng hợp mARN nhờ ARN – polymeraza của vật chủ được khởi đầu từ một số promoter nằm trong vùng điều hoà, trong đó có hai promoter : một nằm ở phía trái ký hiệu là  $P_L$  (sẽ phiên mã theo hướng trái) và một nằm ở phía phải ký hiệu là  $P_R$  sẽ phiên mã theo hướng phải. Từ promoter  $P_L$  tiến hành phiên mã gen *N* để tổng hợp protein *N* là một chất kháng kết thúc (antiterminator). Đây là protein đặc hiệu ngăn cản việc dừng tổng hợp mARN.

Thông thường, quá trình tổng hợp mARN được kết thúc nhờ protein đặc hiệu Rho. Protein *N* làm mất hoạt tính của Rho, do đó cho phép ADN – polymeraza vượt qua điểm dừng để tổng hợp mARN dài hơn và vì thế tổng hợp được nhiều loại protein hơn, trong đó có các protein do các gen *O*, *P*, *cII* và *cIII* mã hoá.

Protein *N* không hoàn toàn có hiệu lực đối với điểm dừng nằm ngay trước gen *Q* nên chỉ có một phần nhỏ protein *Q* được tạo thành. Protein *Q* cũng là một chất kháng kết thúc. Nếu nồng độ protein này đủ lớn sẽ cho phép ARN – polymeraza vượt qua điểm dừng để tiến hành phiên mã từ một promoter kế cận. Bản phiên mã này (trong bản đồ ký hiệu là  $R_2$ ) sẽ dịch mã tạo các protein muộn, bao gồm protein cấu trúc và protein phân giải.

Từ promoter  $P_R$  tiến hành phiên mã gen *Cro* để tổng hợp protein *Cro*. Protein này được tổng hợp đồng thời với protein *Q*. Protein *Cro* gắn vào operator  $O_L$  để ngăn cản sự phiên mã từ promoter  $P_L$  và gắn vào  $O_R$  để ngăn cản sự phiên mã từ  $P_R$ . Vì vậy, protein *Cro* có chức năng là chất ức chế.

Cơ chế tác động của protein *Cro* tại operator  $O_R$  được mô tả trên hình 28.11. Tại operator  $O_R$  có 3 vị trí khác nhau ký hiệu là 3, 2, 1 đều có thể gắn với protein *Cro*. Đầu tiên là gắn ở vị trí 3, sau đến vị trí 2. Chỉ sau khi gắn vào hai vị trí này rồi thì mới gắn tiếp vào vị trí 1 và chỉ sau khi gắn vào vị trí 1 thì promoter  $P_R$  mới bị ức chế. Ở operator  $O_L$ , các diễn biến cũng xảy ra tương tự như vậy. Khi  $P_L$  và  $P_R$  bị ức chế thì không một protein *cII* và *cIII* nào được tổng hợp. Các protein này tham gia vào chu trình tiềm tan, cho nên nếu protein *Cro* tích lũy ở mức độ cao thì chắc chắn  $\lambda$  chuyển sang hướng sinh tan. Việc khoá các promoter này làm thay đổi giai đoạn sao chép ADN của  $\lambda$ . Khi đó, ở giai đoạn này sẽ tổng hợp protein muộn chứ không tổng hợp protein *O* và *P* là các protein tham gia vào sao chép ADN kiểu teta ( $\theta$ ). Sự tổng hợp ADN bước vào giai đoạn 2 theo cơ chế vòng tròn xoay tạo phân tử ADN dài gọi là concateme. Từ đây tiếp tục thực hiện các bước tiếp theo của quá trình nhân lên như đã trình bày ở phần trên.



**Hình 28.11.** Hai promoter nằm sát nhau trong vùng công tắc di truyền của phage  $\lambda$  do gen  $cI$  và gen  $Cro$  kiểm soát. Khi có mặt protein  $cI$  chúng sẽ hoạt hoá để tổng hợp chính nó và ức chế sự phiên mã của gen  $Cro$ . Khi gen  $cI$  bị bất hoạt, sẽ tiến hành phiên mã gen  $Cro$  và gây hiện tượng tan bào.  
Protein  $cI$  (chất ức chế) gắn vào operator OR

### 28.7.2.3. Sinh tan hay tiềm tan là phụ thuộc vào "công tắc" di truyền

Ở phage  $\lambda$ , việc quyết định con đường sinh tan hay tiềm tan được kiểm soát bởi công tắc di truyền. Ở phần trên là thảo luận về con đường sinh tan, còn dưới đây là giải thích làm sao công tắc di truyền có thể hướng sang con đường tiềm tan.

– Có hai điều kiện cần để virus trở thành tiềm tan :

+ Ngăn cản sự tạo thành các protein muộn.

+ Cài được genom vào NST của tế bào.

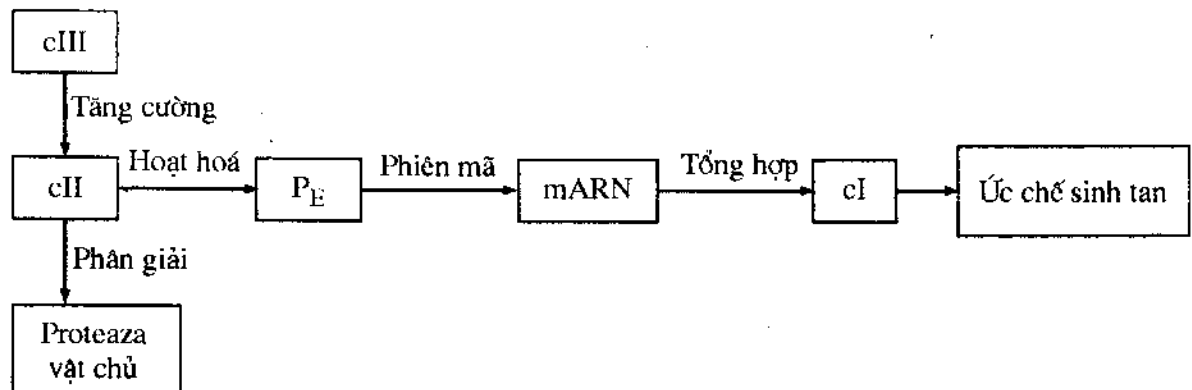
– Muốn ngăn cản tổng hợp protein muộn thì phải có protein ức chế  $\lambda$  do gen  $cI$  mã hoá. Protein ức chế này ngăn tổng hợp tất cả các protein khác của  $\lambda$ .

– Gen  $cI$  nằm giữa promoter  $P_L$  và  $P_R$  nhưng phiên mã cho gen  $cI$  không phải hai promoter này mà là promoter  $P_E$  (E : establishment tức là promoter thiết lập). Trên bản đồ di truyền  $P_E$  nằm bên phải gen  $Cro$  và đối diện với  $P_R$  nên sự phiên mã xảy ra theo hướng ngược lại với  $P_R$ .

– Nếu  $P_E$  được hoạt hoá thì protein ức chế  $\lambda$  được tổng hợp và  $\lambda$  đi theo con đường tiềm tan.

– Gen  $cII$  mã cho protein dùng để hoạt hoá  $P_E$  (và một promoter khác dùng cho tổng hợp integraza). Protein  $cII$  được tổng hợp rất sớm nhưng không bền vững vì bị proteaza của tế bào phân huỷ. Nếu thiếu protein  $cII$  thì  $P_E$  không được hoạt hoá và  $\lambda$  không có khả năng đi theo con đường tiềm tan.

– Gen  $cIII$  mã cho protein  $cIII$  có tác dụng làm tăng sức bền của protein  $cII$  nếu lượng proteaza của vật chủ không quá cao.



– Sự hoạt động của công tắc di truyền khá phức tạp. Protein ức chế  $\lambda$  ( $cI$ ) gắn vào các operator  $O_L$  và  $O_R$  cũng giống như protein Cro, nhưng ở vị trí đối diện với protein Cro. Đầu tiên gắn vào vị trí 1 để ngắt  $P_R$  (đối với  $P_L$  cũng theo cơ chế tương tự). Khi  $P_R$  bị ngắt thì toàn bộ các protein khác không được tổng hợp.

– Không có protein Q thì không có protein muộn và do đó  $\lambda$  không thể bước vào con đường sinh tan.

– Không có protein  $cII$  thì  $P_E$  không được hoạt hoá, nên muốn duy trì trạng thái tiềm tan thì cần phải có con đường khác để phiên mã gen  $cI$ .

– Promoter  $P_M$  (M – maintenance tức promoter duy trì) nằm phía trước gen  $cI$  (cùng hướng với  $P_E$ ).  $P_M$  được hoạt hoá khi chất ức chế  $\lambda$  bám vào vị trí số 1 của  $O_R$  và sẽ bị bất hoạt khi chất ức chế  $\lambda$  gắn vào cả 3 vị trí. Do vậy, chất ức chế  $\lambda$  vừa làm nhiệm vụ chất ức chế vừa làm nhiệm vụ chất hoạt hoá khi nó gắn vào vị trí số 1 để ức chế  $P_R$  và hoạt hoá  $P_M$ . Kiểu điều hoà này tiếp tục xảy ra sau khi  $\lambda$  đã gắn vào NST của tế bào.

Dưới tác động của các tác nhân cảm ứng (tia UV, tia X, mù tạt nitơ), ADN bị tổn thương sẽ xuất hiện một cơ chế bảo vệ vật chủ gọi là *đáp ứng sửa chữa SOS*. Có khoảng 10 đến 20 gen được khởi động, trong đó có một số gen vi khuẩn giúp nó thoát khỏi sự huỷ diệt của tia phóng xạ. Một protein trong số này gọi là RecA (bình thường tham gia tái tổ hợp di truyền) sẽ biến thành enzym proteaza chuyên biệt phá huỷ protein ức chế và do đó tháo bỏ sự kiểm chế biểu hiện của gen tan. Ngay sau khi chất ức chế  $\lambda$  bị bất hoạt, quá trình kiểm soát (+) và (–) nhờ chất ức chế bị loại bỏ thì việc phiên mã mới có thể bắt đầu và chu trình tan được thực hiện. Bởi vì lúc này, dù chất ức chế có được hình thành cũng sẽ bị làm bất hoạt.

Phage  $\lambda$  là một ví dụ điển hình về "công tắc" di truyền nơi xảy ra sự cạnh tranh di truyền giữa các chức năng khác nhau. Khi chức năng này chiếm ưu thế thì sẽ được khẳng định và kìm hãm hoạt động của chức năng kia. Chỉ trường hợp đặc biệt, ví dụ khi ở trạng thái cảm ứng, thì chức năng ưu thế được thay thế.

#### **28.7.2.4. Sự gắn ADN phage vào NST của tế bào**

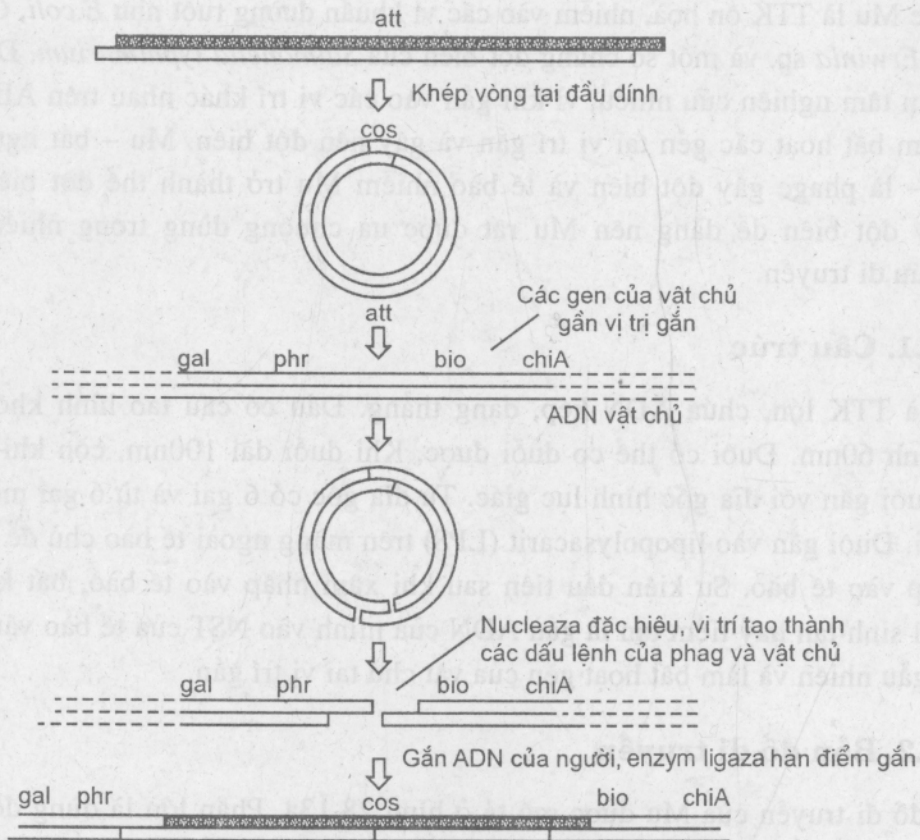
Quá trình này diễn ra theo các bước sau (hình 28.12) :

– Chuỗi ADN dạng thẳng của phage  $\lambda$  với hai đầu mút dính bắt cặp với nhau tại điểm nối cos để tạo dạng ADN vòng.

– Một số gen sớm của phage được phiên mã để tổng hợp các protein sớm. Gen  $cI$  tổng hợp protein ức chế (repressor) ngăn cản sự phiên mã của các gen muộn, gen  $int$  mã cho enzym integraza giúp cho ADN phage gắn điểm att (attachment) vào một điểm chuyên biệt, trên NST của tế bào và trở thành prophage. Integraza là enzym topoisomeraza đặc hiệu vị trí nên xúc tác để gắn phage  $\lambda$  vào đúng vị trí trên NST.

– Khi tế bào vi khuẩn sinh sản, prophage cũng được sao chép cùng với NST của tế bào chủ. Trong khi tế bào sinh trưởng, hệ thống ức chế  $\lambda$  ngăn cản sự biểu hiện của các gen prophage  $\lambda$ , ngoại trừ gen  $cI$  mã cho chất ức chế  $\lambda$ .

Do bị tác động hoặc do ngẫu nhiên, prophage có thể tách khỏi ADN vi khuẩn nhờ enzym excisionaza là sản phẩm của gen  $xis$  để chuyển sang chu trình tan.



**Hình 28.12.** Sự gắn ADN của  $\lambda$  vào ADN vật chủ luôn xảy ra tại vị trí đặc hiệu nằm trên ADN của vật chủ, còn ở trên  $\lambda$  vị trí gắn là  $att$ . Trong hình ghi chú một số gen vật chủ ở gần vị trí gắn. Enzym integraza xúc tác cho phản ứng gắn ADN của phage  $\lambda$  vào NST vật chủ.

(Brock T.M. et al. *Biology of Microorganisms*, 9th ed. Prentice Hall, 2000)

## 28.8. VIRUT ÔN HOÀ KIỂU PLASMIT

Còn có một loại virut ôn hoà khác, ADN của nó không gắn vào NST của tế bào mà bằng cách nào đó sao chép trong tế bào chất đồng thời với việc phân chia tế bào giống như plasmid. Đại diện loại này là phage P1 ký sinh ở *E. coli*. Mặc dù không gắn một cách vật lý vào NST tế bào, nhưng sự sao chép của prophage P1 vẫn phối hợp chặt chẽ với sự phân chia tế bào, bởi vì mỗi NST tế bào chủ chỉ có một bản sao ADN prophage.



Khi tế bào phân chia, mỗi tế bào con cũng nhận được plasmit P1 từ tế bào mẹ tương tự như ở phage  $\lambda$ . Chất ức chế của phage P1 cũng tham gia vào điều khiển quá trình sao chép.

## 28.9. THỂ THỰC KHUẨN CHUYỂN VỊ – PHAGE MU

Phage Mu là TTK ôn hoà, nhiễm vào các vi khuẩn đường ruột như *E.coli*, *Citrobacter freundii*, *Erwinia* sp. và một số chủng đột biến của *Salmonella typhimurium*. Đây là TTK được quan tâm nghiên cứu nhiều, vì khi gắn vào các vị trí khác nhau trên ADN vật chủ có thể làm bất hoạt các gen tại vị trí gắn và gây nên đột biến. Mu – bắt nguồn từ chữ mutator – là phage gây đột biến và tế bào nhiễm Mu trở thành thể đột biến. Do khả năng gây đột biến dễ dàng nên Mu rất được ưa chuộng dùng trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu di truyền.

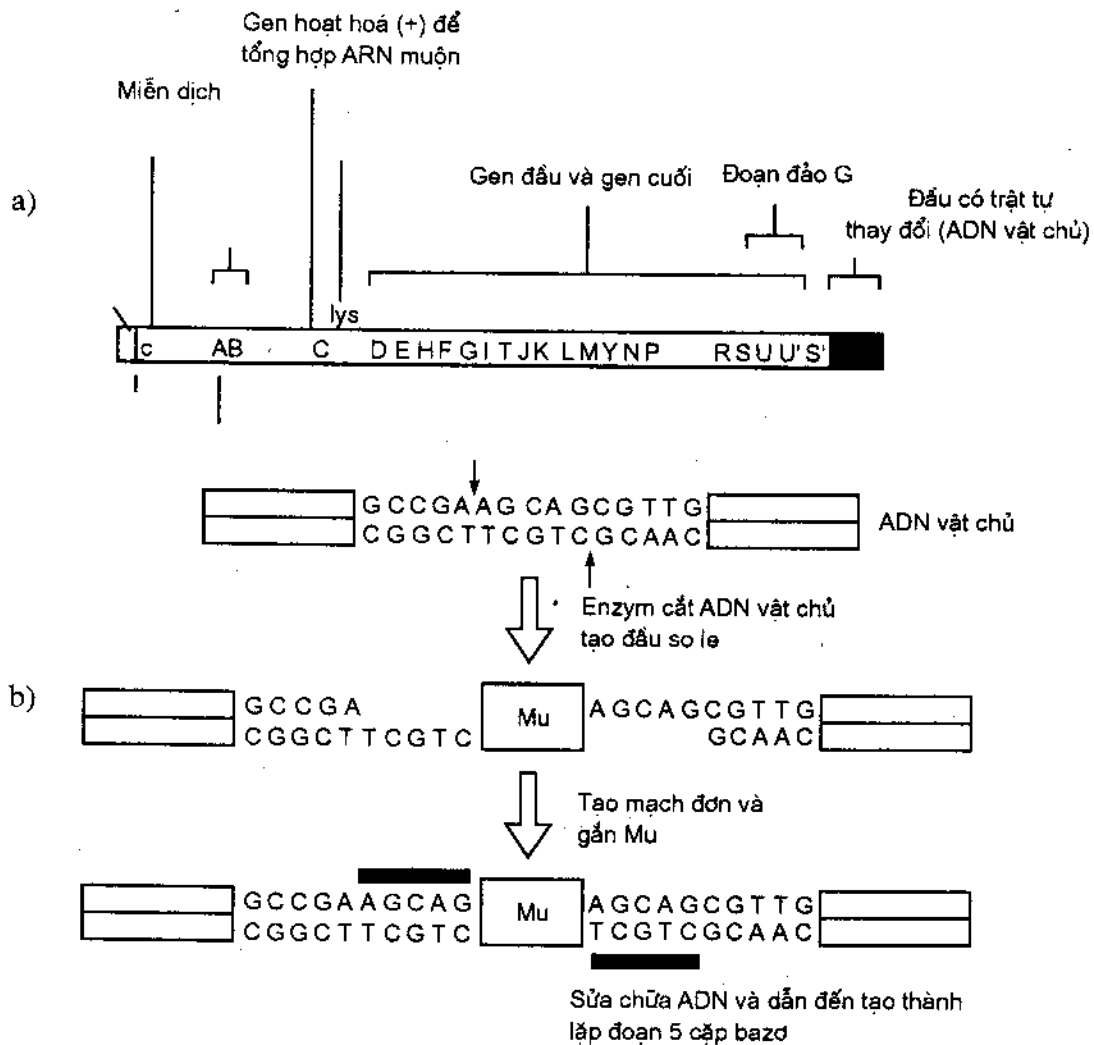
### 28.9.1. Cấu trúc

Mu là TTK lớn, chứa ADN kép, dạng thẳng. Đầu có cấu tạo hình khối đa diện, đường kính 60nm. Đuôi có thể co duỗi được. Khi duỗi dài 100nm, còn khi co thì dài 60nm. Đuôi gắn với đĩa gốc hình lục giác. Từ đĩa gốc có 6 gai và từ 6 gai mọc ra 6 sợi lông đuôi. Đuôi gắn vào lipopolysaccharit (LPS) trên màng ngoài tế bào chủ để mở đầu sự xâm nhập vào tế bào. Sự kiện đầu tiên sau khi xâm nhập vào tế bào, bất kể chúng ở trạng thái sinh tan hay tiềm tan là gắn ADN của mình vào NST của tế bào vật chủ tại vị trí gắn ngẫu nhiên và làm bất hoạt gen của vật chủ tại vị trí gắn.

### 28.9.2. Bản đồ di truyền

Bản đồ di truyền của Mu được mô tả ở hình 28.13a. Phần lớn là dùng để tổng hợp các protein đầu và đuôi, nhưng các gen quan trọng lại nằm ở hai đầu dùng để sao chép ADN và quyết định tính KN. Phần tử ADN của Mu dài 39kb nhưng chỉ có 37,2kb thực sự là của Mu, còn lại ở hai đầu là ADN của vật chủ gắn vào phía trái khoảng 50 – 150 cặp và phía phải là 1 – 2kb. Các đoạn ADN vật chủ này không phải là duy nhất vì còn có các đoạn nằm kề với vị trí mà Mu gài gen của nó vào genom vật chủ lần trước. Khi hình thành hạt virut, ADN chứa genom Mu có chiều dài vừa đủ cho một đầu phage sẽ được cắt ra khỏi NST vật chủ. ADN được đẩy vào từ phía đầu trái, sau đó cuộn lại cho đến khi choán hết không gian của đầu.

Tuy nhiên tại phía phải, nơi ADN bị cắt thì các hạt khác nhau là khác nhau. Do vậy, trên bản đồ di truyền phía bên phải gần gen attR luôn là đoạn ADN của vật chủ, cũng sẽ gói vào đầu phage. Mỗi hạt virut dù bắt nguồn từ cùng một tế bào sẽ mang đoạn ADN vật chủ khác nhau. Cũng có trường hợp virion chỉ chứa toàn ADN vật chủ, khi ấy chúng có thể chuyển gen từ tế bào này sang tế bào khác theo cơ chế tải nạp.



**Hình 28.13. TTK Mu**

- a) Bản đồ di truyền của Mu. Có hai đoạn gen G'S, G và đoạn gen G đảo ngược (invertible G flagment). Có các đoạn G khác nhau.
- b) Sự gắn ADN của Mu vào ADN của vật chủ gây lặp đoạn 5 cặp bazơ của vật chủ (Brock T.M. et al. *Biology of Microorganisms*, 9th ed. Prentice Hall, 2000)

### 28.9.3. Đột biến và các phage cải biến

Do Mu có thể gắn vào các vị trí khác nhau trên một khoảng rộng của các ADN vật chủ, nên nó có thể được dùng để tạo ra các đột biến nhiều điểm đồng thời có thể dùng để chuyển gen từ tế bào này sang tế bào khác. Ngoài ra, Mu cải biến trong phòng thí nghiệm còn bị mất các chức năng tan. Các phage này gọi là Mini – Mu. Phần lớn chức năng quan trọng của Mini – Mu bị mất nhưng các gen ở hai đầu vẫn bình thường. Phage Mini – Mu thường có khuyết tật, chúng không tạo ra được các vết tan (plaque). Chỉ có thể nhận biết sự tồn tại của chúng thông qua sự biểu hiện của các gen khác nhau mà

chúng mang. Một trong các Mini – Mu này có chứa gen  $\beta$  – galactosidaza của vật chủ gọi là Mud – lac (d – từ chữ defective – khuyết tật) có thể phát hiện ra ngay khi còn đang ở dạng prophage nếu gen lac được định hướng chính xác về promoter vật chủ. Lúc đó, tế bào chủ sẽ hình thành enzym  $\beta$  – galactosidaza và dễ dàng phát hiện được nhờ chất chỉ thị màu đặc trưng (X – gal), chẳng hạn trong đám vi khuẩn *E. coli* xuất hiện các khuẩn lạc màu xanh da trời, điều đó chứng tỏ Mu đã gài vào NST tế bào chủ và mã hoá để tổng hợp  $\beta$  – galactosidaza. Rõ ràng Mu là một công cụ lợi hại của các nhà di truyền.

Trên bộ gen Mu có một đoạn gọi là đoạn G (không phải gen G) có thể đảo ngược theo hướng khác nhau. Theo một hướng được ký hiệu là SU và theo hướng ngược lại được ký hiệu là S'U'. Hướng của đoạn này xác định sự tạo thành kiểu lông đuôi. Ta đã biết tính đặc hiệu của sợi lông đuôi quyết định khả năng hấp phụ của virus lên bề mặt tế bào. Nếu đoạn G nằm theo hướng gọi là G+ thì hạt Mu sẽ ký sinh vào tế bào *E. coli* chủng K – 12, còn nếu theo hướng G – thì sẽ ký sinh trên *E. coli* chủng C hoặc trên một vài loại vi khuẩn đường ruột khác. Có hai loại protein của đuôi được mã bởi các gen nằm đối diện nhau trong đoạn G. Phía trái đoạn G là promoter hướng phiên mã vào đoạn G. Theo hướng G+, promoter sẽ phiên mã các gen S và U, còn theo hướng G – thì một promoter khác sẽ hướng phiên mã các gen S' và U'.

#### **28.9.4. Sao chép ADN ở phage Mu**

Khác với phage  $\lambda$ , việc cài ADN của Mu vào genom vật chủ là thiết yếu cho cả hai quá trình tan và tiềm tan. Khi gắn cần phải có enzym transposaza do gen A mã hoá. Nơi phage Mu gắn, sợi ADN vật chủ bị cắt sole nên tạo ra 2 đoạn sợi đơn. Khi phage Mu gắn vào sẽ tiến hành sửa chữa bằng cách lấp vào đoạn đơn 5 cặp bazơ bổ sung để tạo thành sợi đôi mới hoàn chỉnh.

Chu trình tan có thể được tiến hành ngay sau khi nhiễm nếu như chất ức chế gen C không được tạo thành, hoặc nhờ có cảm ứng của tế bào tiềm tan. Trong trường hợp khác, sự sao chép ADN của Mu đòi hỏi phải có sự chuyển vị lặp lại của Mu vào nhiều vị trí trên ADN của vật chủ. Lúc đầu, sự phiên mã chỉ xảy ra đối với các gen Mu sớm nhưng sau protein gen C là chất hoạt hoá (+) tổng hợp ARN muộn rồi tiếp đó là tổng hợp protein đầu và đuôi, lắp ráp và chui ra khỏi tế bào.

## Chương 29

# VIRUT CỦA CÔN TRÙNG, TẢO VÀ NẤM

### 29.1. VIRUT CỦA CÔN TRÙNG

Virut của côn trùng là thành viên của ít nhất 7 họ bao gồm : *Baculoviridae*, *Iridoviridae*, *Poxviridae*, *Reoviridae*, *Parvoviridae*, *Picornaviridae* và *Rhabdoviridae*, chúng có thể ký sinh và gây bệnh cho côn trùng hoặc chỉ dùng côn trùng làm vật chủ đầu tiên. Trong số này, 3 họ quan trọng nhất là : *Baculoviridae*, *Reoviridae* và *Iridoviridae*

– *Iridoviridae* là họ virut hình khối đa diện gây bệnh ngũ sắc ở một số côn trùng. Sở dĩ có tên gọi như vậy vì khi quan sát ấu trùng của côn trùng bị nhiễm virut thấy có màu sắc cầu vồng do các virion kết tinh trong thể lipit (irido bắt nguồn từ tiếng Latinh, Iris là cầu vồng). Họ này gồm 4 chi : *Chlorinidovirus*, *Irodovirus*, *Lymphocystivirus* và *Ranavirus*.

Virion hình khối 20 mặt, đường kính 20 – 30nm, cấu trúc phức tạp gồm 1 lõi nucleoprotein được bao bọc bởi 1 lớp lipoprotein dạng mạng nằm bên trong capsit. Một số virion còn có thêm vỏ ngoài lipoprotein. Vỏ này có nguồn gốc từ màng sinh chất hoặc mạng lưới nội chất của tế bào chủ. Vỏ ngoài dường như không cần dùng cho quá trình gây nhiễm.

Các virion nói chung bền ở pH 3 – 10 và ở nhiệt độ 4°C, chúng có thể bị bất hoạt ở 55°C trong 15 – 30 phút. Các thành viên của chi *Ranavirus* và *Lymphocystivirus* nhạy cảm với este và các chất tẩy rửa.

Genom là một (đôi khi là hai) phân tử ADN kép, dạng thẳng, khối lượng 100 – 250 × 10<sup>6</sup>. Ít nhất một số thành viên của chi *Iridovirus* (virut gây bệnh ở ếch, virut ngũ sắc, virut bệnh lympho) có ADN khép vòng, đối đầu và có đoạn dư thừa không dịch mã ở đầu phân tử. Đây là trường hợp duy nhất ở virut động vật có đặc điểm này nhưng nó lại khá phổ biến ở TTK.

– *Baculoviridae* là virut chứa ADN kép, khép kín, gây nhiễm ở bọ chân khớp. Có đến 600 loài khác nhau thuộc bộ Hai cánh (Diptera), bộ Cánh màng (Hymenoptera), bộ Bướm (Lepidoptera) và ấu trùng của Decapoda là đối tượng tấn công của virut *Baculo*. Trước đây *Baculoviridae* được chia thành ba nhóm dựa trên các đặc điểm hình thái và thể bọc – OB (occlusion body).

- + Nhóm A – Virut nhân đa diện (nuclear polydehedrosis virus).
- + Nhóm B – Virut dạng hạt – GV (granulosis virus).
- + Nhóm C – Dạng này giống như *Polydnaviridae* (không tạo thể bọc gây nhiễm ở bọ chân khớp như côn trùng, nhện, giáp xác).

Gần đây người ta chia *Baculoviridae* ra làm hai chi :

- + *Nucleopolyhedrovirus* (NPV) được đặc trưng bởi sự tạo thành thể bọc hình đa diện. Trong mỗi thể bọc chứa nhiều virion, virut nhân lên và tạo vỏ bọc trong nhân của tế bào ký chủ.
- + *Granulovirus* (GV) được đặc trưng bởi sự tạo thành thể bọc hình elip hoặc hình gậy hai đầu tròn. Trong mỗi thể bọc chỉ chứa một virion. Virut tiến hành nhân lên và tạo vỏ bọc trong nhân tế bào ký chủ. Tuy nhiên có trường hợp ngoại lệ, virut nhân lên trong tế bào chất.

NPV thấy nhiều ở các nhóm chân khớp khác nhau, còn GV chủ yếu chỉ thấy ở Bộ *Lepidoptera*. Protein nền (matrix) của NPV và GV đều được gọi là polyhedrin hoặc riêng đối với GV còn được gọi là granulin. Việc xây dựng hệ thống phân loại của NPV và GV chủ yếu dựa vào trình tự các gen chuyên biệt. Gen mã cho polyhedrin / granulin được sử dụng nhiều nhất. Tuy nhiên, các gen mã cho ADN – polymeraza, egt, kitinaza, cathepsin và lef – 2 cũng được sử dụng.

Côn trùng bị bệnh khi ăn phải lá chứa thể bọc. Ở trong ruột giữa, polyhedrin thể bọc bị phân giải trong chất kiềm giải phóng virion để rồi nhiễm vào tế bào ruột giữa, nhân lên rồi nảy chồi qua màng sinh chất của tế bào ruột giữa. Một số virut nằm ở ruột giữa, số khác lại lan ra khắp cơ thể theo dịch bạch huyết. Cũng như virut ở động vật có xương sống và TTK, virut của côn trùng cũng có thể duy trì ở thể tiềm ẩn trong vật chủ, đi qua các thế hệ mà không biểu hiện triệu chứng. Sự xuất hiện bệnh có thể do tác động của các hoá chất, sốc nhiệt, thậm chí do thay đổi thức ăn.

Gần đây, virut của côn trùng được quan tâm đặc biệt trong đấu tranh sinh học. Có thể tạo chế phẩm virut diệt sâu phá hoại mùa màng và hy vọng có thể thay thế một phần các hoá chất bảo vệ thực vật đang làm ô nhiễm môi trường. Trong số các virut có khả năng diệt côn trùng, virut *baculo* được quan tâm nhất vì 3 lý do :

- Chỉ tấn công động vật không xương sống và có tính đặc hiệu đáng kể nên không gây hại cho các côn trùng có ích khác.
- Chúng được bảo vệ trong thể bọc, tránh được các yếu tố bất lợi của môi trường nên có thể duy trì khả năng sống trong tự nhiên ngoài cơ thể côn trùng.
- Rất thuận lợi khi sản xuất chế phẩm thương mại vì thường có thể đạt nồng độ cao trong mô của ấu trùng ( $10^{10}$  virut/ấu trùng). Chế phẩm có thể giữ hoạt tính trong thời gian rất dài (10 – 15 năm), ngoài cơ thể côn trùng.

Điểm đặc trưng của virut là chỉ nhiễm vào tế bào sống nên gây trở ngại cho sản xuất chế phẩm ở quy mô công nghiệp liên quan đến việc nuôi sâu. Sâu ký sinh được nuôi trong buồng nuôi bằng thức ăn nhân tạo, bảo đảm cho chúng sinh trưởng và phát triển bình thường. Đến giai đoạn nhất định (thường là giai đoạn ấu trùng) thì cấy dịch huyền phù virut vào thức ăn. Sau 7 – 9 ngày nhậy ấu trùng chết, sấy nhẹ ở 33 – 35°C cho đến khô, nghiền thành bột, thêm dịch sinh lý (1ml / con sâu), trộn đều rồi lọc. Ví dụ, đối với

chế phẩm EKS của Nga, sau khi lọc thì ly tâm lấy cặn chứa virus thêm nước cất tạo dịch huyền phù, sau thêm glycogen vô trùng. Nồng độ virus đạt  $10^9$ /ml. Bảo quản trong lọ dùng cho một hoặc vài hecta. Có thể sản xuất dạng bột bằng cách thêm lactoza, trộn đều rồi bổ sung axetol với tỷ lệ 4 : 1. Để lắng, chất phân trên, phần kết tủa sấy nhẹ cho bay axeton. Trộn với caolin hay bentonit để có tỷ lệ  $10^9$ /g.

Việt Nam đã sản xuất NPV từ những năm 90 để diệt sâu hại bông. Nhiễm dịch virus vào sâu tuổi 3 – 4. Thu sâu chết, nghiền, lọc qua vải mỏng để loại xác sâu. Ly tâm thu được virus, thêm phụ gia (chất chống thối, chất bám dính, chất chống tia UV). Kiểm tra hoạt lực rồi đóng chai.

Ở những nơi dùng chế phẩm virus, nông dân có thể bằng kinh nghiệm nhặt sâu chết do virus, nghiền, tạo huyền phù rồi phun tiếp. So với tất cả các chế phẩm vi sinh vật diệt côn trùng thì chế phẩm virus có tính đặc hiệu cao hơn cả. Chúng thường chỉ gây nhiễm cho một vài loài, do vậy rất an toàn. Không gây hại cho người, vật nuôi và khu hệ vi sinh vật khác. Người ta còn sản xuất chế phẩm hỗn hợp gồm virus *Gramulosis* và vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* nhằm làm tăng hiệu lực diệt côn trùng.

## 29.2. VIRUS GÂY BỆNH CHO TÔM

Trong những năm gần đây, ngành nuôi tôm phát triển rất mạnh ở nhiều quốc gia trên thế giới và đã trở thành ngành mang lại hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, ngành nuôi tôm cũng đang phải đối mặt với thách thức lớn do tôm dễ bị bệnh, nhất là các bệnh virus, làm cho tôm chết hàng loạt, gây tổn thất kinh tế nặng nề. Có nhiều loại virus gây bệnh cho tôm (bảng 29).

**Bảng 29. CÁC VIRUS GÂY BỆNH CHO TÔM LƯU HÀNH TRÊN THẾ GIỚI**

| Tên họ hoặc nhóm virus                | Đông bán cầu                 | Tây bán cầu            |
|---------------------------------------|------------------------------|------------------------|
| <i>Baculoviridae</i> hoặc nhóm Baculo | Nhóm MBV<br>Nhóm BMV<br>PHRV | BP<br>–<br>–           |
| <i>Namiviridae</i>                    | WSSV                         | WSSV                   |
| <i>Parvoviridae</i>                   | IHHNV<br>HPV<br>SMV<br>LPV   | IHHNV<br>HPV<br>–<br>– |
| <i>Picornaviridae</i>                 | –                            | TSV                    |
| Virus ARN đơn, hình que chưa xác định | YHV                          | –                      |
| <i>Reoviridae</i>                     | Reo – 111                    | Reo – 111              |
| <i>Togaviridae</i>                    | –                            | LOW                    |
| <i>Rhabdoviridae</i>                  | –                            | RPS                    |

Phổ biến nhất về 4 loại sau đây :

– *Bệnh do MBV (Monodon baculovirus)* : Virut thuộc họ *Baculoviridae* (nhóm không tạo thể bọc). Virion hình que, kích thước  $50 \times 300\text{nm}$ . Genom ADN kép, không phân đoạn. MBV phân bố rộng rãi ở các nước Đông Á và Đông Nam Á (kể cả Việt Nam), Úc, châu Phi và châu Mỹ. Virut xâm nhập vào tế bào gan, ruột, làm cho tôm ốm hàng loạt, hoạt động lơ dờ. Tỷ lệ tôm chết lên đến 70 – 90%, thường ở giai đoạn tôm ương đến tôm vừa.

– *Bệnh đầu vàng do IHV (yellow head virus)*. Virut này còn chưa được phân loại. Virion hình que, kích thước  $30 - 50 \times 160 - 186\text{nm}$ , có vỏ ngoài. Genom là ARN đơn. Virut lưu hành chủ yếu ở Đông Á và Đông Nam Á. Virut xâm nhập vào tế bào gan, ruột, nhân lên trong tế bào chất, gây các triệu chứng như di chuyển chậm, lơ dờ. Mang tôm từ vàng chuyển sang nâu. Sau 3 – 5 ngày, tỷ lệ chết có thể lên đến 100%.

– *Bệnh nhiễm dưới vỏ gây hoại tử cơ quan tạo máu do IHHNV (infectious hydodermal and hematopoietic necrosis virus)* thuộc họ *Parvoviridae*. Đây là virut nhỏ nhất trong số các virut gây bệnh cho tôm. Virion hình khối đa diện, đường kính hạt 22nm, không có vỏ ngoài. Genom là ADN đơn, chứa 4,1 kb. Virut gây bệnh cho nhiều loại tôm ở các nước khác nhau thuộc cả Đông và Tây bán cầu. Virut xâm nhập vào tế bào biểu mô dưới vỏ, tế bào gan, lớp cơ liên kết của tôm.

– *Virut gây bệnh đốm trắng (WSSV – white spot syndrome virus)*.

Virut WSSV lần đầu tiên được phát hiện ở Đài Loan năm 1992, là nguyên nhân gây tổn hại kinh tế lớn cho ngành nuôi tôm. Virut lan tràn rất nhanh ra các nước châu Á và châu Mỹ, không chỉ lây nhiễm cho tôm mà còn cho nhiều loài động vật giáp xác sống ở nước ngọt và nước biển (tôm tự nhiên, cua, mực và ấu trùng của côn trùng, ...). Do có nhiều đặc điểm giống với virut *baculo* ở côn trùng nên lúc đầu người ta cho rằng đây là thành viên của họ *Baculoviridae*. Ngày nay, virut gây bệnh đốm trắng được xếp vào chi *Whispovirus* thuộc một họ mới là *Nimaviridae*.

**Mô tả virut :** WSSV là virut lớn với kích thước  $120 \times 75\text{ nm}$ , có hình elip hoặc hình gậy, có vỏ ngoài. Ở phía đầu của vỏ mọc ra một đoạn dài trông như cái đuôi. Bên trong vỏ ngoài là nucleocapsit. Phía ngoài capsit có các đường vạch tạo thành khía. Đó có thể là do các capsome hình cầu ( $\Phi 10\text{nm}$ ) gắn với nhau tạo thành dạng nhẵn, rồi các nhẵn chồng lên nhau.

**Genom** của WSSV là ADN kép lớn, khép kín, chứa 292967 nucleotit và 184 khung đọc mở. Hơn 80% khung đọc mở và protein do chúng mã hoá không tương đồng với bất kỳ gen hoặc protein nào đã đăng ký trong ngân hàng gen quốc tế. Đáng chú ý là trong genom có một khung đọc mở rất dài, gồm 18234 nucleotit, chưa rõ chức năng (giống khung đọc mở collagen), và 9 vùng không đọc mã, có trình tự nucleotit lặp lại (khoảng 250pb), nằm rải rác trong genom.

**Protein** của WSSV gồm khoảng 25 loại, trong đó có 5 protein chính và 20 protein phụ, được gọi tên theo khối lượng phân tử (khi điện di trên gel SDS – PAGE). Trong 5 protein chính có 3 protein (VP26, VP24 và VP15) có mặt ở nucleocapsit và 2 protein

(VP28, VP19) có mặt ở vỏ ngoài. Cả 5 loại protein kể trên đều không được glycosyl hoá, là được điểm thường thấy ở virus có vỏ ngoài và không tương đồng với các protein của bất kỳ virus nào đã biết. Các phân tích nhờ kỹ thuật điện toán cho thấy trình tự axit amin của các protein VP28, VP26 và VP24 có những đoạn trùng nhau. VP28 tương đồng với VP26 là 41%, còn với VP24 là 46% axit amin. Ngoài ra, khung đọc mở mã cho các axit amin này cũng có kích thước gần giống nhau (khoảng 206 axit amin). Do vậy, có thể giả thiết rằng các protein cấu trúc này được tổng hợp từ các gen lắp lại sau đó được xử lý thành các protein có chức năng khác nhau (protein nucleocapsit và protein vỏ ngoài).

VP28 là protein vỏ ngoài chính của WSSV, đóng vai trò quan trọng trong quá trình nhân lên của virus. Gen vp28 có kích thước 615bp, có tính bảo thủ cao. Các chủng phân lập ở các vùng địa lý khác nhau như Trung Quốc, Đài Loan, Hàn Quốc, Thái Lan, Malaysia, Việt Nam đều có sự tương đồng của gen này là trên 99%. VP28 được dùng để xác định WSSV ở tôm.

**Triệu chứng bệnh :** Tôm bị bệnh thường có màu hồng đến đỏ nâu. Bên trong vỏ xuất hiện những đốm trắng tròn đều với đường kính 0,5 – 2mm, có tâm trong suốt (khác với bệnh do vi khuẩn *Vibrio* sp. cũng có thể gây đốm trắng nhưng tâm đen). Gan, tuy có màu trắng hoặc hơi vàng. Tôm yếu, lơ dờ, bỏ ăn và có xu hướng dạt vào bờ, sau đó chết chìm xuống đáy. Một số biểu hiện không đặc trưng khác như mang có màu nhạt, có lông và bị đóng rong. Đuôi có thể bị ăn mòn. Tỷ lệ tôm chết có thể đến 100% sau 6 – 7 ngày. Tỷ lệ chết cao nhất thường ở tôm nhỏ 30 – 40 ngày tuổi. Khi tôm cỡ 12 g/con thì thời gian ủ bệnh kéo dài và có thể lớn đạt cỡ thương phẩm trước khi chết hàng loạt.

**Chẩn đoán :** Dùng kỹ thuật PCR hoặc Kit nhờ kháng thể kháng VP28.

### 29.3.VIRUT CỦA NẤM VÀ TẢO

Virus ký sinh ở nấm (mycovirus) khá phổ biến cả ở nấm bậc thấp lẫn nấm bậc cao. Capsit gần như hình cầu với kích thước đồng đều (25 – 50nm). Tuyệt đại đa số genom là ARN kép, một đoạn (một phân tử) hoặc phân đoạn (nhiều phân tử). Một số chứa enzym ARN – polymeraza phụ thuộc ARN. Đa số là virus tiềm ẩn nhưng một số có thể gây bệnh như ở nấm ăn *Agaricus bisporus*, tuy nhiên không quan sát thấy hiệu quả gây bệnh tế bào (CPE) và không xác định thấy sản phẩm độc của virus. Sáu nhóm virus nấm chứa ARN kép và được xác định :

– Nhóm A : Genom đơn (4,6 – 6,1kbp), kích thước virion 35 – 43nm. Ký sinh ở *Saccharomyces cerevisiae* (Sc V – L1).

– Nhóm B : Genom đơn (8,3kbp), kích thước virion 48nm. Ký sinh ở *Drechslera maydis* (tên cũ là *Heminthosporium maydis* – HmV).



– Nhóm C : genom 2 phân tử (1,6 và 1,4 kbp), kích thước virion 30 – 35nm. Ký sinh ở *Penicillium stoloniferum* (PsV – S).

– Nhóm D : genom 2 phân tử (1,8 – 1,9 và 1,7 – 1,8kbp). Kích thước virion 35nm. Ký sinh ở *G. graminis* (GgV – O19/6 – A, GgV – OgA – B và GgV – F6 – C).

– Nhóm E : genom 2 phân tử (2,2 – 2,3 và 2 – 2,1 kbp). Kích thước virion 35nm. Ký sinh ở *G. graminis* (GgV – F6 – B, Gg – T1 – A và GgV – OgA – A).

– Nhóm F : genom 3 phân tử (3,2 – 3 và 2,9kbp). Kích thước virion 35 – 40nm. Ký sinh ở *Penicillium chrysogenum* (PcV).

Virut nấm dường như chỉ được lan truyền qua bào tử, qua giao phối hoặc qua các sợi nối vào nhau. Nhiều trường hợp ở nấm kí chủ không thấy có biểu hiện rõ ràng là đang bị nhiễm virut nhưng ở một số trường hợp khi nhiễm virut có thể ảnh hưởng tới tính độc của nấm gây bệnh. Ví dụ, virut ARN kép ký sinh ở *Rhizoctonia solani* có liên quan đến tính độc của nấm này. *Uronema* là chi tảo lục dạng sợi ở nước mặn và nước ngọt, virut ký sinh ở tảo này có đuôi giống như TTK.

## *Chương 30*

# VIRUT THỰC VẬT

Virut thực vật đã được phát hiện cách đây trên một thế kỷ và đã thu hút sự quan tâm của nhiều nhà sinh học. Những nghiên cứu về virut thực vật đã góp phần quan trọng làm phong phú các kiến thức chung về sinh học truyền thống và sinh học phân tử.

Virut thực vật cũng là thủ phạm gây thất thoát mùa màng. Hằng năm trên thế giới, những thiệt hại về kinh tế do virut thực vật gây ra lên tới 70 tỷ USD. Chỉ riêng 1 bệnh gọi là Tristeza đã phá huỷ hoặc làm mất năng suất của hơn 50 triệu cây có múi trên toàn thế giới, bệnh do virut đã làm hại hơn 200 triệu cây dừa ở Tây Phi. Nhiều loại cây lương thực, cây ăn quả, cây rau, cây hoa và thậm chí cây cỏ thụ cũng đều có thể bị nhiễm virut. Các cây bị nhiễm có thể biểu hiện qua những thay đổi về hình thái như lá cây bị đốm, khảm, sọc, lá bị úa vàng rồi rụng. Cây có thể bị còi cọc, héo rũ hoặc thối nhũn.

### 30.1. KHẢ NĂNG LÂY NHIỄM

Phần lớn virut thực vật lây nhiễm từ cây này sang cây khác thông qua động vật không xương sống, ví dụ, bọ rầy xanh, bọ nhảy ăn lá, rệp đốm, bọ trĩ, rệp cây... Một số virut truyền sang thế hệ mới qua phấn hoa hay qua hạt, virut cũng có thể xâm nhập vào cơ thể qua các vết xây xước, thông qua nông cụ nhiễm bẩn. Bề mặt của lá có tầng cutin bảo vệ không có thụ thể cho virut bám vào, vì thế virut không thể tự xâm nhập được vào tế bào thực vật.

– Thông qua côn trùng hoặc qua các chỗ xây xước, virut vượt qua lớp cutin và thành tế bào để vào bên trong tế bào. Tại đây, sau khi nhân lên chúng lại lây sang các tế bào khác thông qua các cầu sinh chất (plasmodesmata – nối giữa các tế bào, để lan rộng ra.

– Trong phòng thí nghiệm người ta có thể gây nhiễm nhân tạo bằng cách dùng lưới mịn trà xát tạo vết thương rồi tẩm dịch chứa virut cho chúng xâm nhập vào mô.

### 30.2. PHÂN LOẠI VIRUT THỰC VẬT (xem chương 1)

Tiểu ban phân loại virut thực vật đã xác định có chừng trên 1000 virut thực vật. Tên của chúng là tổ hợp tên của thực vật chủ và kiểu bệnh mà chúng gây ra. Ví dụ, virut khảm thuốc lá, virut khảm vàng củ cải, virut khảm hoa lợ,...

Virut thực vật có kích thước, hình dạng và đặc điểm sinh học rất khác nhau nhưng những tiêu chí dùng để phân loại virut thực vật cũng giống như đối với virut động vật, do đó chúng cũng được xếp chung vào nhiều họ của virut động vật. Ví dụ, virut gây đốm hoại tử màu vàng ở cây rau diếp và virut bệnh đại đều thuộc họ *Rhabdoviridae*.

### 30.3. HÌNH THÁI

Về cơ bản, hình thái của virut thực vật không khác nhiều so với hình thái của virut động vật và thể thực khuẩn. Nhiều virut có capsit dạng que hay dạng sợi (virut khảm

cây thuốc lá), một số khác có cấu trúc dạng khối đa diện hoặc dạng khối nhưng có đính thêm capsome (virut đốm vàng cây củ cải – TYMV). Virut *Rhabdo* còn có thêm vỏ ngoài là lớp lipid kép.

– Đa số capsit có cấu tạo từ 1 loại protein, không thấy có protein chuyên biệt dùng để bám vào tế bào.

– Genom của virut thực vật :

- + Hầu hết virut thực vật có genom rất nhỏ, không có loại nào đạt kích thước phage T hoặc của virut *pox* ở động vật.
- + Genom của virut có thể là ADN hoặc ARN, chuỗi đơn hoặc chuỗi kép, chứa 1 hoặc nhiều phân tử. Tuy nhiên, trong số khoảng 300 loài đã biết thì có tới 90% mang genom là ARN đơn và trong số đó phần lớn là ARN (+), chỉ 1 số ít có genom là ARN mạch kép và ADN mạch kép. Sau đây là 1 số ví dụ :

ADN kép : *Badnavirus*, chẳng hạn *tungrobacilliform* ở lúa.

ADN đơn : *Geminivirus* gây sọc lá ngô.

ARN kép : *Reovirus* gây u ở cây xa trục thảo.

ARN lưỡng cực (họ *Rhabdoviridae*), gây còi cọc khoai tây.

ARN đơn, (+), hai đoạn (họ *Comoviridae*). Ví dụ, virut *cowpeamosaic* gây đốm cây đậu đũa.

ARN đơn, (+), 1 đoạn (họ *Tobamoviridae*). Ví dụ, virut khảm thuốc lá.

ARN đơn, (+), 3 đoạn (họ *Cucumoviridae*). Ví dụ, virut gây đốm dưa chuột.

Virut có genom phân đoạn, thường chứa các phân tử ARN sợi đơn, (+) khác nhau và mặc dù được bọc capsit để tạo thành các hạt riêng rẽ nhưng tất cả các sợi của genom (trong một thể thống nhất) đều cần cho sự gây nhiễm và tái bản virut trong tế bào thực vật.

Ngoài ARN genom, nhiều virut thực vật còn có mARN dưới genom (subgenomic mRNA). Đó là sợi ARN có chiều dài nhỏ hơn genom và có nguồn gốc từ genom. Trình tự của các phân tử dưới genom cũng nằm trên một trong các phân tử ARN genom.

Ở tế bào eucaryota, sự dịch mã nói chung không thể bắt đầu từ 1 vị trí nằm phía trong mARN. Sự hình thành mARN dưới genom cho phép sự dịch mã bắt đầu cả từ vị trí nằm phía trong genom tạo ra protein chuyên biệt. Ví dụ, protein vỏ (cp) ở một số virut.

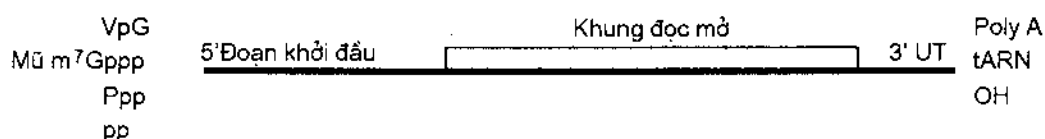
Các ARN dưới genom được bọc vỏ capsit cùng với ARN genom chính để tạo hạt, nhưng ở một số các virut khác, chúng lại được bọc vỏ riêng để tạo các hạt nhỏ độc lập.

Nhìn chung, virut thực vật thường tạo thành ARN dưới genom một thời gian ngắn trong chu trình nhân lên và chúng thường không được bao bởi vỏ capsit để tạo thành hạt.

### 30.4. CÁC VIRUT ARN Ở THỰC VẬT

Vì genom của hầu hết virus thực vật đều là ARN sợi đơn, (+), do đó cả genom chính và dưới genom đều biểu hiện như là mRNA của tế bào và tiến hành dịch mã trên ribosome 80S để tạo các polypeptit. mRNA của virus có số lượng nhiều hơn và có ái lực cao hơn với tiểu phần 40S của ribosome so với mRNA của thực vật, do đó cạnh tranh được với mRNA của thực vật.

– Cấu trúc ARN genom sợi (+) của các virus thuộc các nhóm khác nhau đều tương tự nhau chỉ khác ở đoạn đầu chuỗi, ở cách dịch mã và cách chế biến protein (hình 30.1).



**Hình 30.1.** Cấu trúc phổ biến của genom virus ARN (+). Một khung đọc mở là một đoạn nucleotit dùng tổng hợp protein nằm giữa 2 codon đầu và cuối chuỗi, tức là một cistron nằm giữa codon khởi đầu và codon kết thúc mã cho protein. Đoạn khởi đầu và đoạn UT là những vùng không được dịch mã.

– Tại đầu 5' của mRNA đã xác định được 3 kiểu cấu trúc khác nhau :

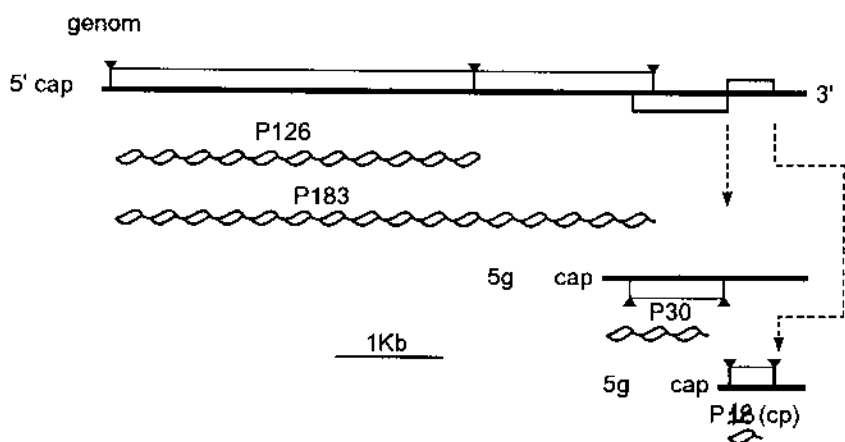
- + Loại 1. Có mũ ( $m^7G5' ppp5'$ ), loại này có ở 9 nhóm virus giúp tăng cường gắn mRNA vào ribosome.
- + Loại 2. Đầu 5' thay mũ bằng VpG, đó là một protein nhỏ với khối lượng 3000 – 7000, ở một số virus *picorna* (ví dụ, virus *polio*) có VpG và người ta cho rằng nó tham gia vào khởi đầu sao chép ARN.
- + Loại 3. Ở đầu 5' không có mũ nhưng lại mang các nhóm 2 hoặc 3 photphat.

– Ở đầu 5', trình tự đoạn dẫn đầu nằm trước codon AUG – là codon khởi đầu tổng hợp protein. Phần thân là đoạn mã cho một chuỗi polypeptit duy nhất bắt đầu bằng codon khởi đầu AUG và kết thúc bằng 1 trong 3 bộ ba kết thúc (UAA, UAG, UGA).

– Ở sinh vật nhân chuẩn, ribosome chỉ dịch mã khung đọc mở sát với đầu 5' của phân tử mRNA nhỏ hơn.

– Từ khung đọc mở dài tạo ra 1 polypeptin tiền chất duy nhất rồi sau đó được enzym phân cắt thành các polypeptit nhỏ hơn.

– Một đoạn dài 20 – 250 nucleotit ở đầu 3' ngay trước đoạn poly A, không dịch mã nhưng cũng có virus ở đầu 3' không có đoạn poly A nhưng lại có 1 cấu trúc dị thường giống như tARN. Cấu trúc này được aminoacyl hoá bằng cách gắn với axit amin đặc hiệu (hình 30.2).



**Hình 30.2.** Genom của TMV.

Ở đầu 5' của ARN genom và ARN dưới genom đều gắn mũ. Ở đầu 3' đều có cấu trúc kiểu tARN. Khung đọc mở thứ nhất dịch mã thành một polypeptit có khối lượng 126000 (P126). Nếu đọc qua codon dừng thì sẽ tạo ra một polypeptit có khối lượng lớn hơn (P183). Các ARN dưới genom có nguồn gốc từ ARN genom nằm ở phía đầu 3' và một trong số chúng mã cho protein vỏ.

(Grierson D. et al. 1984, *Plant Molecular Biology*, Blackie & Son)

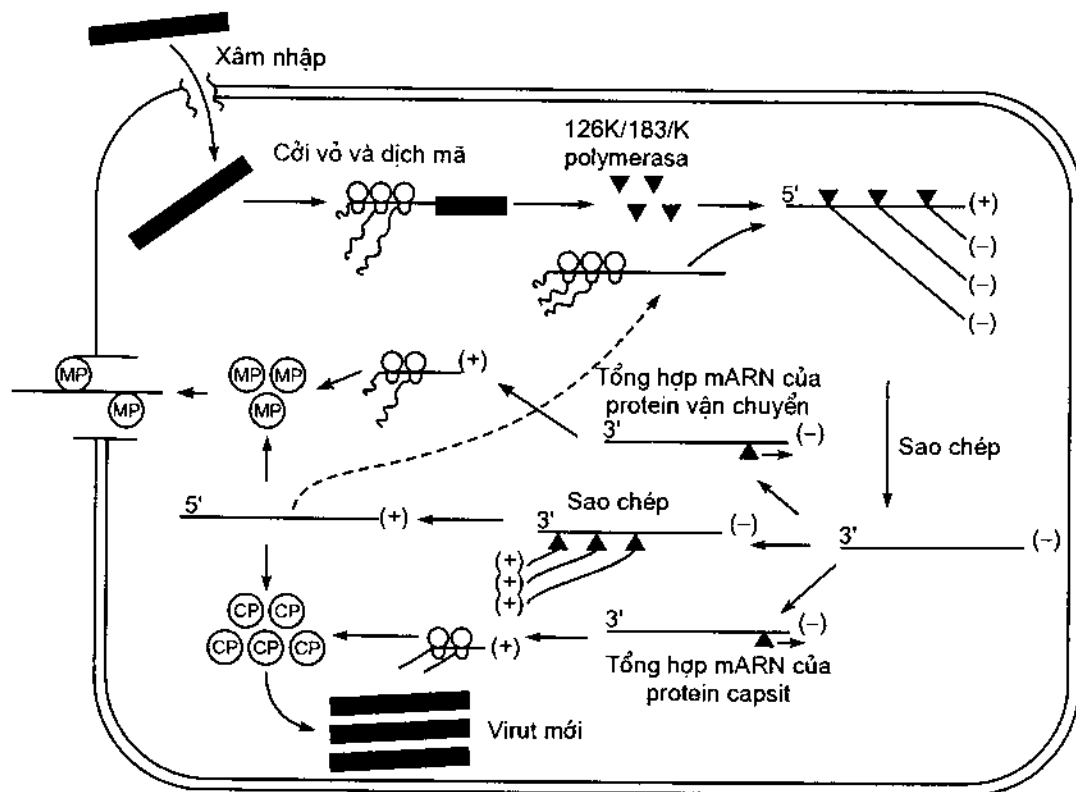
Sau đây là 1 số ví dụ về cấu trúc và cách biểu hiện genom ở các virus khảm thuốc lá (TMV – tobacco mosaic virus), virus khảm đậu đũa (CPMV – cowpea mosaic virus), virus khảm kiểu mạch (BMV – brome mosaic virus). Đó là các đại diện điển hình nhất cho virus thực vật.

### 30.4.1. Virus khảm thuốc lá – TMV (tobacco mosaic virus)

– Genom là ARN đơn, (+), gồm 6395 nucleotit được bao bởi vỏ capsit, tạo thành hạt hình que dài 300nm. Đầu 5' gắn mũ, còn đầu 3' có cấu trúc tARN được aminoacyl hoá bằng cách gắn với histidin hoặc valin (tuỳ thuộc vào chủng virus, hình 30.2). Một trình tự dẫn đầu gồm 68 nucleotit ở đầu 5', sau đó là 2 khung đọc mở dài, chiếm gần hết chiều dài phân tử, dùng để mã cho protein.

– Khung đọc mở đầu tiên dùng để dịch mã cho polypeptit có khối lượng 126000. Khi codon kết thúc của khung đọc mở đầu tiên bị ức chế thì sẽ cho phép vượt qua điểm dừng để đọc qua khung thứ 2 tạo ra một polypeptit lớn hơn có khối lượng 183000. Cả hai polypeptit này đều có ở giai đoạn đầu của quá trình nhân lên và protein P126 có chức năng của enzym sao mã (ARN replicaza).

– Hai khung đọc mở nhỏ hơn của ARN genom nằm ở phía đầu 3' của TMV. Một khung mã cho protein có khối lượng phân tử 30000 (P30) và một khung mã cho protein có khối lượng 18000 (P18), đó là protein vỏ capsit (cp). Protein P30 có mặt sớm trong chu trình nhân lên của virus và có lẽ tham gia vào sự vận chuyển virus từ tế bào này sang tế bào khác được gọi là protein vận chuyển (hình 30.3).



**Hình 30.3.** Sơ đồ quá trình nhân lên của virus TMV.

Tất cả các bước đều diễn ra trong tế bào chất.

(Grierson D. et al. 1984, *Plant Molecular Biology*, Blackie & Son)

### 30.4.2. Virus khảm đậu đũa – CPMV (cowpea mosaic virus)

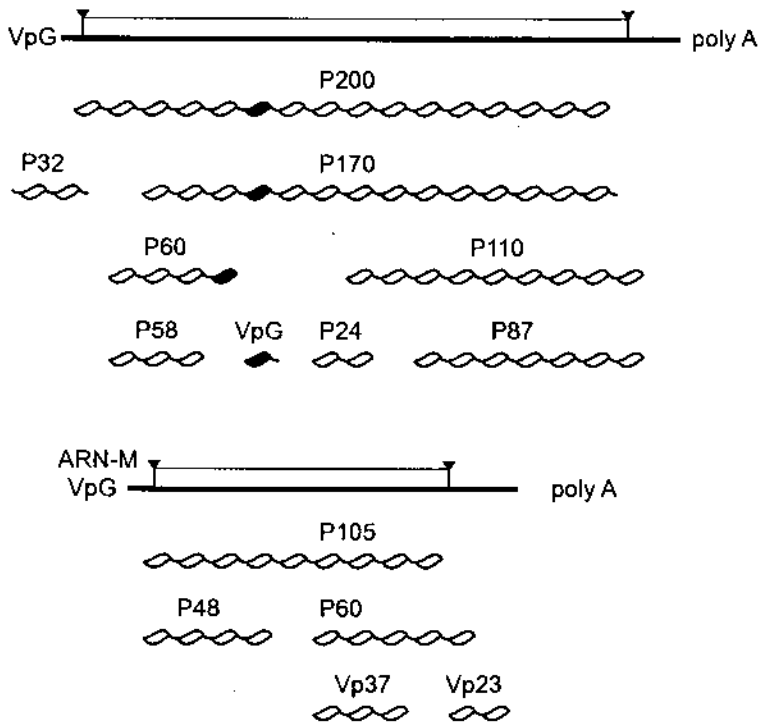
– Genom là 2 phân tử ARN đơn, (+) được bao bởi vỏ capsit riêng tạo hạt hình cầu. Có 3 loại hạt CPMV được tách từ cây nhiễm virus bằng phương pháp ly tâm siêu tốc gradien đường :

- + Một loại lắng nhanh (B) chứa ARN đơn (ARN – B) dài 5889 nucleotit.
- + Một loại lắng trung bình hay ở giữa (ARN – M) dài 348 nucleotit.
- + Một loại lắng chậm chứa các capsit rỗng.

– Cả 2 phân tử ARN genom đều có cấu trúc và cách sắp xếp giống nhau. Đầu 5' có gắn VpG. Đầu 3' của ARN có đuôi polyA. ARN – M dài 167 nucleotit, còn ARN – B dài 87 nucleotit. Chuỗi khởi đầu không dịch mã ở đầu 5' của ARN – M dài 183 nucleotit còn của ARN – B dài 85 nucleotit.

– Phần không được mã hoá của 2 phân tử có nhiều đoạn tương đồng nhưng phần khung đọc mở mã hoá cho protein lại là đặc điểm riêng của từng phân tử. Mỗi ARN chỉ tạo một polyprotein, sau đó tiến hành chế biến phân cắt thành các protein chức năng với kích thước nhỏ hơn.

– Enzym replicaza của virus hầu như được mã hoá bởi ARN – B, còn ARN – M mã cho 2 loại protein capsit là P23 và P37. Hai protein này được phân cắt từ sản phẩm dịch mã ban đầu. VpG nhỏ được phân cắt từ phần trung tâm của polypeptit do ARN – B mã hoá. Proteaza để phân cắt polyprotein của ARN – B và ARN – M đều được mã hoá bởi ARN – B (hình 30.4).



**Hình 30.4.** Genom phân đoạn (2 đoạn) của CPMV.

Mỗi ARN genom mã cho một polyprotein, sau đó nhờ enzym phân cắt thành các protein chức năng. Protein vỏ bắt nguồn từ polypeptit do ARN – M mã hoá, còn cấu trúc VpG do ARN – B mã hoá (Grierson D. et al. 1984, *Plant Molecular Biology*, Blackie & Son)

– Cấu trúc và chức năng genom của CPMV rất giống với genom của virus *picorna* ở động vật. Ví dụ, virus *polio* và virus gây bệnh lở mồm long móng. Mỗi sợi đều có VpG ở đầu 5' và đuôi poly A ở đầu 3', protein chức năng đều được chế biến từ polyprotein tiền chất nhưng ở virus *picorna* thực vật là genom phân đoạn (hai đoạn) còn ở động vật genom của virus *picorna* chỉ có 1 đoạn.

### 30.4.3. Virus khảm kiểu mạch – BMV (brome mosaic virus)

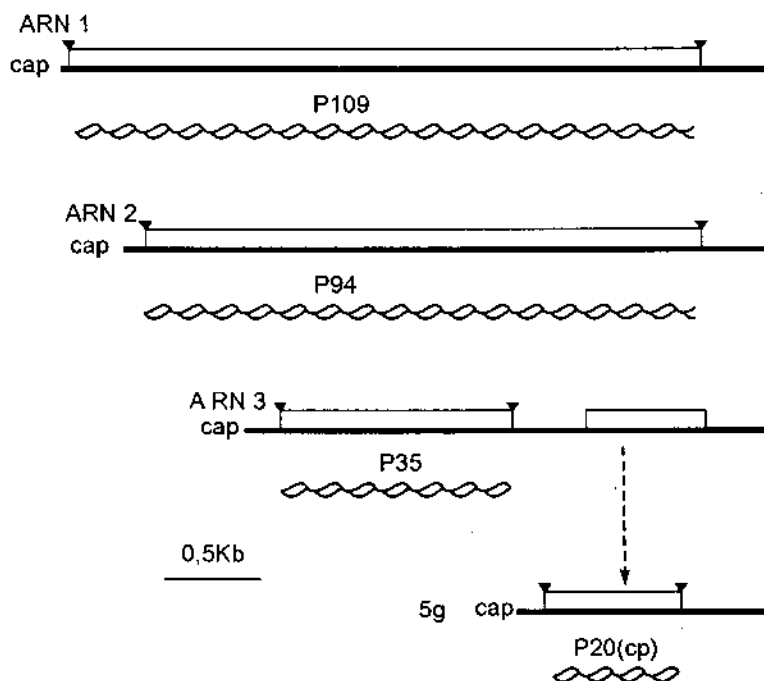
– Genom phân đoạn bao gồm 3 phân tử ARN đơn, (+), mỗi phân tử được bao bọc trong một vỏ capsit riêng tạo hạt hình đa diện, có đường kính 26nm.

– Trình tự nucleotit của các ARN – 1, – 2, – 3 của BMV không tương đồng với nhau, ngoại trừ 200 nucleotit không mã hoá ở đầu 3' là chung cho cả 3 phân tử.

– Các phân tử ARN genom có mũ ở đầu 5' và có cấu trúc giống tARN, ở đầu 3' có thể aminoaxyl hoá bằng cách gắn tyrosin.

+ ARN – 1 (3234 nucleotit) và ARN – 2 (2 865 nucleotit) đều chỉ chứa một khung đọc mở dài và mỗi loại chỉ dịch mã được một polypeptit có khối lượng phân tử tương ứng là 1009000 và 94000Da, kí hiệu là P109 và P94.

- + ARN – 3 (2117 nucleotit) chứa 2 khung đọc mở nhưng chỉ có khung đọc ở gần đầu 5' là dịch mã thành polypeptit 35000 (P35), khung thứ 2 thể hiện là một mARN dưới genom (ARN – 4 của BMV) bắt nguồn từ đoạn 876 nucleotit cuối cùng của ARN – 3.
- + ARN – 4 mã hoá protein capsit P20 (cp).
- + ARN – 3 và ARN – 4 được bao trong cùng một vỏ capsit tạo thành hạt nhưng chỉ ARN – 1, ARN – 2 và ARN – 3 là cần cho hoạt tính gây nhiễm và hợp thành toàn bộ thông tin di truyền của genom virus (hình 30.5).



**Hình 30.5.**

Genom 3 đoạn của virus khảm kiểu mạch. Ba phân tử ARN genom mã hoá cho 3 polypeptit riêng. ARN – 3 có 2 khung đọc mở. Khung thứ 2 mã cho protein vỏ nó là ARN dưới genom mà sau này được bọc vỏ cùng với ARN – 3 (Grierson D. et al. 1984, *Plant Molecular Biology*, Blackie & Son)

– Chức năng của các polypeptit ở BMV còn chưa rõ. Có lẽ một trong các protein của ARN – 1 hoặc ARN – 2 sẽ đảm nhận chức năng replicaza của virus. Protein của ARN – 3 làm nhiệm vụ lan truyền virus giữa các tế bào (protein vận chuyển).

– Đoạn tương đồng ở đầu 3' của các ARN ở BMV làm nhiệm vụ điều hoà hoạt động gen trong suốt chu trình nhân lên còn cấu trúc giống tARN thì làm nhiệm vụ mỗi để tổng hợp ARN.

Các kiểu genom ARN của virus thực vật kể trên minh hoạ cho cơ chế mà rất nhiều virus sử dụng để nhân lên trong cơ thể thực vật. Cũng có một số virus ARN khác có kiểu genom thay đổi chút ít nhưng nhìn chung cũng chỉ xoay quanh các kiểu ở trên.

#### **30.4.4. Sự nhân lên của virus ARN**

– Nhìn chung ở các virus ARN đơn, (+) muốn nhân lên trước hết phải tổng hợp sợi (-). Hai sợi bắt cặp tạo dạng sao chép RF Đây là ARN kép có độ dài chuẩn. Ngược lại

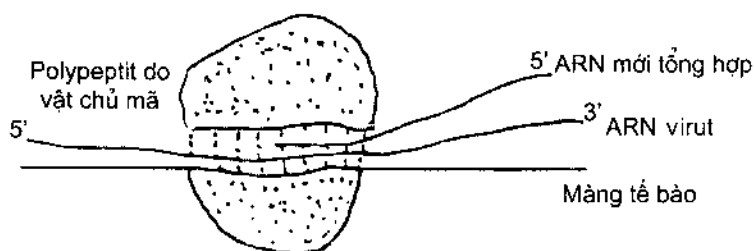


nếu tạo phân tử kép trong đó một sợi có chiều dài chuẩn, sợi còn lại có chiều dài thay đổi thì được gọi là dạng trung gian sao chép RI (replicative intermediate) có nghĩa là một phần là sợi kép và một phần là sợi đơn.

- Sự sao chép hầu như xảy ra từ một đầu của ARN genom, nơi gắn cấu trúc kiểu tARN làm mẫu.

- Nhờ enzym replicaza do virus mã hoá, từ khuôn sợi (+) tổng hợp nên sợi (–) và sau đó từ sợi (–) lại tổng hợp nên sợi (+).

- Ở nhiều cây trồng không bị nhiễm virus cũng phát hiện thấy enzym ARN – polymeraza phụ thuộc ARN, tuy nhiên hoạt tính enzym này ở cây trồng không bị nhiễm virus yếu hơn so với ở cây bị nhiễm virus. Người ta đã chứng minh rằng replicaza hoàn chỉnh, đặc hiệu để sao chép genom virus ARN thực vật phải là một phức hợp bao gồm hai thành phần : một do virus mã hoá và một do vật chủ mã hoá. Phần do virus mã hoá là một polypeptit làm nhiệm vụ lựa chọn khuôn. Ví dụ, ở virus khảm vàng củ cải đường (TYMV – turnip yellow mosaic virus), phần do virus mã hoá có khối lượng 115kDa cắm sâu vào màng sinh chất và có tính đặc hiệu virus, còn phần do tế bào mã hoá có khối lượng 45kDa có thể rời khỏi màng và hoạt tính polymeraza không đặc hiệu virus (hình 30.6).



**Hình 30.6.** Mô hình enzym replicaza (ARN polymeraza phụ thuộc ARN).  
(Hall et al, Adv. Plant Pathol., 1, 179, 1982)

### 30.5. CÁC VIRUT ADN Ở THỰC VẬT

Người ta đã xác định được hai nhóm virus ADN ở thực vật, một nhóm chứa ADN kép và một nhóm chứa ADN đơn. Sau đây là một vài ví dụ điển hình.

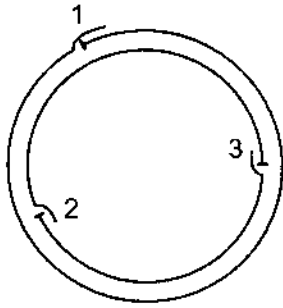
#### 30.5.1. Virus ADN kép – Virus khảm hoa lơ (cauliflower mosaic virus)

- Virus khảm hoa lơ CaMV (*caulimovirus*) có genom ADN kép, khép vòng, chứa khoảng 8000 cặp nucleotit đã được nghiên cứu khá kỹ vì nó là vector tách dòng thực vật đầy tiềm năng.

- Virus *caulimo* là các hạt hình cầu, kích thước 50nm, có phổ gây nhiễm hẹp hầu như chỉ gây nhiễm cho cây họ cải (*brassicaceae*).

- Đặc điểm cần lưu ý là phân tử ADN có những vị trí ngắt quãng làm cho genom không liên tục. Sợi (–) ở ngoài chỉ có một điểm ngắt trong khi sợi (+) bên trong có thể 1, 2 hoặc 3 điểm ngắt tùy thuộc vào từng chủng.

– Phần lớn các chủng CaMV có hai điểm ngắt ở sợi thứ hai. Điểm ngắt nằm ở vùng ngắn, tại đó ba sợi chập nhau (triple stranded), đầu 5' của mỗi sợi là cố định nhưng đầu 3' tạo ra một dải gối lên điểm ngắt (hình 30.7). Ribonucleotit (mỗi) gắn với trình tự ở điểm ngắt là điểm khởi đầu sao chép ADN.



a)



b)

**Hình 30.7.** Các điểm ngắt quăng trên genom của CaMV.

- a) Sơ đồ genom ADN khép vòng cho thấy trên mỗi sợi có các điểm ngắt quăng (1 – 3)  
b) Tại điểm ngắt quăng có trình tự nucleotit (đoạn gạch chân) là đoạn khởi đầu tổng hợp ADN.  
Trình tự trong khung là mỗi tARN lấy của thực vật  
(Grierson D. et al. 1984, *Plant Molecular Biology*, Blackie & Son)

– Chỉ trên sợi ADN (–) của CaMV là có 6 khung đọc mở do vậy thông tin di truyền biểu hiện không đối xứng do phiên mã sợi (–) thành mARN. Trong virion sợi (–) chỉ có một điểm ngắt nhưng khuôn để phiên mã lại là sợi ADN khép vòng kín không có điểm ngắt nào. Đó là do điểm ngắt đó đã được sửa chữa, nối lại bằng liên kết cộng hoá trị.

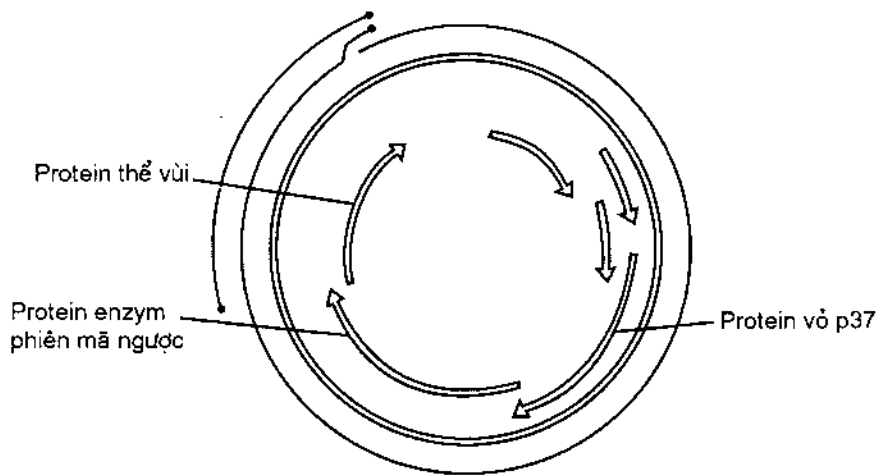
– Bốn khung đọc mở mã hoá cho protein chuyên biệt. Sản phẩm của gen IV là protein capsit tiền chất với khối lượng phân tử lớn (57000) được phân cắt thành các protein chức năng với khối lượng phân tử nhỏ hơn (43000), sau đó được photphoryl hoá và glycosyl hoá.

- + Sản phẩm của gen VI là polypeptit 62000 là thành phần chủ yếu của thể vùi có trong tế bào thực vật.
- + Sản phẩm của gen II là polypeptit 18000 tham gia vào quá trình thu nhận và lan truyền CaMV thông qua vectơ là rệp. Nếu gây đột biến mất đoạn gen II sẽ không ảnh hưởng đến chu trình virut nhưng hạt virut lại không được rệp thu nhận và lan truyền.
- + Sản phẩm của gen V là polymeraza.

– Mỗi gen trong ADN được phiên mã thành các mARN và có 2 mARN chính (hình 30.8).

+ mARN của gen VI được gắn mũ và có đuôi poly A dài 1850 nucleotit.

+ mARN thứ 2 là sợi 35S được phiên mã từ toàn bộ một sợi ADN cũng được gắn đuôi poly A và chứa tất cả các vùng mở nên được coi như tiền chất của các mARN nhỏ hơn. Tuy nhiên, các bản phiên mã (transcript) của mARN dưới genom biểu hiện các gen của CaMV thì không được mô tả vì nồng độ của chúng trong tế bào nhiễm rất thấp. Phải chăng có thể lý giải theo cách khác là ARN 35S có thể dịch mã như thông tin đa gen (polycistron). Điều này không thực tế vì nói chung riboxom ở cơ thể nhân chuẩn chỉ có thể dịch mã khung đọc mở gần đầu 5' nhất của phân tử mARN.



Hình 30.8. Sản phẩm phiên mã ARN của CaMV.

– Phiên mã của cả gen VI và ARN 35S đều được điều hoà độc lập bởi trình tự ADN CaMV nằm phía trên đầu 5' của mỗi vùng phiên mã.

– Điểm khác thường của ARN 35S là sau khi hoàn thành phiên mã một vòng ADN nó vẫn tiếp tục phiên mã thêm 180 nucleotit nữa tạo thành một đoạn gọi là "đoạn lặp lại cùng chiều ở cuối" (terminal directly – repeated sequence).

#### 30.5.1.1. Sao chép ADN ở CaMV

Mặc dù cho đến nay, cơ chế sao chép ADN ở CaMV chưa được hiểu biết tường tận

Tuy nhiên, có thể thấy chúng có nhiều đặc điểm giống với virus *retro* mang genom ARN gây u ở động vật. Các virus này phiên mã ngược ARN thành cADN.

– Điểm giống nhau bao gồm sự mã hoá cho protein chỉ trên một sợi và sự tồn tại sản phẩm phiên mã ARN có chiều dài genom (ARN 35S) có gần đoạn lặp lại ở cuối và rất tương đồng với đoạn nucleotit nằm gần đoạn khởi đầu tổng hợp ADN của sợi (+) và (–) (các điểm ngắt ADN của CaMV) (hình 30.8).

### 30.5.1.2. Sự nhân lên của CaMV

– ADN của virus chứa các điểm ngắt quãng xâm nhập vào tế bào thực vật rồi di chuyển tới nhân. Tại đây các khe ở điểm ngắt của ADN được hàn kín và một phân tử siêu xoắn được hình thành kết hợp với protein của vật chủ để tạo nên cấu trúc thể nhiễm sắc mini (minichromosome).

– Sợi ADN (–) trong thể nhiễm sắc mini được ARN – polymeraza II của tế bào chủ phiên mã thành mARN di chuyển tới tế bào chất để tổng hợp protein.

– Sản phẩm phiên mã ARN 35S có chiều dài genom (chiều dài đủ) cũng được tổng hợp trong nhân, mặc dù còn chưa rõ virus lắp ráp trong nhân hay trong tế bào chất.

– Mô hình nhân lên của CaMV tương tự như ở virus *retro* của động vật. Sợi ADN (–) của CaMV được tổng hợp từ ARN 35S nhờ môi là tARN<sup>Met</sup> lấy của vật chủ. tARN<sup>Met</sup> này bắt cặp với đoạn bổ trợ 14 nucleotit trên ARN 35S. Đoạn bổ trợ này có khoảng 600 nucleotit xuôi, kể từ đầu 5' của ARN 35S và ở gần 1 trong những đoạn chứa điểm ngắt của ADN.

– Sự phiên mã ngược tiếp tục về phía trái cho đến đầu 5' ARN 35S để tạo thành một đoạn ngắn ADN (–) của CaMV gọi là đoạn ADN kết thúc mạnh (strong – stop DNA). Đoạn này vẫn còn dính với tARN môi nhờ liên kết cộng hoá trị.

– Do ARN 35S có đoạn lặp lại ở cuối, cùng chiều nên đoạn ADN kết thúc mạnh có thể khép vòng khuôn ARN và tiếp tục phiên mã ngược để hoàn thành tổng hợp sợi ADN (–).

– Sau khi tổng hợp xong sợi (–), sợi ARN 35S bị phân huỷ bởi ribonucleaza H.

– Tổng hợp ADN sợi (+) được bắt đầu từ đoạn có nhiều nucleotit G nằm gần điểm ngắt (hình 30.7). Sợi ADN (–) hoàn chỉnh được dùng làm khuôn để tổng hợp sợi (+).

– Ở điểm cuối một vòng sao chép sợi này lại nối lên điểm ngắt của ADN của virion CaMV. Đó là do có sự tổng hợp thay thế sợi khuôn có giới hạn (limited strand displacement synthesis), polymeraza nhảy từ sợi khuôn này sang sợi khuôn khác.

### 30.5.2. Virus ADN đơn – *Geminivirus*

Virus *gemin* bắt nguồn từ chữ "gemin" là cặp đôi. Sở dĩ như vậy là vì khi soi dưới kính hiển vi điện tử thấy các hạt virion thuần khiết luôn ở dạng cấu trúc ghép đôi. Đây là nhóm virus ADN sợi đơn duy nhất được biết đến bao gồm 13 thành viên, nhiễm vào nhiều họ thực vật một lá mầm và hai lá mầm. Một nửa số thành viên này được truyền nhờ vectơ là bộ Cánh trắng còn một nửa là nhờ bộ Ấn lá.

– Đặc điểm quan trọng là tạo thể vùi dạng chiếc bánh vòng hoặc dạng tinh thể nằm trong nhân.

– ADN tách từ virus *gemin*, virus khảm vàng đậu (BGMV – bean golden mosaic virus) và virus tiềm ẩn ở sắn (CLV – cassava latent virus) bao gồm chủ yếu các vòng mở sợi đơn.

– Có hai loại ADN khép vòng với trình tự nucleotit khác nhau. Mỗi cặp hạt virus chỉ chứa một trong hai loại ADN đó, do vậy sẽ tồn tại hai loại hạt cặp đôi. Vì thế đây là virus có genom hai đoạn. Ví dụ ở CLV ADN – 1 dài 2780 nucleotit và ADN – 2 dài 2724 nucleotit. Trình tự nucleotit của ADN – 1 và ADN – 2 là khác nhau ngoại trừ một vùng chung dài 219 nucleotit.

**Quá trình nhân lên** của virus *gemin*i mới chỉ bắt đầu được nghiên cứu :

– Đã xác định được dạng ADN kép của virus *gemin*i giống như là dạng trung gian sao chép (RF).

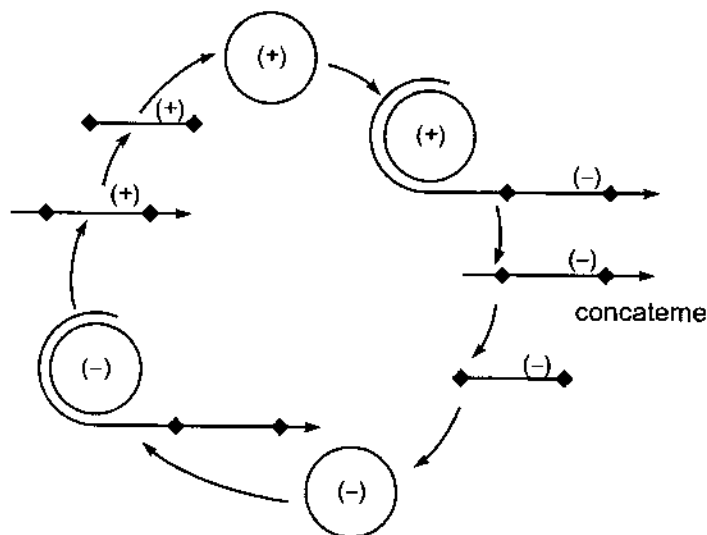
– Vùng chung của ADN – 1 và ADN – 2 của CLV chứa trình tự nucleotit lặp lại của đoạn khởi đầu sao chép ADN trong đó có một cấu trúc vòng kẹp tóc (hairpin loop structure).

– Nhiều khung đọc mở dài và các gen mã hoá cho protein nằm trên cả hai loại ADN của CLV. Chức năng mã hoá của các gen này vẫn chưa biết rõ, ngoại trừ một khung đọc mở trên ADN – 1 chính là gen mã cho protein vỏ capsit.

### 30.6. VIROIT

Năm 1971 trong quá trình nghiên cứu bệnh thực vật, người ta bất ngờ phát hiện ra tác nhân gây bệnh đặc biệt chỉ chứa phân tử ARN đơn, khép vòng, không được bao bọc bởi capsit, có kích thước khoảng 270 – 380 nucleotit nghĩa là nhỏ hơn rất nhiều so với virus và được đặt tên là viroit. Hiện nay có trên 16 bệnh do viroit gây ra ở thực vật như bệnh củ khoai tây hình thoi (PSTVd – potato spindle tuber viroid), bệnh cadang – cadang hại dừa, bệnh vỏ ngoài cây chanh. Tác nhân gây bệnh có thể truyền từ cây này sang cây khác thông qua biện pháp cơ giới, do côn trùng hoặc thông qua hạt phấn rồi nhân lên trong tế bào cây chủ.

Phân tử ARN đơn, khép vòng và thường gấp lại tạo cấu trúc bậc hai dạng hình que nhờ ghép đôi bazơ ở một số đoạn. Mặc dù ARN genom là sợi đơn, (+) nhưng không hoạt động như mARN, tuy chúng có trình tự khởi đầu dịch mã, nhưng khung đọc lại quá ngắn vì bị chặn bởi codon dừng nên việc tổng hợp protein bị cản trở, do vậy chúng không mã hoá cho bất kỳ một protein nào. Để nhân lên, chúng phải phụ thuộc hoàn toàn vào hệ enzym của tế bào chủ. Viroit nhân lên trong nhân tế bào tại nhân con (nucleolus). Quá trình nhân lên nhờ ARN – polymeraza phụ thuộc ARN của tế bào theo cơ chế "vòng tròn xoay". Đầu tiên genom là ARN đơn, (+), khép vòng được dùng làm khuôn tổng hợp theo cơ chế vòng tròn xoay tạo sợi (–) oligo bổ sung dạng thẳng gọi là concateme. Concateme được tự cắt thành các đơn vị monome (–), sau đó nối lại nhờ ligaza tạo khuôn (–) cho vòng tròn xoay để tổng hợp concateme (+) dạng thẳng. Sợi này lại tự cắt, khép vòng trở thành genom của viroit (hình 30.9).



**Hình 30.9.** Sơ đồ nhân lên của viroid theo cơ chế vòng tròn xoay.

Điều đáng lưu ý là sự phân cắt concateme thành các đơn vị monome không có sự tham gia của các enzym vì không có nucleaza nào đủ mức đặc hiệu để nhận biết vị trí cắt. Những nghiên cứu gần đây cho thấy có sự giống nhau giữa viroid và intron. Trình tự ARN của intron có thể uốn tạo 3 thùy dạng đầu búa (hammerhead). Concateme được cắt nhờ ribozym đầu búa để tạo các monome (các đơn vị genom). Vì viroid giống như intron, mà intron là trình tự không mã hoá cho polypeptit nào nên viroid không được bọc bởi vỏ protein và cũng không được cài xen vào NST của tế bào.

Tác động gây bệnh của viroid đối với vật chủ là do ARN viroid chứa các đoạn bổ sung với ARN 7S của yếu tố nhận biết tín hiệu của vật chủ. Do vậy, viroid hoạt động giống như ARN – antigen (kháng gen) kìm hãm sự tạo thành và phá huỷ chức năng của yếu tố nhận biết tín hiệu.

### 30.7. VIRUSOIT

Giống như viroid, virusoit là các phân tử ARN nhưng được bọc trong virion của virus thực vật chứ không có capsit riêng.

Mặc dù ARN của virusoit có cấu trúc giống như của viroid nhưng nó không thể nhân lên độc lập. Muốn nhân lên chúng phải dựa vào virus trợ giúp (helper virus). Ví dụ, virusoit liên kết với virus sọc cỏ linh lăng (LTSV – Lucerne transient streak virus) không có trình tự tương đồng với genom của virus trợ giúp.

LTSV có thể nhân lên độc lập mà không cần virusoit nhưng virus đốm rau tàu bay (VMV – velvet mottle virus) lại phụ thuộc hoàn toàn vào sự có mặt của ARN virusoit, thiếu nó thì virus không tái bản được.

## Chương 31

### PRION

Ở phần trước chúng ta đã xem xét một số nhóm virus điển hình mà sự sinh sản của chúng làm cho chúng ta ngỡ ngàng vì chúng phá vỡ các quan niệm truyền thống về cấu trúc và các quá trình tế bào bình thường. Trong chương này, chúng ta lại xem xét đến các thực thể có khả năng gây bệnh cấu tạo vô cùng đơn giản đến nỗi mà các nhà khoa học không thể công nhận chúng là virus, đó là *prion*.

#### 31.1. PRION

Vào năm 1957, người ta phát hiện thấy một bệnh kỳ lạ xảy ra ở một bộ lạc nói tiếng Fore, thuộc miền núi phía đông nước Tân Guinea. Bệnh nhân cười liên tục không cưỡng lại được, sau 7 – 9 tháng thì chết được gọi là bệnh cười hay bệnh Kuru. Daniel Gajdusek (nhận giải Nobel năm 1976) là người đầu tiên phát hiện thấy có mối liên quan giữa căn bệnh cười và tập tục ăn não người thân bị chết trong nghi lễ mai táng. Ông đã tiến hành gây bệnh thực nghiệm thành công khi tiêm dịch não người bệnh vào linh trưởng. Tuy nhiên, thời gian phát bệnh ở con vật chậm, do đó lúc đầu tác nhân gây bệnh này được coi là một dạng virus mới và gọi là "virus chậm". Việc chẩn đoán phòng thí nghiệm nhằm phân lập "virus chậm" đều không mang lại kết quả nhưng khi hủ tục ăn não trong nghi thức mai táng bị cấm đoán thì dịch bệnh cũng không còn nữa. Rõ ràng nguyên nhân gây bệnh là một tác nhân gây nhiễm.

Hiện nay một số bệnh tương tự ở người và động vật cũng đã được nghiên cứu, các bệnh này đều có đặc điểm chung là gây thoái hoá hệ thần kinh trung ương. Khi phân tích tế bào học mô não dưới kính hiển vi điện tử thấy nhiều phần tử trở nên xóp giống như miếng bọt biển, do xuất hiện các hốc trong não. Các tế bào bị thương tổn và chết. Tuy nhiên không thấy hiện tượng viêm, tức là không sưng tấy và cũng không thấy xuất hiện đáp ứng miễn dịch đặc hiệu.

Các bệnh thường gặp ở người và động vật được ghi ở bảng 31.1 và 31.2.

**Bảng 31.1. CÁC BỆNH PRION Ở NGƯỜI**

| Tên bệnh                                                                  | Dạng bệnh                                                       |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Creutzfeldt – Jacob (CJD)                                                 | Bệnh rải rác, lây nhiễm ở bệnh viện hoặc trong phạm vi gia đình |
| Mất ngủ gây chết, di truyền theo gia đình (FFI – Fatal familial insomnia) | Phạm vi gia đình                                                |
| Hội chứng Gerstmann – Straussler – cheinker (GSS)                         | Phạm vi gia đình                                                |
| Kuru                                                                      | Truyền nhiễm                                                    |
| Alpers                                                                    | Xảy ra ở trẻ sơ sinh                                            |

**Bảng 31.2. CÁC BỆNH PRION Ở ĐỘNG VẬT**

| Vật chủ             | Bệnh                                                             |
|---------------------|------------------------------------------------------------------|
| Sơn dương Ả rập     | Bệnh xốp não                                                     |
| Mèo                 | Xốp não kiểu đại                                                 |
| Gia súc lớn         | Xốp não (bò điên)                                                |
| Báo                 | Xốp não kiểu đại                                                 |
| Linh dương châu Phi | Xốp não                                                          |
| Sơn dương (Gemsbok) | Xốp não                                                          |
| Con triết           | Bệnh não do lây truyền (transmissible mink encephalopathy – TME) |
| Hươu, nai           | Bệnh não mãn tính (Chronic wasting disease – CWD)                |
| Cừu                 | Bệnh cừu gãi (scrapie)                                           |

**31.1.1. Prion là gì ?**

Mặc dù trước đây cho rằng nguyên nhân gây bệnh là một "virus chậm" nhưng các phân tích cho thấy chúng không bị phân giải bởi các chất phân giải các axit nucleic mà lại rất nhạy cảm với các chất phân giải protein. Khi phá huỷ axit nucleic trong dung dịch mô não, khả năng lây nhiễm không giảm đi. Phải chăng tác nhân gây bệnh có bản chất là protein. Tuy nhiên, điều đó khó lý giải là cùng một dạng bệnh lý nhưng có trường hợp là do di truyền, có trường hợp là do lây nhiễm hoặc tự phát sinh một cách ngẫu nhiên. Sau hơn hai thập kỷ nghiên cứu, Stanley B. Prusiner đã đưa ra nhiều bằng chứng thuyết phục chứng minh rằng căn nguyên gây bệnh có bản chất là protein và được gọi là prion, có nghĩa là protein gây nhiễm (proteinaceous infection particle). Ông là người đầu tiên phân lập được prion và nhờ công trình này ông được nhận giải Nobel Y học năm 1997 (bảng 31.3).

**Bảng 31.3. SO SÁNH GIỮA VIRUT VÀ PRION**

| Đặc điểm                                         | Virus                | Prion                                                                              |
|--------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Qua được màng lọc vi khuẩn                       | Có                   | Có                                                                                 |
| Chứa axit nucleic                                | Có                   | Không hoặc rất ít (~50 nucleotit không đủ mã hoá cho bất kỳ protein nào của prion) |
| Có hình dạng đặc trưng dưới kính hiển vi điện tử | Có                   | Không                                                                              |
| Chứa protein                                     | Có                   | Có                                                                                 |
| Bị bất hoạt bởi :                                |                      |                                                                                    |
| + Formaldehyt                                    | Có                   | Không                                                                              |
| + Proteaza                                       | Ít                   | Không                                                                              |
| + Nhiệt độ (80°C)                                | Phần lớn             | Không                                                                              |
| + Ion hoá và tia UV                              | Ít                   | Không                                                                              |
| Bệnh lý :                                        |                      |                                                                                    |
| + Thời gian ủ bệnh                               | Tuỳ thuộc loại virus | Dài                                                                                |
| + Phản ứng miễn dịch                             | Có                   | Không                                                                              |
| + Tạo interferon                                 | Có                   | Không                                                                              |
| + Gây phản ứng viêm                              | Có                   | Không                                                                              |



Prion gây bệnh cho cả động vật và người dẫn đến những cái chết không tránh khỏi. Hiện tại giới y học chịu bó tay vì không có phương pháp chẩn đoán, không có thuốc chữa, không có vacxin phòng bệnh và cũng không có cách nào làm ngừng hoặc làm chậm tiến trình phát triển của bệnh. Điều đáng lo ngại nữa là prion có thể vượt qua ranh giới khác biệt loài để lây từ loài này sang loài khác, làm tăng cơ hội nhiễm bệnh cho cộng đồng. Mặc dù bệnh hiếm gặp nhưng nỗi lo sợ luôn ám ảnh. Hàng triệu người đã có thể đã ăn phải thịt bò mắc bệnh. Do có thời gian ủ bệnh kéo dài (thậm chí có người kéo dài tới 40 năm) nên người đã ăn thịt bò luôn phải phảng phất tai họa giáng xuống đầu. Đối với vi khuẩn gây bệnh, người ta không lo ngại khi sử dụng các công nghệ hiện đại trong chế biến thực phẩm như xử lý nhiệt, chiếu tia UV, tia phóng xạ, nhưng đối với prion dường như chúng đã được chọn lọc để tránh các phương thức chế biến nói trên. Liệu đây có phải là dịch bệnh mang tính thảm họa đối với loài người, một thách thức mới khiến người ta phải lao vào nghiên cứu tìm hiểu bản chất của prion, ức chế gây bệnh để tìm ra cách chẩn đoán nhanh, phương pháp phòng chống và điều trị.

### 31.1.2. Khái quát về prion

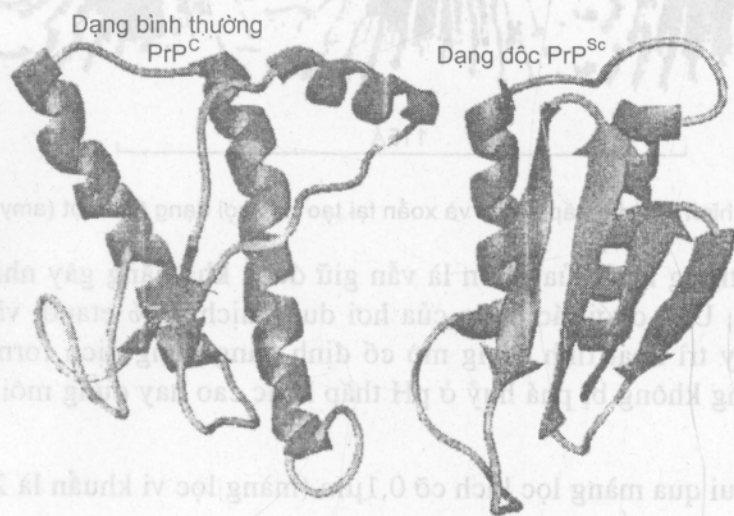
Protein prion viết tắt là PrP là sản phẩm bình thường của gen protein prion, gọi tắt là PRNP (normal product of prion gene) được biểu hiện ở hầu hết các tế bào động vật có vú, đặc biệt được biểu hiện ở mức cao trong các tế bào mô não. Có hai loại PrP : loại bình thường không gây bệnh của tế bào được ký hiệu là  $\text{PrP}^c$  (c – cell) và loại gây bệnh được ký hiệu là  $\text{PrP}^{sc}$  (sc – scrapie).  $\text{PrP}^{sc}$  có khối lượng phân tử 27000 – 30000 nên gọi là PrP27 – 30. Còn các thuật ngữ khác để chỉ prion có cấu trúc khác với  $\text{PrP}^c$  và  $\text{PrP}^{sc}$ , ví dụ khi PrP bị cắt mất đầu và đuôi hoặc ở dạng tổ hợp của hai loại trên, đó là  $\text{PrP}^{res}$  và  $\text{PrP}^{sens}$ . Chữ res (resistance) thể hiện tính kháng lại sự phân giải của proteaza còn chữ sens (sensitivity) thể hiện tính mẫn cảm với enzym này (bảng 31.4).

**Bảng 31.4. SO SÁNH  $\text{PrP}^c$  VỚI  $\text{PrP}^{sc}$**

| Đặc điểm                     | $\text{PrP}^c$      | $\text{PrP}^{sc}$     |
|------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Cấu trúc                     | Dạng cầu            | Dạng kéo dài          |
| Kháng proteaza               | Có                  | Không                 |
| Có mặt trong sợi Scrapie     | Có                  | Không                 |
| Nằm trong hoặc trên tế bào   | Trong bọt sinh chất | Trên màng tế bào chất |
| Thời gian quay vòng (chu kỳ) | Nhiều ngày          | Nhiều giờ             |

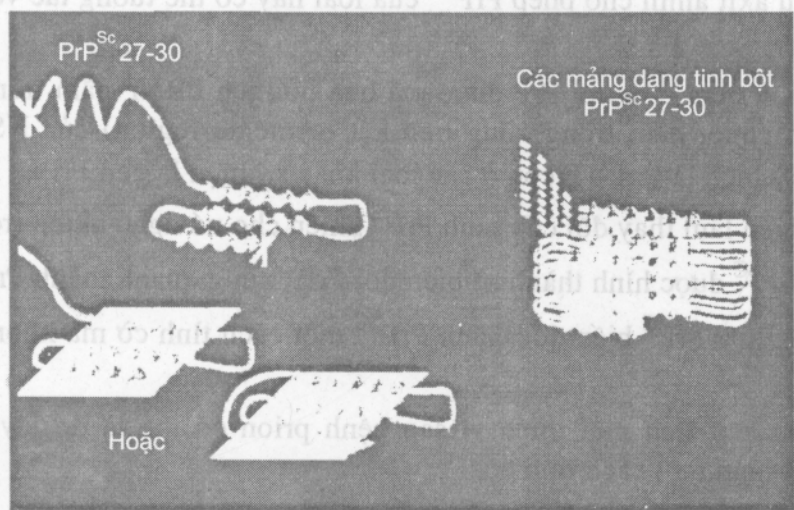
$\text{PrP}^c$  có cấu trúc bậc hai chủ yếu là dạng xoắn  $\alpha$  (thường có ba chuỗi như vậy) còn  $\text{PrP}^{sc}$  chủ yếu có cấu trúc phiến gấp nếp  $\beta$ .  $\text{PrP}^{sc}$  có thể gây nhiễm từ cá thể này sang cá thể khác, từ loài này sang loài khác. Khi ở trong cơ thể nó có thể biến đổi cấu trúc bậc hai của  $\text{PrP}^c$  (bình thường) thành  $\text{PrP}^{sc}$  (gây bệnh) (hình 31.1, 31.2, 31.3).

PrP<sup>SC</sup> có vùng lõi kháng lại proteaza nội bào nên nó không bị phân huỷ, nó tích tụ tạo thành các loại dạng tinh bột (chứa protein và polysacacrit) trong hoặc trên tế bào mô não, gây huỷ hoại tế bào và làm cho não bị xốp.



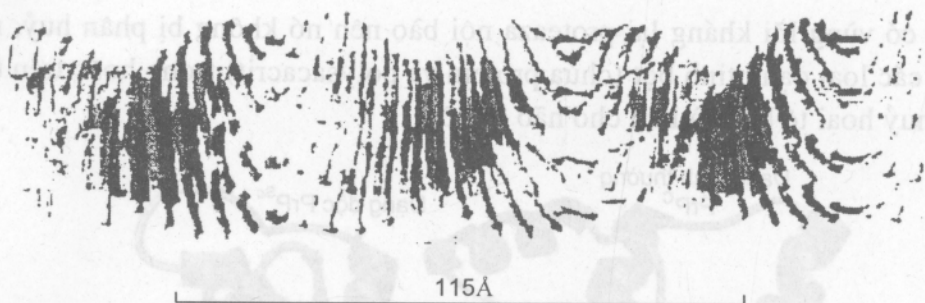
Hình 31.1. Cấu trúc của PrP<sup>C</sup>

Ở bên trái chủ yếu là chuỗi xoắn  $\alpha$  (hình ống) với một ít dải gấp nếp  $\beta$  (phần lượn sóng), được nối với một ít đoạn peptit thẳng và bám vào màng tế bào. Do đột biến hay do tương tác với PrP<sup>SC</sup> mà PrP<sup>C</sup> thay đổi cấu trúc bậc hai thành nhiều dạng cấu trúc  $\beta$ , ít cấu trúc  $\alpha$  (bên phải).



Hình 31.2. Cấu trúc của PrP<sup>SC</sup>

Bị proteaza nội bào cắt ở chỗ hai dấu X. PrP<sup>SC</sup> bị mất 50 – 80 axit amin ở đầu –NH<sub>2</sub> và 70 – 80 axit amin ở đầu –COOH, như thế là mất gần hết hoặc hết cấu trúc  $\alpha$ . Phần còn lại là phần kháng proteaza được ký hiệu là PrP<sup>SC</sup> 27 – 30 vì khối lượng của nó có khoảng 27 – 30kDa. Các gấp nếp  $\beta$  nằm trên một mặt phẳng theo kiểu 1 hay 2 trong hình, các mặt phẳng này xếp lên nhau thành chuỗi sợi amyloid dài, các sợi tụ tập lại với nhau tạo nên các mảng amyloid ngoài tế bào.



**Hình 31.3.** Mô hình các dải gấp nếp  $\beta$  và xoắn lại tạo nên sợi dạng tinh bột (amyloid fibril).

Đặc điểm đặc trưng nhất của prion là vẫn giữ được khả năng gây nhiễm sau khi bị chiếu tia phóng xạ, UV, dưới tác dụng của hơi dung dịch 70% etanol và formaldehyt, đồng thời được duy trì hoạt tính trong mô cố định bằng dung dịch formaldehyt 10%. Hoạt tính prion cũng không bị phá huỷ ở pH thấp hoặc cao hay dung môi hữu cơ không phân cực.

Prion có thể chui qua màng lọc kích cỡ  $0,1\mu\text{m}$  (màng lọc vi khuẩn là  $2,2\mu\text{m}$ )

Prion chỉ bị bất hoạt với dung dịch NaOH 1M ở  $55^\circ\text{C}$  hay chất tẩy rửa 20000 ppm (nồng độ bột giặt gia đình là 5000ppm).

Trình tự axit amin giống nhau nhưng cấu trúc khác nhau là đặc điểm khác biệt giữa prion bình thường và prion gây bệnh. Trình tự axit amin của các prion ở người, chuột, cừu và bò giống nhau đến 85% nhưng chỉ khác nhau ở cấu hình không gian. Sự giống nhau về trình tự axit amin cho phép  $\text{PrP}^{\text{SC}}$  của loài này có thể tương tác với  $\text{PrP}$  của loài khác.

Như đã nói ở trên, ở người  $\text{PrP}$  được mã hoá bởi gen  $\text{PRNP}$  nằm trên vai ngắn của NST 20, còn ở chuột nằm trong vùng liên kết (syntenic region) của NST thứ 2. Gen prion ở chuột ký hiệu là  $\text{Prn} - \text{P}$  còn ở các loài khác ký hiệu là gen  $\text{PrP}$ .

- Các đột biến làm thay đổi cấu hình  $\text{PrP}^{\text{C}}$  khiến cho nó ngẫu nhiên trở thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$ .
- Một số  $\text{PrP}^{\text{SC}}$  được hình thành sẽ biến đổi  $\text{PrP}^{\text{C}}$  xung quanh thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$ .
- Có trường hợp  $\text{PrP}^{\text{C}}$  biến đổi thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$  một cách tình cờ mà không cần phải có đột biến.

Các sự kiện nêu trên giải thích vì sao bệnh prion có thể là do lây nhiễm, do di truyền hay xuất hiện một cách tình cờ.

### 31.1.3. Cấu trúc prion

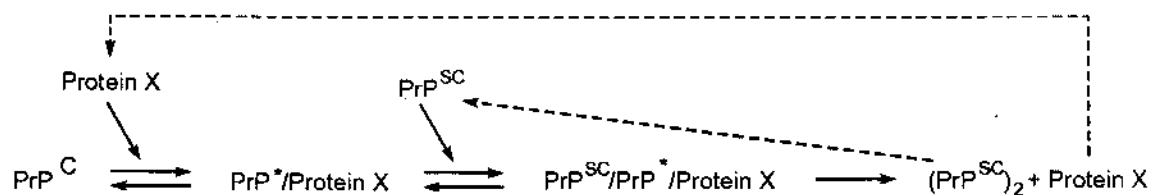
$\text{PrP}^{\text{C}}$  là một protein gồm 4 chuỗi ký hiệu là H1, H2, H3 và H4 chứa khoảng 40% chuỗi xoắn  $\alpha$  và 45% dải gấp nếp  $\beta$ .

- Vùng đầu –  $\text{NH}_2$  của  $\text{PrP}^{\text{C}}$  tạo ra bề mặt chung nối với  $\text{PrP}^{\text{SC}}$ . Đầu –  $\text{NH}_2$  rất linh động, cấu trúc bậc ba của đầu –  $\text{NH}_2$  liên quan đến sự thay đổi cấu trúc trong quá trình hình thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$ .

- Vùng ở đầu – COOH của  $\text{PrP}^C$  là vị trí gắn với protein.
- $\text{PrP}^{SC}$  được tạo thành do sự tháo xoắn ở đầu –  $\text{NH}_2$  của  $\text{PrP}^C$  tạo thành dải gấp nếp  $\beta$ . Giải gấp nếp này nhiều (45%) nên cấu trúc  $\text{PrP}^{SC}$  ổn định hơn so với  $\text{PrP}^C$ , ngăn cản sự phân giải của protein.  $\text{PrP}^{SC}$  gây bệnh ở dạng dimer.

### 31.1.4. Sự nhân lên của prion .

Trong các tế bào không bị nhiễm  $\text{PrP}^C$  với trình tự kiểu đại WT (wild type) tồn tại trong trạng thái cân bằng dạng monome xoắn  $\alpha$ , miễn cảm với proteaza hoặc gắn với protein X (hình 31.4).  $\text{PrP}^C$  gắn với protein X được ký hiệu là  $\text{PrP}^*$ . Cấu trúc này khác với cấu trúc của  $\text{PrP}$  tái tổ hợp dạng monomer được xác định trong điều kiện chất lỏng. Phức hợp  $\text{PrP}^*/\text{protein}$  sẽ gắn với  $\text{PrP}^{SC}$  nhờ đó có khả năng tạo ra một sự lắp ráp có tác dụng nhân lên. Nhiều thí nghiệm chứng minh  $\text{PrP}^C$  tương tác với  $\text{PrP}^{SC}$ , sự thay đổi cấu trúc xảy ra ở  $\text{PrP}$  trong vùng có khả năng gắn với Protein X và  $\text{PrP}^{SC}$ , đó là bước khởi đầu của sự tạo thành  $\text{PrP}^{SC}$ . Các bước sau đều theo sơ đồ hình 31.4.



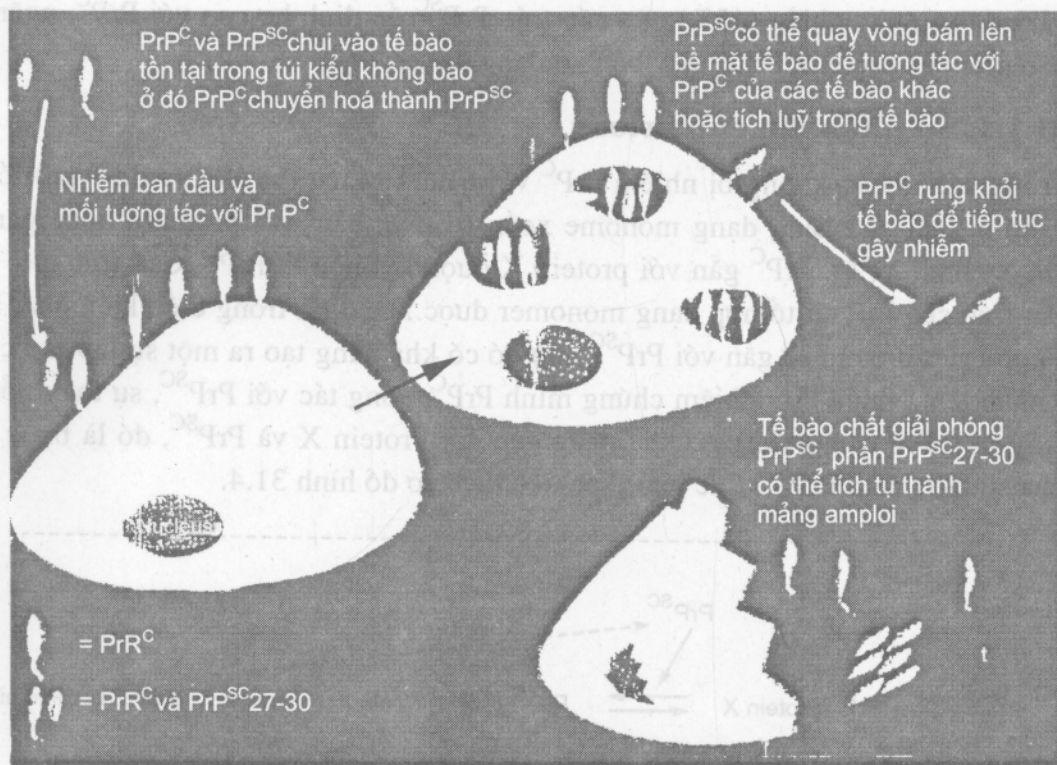
**Hình 31.4.** Sơ đồ cho thấy sự tạo thành  $\text{PrP}^{SC}$  nhờ khuôn có sẵn.

Bước đầu  $\text{PrP}^C$  kết hợp với protein X để tạo thành phức hợp  $\text{PrP}^*/\text{protein}$ . Tiếp đến là  $\text{PrP}^{SC}$  liên kết với  $\text{PrP}$  trong phức hợp  $\text{PrP}^*/\text{protein}$ . Khi  $\text{PrP}^*$  được chuyển dạng thành phân tử  $\text{PrP}^{SC}$  mới, protein X sẽ rời khỏi phức hệ, chỉ còn lại  $\text{PrP}^{SC}$  dạng dimer (hoặc oligome).

Trong cơ thể bình thường, prion được tạo thành bởi tế bào thần kinh và một số tế bào nhất định. Việc tạo ra  $\text{PrP}^C$  bắt đầu từ nhân, mARN dùng để dịch mã cho  $\text{PrP}^C$  được tạo thành trong nhân, xuyên qua siêu lỗ màng nhân ra tế bào chất gắn vào riboxom tạo phức đính vào màng lưới nội chất hạt (RER – rough endoplasmic reticulum), sau đó  $\text{PrP}^C$  được tổng hợp và vận chuyển thông qua bộ máy Golgi. Ở phía đỉnh bộ máy này các bong (kiểu không bào) chứa  $\text{PrP}^C$  nảy chồi và vận chuyển đến bề mặt tế bào. Ở đây chúng dung hợp với màng tế bào chất và phân tử  $\text{PrP}^C$  hình que chui ra ngoài tế bào (hình 31.5).

Khi  $\text{PrP}^C$  tiếp xúc với protein độc ( $\text{PrP}^{SC}$ ) sẽ bị  $\text{PrP}^{SC}$  tác động để thay đổi hình dạng.  $\text{PrP}^C$  và  $\text{PrP}^{SC}$  có bản chất hoá học giống nhau nghĩa là có cùng trình tự axit amin, chỉ khác nhau về cấu hình không gian. Sự biến đổi  $\text{PrP}^C$  thành  $\text{PrP}^{SC}$  có thể xảy ra trên bề mặt tế bào hoặc trong các vết lõm vào của màng tế bào (Caveolae) hoặc có thể cùng biến đổi trong các bong (không bào) nằm trong sinh chất. Tiếp đó, các prion được polyme hoá và cuối cùng tạo thành các sợi nhỏ. Do  $\text{PrP}^{SC}$  kháng được proteaza của lysosom nên chúng tồn tại và tích lũy trong tế bào. Các không bào chứa  $\text{PrP}^C$  cũng có

thể được vận chuyển tới thể Golgi và ngăn cản sự tích lũy  $\text{PrP}^{\text{C}}$  bằng cách biến nó thành dạng độc trước khi chúng vận chuyển ra bề mặt tế bào.



**Hình 31.5.** Sơ đồ chuyển  $\text{PrP}^{\text{C}}$  thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$ .

$\text{PrP}^{\text{SC}}$  27 – 30 xâm nhập vào tế bào lympho hay tế bào thần kinh, vào trong các bong của tế bào, biến  $\text{PrP}^{\text{C}}$  thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$ .  $\text{PrP}^{\text{SC}}$  có thể được xuất ra bề mặt tế bào rồi rụng đi, xâm nhập vào các tế bào khác. Nó có thể ở lại trong tế bào, khi tế bào chết chúng mới được phóng thích.

$\text{PrP}^{\text{SC}}$  27 – 30 tự do ngoài tế bào tích tụ lại tạo thành các mảng amyloid, tế bào não chết từng đám làm não bị xẹp.

Prion có thể đi vào não dọc theo sợi trục (axon) của tế bào thần kinh. Prion có thể nhân lên trong tế bào lympho do đó di chuyển được trong máu. Chúng cũng có thể nhân lên trong các tế bào sao (aster) và các tế bào thần kinh đệm khác.

Sau khi ăn phải thức ăn nhiễm prion, chúng được tế bào lympho hấp thụ rồi đi vào các mô bạch huyết, mảng payer, amidan. Tại đây có các dây thần kinh qua đó prion có thể xâm nhập vào hệ thống thần kinh trung ương.

## 31.2. BỆNH PRION DI TRUYỀN

### 31.2.1. Bệnh Creutzfeldt – Jacob (CJD)

Năm 1920, Creutzfeldt lần đầu tiên mô tả bệnh giảm sút trí tuệ ở một thiếu phụ 22 tuổi và một năm sau Jacob thông báo thêm 4 trường hợp nữa. Bệnh xuất hiện ở mọi nơi với tỷ lệ nhiễm là một phần triệu, tỷ lệ này ở nam và nữ là như nhau. Bệnh thường



xảy ra ở những người từ 50 – 60 tuổi trong đó cứ 10000 người thì có 1 người chết. Tuy nhiên, con số này không được chính xác vì nhiều khi không chẩn đoán được. Thời gian ủ bệnh là 18 – 20 năm. Các triệu chứng tăng cảm giác, giảm thị lực sau đó mất khả năng điều hoà vận động, co giật và mất trí nhớ do não bị tổn thương, sau 7 – 24 tháng phát bệnh thì chết.

Bệnh CJD có thể do di truyền hoặc do lây nhiễm. CJD do di truyền chiếm 10 – 15%, thường trong gia đình có người mắc bệnh. Bệnh do đột biến trội trên NST thường. Người bệnh có ít nhất một allele đột biến của gen PRNP. Sau đây là một số đột biến thông thường nhất :

- Codon thứ 200 bị đột biến từ axit glutamic (E) thành lyzin (K), nên ký hiệu là E200K.
- Axit aspartic (D) ở codon thứ 187 bị biến đổi thành asparagin (N), nên ký hiệu là D187N.
- Codon ở vị trí thứ 210, từ valin (V) biến thành isoleuxin nên ký hiệu là V210I.

Bệnh CJD rải rác (sporadic) ký hiệu là SCJD là bệnh xuất hiện tự phát, đôi khi mới xảy ra mà không tạo thành dịch. Bệnh CJD do lây nhiễm có thể truyền qua cấy ghép màng sàng (cornea) hay màng cứng hoặc sử dụng các dụng cụ phẫu thuật não bị nhiễm.

### **31.2.2. Bệnh CJD biến thể mới (New variant CJD) viết tắt là vCJD**

Đây cũng là bệnh lây nhiễm, xuất hiện sau khi có bệnh bò điên. Biểu hiện triệu chứng ban đầu khác với bệnh CJD thông thường. Người bệnh lo âu, trầm cảm, đau các chi, mất ngủ và thay đổi hành vi. Đặc biệt là người trẻ cũng bị mắc bệnh. Các triệu chứng về sau cũng giống với bệnh CJD bình thường như mất khả năng điều hoà vận động, mất khả năng nói, mất trí và múa giật. Tế bào thần kinh ở đồi não và thể gối, vỏ não và vỏ tiểu não bị xốp do chứa các mảng prion dạng tinh bột. Nhiều người trẻ tuổi bị mắc bệnh đã làm tăng nỗi sợ hãi rằng bất cứ ai cũng có thể mắc bệnh do đã trót ăn phải thịt bò điên. Có thể những người dễ mắc bệnh này là do họ có một gen prion bị sai hỏng vì thế không thể sinh ra đủ prion hoặc sinh ra prion ở dạng kém hoạt động.

iCJD (iatrogenic) là bệnh CJD nhiễm qua dụng cụ y tế (nhiễm tại bệnh viện) do ghép tạng, điện não hoặc dùng hormone tuyến yên người. Thời gian ủ bệnh iCJD từ 14 tháng đến 20 năm.

### **31.2.3. Bệnh Gerstmann – Straussler – Scheinker (GSS)**

Hội chứng GSS là bệnh di truyền theo gia đình. So với CJD thì bệnh này xảy ra ở trẻ nhỏ (trung bình dưới 10 tuổi) nhưng thấy cả ở tuổi trung niên. Thời gian ủ bệnh tùy thể trạng, có thể từ 5 – 30 năm. Bệnh nhân dần dần mất phản xạ chân, khó nuốt, giảm huyết áp, khó nói, mất ngủ, rối loạn tiểu não dẫn đến mất trí. Bệnh tiến triển chậm trong vòng 4 – 5 năm và kết thúc bằng cái chết.

Năm 1988, người ta đã đưa ra một số bằng chứng chứng tỏ rằng bệnh GSS có thể di truyền. Khi so sánh PrP của người bị bệnh GSS với gen PrP của người bình thường thấy

có sự khác biệt đôi chút trong trình tự nucleotit, đó có thể là đột biến điểm. Gen gồm hai mạch nucleotit gắn vào nhau thông qua cầu nối hydro. Mỗi bộ ba mã hoá cho một axit amin trong phân tử protein. Trong trường hợp đột biến kể trên, codon ở vị trí 102 – prolin được thay bằng leuxin (ký hiệu là P102L). Ở vị trí 117, alanin được thay thế bằng valin nên ký hiệu là A117v.

Dịch não của bệnh nhân GSS có thể truyền bệnh cho linh trưởng và chuột chuyển gen. Chuột chuyển gen có P102L xuất hiện bệnh tự phát.

#### **31.2.4. Bệnh mất ngủ gây chết có tính di truyền (FFI)**

Đây là bệnh prion tự phát xảy ra trong phạm vi gia đình, tuy nhiên đôi khi cũng xuất hiện ở người mà tiền sử gia đình không có người mắc bệnh. Bệnh nhân bị mất ngủ không thể chữa được. Bệnh được đặc trưng bởi đồi thị (thalamus) bị thoái hoá. Nguyên nhân do đột biến ở codon thứ 178 axit aspatic (D) được thay thế bởi asparagin (N) ký hiệu là đột biến D178N kèm theo M129 tương đồng (codon metionin nằm ở vị trí 129) dịch não bệnh nhân FFI gây bệnh cho chuột chuyển gen.

### **31.3. CÁC BỆNH PRION LÂY NHIỄM**

Thuộc loại này bao gồm các bệnh Kuru, Scrapie (bệnh cừu gãi), bệnh xốp não bò hay bò điên và một số dạng mới thuộc dạng CJD (như đã nêu ở phần trên).

#### **31.3.1. Bệnh Kuru**

Như phần đầu đã nêu, bệnh lần đầu tiên được phát hiện ở cao nguyên Papua nơi lạc bộ Fore có tập tục ăn não người chết vì lý do tôn giáo. Về mặt lâm sàng cũng giống như bệnh CJD. Bệnh xuất hiện do chức năng tiểu não bị thoái hoá ảnh hưởng đến dáng đi, giọng nói, điều hoà cử động, tiếp đến là phát triển sang khối bệnh lý, bệnh nhân cười cho đến chết (Kuru – cái chết cười).

Thời gian ủ bệnh ngắn là 4 năm, còn lâu có thể là 35 – 40 năm. Một số bộ lạc khác trong vùng cũng có tập tục ăn não như vậy nhưng không thấy xuất hiện bệnh. Khi nghiên cứu căn nguyên của bệnh, người ta đã phát hiện ra một vài thời điểm trong quá khứ một thành viên của bộ lạc Fore đã bị bệnh CJD, não của anh ta đã bị nhiễm prion và từ đó lan rộng sang những người khác.

#### **31.3.2. Bệnh Scrapie**

Bệnh thường xảy ra ở cừu, dê, là bệnh TSE đầu tiên được nghiên cứu. Bệnh lây từ con này sang con khác khi ăn phải thức ăn có chứa mô thần kinh. Cũng có thể gây bệnh thực nghiệm bằng cách tiêm mô não.

#### **31.3.3. Bệnh bò điên**

(Bệnh xốp não bò BSE – Bovine – Spongiform encephalopathy)

Bệnh gây thoái hoá thần kinh ở bò, thường gọi đơn giản là bệnh bò điên, được phát hiện đầu tiên vào năm 1985 và nhanh chóng trở thành một trong những thách thức lớn nhất đối với y học.

Năm 1988, các biện pháp đầu tiên cấm nuôi động vật nhai lại bằng bột thịt động vật đã được ban ra ở Anh, sau đó là Pháp và các nước khác.

Năm 1996, báo động đỏ đã được gióng lên khi uỷ ban theo dõi bệnh CJD loan báo đã có 10 bệnh nhân CJD dạng mới (nvCJD) do lây nhiễm từ bò bị BSE, trong đó có 4 bệnh nhân đã qua đời.

Tháng 8 – 2000 đã có 70 bệnh nhân thiệt mạng do mắc bệnh BSE và có 750000 con bò nhiễm bệnh. Các sản phẩm thịt bò của Anh bán khắp thế giới. Một con bò có thể làm bít tết cho nhiều người ăn, do vậy tỷ lệ mắc bệnh chắc chắn không phải là nhỏ. Thời gian ủ bệnh BSE rất dài sau 5 – 40 năm mới biểu hiện các triệu chứng như run rẩy, tê liệt và điên loạn.

Do sự mới lạ của căn bệnh nên tất cả các quốc gia đều không có bất kì một biện pháp phòng bị nào. Không có phương pháp chẩn đoán, ngăn chặn và chế ngự nó. Bệnh nhân chỉ còn chờ cái chết ập đến.

Các mẫu tế bào ruột thừa, amidan có khả năng mang tác nhân gây bệnh. Người ta cho rằng những người mang gen M129 (tổng hợp metionin) dễ có nguy cơ mắc bệnh. Tiếc thay có tới 40% người dân Anh mang gen này. Một vấn đề nữa là dê và cừu có thể mắc bệnh CJD, vậy chúng có thể lây sang bò hoặc người hay không ? Prusiner nhận định rằng cuộc chiến chống bệnh bò điên gay go không kém gì so với bệnh AIDS.

### 31.4. PRION Ở NẤM MEN

Trước đây, người ta rằng bệnh prion chỉ xuất hiện ở động vật có vú, vậy mà gần đây lại thấy chúng xuất hiện ở cả ở nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Chúng có các prion Ure2p với dạng gây bệnh là prion URE3 gây rối loạn chuyển hoá nitơ và prion Sup35 với dạng gây bệnh là prion PSI. Nấm sợi *Podospira anserina* cũng có prion Het – s. Prion gây bệnh có thể chuyển hoá protein bình thường thành prion gây bệnh và gây nhiễm được cho các tế bào nấm men thế hệ sau. URE3 và Sup35 là các gen nằm ngoài NST nên có thể dễ dàng nghiên cứu chúng. Người ta dùng ADN tái tổ hợp chứa gen PSI cho vi khuẩn tổng hợp rồi tách prion PSI nhiễm vào tế bào nấm men thì cũng gây được bệnh cho nấm men. Đây cũng là bằng chứng ủng hộ thuyết cho rằng prion có bản chất là protein bởi vì prion được tách từ vi khuẩn tinh sạch và không hề chứa axit nucleic của nấm men. Phát hiện prion ở nấm men mở ra triển vọng mới cho các nghiên cứu cơ bản về prion vì nấm men dễ thao tác, gen lại nằm ngoài NST, thời gian ủ bệnh ngắn hơn nhiều so với làm thí nghiệm trên chuột.

### 31.5. CHẨN ĐOÁN BỆNH PRION

Sự tồn tại của protein kháng proteaza trong mô não là dấu hiệu đặc trưng xác nhận bệnh nhân đã mắc bệnh prion. Tuy nhiên, việc tìm protein này trong não chỉ được tiến hành sau khi bệnh nhân đã chết.



Dùng KT đơn dòng có thể phân biệt được prion bình thường với prion gây bệnh chắc chắn có tầm quan trọng trong tương lai. Vấn đề là phải xử lý làm sao để bộc lộ quyết định KN (epitop) đặc hiệu.

Để chẩn đoán bệnh nhân khi còn sống cần làm sinh thiết amidan để tìm prion vì prion nhân lên ở amidan (một mô lympho) trước khi lên não. Tuy nhiên, lượng prion trong amidan của bệnh nhân ở thời kỳ cuối là cao hơn nhiều so với lúc chớm bị bệnh. Vấn đề là tìm ra phương pháp thật nhạy để phát hiện ra prion ngay ở nồng độ thấp. Dẫu sao đây cũng là phương pháp hứa hẹn nhiều thành công. Ngoài ra, việc thăm dò phương pháp truyền thống xác định tác nhân gây bệnh trong máu và nước tiểu như đối với các bệnh khác cũng được gấp rút tiến hành. Hy vọng thành công sẽ đáp ứng được nhu cầu xét nghiệm rất lớn vì trên thực tế ai cũng có nguy cơ mắc bệnh.

### 31.6. NGHIÊN CỨU BIỆN PHÁP CHỐNG BỆNH PRION

Dựa vào các kiến thức thu được trong những năm gần đây về bản chất và quá trình nhân lên của prion, người ta đưa ra các phương án thiết kế các loại thuốc nhằm ngăn cản sự tạo thành prion gây bệnh từ prion bình thường :

- Tạo được phẩm có cấu trúc giống như protein X để cạnh tranh gắn vào  $\text{PrP}^{\text{C}}$  làm ổn định cấu trúc của  $\text{PrP}^{\text{C}}$  và không cho nó chuyển hoá thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$ .

- Tìm KT gắn vào  $\text{PrP}^{\text{C}}$ .

- Tạo ra các chất hoá học có thể chuyển  $\text{PrP}^{\text{SC}}$  thành  $\text{PrP}^{\text{C}}$ . Một số chất có hoạt tính này như dimethylsulphoxid, oxit trimetylamin N, một số polyol khác và một số loại đường.

- Ngăn cản sự tạo thành  $\text{PrP}^{\text{SC}}$  nhờ axit nucleic.

- Sử dụng các hợp chất, ví dụ chất dẫn xuất của 1,2 – hydroquinon sẽ bảo vệ tế bào khỏi sự phá huỷ bởi dạng tinh bột.

- Tạo ra các động vật chuyển gen không mang gen PrP, do đó có thể kháng được bệnh prion.

### 31.7. LỜI KẾT

Mặc dù giả thuyết cho rằng nguyên nhân gây ra bệnh kì lạ này là do virus vẫn chưa bị bác bỏ hoàn toàn bởi vì nhiều trường hợp rất khó phát hiện virus, nhất là khi ở nồng độ thấp. Tuy nhiên ngày càng có nhiều bằng chứng ủng hộ thuyết protein. Kể từ khi dịch bò điên bao trùm nỗi lo sợ trên toàn châu Âu thì các nghiên cứu về prion đã được đẩy mạnh và đã thu được những thành tựu đáng kể. Tuy nhiên một câu hỏi chưa được trả lời là liệu bệnh prion có lây qua đường máu không ? Nếu quả thật như vậy thì loài người lại phải một lần nữa đối mặt với tác nhân lây bệnh mới không kém gì HIV. Hy vọng với những nỗ lực mới, Y học thế giới sẽ sớm có những hiểu biết toàn diện hơn

về căn bệnh quái ác này và sớm có các biện pháp dự phòng, chẩn đoán và điều trị trong một tương lai gần.

Hơn nữa một điều đáng để chúng ta phải suy nghĩ thông qua các phát hiện của Prusiner là mặc dù có rất nhiều tiến bộ vượt bậc trong Sinh học nhưng vẫn không thể loại trừ bất cứ điều gì.

Điều mà cách đây không lâu vẫn được coi là lý thuyết cơ bản, sự thật hiển nhiên và không có gì phải bàn cãi thì nay có thể là lỗi thời. Ví dụ điển hình đó là lý thuyết khẳng định rằng trình tự axit amin của protein sẽ quyết định cấu trúc không gian của nó. Thế nhưng trong trường hợp prion lại không như thế. Chúng có trình tự như nhau, song cấu trúc lại khác, khiến prion bình thường ngay tức khắc biến thành prion gây bệnh tấn công con người và động vật.

## *Chương 32*

# UNG THƯ DO VIRUT

### 32.1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM CƠ BẢN VỀ UNG THƯ

Ung thư là căn bệnh hiểm nghèo có tỷ lệ tử vong đứng thứ 2 sau tim mạch. Hằng năm trên thế giới có khoảng 7 triệu người chết vì ung thư. Trong vòng 20 năm trở lại đây, do ô nhiễm môi trường tỷ lệ mắc ung thư cao hơn trước. Ung thư biểu hiện bệnh khi sự kiểm soát quá trình điều hoà sinh trưởng của tế bào bị mất dẫn đến sự tăng sinh tế bào không thể kiểm soát được thông qua con đường gián phân.

Sự sinh trưởng và phát triển của tế bào diễn ra theo nhiều giai đoạn nên sự kiểm soát quá trình sinh trưởng và phát triển của tế bào cũng xảy ra theo các giai đoạn đó, mà nếu phá vỡ một số giai đoạn thì xuất hiện ung thư. Ung thư là kết quả của các đột biến liên tục trong 1 thời gian dài làm cho các gen bị sai hỏng, không mã hoá được cho các protein tham gia vào sự kiểm soát sinh trưởng của tế bào.

Khi sự ức chế sinh trưởng do tiếp xúc bị mất, các tế bào không gắn chặt lại với nhau do đó phát triển chèn lên nhau tạo thành 1 khối u. Cơ thể phản ứng lại bằng cách bao quanh khối u bằng mô liên kết tạo thành lớp vỏ bọc, lúc đó gọi là *u lành*. Nếu tế bào phát triển nhanh sẽ phá vỡ lớp vỏ mô liên kết, lan ra ngoài xâm lấn vào các mô lân cận lúc đó gọi là *u ác*. Trong Bệnh viện u ác và u lành có thể phân biệt được bằng cách làm sinh thiết, soi dưới kính hiển vi. Nếu hình dạng tế bào ổn định sắp xếp có trật tự thì là u lành, còn hình dạng tế bào thay đổi sắp xếp lộn xộn thì là u ác. Nếu tế bào phát triển, phát tán lan qua đường máu, bạch huyết hoặc qua các xoang cơ thể, sau đó u thứ cấp mọc lên ở xa u đầu, chèn ép các cơ quan xung quanh thì lúc đó gọi là *di căn*. Giải phẫu bệnh học còn chia ung thư ra thành các nhóm : *carcinoma* (u mọc từ biểu bì – da, vú, ruột, tử cung), *sarcoma* (ung thư mô liên kết, có thể thấy trong mô xơ, cơ trơn, xương, mô mỡ), *lymphoma* (ung thư hạch bạch huyết), *leukemia* (ung thư bạch cầu). Cho đến nay đã biết nhiều tác nhân gây ung thư, bao gồm các tác nhân hoá học như khói thuốc lá (chứa nitrosonicotin, dimetylnitrosamin...), aflatoxin của nấm sợi *Aspergillus flavus*, một số thuốc trừ sâu, thuốc diệt cỏ, dioxin, amiăng..., các tác nhân vật lý bao gồm : tia phóng xạ (tia X,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), tia tử ngoại, các tác nhân sinh học bao gồm hàng loạt virus như *retro*, *adeno*, *herpes*...

### 32.2. CHU KỲ TẾ BÀO VÀ APOPTOSIS

#### 32.2.1 Chu kỳ tế bào

Quá trình phát sinh ung thư liên quan chặt chẽ đến chu kỳ tế bào. Đó là 1 chu kỳ gồm 4 giai đoạn kế tiếp nhau và kết thúc bằng sự phân chia để tạo tế bào mới. Sự phân

chia tế bào chỉ chiếm một phần trong chu kỳ tế bào gồm các giai đoạn : G1, S, G2, M (hình 32.1).

– *Giai đoạn G*. Ngay sau khi vừa mới phân chia xong ở chu kỳ trước, tế bào bước vào giai đoạn chuẩn bị thứ nhất gọi là G1 (G – gap – khoảng gián đoạn). Trong giai đoạn này tế bào tổng hợp các chất cần thiết cho sự sinh trưởng. Khi nội chất đạt đến điểm giới hạn (restriction point) thì sẽ chuyển sang giai đoạn S.

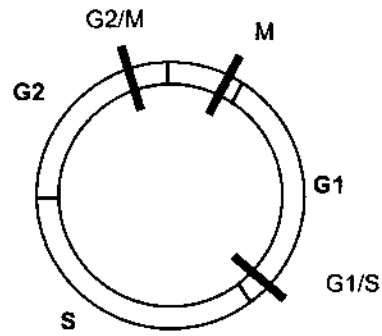
– *Giai đoạn S*. Đây là giai đoạn tổng hợp ADN (S – synthesis). Đến cuối giai đoạn này lượng ADN tăng gấp đôi nhờ quá trình sao chép.

– *Giai đoạn G2*. Kết thúc giai đoạn S, tế bào chuyển sang giai đoạn G2. Đây là giai đoạn tế bào phải tổng hợp tất cả những gì còn lại để chuẩn bị cho giai đoạn phân bào tiếp theo.

– *Giai đoạn M*. là giai đoạn phân chia tế bào (M – mitotic), bao gồm hai phần kế tiếp nhau : Phân chia nhân (karyokinensis, mitosis) và phân chia tế bào chất (cytokinensis). Kết quả cuối cùng là từ một tế bào được hai tế bào con.

Các giai đoạn G1, S, G2 nằm giữa hai lần phân chia gọi là kỳ trung gian (interphase). Khi tế bào mất khả năng phân chia, tức là chúng rơi vào trạng thái nghỉ hay gọi là giai đoạn G0.

Cơ thể sinh vật lớn lên được là nhờ sự tăng số lượng tế bào, còn số lượng tế bào tăng lên được là nhờ quá trình phân bào. Tùy thuộc vào loại mô và thời điểm mà tốc độ phân bào khác nhau. Ở một số loại mô, sự phân bào của các tế bào được tiến hành thường xuyên để liên tục có sự đổi mới tế bào như hệ tạo máu, ở mô biểu bì (để thay thế tế bào da), tuyến sinh dục (để tạo giao tử). Có trường hợp sự phân bào tăng lên đột ngột như ở da khi bị tổn thương, ở gan khi bị cắt (tăng nhanh để bù lại như cũ). Khi bị nhiễm trùng, quần thể tế bào của hệ thống miễn dịch tăng nhanh để thực hiện đáp ứng miễn dịch. Do vậy, sự điều hoà chu trình tế bào có vai trò đặc biệt quan trọng.



**Hình 32.1.** Các trạm kiểm soát chu kỳ tế bào.

### 32.2.2. Sự điều hoà chu trình tế bào

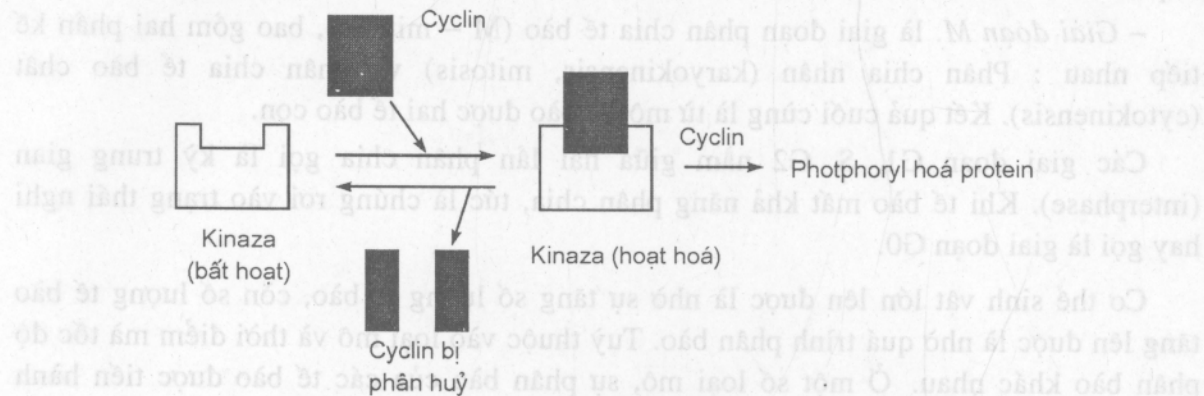
Trong một chu kỳ tế bào có 3 *trạm kiểm soát* (check point) khác nhau ở các vị trí G1/S, G2/M và M. Muốn vượt qua được các trạm đó, tế bào phải tích lũy được một số chất nhất định thì mới sang được giai đoạn mới nếu không tích lũy được các chất cần thiết đó thì quá trình phân bào buộc phải dừng lại. Tuy nhiên, muốn sản sinh ra các chất cần thiết vào thời điểm cần thiết, tế bào phải nhận được các tín hiệu thích hợp từ môi trường bên ngoài cũng như bên trong tế bào.

– Trạm kiểm soát ở G2 có nhiệm vụ phát hiện ra các ADN chưa được sao chép hoặc hư hỏng để phát tín hiệu bất giữ, không cho chuyển sang giai đoạn M. Tế bào sẽ ở lại giai đoạn G2 cho đến khi genom được sao chép hoàn toàn hoặc được sửa chữa hoàn thiện.

– Sự hư hỏng ADN không chỉ bị giữ lại ở trạm G2 mà còn bị giữ tại trạm G1. Tại trạm này có sự tham gia của protein p53. Ví dụ, khi chiếu xạ làm cho ADN bị hư hỏng thì lượng protein p53 được tăng lên nhanh chóng và phát ra tín hiệu để giữ ADN lại ở trạm này. Trong ung thư, gen p53 dễ bị đột biến. Việc thiếu protein p53 do đột biến sẽ không thực hiện được sự bắt giữ ở trạm G1 nên ADN sai hỏng vẫn có thể được sao chép và đi vào các tế bào con thay vì phải được giữ lại để sửa chữa. Sự di truyền ADN hư hỏng dẫn đến làm tăng tần số đột biến và làm mất sự ổn định genom của tế bào và từ đó dễ phát sinh ung thư.

– Tại M cũng có một trạm kiểm soát để bắt giữ phân bào nếu các NST con không được sắp xếp đúng trên thoi vô sắc.

Sự điều hoà chu kỳ tế bào được thực hiện nhờ các tín hiệu tăng trưởng và tín hiệu ngoại bào. Cơ chế kiểm soát phân bào được thực hiện nhờ các phức hợp cyclin – kinaza. Kinaza là enzym chuyển nhóm photphat, nó chỉ được hoạt hoá khi gắn với cyclin nên được gọi là kinaza phụ thuộc cyclin (cyclin dependent kinase), còn cyclin là protein có mặt và có nồng độ thay đổi theo chu kỳ tế bào nên được gọi là **cyclin** (hình 32.2).



**Hình 32.2.** Cơ chế hoạt động của MPF kinaza.

Trong chu kỳ tế bào, phức hợp cyclin – kinaza đảm nhiệm nhiều chức năng khác nhau :

- + Làm tan màng nhân để tiến hành phân chia nhân.
- + Làm đậm đặc NST nhờ photphoryl hoá histon H1.

Hoạt hoá sự phiên mã ADN để tạo nhiều protein quan trọng tham gia vào chu kỳ tế bào.

**Yếu tố MPF (maturation promoting factor)** là một dimer của Cdc và cyclin (Cdc – cell division là một kinaza). MPF kích thích hoạt tính kinaza đồng thời cũng phân huỷ cyclin làm mất hoạt tính kinaza (kiểm soát ngược). MPF sẽ photphoryl hoá nhiều protein dẫn đến sự phân chia tế bào.

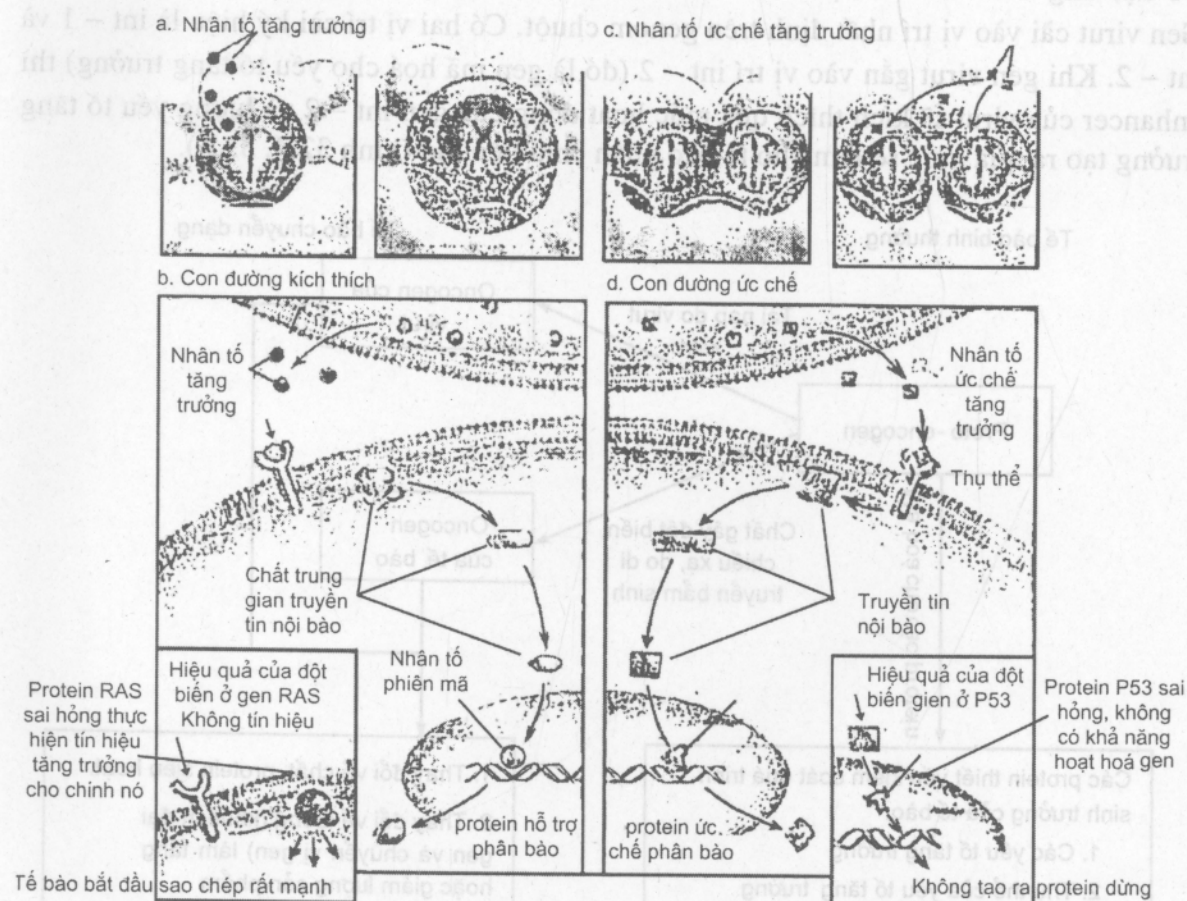
**Họ các chất cyclin và kinaza phụ thuộc cyclin (Cdk).** Các cặp cyclin và Cdk điều hoà tiến trình phân bào, đi qua các giai đoạn khác nhau của chu kỳ. Hoạt tính của Cdk có được là do gắn với cyclin sẽ làm tăng và ức chế quá trình photphoryl hoá và sự gắn của các chất ức chế Cdk gọi là CKI (cyclin kinase inhibitor).

Các yếu tố tăng trưởng và các cyclin nhóm D. Các yếu tố tăng trưởng kích thích tăng trưởng các tế bào động vật nhờ tổng hợp các cyclin nhóm D. Sau đó phức hợp Cdk4, 6/cyclin D tác động để tế bào thoát qua điểm tới hạn ở G1. Cơ chất chính của phức hợp Cdk4, 6/cyclin D là protein ức chế ung thư Rb. Protein này điều hoà sự phiên mã của các gen cần cho sự tiến triển của chu kỳ.

Các chất ức chế chu kỳ tế bào. Sự sai hỏng ADN hoặc sự thay đổi tín hiệu ngoại bào sẽ ức chế sự tiến triển của chu kỳ. Các chất ức chế này thường xuyên tác động là nhờ có sự tổng hợp các chất ức chế Cdk.

### 32.3. CÁC CON ĐƯỜNG DẪN ĐẾN UNG THƯ

Có 2 con đường dẫn đến ung thư liên quan đến 2 cơ chế : kích thích gen ung thư và kìm hãm gen ức chế ung thư (hình 32.3).



Hình 32.3. Hai con đường dẫn đến ung thư.

a và c) Tế bào sinh sản bình thường ; b) Con đường kích thích ; d) Con đường ức chế.

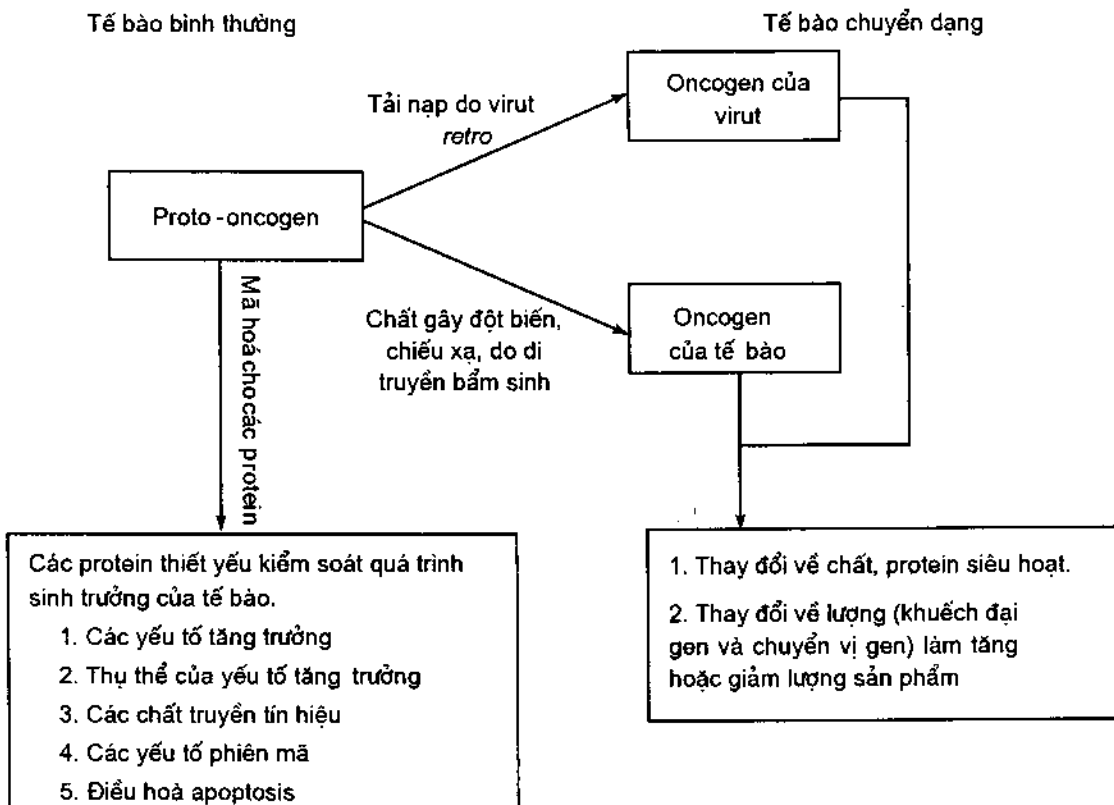
– Thứ nhất là các biến đổi dẫn đến kích thích gen ung thư từ trạng thái nghỉ sang trạng thái hoạt động rất mạnh gọi là siêu hoạt (hyperactive), tức là biến proto – oncogen thành oncogen. Đây là đột biến trội.

– Thứ hai là các biến đổi làm bất hoạt gen ức chế ung thư. Ung thư sẽ xuất hiện nếu thiếu sản phẩm của gen này.

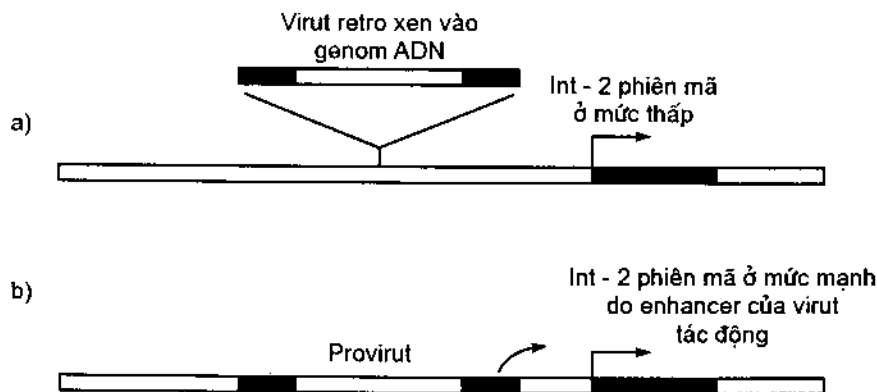
### 32.3.1. Sự biến đổi proto – oncogen thành oncogen

Năm 1972, R. J. Huebner và G. J. Todaro cho rằng các đột biến hoặc sự sắp xếp lại các vị trí của các proto – oncogen do các tác nhân gây ung thư hoặc do virus gây ra có thể làm biến đổi chức năng bình thường của các gen này làm cho nó trở nên siêu hoạt và biến thành oncogen gây ung thư. Sự khác biệt giữa proto – oncogen và oncogen có thể là về số lượng hoặc về chất lượng :

– *Khác nhau về số lượng.* Chức năng mã hoá của các gen có thể không đổi nhưng do sự điều khiển của promoter hoặc do có sự chuyển vị trí mới trên genom nên được phiên mã với tốc độ cao, dẫn đến sản xuất quá mức sản phẩm của gen bình thường. Ví dụ, ung thư vú ở chuột do virus *retro* MMTV (Mouse mammary tumor virus). Gen virus cài vào vị trí nhất định trên genom chuột. Có hai vị trí cài ký hiệu là int – 1 và int – 2. Khi gen virus gắn vào vị trí int – 2 (đó là gen mã hoá cho yếu tố tăng trưởng) thì enhancer của virus sẽ kích thích quá mức hoạt động của gen int – 2 và lượng yếu tố tăng trưởng tạo ra quá mức sẽ làm cho tế bào phân chia liên tục (hình 32.4, 32.5).



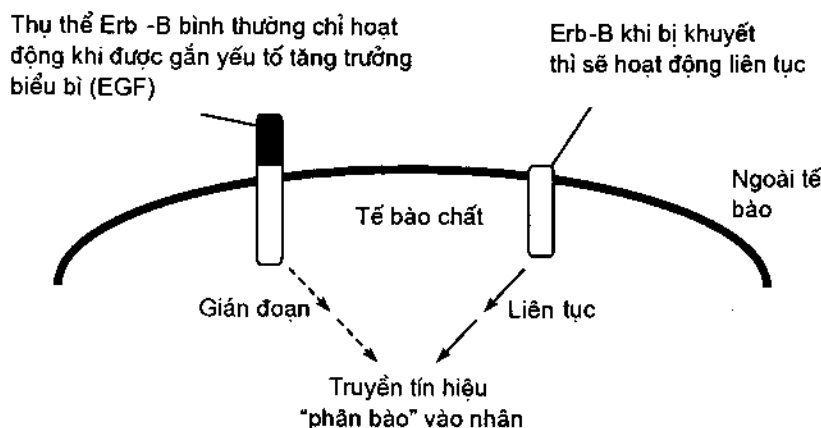
**Hình 32.4.** Sự biến đổi proto – oncogen thành oncogen có thể do đột biến tạo ra các sản phẩm của gen, khác nhau về chất lượng hay do sự khuếch đại gen hoặc chuyển vị gen làm tăng hoặc giảm biểu hiện sản phẩm của gen (khác nhau về số lượng).



**Hình 32.5.** Cơ chế gây ung thư của MMTV.

- a) Gen int - 2 của chuột trước khi ADN của virus cài xen  
 b) Genom của virus cài xen vào gần gen int - 2, gây siêu biểu hiện gen int - 2  
 (Harvey Lodish et al, 2000. Molecular Biology, WH Freeman & Company)

– *Khác nhau về chất.* Trình tự gen bị thay đổi do đột biến mất đoạn hoặc đột biến điểm làm cho protein tạo thành có chức năng thay đổi hoặc siêu hoạt. Ví dụ oncogen erb - B mã hoá cho polypeptit khuyết (bị cắt một đoạn) của thụ thể dành cho yếu tố tăng trưởng nên thụ thể này liên tục hoạt động, truyền tín hiệu về nhân làm cho tế bào phân chia (hình 32.6).

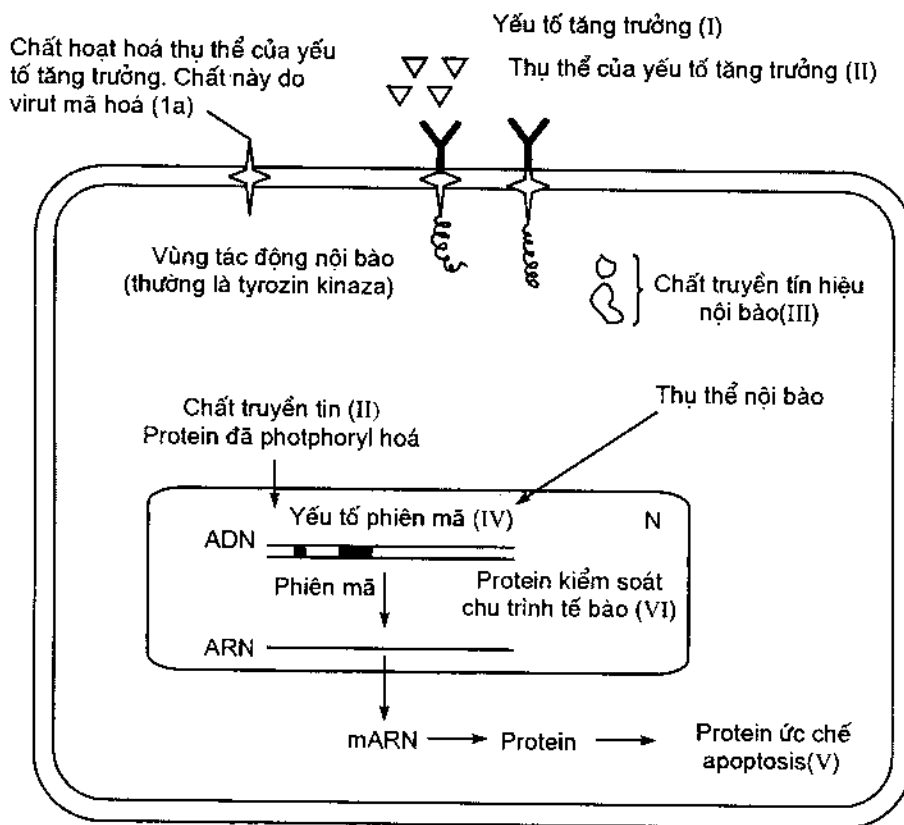


**Hình 32.6.** Oncogen erb - B mã cho thụ thể của yếu tố tăng trưởng.  
 Khi thụ thể bị khuyết sẽ hoạt động liên tục.  
 (Harvey Lodish et al, 2000. Molecular Biology, WH Freeman & Company).

Tham gia hai con đường dẫn đến ung thư là hàng loạt các protein (hình 32.7). Nếu xảy ra đột biến làm bất hoạt một trong các protein này thì sẽ xuất hiện ung thư. Có thể chia các protein này ra làm 3 nhóm :

- Nhóm 1 gồm : (1) Các yếu tố tăng trưởng, (2) Thụ thể của các yếu tố tăng trưởng, (3) Các chất truyền tín hiệu, (4) Các yếu tố phiên mã.





**Hình 32.7.** Bảy loại protein tham gia vào kiểm soát tăng trưởng tế bào. Ung thư có thể là do đột biến làm thay đổi các gen này.

- I. Các yếu tố tăng trưởng
- II. Thụ thể của yếu tố tăng trưởng
- III. Các chất truyền tin
- IV. Các yếu tố phiên mã
- V. Các protein kháng hoặc kích thích apoptosis
- VI. Các protein kiểm soát chu trình tế bào
- VII. Các protein sửa chữa ADN.

– Nhóm 2 gồm các chất ức chế tăng trưởng.

– Nhóm 3 gồm các chất điều khiển tế bào chết theo chương trình.

Các đột biến làm thay đổi cấu trúc hoặc cách biểu hiện của các protein từ 1 – 4 chủ yếu làm tăng các gen ung thư hoạt tính trội. Protein lớp 6 chủ yếu hoạt động như chất ức chế ung thư. Các đột biến ở các gen mã hoá cho các protein này có hoạt tính lặn để tế bào thoát khỏi sự kiểm soát hoặc giám sát, làm tăng khả năng để các tế bào chuyển dạng thành ung thư. Đột biến ở lớp 7 có tác dụng làm tăng đột biến ở các protein khác. Protein do virut mã hoá kích thích hoạt hoá thụ thể của yếu tố tăng trưởng (1a). Protein này cũng có thể gây ung thư.

### 32.3.1.1. Nhóm 1 – các yếu tố tăng trưởng

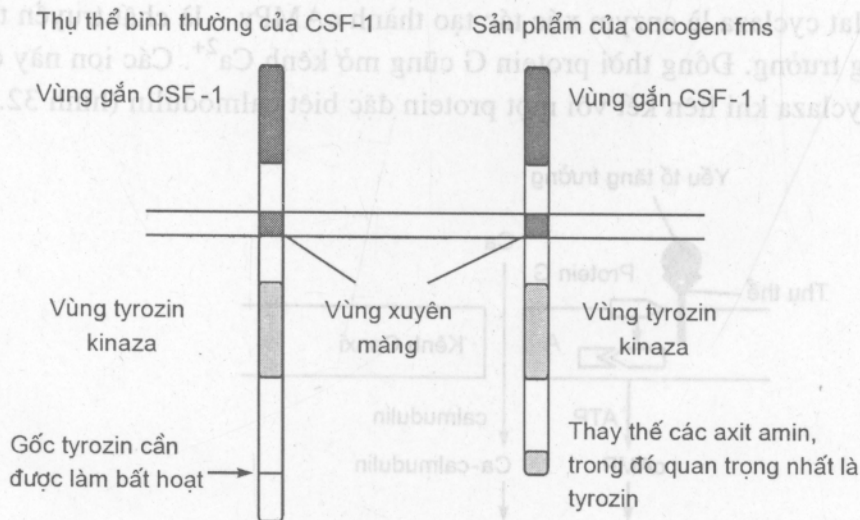
Một nhóm các proto – oncogen sau khi biến thành oncogen tương ứng có khả năng kích thích tăng sinh tế bào. Một số protein do các gen này mã hoá là yếu tố tăng trưởng hoặc thụ thể dành cho yếu tố tăng trưởng. Ở tế bào bình thường sự biểu hiện của các gen này được kiểm soát rất nghiêm ngặt. Thông thường, yếu tố tăng trưởng do một đám tế bào tiết vào dịch ngoại bào, chúng gắn vào thụ thể đặc hiệu trên bề mặt của các tế bào xung quanh (cùng hoặc khác loại với tế bào tiết yếu tố tăng trưởng). Các thụ thể được kích thích bởi yếu tố tăng trưởng sẽ tác động lên các cơ chất nội bào để truyền tín hiệu vào nhân và liên tục kích thích sự phân chia tế bào. Sự biểu hiện bất thường của yếu tố tăng trưởng hoặc của thụ thể dành cho yếu tố tăng trưởng dẫn tới sự tăng sinh không thể kiểm soát được.

**Các oncogen mã hoá cho các yếu tố tăng trưởng bao gồm :**

- Gen sis mã cho yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu – PDGF (platelet derived growth factor) gắn vào thụ thể để kích thích các cơ chất như protein Ras và src rồi truyền tín hiệu vào nhân. Sự tạo thành quá mức yếu tố này sẽ kích thích sự tăng trưởng các tế bào ung thư có thụ thể dành cho PDGF.

- Các gen fms, erb – B và neu mã cho thụ thể của yếu tố tăng trưởng.

- + Oncogen fms mã hoá cho protein fms là thụ thể dành cho yếu tố kích thích quần lạc tế bào (CSF – 1 – colony stimulating factor). Đây là yếu tố tăng trưởng kích thích tế bào tuỷ xương trong quá trình tạo máu. Ở chuỗi polypeptit của thụ thể fms bình thường dành cho CSF – 1 có 40 axit amin ở đầu – COOH được thay thế bởi 11 axit amin khác làm cho thụ thể fms hoạt hoá liên tục bất kể sự có mặt hay không có mặt của CSF – 1 (hình 32.8)

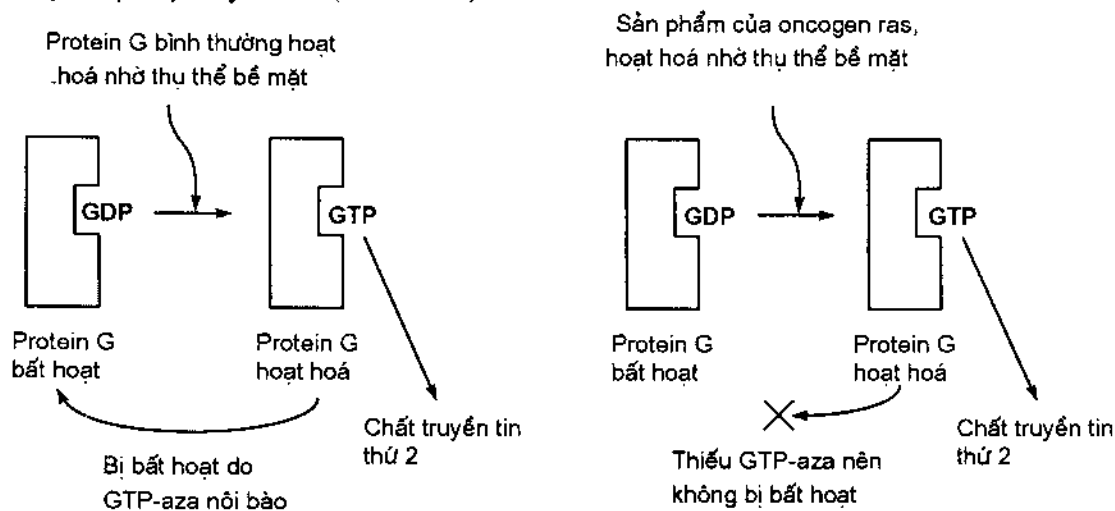


**Hình 32.8.** Oncogen fms mã hoá cho thụ thể dành cho yếu tố sinh trưởng CFS – 1, khi đột biến sẽ hoạt động liên tục.

(Harvey Lodish et al, 2000. Molecular Biology, WH Freeman & Company)

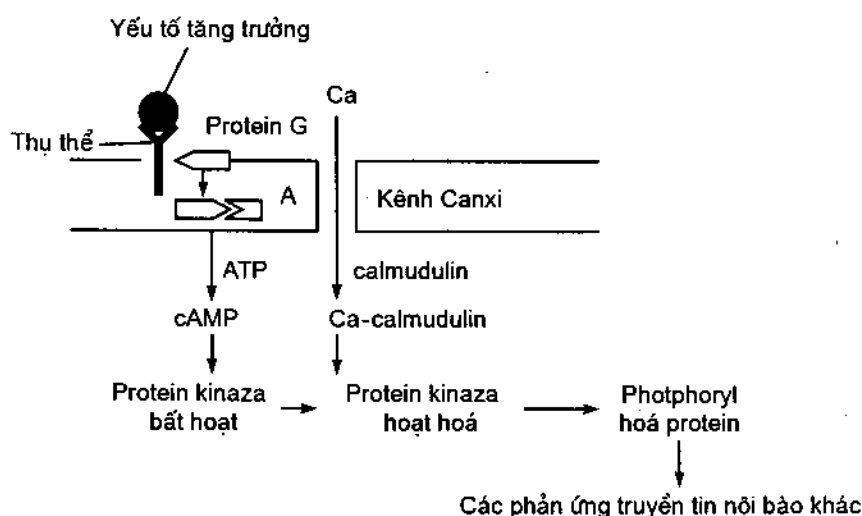
- + Oncogen ras mã hoá cho protein G của màng sinh chất, truyền kích thích từ thụ thể bề mặt đến các enzym để sản xuất chất truyền tin thứ hai.

Protein G là protein màng có khả năng liên kết với GDP hoặc GTP. Bình thường protein G khi liên kết với GDP thì ở trạng thái bất hoạt nhưng khi giải phóng GDP để liên kết với GTP thì lại ở dạng hoạt động. Bản thân protein G có hoạt tính GTP – aza nên có thể biến đổi GTP thành GDP để tạo thành phức hợp "protein G – GDP" bất hoạt ban đầu. Oncogen ras có đặc điểm ức chế hoạt động của GTP – aza để hoạt động lâu dài hơn, thực hiện sự truyền tin (hình 32.9).



**Hình 32.9.** Oncogen ras mã cho protein G truyền tín hiệu. Nếu gen này bị đột biến thì sẽ mất khả năng bị tự bất hoạt (Harvey Lodish et al, 2000. *Molecular Biology*, WH Freeman & Company).

Khi yếu tố tăng trưởng gắn vào thụ thể sẽ cảm ứng phức hợp protein G – GTP hoạt hoá adenylat cyclaza là enzym xúc tác tạo thành cAMP – là chất truyền tin thứ hai của yếu tố tăng trưởng. Đồng thời protein G cũng mở kênh  $\text{Ca}^{2+}$ . Các ion này cũng hoạt hoá adenylat cyclaza khi liên kết với một protein đặc biệt calmodulin (hình 32.10).



**Hình 32.10.** Sự truyền thông tin qua màng nhờ protein G. (Harvey Lodish et al, 2000. *Molecular Biology*, WH Freeman & Company)

## ***Oncogen nhân***

Các oncogen mã hoá cho các protein nằm trong nhân gọi là oncogen nhân (nuclear oncogen). Các protein này gắn vào ADN và hoạt động như ***yếu tố phiên mã*** điều hoà sự biểu hiện của các gen khác tham gia vào sự phân chia của tế bào.

– Gen myc có trong tế bào lympho, bình thường sự biểu hiện của gen myc do nhiều chất kích thích phân bào gây nên, trong đó có PDGF. Gen myc mã cho protein gắn vào ADN kích thích phiên mã các gen cần cho sự phân chia tế bào. Trong tế bào ung thư, gen myc được biểu hiện theo các cơ chế khác nhau.

- + Tăng cường phiên mã do được cài thêm enhancer của virut.
- + Chuyển chỗ từ vị trí bình thường của gen trên NST số 8 sang vị trí mới trên NST số 14, nằm sát promoter của locut gen mã hoá cho chuỗi nặng của KT là vùng hoạt động mạnh, dẫn tới siêu biểu hiện của gen myc.
- + Đột biến làm mất đoạn tại vùng không dịch mã ở đầu 5' của mARN nên kéo dài tuổi thọ của mARN.

– Các oncogen fos, jun mã hoá cho các yếu tố phiên mã. Khi độ bền của mARN tăng lên thì số lượng các yếu tố này cũng tăng theo. Việc hoạt động quá mức các gen kể trên có thể dẫn đến tăng sinh tế bào không kiểm soát được.

– Oncogen erb – A là oncogen thứ hai (ngoài erb – B, hình 32.6) tìm thấy ở virut gây chứng loạn nguyên hồng cầu (erythroblastosis) ở chim. Gen này mã cho polypeptit khuyết của thụ thể dành cho hoocmon tuyến giáp, đây là hoocmon làm nhiệm vụ chất truyền tin. Thụ thể của hoocmon tuyến giáp hoạt động trong nhân với chức năng là yếu tố phiên mã, điều hoà biểu hiện của gen đặc hiệu. Các gen này được hoạt hoá khi gắn với các hoocmon tuyến giáp. Protein erb – A tức polypeptit thụ thể đã mất vùng – COOH nên không gắn được với hoocmon tuyến giáp để kích thích phiên mã bình thường của gen. Tuy nhiên, thụ thể khuyết này vẫn gắn được vào vị trí bình thường trên ADN nên hoạt động đối kháng với thụ thể bình thường của hoocmon tuyến giáp.

### ***32.3.1.2. Nhóm 2 – các chất ức chế tăng trưởng***

Nhóm gen thứ hai liên quan đến ung thư gọi là các ***gen ức chế ung thư*** hoặc ***anti oncogen*** mã cho các protein ức chế sự tăng sinh của tế bào. Trong các tế bào bình thường, các gen này hoạt động nhằm kiểm chế tốc độ phân chia tế bào. Khi các gen này bị đột biến và trở nên bất hoạt thì tế bào chuyển dạng thành ung thư.

Oncogen và gen ức chế ung thư hoạt động trái ngược nhau. Trong khi do đột biến proto – oncogen chuyển thành oncogen làm tăng hoạt động của gen thì gen ức chế ung thư bị đột biến làm giảm hoạt động của gen.

Gen ức chế ung thư bình thường (khi bị đột biến) hoạt động nhằm ức chế tế bào không cho chúng chuyển sang dạng nguyên phân. Khi sự ức chế được tháo gỡ thì tế bào phân chia bình thường. Hệ quả của cơ chế tác động này là cả hai alen của gen ức chế

ung thư đều phải bị bất hoạt để loại bỏ tất cả những kiểm chế do gen ức chế ung thư tác động theo kiểu di truyền lặn.

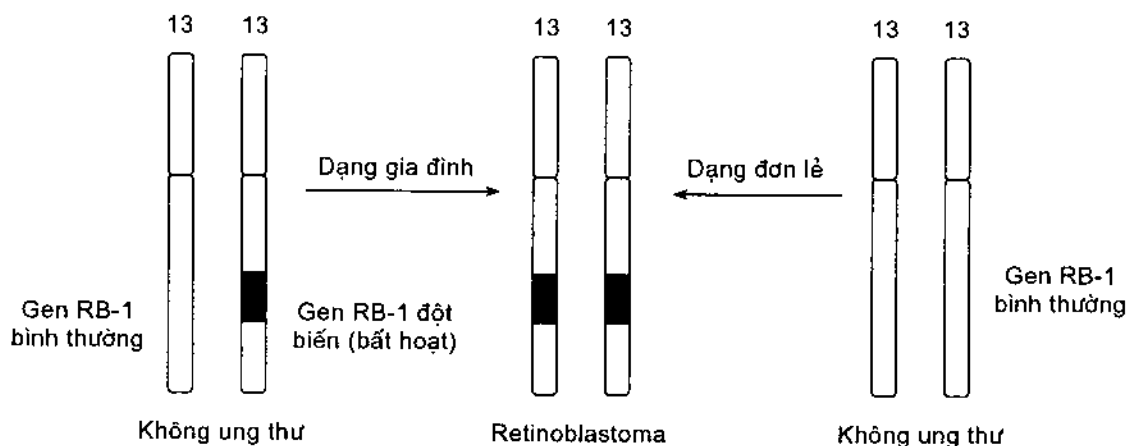
*Hai ví dụ điển hình về gen ức chế ung thư :*

a) *Gen RB – 1.* Ung thư nguyên bào võng mạc (retinoblastoma) là ví dụ cổ điển về ung thư do mất gen ức chế ung thư. Bệnh này có hai dạng :

– Dạng gia đình tức là bệnh di truyền theo gia đình chiếm 40% trường hợp, biểu hiện di truyền theo gen lặn và thường bị cả hai mắt.

– Dạng đơn lẻ (sporadic) không mang tính di truyền mà thường chỉ bị một mắt.

Ở dạng gia đình đã có sẵn một alen đột biến được truyền theo dòng phôi. Nếu chỉ đột biến một alen thì đứa trẻ không bị bệnh, còn nếu xuất hiện thêm một đột biến ở alen còn lại trong nguyên bào võng mạc thì sẽ bị ung thư vì trong mắt có khoảng  $10^7$  nguyên bào võng mạc nên xác suất bị ung thư là khá cao. Ở dạng đơn lẻ không di truyền phải có cả hai đột biến ở cả hai alen của gen RB – 1 cùng xuất hiện trong một tế bào nên xác suất xảy ra ít hơn nhiều và thường chỉ bị một mắt (hình 32.11).



**Hình 32.11.** Bệnh retinoblastoma

Bệnh chỉ xảy ra khi cả 2 alen của gen RB – 1 nằm trên NST số 13 đều bị đột biến :

Bệnh gia đình – đã có sẵn 1 alen bị bất hoạt, đột biến làm bất hoạt nốt alen còn lại.

Bệnh riêng lẻ – cả 2 alen đều bị bất hoạt.

(Harvey Lodish et al, 2000. *Molecular Biology*, WH Freeman & Company).

Tại sao khi vắng mặt protein RB lại thúc đẩy sự phát triển ung thư ? Ta hãy nhớ lại trong chu kỳ tế bào, protein RB làm nhiệm vụ gắn vào yếu tố phiên mã E2F để ngăn cản yếu tố này tiến hành phiên mã các gen mã hoá cho các protein tham gia vào giai đoạn S, chẳng hạn sao chép ADN. Nếu protein RB bất hoạt sẽ không gắn được vào E2F nên yếu tố này tự do tiến hành phiên mã các gen của pha S. Ở bệnh nhân u nguyên bào võng mạc, protein RB bị bất hoạt kéo dài nên E2F có thể tiến hành phiên mã ở pha S và sự bất giữ tế bào ở cuối pha G1 không xảy ra được.

b) *Gen p53.* Gen này nằm trên vai ngắn của NST 17 mã cho photphoprotein 53kDa ở nhân gọi tắt là p53. Protein p53 có mặt trong tất cả các tế bào của cơ thể và tham gia

vào sự điều hoà quá trình phân bào. Khi tế bào phân chia nhanh, p53 được tích lũy nhiều sẽ kích thích hoạt hoá gen mã cho protein p21. Protein p21 gắn với kinaza phụ thuộc cyclin (CDK4/6 và CDK – 2) ở pha G1 làm bất hoạt enzym này dẫn đến sự ức chế phân bào. Khi chức năng của p53 bị mất thì tế bào sẽ phân chia không kiểm soát được.

Protein p53 còn là chất điều hoà phiên mã, nó được hoạt hoá khi xuất hiện ADN sai hỏng. P53 hoạt hoá có hai chức năng : một là ngăn cản chu kỳ tế bào, không cho chuyển sang pha mới khi ADN sai hỏng chưa được sửa chữa xong, hai là tham gia vào quá trình apoptosis.

### **32.3.1.3. Nhóm 3 – Các chất điều khiển tế bào chết theo chương trình**

**Chết theo chương trình** (apoptosis) là hiện tượng tự chết để điều hoà sự cân bằng trong quần thể tế bào sao cho phải có số lượng tế bào đã chết đi tương đương với số tế bào mới sinh ra. Hiện tượng này thể hiện qua sự thay đổi hình thái thể bào. Đầu tiên tế bào co lại, khung tế bào biến dạng, tạo thành các bong bóng trong màng sinh chất, tạo không bào bên trong tế bào, chromatin đậm đặc, ADN bị cắt thành các đoạn nhỏ sau đó tạo các bong chứa cơ quan tử gọi là *thể apoptosis* (apoptosis body). Các thể này tách rời khỏi tế bào và cuối cùng toàn bộ tế bào bị đại thực bào tiêu hoá. Ví dụ, ở người trưởng thành có  $5 \times 10^{10}$  bạch cầu trung tính. Các tế bào này có đời sống ngắn, sau đó tự chết theo chương trình và các bạch cầu trung tính mới sẽ được tạo thành. Nếu sự chết theo chương trình bị ức chế thì bạch cầu trung tính sẽ phát triển thành bệnh bạch cầu. Ví dụ, tương tự cũng thấy ở các tế bào của hệ miễn dịch. Oncogen bcl – 2 mã cho protein ức chế apoptosis, gen này liên quan đến ung thư tế bào lympho B. Sự chuyển vị trí gen bcl – 2 vào locut chuỗi nặng của KT làm cho promoter mạnh của gen chuỗi nặng tác động để gen bcl – 2 hoạt hoá phiên mã. Tế bào B siêu sản xuất protein bcl – 2 và khi tích lũy ở mức cao sẽ ức chế tín hiệu gây chết tế bào theo chương trình và tế bào lympho sẽ chuyển dạng thành tế bào ung thư lymphoma. Đáng chú ý là virus *Epstein – Barr* chứa một gen có trình tự giống gen bcl – 2 nên có thể ức chế apoptosis. Đột biến ở các gen ức chế ung thư khác (RB – 1, p53) cũng gây ức chế apoptosis. Ví dụ, khi gen p53 bị bất hoạt, apoptosis nhờ p53 không được hoạt hoá thì chu kỳ tế bào vẫn xóc tiến mà không cần có sự sửa chữa ADN sai hỏng. Sự tiến triển này làm tăng tần số đột biến, làm tăng cơ hội dẫn đến ung thư.

### **32.3.2. Virus gây ung thư**

Các bằng chứng cho thấy virus có khả năng gây ung thư đã được Peyton Rous đưa ra từ năm 1911. Ông lấy dịch nghiền ung thư mô liên kết ở gà cho qua màng lọc vi khuẩn rồi tiêm vào gà lành thì thấy đa số gà bị ung thư. Tác nhân gây ung thư đã được xác định là virus và đặt tên là virus *sarcoma Rous* (RSV). Khoảng 50 năm sau, năm 1966, Rous được tặng giải Nobel về công trình tiên phong của mình. Sự công nhận muộn màng này là do còn thiếu cơ chế phân tử thực sự rõ ràng để chứng minh rằng virus có thể gây ung thư ở gia cầm cũng như ở người.

Thế hệ các nhà nghiên cứu sau Rous đã chứng minh RSV chính là virus *retro*, genom ARN của nó phiên mã ngược thành ADN để gắn vào NST của tế bào chủ. Các virus *retro* không gây ung thư chỉ chứa các gen gag, pol và env để mã tương ứng cho các protein cấu trúc, polymergeaza và protein vỏ ngoài. Còn ở các virus *retro* gây ung thư, ngoài các gen trên còn chứa gen V – src, đó là gen gây ung thư của virus *sarcom Rous* (chữ V – virus)

Các nghiên cứu tiếp theo phát hiện thấy trong các tế bào của nhiều loài động vật khác nhau, thậm chí cả các tế bào nấm men cũng chứa gen giống như gen V – src của virus *retro*. Đây là gen bình thường (proto – oncogen) của tế bào, nên được ký hiệu thêm chữ C

Sự phát hiện ra mối quan hệ giữa oncogen của virus và proto – oncogen của tế bào bình thường đã đặt nền móng cho các nghiên cứu về ung thư, bởi vì nó cho thấy ung thư có thể được tạo thành do tác động của các gen bình thường. Người ta cho rằng các oncogen của virus bắt nguồn từ các proto – oncogen bình thường của tế bào. Điều đó có nghĩa là proto – oncogen của tế bào đã gắn xen vào genom của virus và khi bị đột biến nó sẽ biến thành oncogen. Ngày nay, đã xác định được ít nhất có 5 họ virus có khả năng gây ung thư. Trừ họ virus *retro* có genom ARN, các virus còn lại có genom là ADN.

#### **32.3.2.1. Virus viêm gan B (HBV)**

HBV là virus có genom nhỏ nhất 3kb trong số các virus động vật. Virus có khả năng nhiễm vào gan của nhiều loại động vật như vịt, chuột chũi, sóc và người. Nhiễm HBV thường dẫn đến suy gan. Khoảng 5 – 10% nhiễm HBV cấp không được chữa trị kịp thời sẽ gây nhiễm mãn tính, sau đó có thể gây xơ gan rồi ung thư gan. Mỗi năm trên thế giới có hơn 1 triệu người bị ung thư gan. Genom ADN kép của HBV có điểm gián đoạn nên dễ gắn vào genom của tế bào gan rồi từ đó hoạt hoá oncogen và gen ức chế ung thư.

HBV có khả năng gây chuyển dạng tế bào vì chúng mang gen X (HBx), tác động làm biểu hiện một loạt gen của tế bào, gây tăng sinh và kéo dài sự sống của tế bào bình thường. Ung thư do HBV là kết quả của tăng sinh liên tục tế bào gan, làm phá huỷ mô gan. Sự biểu hiện của gen c – myc sẽ dẫn đến sự tăng sinh tế bào gan

#### **32.3.3.2. Virus SV40 (Simian virus 40) và Polyoma**

Mặc dù các virus này không gây ung thư ở người nhưng chúng được nghiên cứu rất kỹ và được dùng làm mô hình cho các hiểu biết cơ sở phân tử của chuyển dạng tế bào. Ưu điểm của các virus này là có genom nhỏ (5kb) và có thể nhân lên trong tế bào nuôi cấy mô.

Virus SV40 và *Polyoma* không gây khối u và chuyển dạng tế bào ở các loài vật chủ tự nhiên. Ví dụ, SV40 không gây khối u cho khỉ và *Polyoma* không gây khối u cho chuột. Khi nhiễm vào các tế bào vật chủ tự nhiên, virus nhân lên và làm tan bào vì đây là tế bào "cho phép" nên khi tế bào bị tan thì không thể chuyển dạng. Tuy nhiên, nếu virus nhiễm vào các tế bào "không cho phép" thì chúng không thể nhân lên được mà đòi

khi genom của chúng gắn xen vào NST của tế bào, kích thích để các gen chuyên biệt của chúng gây chuyển dạng tế bào.

Các gen gây chuyển dạng của SV40 và *Polyoma* được chia thành vùng gen sớm và vùng gen muộn. Vùng gen sớm biểu hiện ngay sau khi virus nhiễm vào tế bào và cần cho quá trình sao chép ADN virus. Vùng gen muộn biểu hiện sau khi đã sao chép ADN và mã cho các protein cấu trúc.

Vùng gen sớm của virus SV40 mã cho hai protein kháng nguyên gọi là KN T nhỏ (khoảng 17kDa) và KN T lớn (khoảng 94kDa). Từ một phân tử ADN tiền chất duy nhất của vùng sớm, tiến hành cắt nối để tạo ra các mARN mã cho KN T nhỏ và T lớn.

Tương tự như vậy, genom của *Polyoma* cũng mã cho KN T nhỏ và T lớn, đồng thời vùng gen sớm cũng mã thêm cho một KN nữa là KN T trung bình (khoảng 55kDa). Protein gây chuyển dạng tế bào ở virus SV40 là KN T lớn, còn ở *Polyoma* là KN T trung bình.

Trong quá trình nhiễm sinh tan, các protein vùng sớm này rất cần cho sự nhân lên của virus. Ví dụ KN T lớn của virus SV40 gắn vào điểm khởi đầu để tiến hành sao chép ADN. Các protein vùng sớm của SV40 và *Polyoma* còn kích thích sự biểu hiện các gen và tổng hợp ADN của tế bào chủ. Sự nhân lên của virus phụ thuộc vào enzym của vật chủ, ví dụ, ADN polymeraza nên sự kích thích tế bào chủ là một việc làm cần thiết đối với chu trình sống của virus. Đa số các tế bào động vật không tăng sinh nên nếu nó được phân chia thì mới tạo ra các enzym cần cho sao chép ADN của virus. Nếu ADN của virus gắn ổn định vào NST của tế bào "cho phép" và biểu hiện được trong tế bào ấy thì các sản phẩm gen sớm sẽ kích thích tế bào tăng sinh và gây chuyển dạng tế bào.

Các protein vùng sớm của virus SV40 và *Polyoma* gây chuyển dạng bằng cách tương tác với các protein điều hoà sự tăng sinh tế bào vật chủ. Ví dụ, KN T của virus SV40 gắn và tương tác với các protein ức chế ung thư RB và p53 của tế bào chủ. Đây là các chất điều hoà tăng sinh của tế bào và điều khiển chu kỳ tế bào.

### **32.3.2.3. Virus Papilloma**

*Papilloma* là virus ADN có kích thước rất nhỏ (khoảng 8kb), gây u ác tính và lành tính ở người và một số loài động vật. Có khoảng 60% typ virus *papilloma* gây nhiễm ở tế bào biểu mô của nhiều loại mô. Có loại chỉ gây u lành như mụn cóc nhưng cũng có loại gây u ác như ung thư cổ tử cung. Sản phẩm của các gen vùng sớm ký hiệu là E và của các gen vùng muộn ký hiệu là L. Sự chuyển dạng tế bào là do sự biểu hiện của hai gen vùng sớm E6 và E7. Hai gen này hoạt động như KT T của virus SV40, tức là kìm hãm chức năng của protein ức chế ung thư Rb và p53. Protein E7 gắn vào Rb, còn E6 kích thích phân giải p53 bằng cách gắn với chất trung gian là Ubiquitin.

### **32.3.2.4. Virus Adeno**

*Adeno* là nhóm virus lớn, chứa genom ADN (khoảng 35kb). Virus *adeno* không gây ung thư tự nhiên ở cả người và động vật. Trong các tế bào "cho phép" của vật chủ tự nhiên, virus *adeno* nhân lên theo chu trình tan, còn trong các tế bào "không cho phép"



chúng lại có thể chuyển dạng. Do đó, virus *adeno* được coi là mô hình lý tưởng để nghiên cứu sinh học ung thư thực nghiệm. Khả năng gây chuyển dạng của virus *adeno* là do sự biểu hiện của hai gen sớm E1A và E1B. Hai gen này cần cho sự nhân lên của virus trong tế bào "cho phép". Sản phẩm của các gen này ức chế hoạt động của các protein ức chế ung thư Rb và p53. Cụ thể là protein E1A gắn vào Rb và E1B gắn vào p53.

Những điều kể trên cho thấy, cả virus SV40, *papilloma* và *adeno* đều gây chuyển dạng tế bào theo một cách như nhau, tức là ngăn cản sự hoạt động của các protein ức chế ung thư.

### **32.3.2.5. Virus Herpes**

*Herpes* là virus ở động vật, có cấu tạo rất phức tạp với genom lớn (100 – 200kb). Nhiều virus *herpes* gây ung thư ở động vật như ếch, gà và khỉ.

Có hai loại virus *herpes* gây ung thư ở người :

- Virus *Epstein – Barr* (EBV) gây ung thư ác tính hệ bạch huyết (lymphoma Burkitt), u ác tính ở hàm và bụng. EBV cũng gây ung thư mũi hầu.

- Virus *herpes* – 8 liên quan đến sarcoma Kaposi. Đây là u ác tính thường xuất hiện trên da và thấy phổ biến ở bệnh nhân AIDS.

Nhiều gen của virus *herpes* tham gia vào quá trình chuyển dạng tế bào, nhưng chức năng cụ thể thì còn chưa rõ.

### **32.3.2.6. Virus Retro**

Có ít nhất hai loại virus *retro* có khả năng gây ung thư tế bào T ở người là HTLV – 1 và HTLV – 2. Sự chuyển dạng tế bào T bởi hai virus này là do gen *tax* mã cho protein điều hoà. Các protein này tác động đến các gen điều hoà sự tăng trưởng của tế bào.

HIV là virus *retro* nhưng không có khả năng trực tiếp gây ung thư. Tuy nhiên, sau khi bị suy giảm MD thì bệnh nhân dễ bị mắc các bệnh ung thư như lymphoma và sarcoma Kaposi.

Đa số virus *retro* chỉ chứa 3 gen chính là *gag*, *pol* và *env*. Các gen này cần cho quá trình nhân lên của virus nhưng không có vai trò gì trong chuyển dạng tế bào. Bản thân các virus này hiếm khi gây ung thư, trừ khi chúng bị đột biến.

Virus *sarcoma Rous* ngoài 3 gen kể trên còn có thêm gen *src* (từ chữ sarcoma) và có khả năng gây chuyển dạng tế bào.

Các oncogen của virus *retro* (V – *cebl*, V – *fes*, V – *fps*, V – *ras*, V – *src* và V – *yes*) mã cho các protein có hoạt tính kinaza đặc hiệu tyrosin trong protein. Hoạt tính tyrosin kinaza hầu như không có tính đặc hiệu (làm tăng mức photphotyrosin trong tế bào) và rất cần cho sự chuyển dạng tế bào nhờ oncogen. Ở tế bào bình thường (không bị ung thư), hoạt tính tyrosin kinaza liên quan đến thụ thể dành cho yếu tố tăng trưởng, ví dụ yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF – epidermal growth factor liên quan đến tăng trưởng thể bào da và biểu mô), yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu (PDGF – platelet

derived growth factor) liên quan đến tăng trưởng tế bào thần kinh đệm (glial), màng treo ruột (mesenterial) và insulin. Điều đó cho thấy tyrosin kinaza do virus mã hoá có thể đẩy mạnh tăng trưởng tế bào bằng cách cản trở cơ chế kiểm soát sinh trưởng liên quan đến tyrosin – phosphoryl hoá. Tuy nhiên, nhiều sản phẩm của oncogen ở virus *retro* không có hoạt tính tyrosin kinaza. Các oncogen V – myc và V – myb mã cho các protein nằm trong nhân tế bào nhiễm nên gọi là oncogen nhân, V – sis mã cho protein giống yếu tố PDGF ở người, V – erb B mã cho glycoprotein màng.

Ngoài RSV, nhiều virus *retro* khác cũng chứa oncogen. Có tới 20 oncogen được phát hiện thấy ở các virus *retro*, trong đó một nửa sản phẩm của chúng là tyrosin kinaza – chất truyền tín hiệu nội bào đến nhân.

– *Các oncogen mã cho sản phẩm khu trú tại màng sinh chất*

- + abl của virus *retro* của chuột mã cho tyrosin kinaza.
- + erb – B của virus gây bệnh hồng cầu ở chim, mã cho protein thụ thể dành cho yếu tố tăng trưởng biểu bì.
- + fes của virus sarcoma ở mèo, mã hoá cho protein tyrosin kinaza.
- + sis của virus sarcoma ở khỉ, mã hoá cho PDGF.
- + src của virus sarcoma Rous ở gà, mã hoá tyrosin kinaza.
- + ras của virus sarcoma của chuột mã hoá cho protein G khi gắn với GTP thì được hoạt hoá.

– *Các oncogen mã hoá cho các sản phẩm khu trú trong nhân (oncogen nhân).*

- + fos của virus sarcoma ở chuột, mã hoá cho yếu tố phiên mã (AP – 1) phối hợp với fos.
- + jun của virus sarcoma ở gia cầm mã cho yếu tố phiên mã phối hợp với fos.
- + myc của virus gây ung thư gà, mã cho protein gắn vào ADN.

### 32.3.3. Vai trò của telomer trong ung thư

Nhiều người cho rằng ung thư là do di truyền. Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu năm 2004 của viện Y học Karolinska (Thụy Điển) khi phân tích bộ gen của gần 9000 cặp song sinh ở Thụy Điển, Phần Lan và Đan Mạch trong đó chọn ra các cặp có một người bị ung thư đã đi đến kết luận rằng : **Nhân tố gen** không phải là nguyên nhân chính gây ung thư, trái lại nhân tố môi trường, chế độ dinh dưỡng, một số thói quen như hút thuốc lá, ăn uống quá nhiều, thiếu vận động hoặc yếu tố nghề nghiệp như làm việc trong môi trường có chất độc hại hay tia xạ mới là nguyên nhân chính.

Các tế bào bình thường chỉ có thời gian sống nhất định. Thông thường, các tế bào cơ thể người sẽ dừng phân chia sau 70 lần. Sở dĩ như vậy vì cuối mỗi NST có một trình tự đặc biệt gọi là **telomer**, đóng vai trò như một chiếc đồng hồ bấm giờ nhằm hạn chế và kiểm soát số lần sao chép của NST, tức là sự phân chia của tế bào. Một telomer bao gồm hàng trăm đoạn ngắn có trật tự lặp lại. Đoạn này ở người là 5' – TTAGGG – 3'.

Telomer được tổng hợp hoàn toàn độc lập với quá trình sao chép ADN bình thường nhờ enzym telomeraza (telomeraza là một polymeraza bất thường). Trình tự telomer tạo nên cấu trúc bậc hai có tác dụng bảo vệ đầu NST khỏi sự phân huỷ bởi nhiều nguyên nhân khác nhau. Nó cũng giống như những đầu dây giày bằng nhựa giúp cho dây giày không bị sổ ra. Sự tổng hợp telomer một cách độc lập này có tác dụng ngăn cản sự ngắn dần của NST do chính đoạn đầu của phân tử ADN dạng thẳng mất khả năng sao chép bình thường.

Sau mỗi lần tái bản, các telomer lại bị mất đi vì hoạt tính telomeraza kém dần theo thời gian nên không tổng hợp đủ telomer cho các lần phân chia sau. Một khi không còn telomer nào bảo vệ nữa thì ADN sẽ bị phân giải, tế bào sẽ ngừng phân chia và chết. Do vậy, dù tế bào có khoẻ đến mấy thì số lần phân chia của chúng cũng có giới hạn.

Các tế bào ung thư thì ngược lại, chúng có khả năng sinh trưởng và phân chia không ngừng nếu chúng vẫn nhận được chất dinh dưỡng từ cơ thể. Người ta đã chứng minh được rằng 90% các tế bào ung thư thấy xuất hiện telomeraza với hoạt tính cao. Enzym này sẽ tổng hợp các telomer mới thay cho các telomer đã mất dần sau mỗi lần phân chia tế bào. Vì NST luôn được telomer bảo vệ nên tế bào ung thư không bị lão hoá. Như vậy, nguyên nhân gây ung thư còn liên quan đến telomeraza. Muốn ngăn chặn ung thư thì cần phải tìm cách ức chế enzym này.

#### **32.3.4. Ung thư liên quan đến tế bào gốc**

Các nhà khoa học tại Viện Ung thư Hà Lan (Amsterdam) và Đại học Zurich (Thụy Sĩ) (2004) đã phát hiện thấy có mối liên hệ giữa tế bào ung thư và tế bào gốc. Gen đóng vai trò quyết định hình thành tế bào ung thư trong não trẻ em hoá ra bắt nguồn từ tế bào gốc. Gen BM11 rất cần cho sự nhân lên của tế bào gốc đã phát được trong não và sự siêu biểu hiện của gen này sẽ làm cho tế bào gốc tăng trưởng rất mạnh dẫn đến u nguyên tủy bào – một dạng ung thư não thường gặp ở thời thơ ấu. U nguyên tủy bào thường phát triển gần não thất thứ tư làm cho đáng đi không vững và cử động bị rung.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Benjamin Lewin, 2000. *Genes VII*. Oxford University Press.
2. Brock T.D et al., 2000 (9<sup>th</sup> ed.). *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall.
3. Charles A. Janeway et al., 2001. *Immunobiology*, 5<sup>th</sup>. Garland Publishing and Churchill Livingstone.
4. David Greenwood et al., 1998. *Medical Microbiology*. ELST.
5. Gerard J. Tortora et al., 2002 (7<sup>th</sup> ed.). *Microbiology, an introduction*. Benjamin Cummings.
6. Grierson D. et al., 1984. *Plant Molecular Biology*. Blackie & Son.
7. Harper D. R., 1998 (2<sup>nd</sup> ed.). *Molecular Virology*. Springer and Bios Scientific Publisher.
8. Harvey Lodish et al., 2000. *Molecular Cell Biology*. W.H Freeman and Company.
9. Michael J. Pelczar et al., 1993. *Microbiology, Concepts and Applications*. Mc. Graw – Hill, Inc.
10. Pokropski V. I., Pozdeev O.K. (redaktar), 1999. *Medisinskaja Mikrobiologia*. Geotar Medisina.
11. Phạm Thành Hồ, 2001 (in lần 4). *Di truyền học*. NXB Giáo dục.
12. Prescott L. M. et al., 2002 (5<sup>th</sup> ed.). *Microbiology*. Mc. Graw – Hill.
13. Robert W. Bauman, 2004. *Microbiology*. Benjamin Cummings.
14. Richard A. Goldby et al., 2000 (4<sup>th</sup> ed.). *Kuby Immunology*. W.H. Freeman and Company.
15. Ronald M. Atlas, 1995. *Microorganisms in Our World*. Mosby Publisher.
16. Singleton P. and D. Sainsbury, 1999. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*. John Wiley and Sons.
17. Timbury M. C. et al., 1997 (11<sup>th</sup> ed.). *Notes on Medical Virology*. Churchill Livingstone.
18. Turner P. C. et al., 1997. *Instand Notes in Molecular Biology*. Springer and Bios Scientific Publisher.
19. Virella G. 1997 (3rd.) *Micobiology and infections diseases*. Williams, Wilkins.

# THUẬT NGỮ

## A

**Actinomycetes** (xạ khuẩn) : Vi khuẩn hiếu khí, Gram (+) có tỷ lệ G + C cao, khuẩn ty phân nhánh, hình thành bào tử vô tính.

**Acyclovir** : Nucleosit purin tổng hợp nhân tạo có hoạt tính chống virus, đặc biệt trị bệnh do virus Herpes simplex.

**ADN bổ sung** (cADN) : Bản sao ADN từ phân tử ARN nhờ enzym phiên mã ngược

**Airborn transmission** : Lan truyền qua không khí.

**Ambisense genom** : Genom lưỡng cực.

**Antigenic drift** (biến đổi kháng nguyên) : Sự biến đổi nhỏ trong protein kháng nguyên do đột biến gen (gen trôi dạt, tạo hạt virus có kháng nguyên sai khác ít so với chủng ban đầu).

**Antigenic shift** (hoán vị kháng nguyên) : Sự biến đổi lớn trong protein kháng nguyên do trao đổi các đoạn của hai chủng khác nhau của genom phân đoạn của hai chủng khác nhau khi nhiễm chung vào một tế bào có thể tạo hạt virus có kháng nguyên sai khác lớn so với chủng ban đầu.

**Antisense RNA** (ARN đối nghĩa) : Đoạn ARN đơn có trình tự tương bù với một đoạn của ARN khác để ngăn cản sự hoạt động của gen này.

**Antiserum** : Kháng huyết thanh (huyết thanh chứa kháng thể).

**Antitoxin** : Kháng thể chống độc tố của vi nấm.

**APC** : Tế bào trình diện kháng nguyên (antigen presenting cell).

**Apoptosis** : Sự chết theo chương trình

**Arbovirus** (virus arbo) : Virus do côn trùng chân khớp mang truyền (Arthropod borne virus).

**Aseptic meningitis** : Hội chứng viêm não vô trùng (xem meningitis).

**Auxotroph** (thể khuyết dưỡng) : Do đột biến vi sinh vật mất khả năng tổng hợp một chất nào đó nên cần phải bổ sung môi trường được.

## B

**Bacteriophage** (thể thực khuẩn) : Virus gây nhiễm ở procaryota.

**Bacteriophage typing** : Kỹ thuật xác định chủng vi khuẩn dựa vào sự miễn cảm với phage

**B cell** : Tế bào lympho B sẽ biệt hoá để trở thành tế bào nhớ và tế bào plasma tạo thành kháng thể.

**BHK** : Tế bào thận chuột

**Bidirectional replication** : Sao chép theo hai hướng

**Blunt end** (đầu bằng (flush end)) : Dạng ADN mạch kép không có đầu 3' hoặc 5' nhô ra.

## C

**Capsid** : Vỏ protein của virus.

**Capsomer** : Đơn vị hình thái cấu tạo nên vỏ capsit của virus.

**CccADN** (covalently closed circular DNA) : ADN khép vòng siêu xoắn nhờ liên kết cộng hoá trị.

**Cell mediated immunity** (CMI) : Miễn dịch trung gian tế bào.

**Chickenpox** (varicella) : Bệnh thủy đậu do virus Varicella – Zoster gây ra, thường thấy ở trẻ 2 – 7 tuổi.

**Chronic** (mãn (mạn) tính) : Thời gian dài.

**Cistron** : Đơn vị di truyền tương đương với gen.

**Circular permutation** : Đảo đầu quay vòng : ở các phage T4, trình tự hai đầu ADN lặp lại và trái chiều nhưng khác nhau ở các phage khác nhau do cách sao chép quay vòng gen.

**Cloning vector** : Vectơ tách dòng

**Cohesive end** : Đầu dính (sticky ends) : Đầu so le của phân tử ADN kép có trình tự lặp lại trái chiều nên có thể bắt cặp với nhau.

**Common cold** : Cảm lạnh : Bệnh nhiễm virus *rhino* đường hô hấp trên.

**Consensus sequence** : Trình tự phổ biến : Trình tự axit nucleic có độ bền vững cao, thấy có ở hầu hết các mẫu di truyền của cơ thể. Ví dụ hộp CAAT.

**Concatemer** : Phân tử ADN dài gồm hai hay nhiều phân tử nhỏ nối với nhau tạo cấu trúc dài, thẳng.

**Cosmid** : Vectơ gồm plasmit chứa điểm cos của phage  $\lambda$ .

**Cos site** : Điểm dính ở hai đầu phage  $\lambda$  giúp đưa ADN của phage vào vỏ capsit.

**CPE** (cell pathogenic effect) : Hiệu ứng huỷ hoại hay gây bệnh tế bào. Tế bào bị biến đổi nghiêm trọng hoặc chết do sự nhân lên của virus.

**Cytokine** : Protein hoà tan do các tế bào lympho, mono, đại thực bào và các tế bào khác tiết ra có khả năng tác động hoặc ảnh hưởng đến các tế bào khác trong đáp ứng miễn dịch.

**Cytomegalovirus inclusion disease** : Bệnh thể vùi CMV : Bệnh truyền nhiễm do CMV được đặc trưng bởi sự tạo thành thể vùi trong nhân.

## D

**Dalton** : Đơn vị đo khối lượng tương đương khối lượng nguyên tử hydro ( $1,66 \times 10^{-24}$ ).

**Dane particle** : Hạt Dane : Hạt hình cầu, đường kính 42nm, chính là HBV thực thụ.

**Defensin** : Peptit đặc hiệu do bạch cầu trung tính tiết ra có thể thấm vào tế bào và tiêu diệt tế bào.

**Deletion mutation** : Đột biến mất đoạn gen : Đột biến xảy ra khi có một hoặc một số nucleotit bị loại khỏi gen.

**Delta agent** : Tác nhân Delta : Virut HDV (viêm gan D) chỉ có thể nhân lên khi có sự trợ giúp của HBV.

**Denaturation** : Sự biến tính : Sự phá vỡ cấu trúc không gian của axit nucleic hoặc protein do nhiệt độ, hoá chất hoặc do thay đổi pH.

**Density gradien centrifugation** : Ly tâm theo gradien nồng độ : Quá trình tách các phân tử theo tỷ trọng của chúng bằng ly tâm.

**Dermatotrophic virus** : Virut gây bệnh da

**DNA cloning** (tạo dòng ADN) : Sự tạo ra nhiều bản sao của phân tử ADN.

**DNA super coiling** : ADN siêu xoắn.

**Downstream** : Xuôi chiều, ngược với Upstream (ngược chiều)

**Duplication** (lặp đoạn) : Trong một genom có hai hoặc nhiều đoạn giống nhau.

## E

**Early protein** (protein sớm) : Protein được tổng hợp sớm, thường là enzym.

**Ebola** : Virut thuộc chi *Filovirus* gây sốt xuất huyết nghiêm trọng ở người.

**Eclipse period** (giai đoạn ẩn) : Thời kỳ đầu gây nhiễm không virion hoàn chỉnh nào được tạo thành.

**ELISA** : Xét nghiệm miễn dịch hấp phụ gắn enzym : Một thử nghiệm miễn dịch dùng kháng thể đặc hiệu để xác định kháng nguyên hoặc ngược lại. Phản ứng KN – KT có thể quan sát được nhờ gắn enzym vào KT. Khi thêm cơ chất vào phức hợp KN – KT gắn enzym sẽ tạo thành sản phẩm màu.

**Elongation factor** (yếu tố kéo dài (EF)) : Protein tham gia vào việc gắn axit amin vào chuỗi polypeptit đang được tổng hợp.

**Endemic** (bệnh dịch địa phương) : thường xảy ra ở một số ít người trong quần thể

**Endocytosis** (nhập bào) : Sự hấp thụ các chất (kể cả virut) nhờ tạo endosom (bọng) của màng sinh chất (kiểu amíp bắt mồi).

**Endonucleaza** : Enzym cắt liên kết photphodiester trong chuỗi polynucleotit.

**Endoplasmic reticulum** : Lưới nội chất : Mạng lưới kép trong tế bào chất liên quan tới tổng hợp và vận chuyển protein.

**Enhancer** (gen tăng cường) : Đoạn ADN có khả năng gắn với protein kích thích sự phiên mã các gen nằm ở vị trí khác. Nó hoạt động theo cả hai chiều xuôi và ngược dòng đối với promoter.

**Envelope** (vỏ ngoài) : Vỏ bao quanh capsit, có nguồn gốc từ màng sinh chất hoặc màng nhân.

**Epidemic** (dịch bệnh) : Bệnh xảy ra cho nhiều người trong cùng một lúc, trái với dịch địa phương.

**Epitop** : Một vùng của KN nơi gắn với KT, còn gọi là vị trí kết hợp với KT.

**Exon** : Các đoạn gen có chức năng phiên mã.

**Exonuclease** : Nucleaza cắt gãy nối photphodiester ở đầu tận cùng của axit nucleic để giải phóng một nucleotit hoặc một oligonucleotit mạch ngắn.

## F

**Fingerprint** (dấu vân tay) : Phương pháp dùng enzym giới hạn cắt đặc hiệu các đoạn ADN rồi điện di để xác định chiều dài các đoạn đã cắt hoặc dùng PCR để nhân các đoạn đặc hiệu ở mỗi đối tượng sinh vật.

**Fluorescent antibody (FA) technique** (kỹ thuật kháng thể huỳnh quang) : Kỹ thuật chẩn đoán dùng KT gắn thuốc nhuộm huỳnh quang và quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang.

**Foldback DNA** (ADN cuộn ngược) : Nhóm ADN có vùng palindrom hoặc vùng lặp lại trái chiều có thể gắn trở lại sau khi ADN biến tính.

**Fusion protein** (protein dung hợp) : Protein có ở virus cúm tham gia vào giải phóng genom.

## G

**Genetic map** (bản đồ gen) : Sự sắp xếp của gen trên NST

**Gene bank** : Ngân hàng (thư viện) gen.

**Genom** : Bộ gen của một cơ thể

**Genotype** (kiểu gen) : Kiểu cấu trúc di truyền của cơ thể

**Glycoprotein** : Phức protein liên kết với oligo hoặc polysacarit

**Glycosyl hoá** : Sự gắn đường vào protein

**Golgi apparatus** (bộ máy Golgi) : Tập hợp cấu trúc màng đôi tương tác với lưới nội chất và là nơi vận chuyển protein tới các bào quan hoặc tới màng để đưa ra khỏi tế bào.

## H

**Hairprin loop** (vòng kẹp tóc) : Bất kỳ vùng xoắn kép nào được tạo thành do sự bắt cặp bazơ giữa các trình tự bổ sung liền kề đảo ngược nằm trên cùng một sợi.

**Half life** (chu kỳ bán phân huỷ) : Thời gian cần để một nửa lượng cơ chất bị phân huỷ.

**Helicase** : Enzym dùng năng lượng ATP để duỗi xoắn ADN

**Hemagglutination** : Ngưng kết hồng cầu.

**Hepatitis A** : Viêm gan A (tên cũ là viêm gan truyền nhiễm) do virus HAV gây ra, lan truyền qua đường tiêu hoá.

**Hepatitis B** : Viêm gan B (tên cũ là viêm gan huyết thanh) do virus HBV (tên cũ là hạt Dane) gây ra. Bệnh truyền qua dịch cơ thể.

**Hepatitis C** : Viêm gan C (tên cũ là không A không B) do virus HCV gây ra, lan truyền qua dịch cơ thể.

**Hepatitis D** : Viêm gan D (tên cũ là viêm gan Delta) do virus HDV đồng nhiễm với HBV gây ra.

**Hepatitis E** : Viêm gan E (tên cũ là không A không B) do HEV gây ra, lây qua đường tiêu hoá. Gây nhiễm cấp và cận lâm sàng, tỷ lệ tử vong cao ở phụ nữ có thai.



**Heteroduplex** : Chuỗi ADN kép trong đó mỗi mạch được hình thành từ một nguồn khác nhau nhưng có quan hệ với nhau.

**Heterologous** : Dị tương đồng : ADN có trình tự giống hệt nhau nên có thể bắt cặp với nhau nhưng phần trăm tương đồng giữa các đoạn đôi khi là tương đối.

**Hypervariable region (HVR)** (vùng siêu biến) : Vùng trong genom có trình tự hay thay đổi.

## I

**Icosahedron** : Hình khối 20 mặt tam giác đều, 12 đỉnh, là vỏ capsit của nhiều loại virus.

**Independent infection** : Nhiễm độc lập : Nhiễm virus nhưng genom không cài xen vào NST của tế bào chủ.

**Inducer** (chất cảm ứng) : 1) Chất có tác dụng thúc đẩy phiên mã. 2) Chất có tác dụng thúc đẩy tổng hợp một lượng lớn enzym trong trao đổi chất so với đối chứng.

**Infection** : Sự lây nhiễm.

**Influenza (flu)** (cúm) : Bệnh nhiễm đường hô hấp do virus cúm *Orthomyxovirus A* và *B* gây ra.

**Initiating factor** : Yếu tố khởi đầu : Protein cần để khởi đầu dịch mã.

**Insertion vector** : Vectơ xen đoạn.

**Interferon** : Protein đặc hiệu của tế bào chủ được sản ra khi bị nhiễm virus hoặc do các chất cảm ứng, có tác dụng chống virus và các tế bào ung thư.

**Intergrate infection** : Nhiễm hoà nhập : Nhiễm virus và genom cài xen vào NST tế bào chủ.

**Integration** (cài xen) : Quá trình gắn một phân tử ADN vào genom khác.

**Intron** : Trình tự không mã hoá nằm xen giữa các trình tự mã hoá (exon).

**Inverted repeat** (đoạn lặp lại trái chiều) : Ở hai đầu phân tử ADN có trình tự giống nhau nhưng ngược nhau.

**Ion channel** (kênh ion) : Protein xuyên màng giúp vận chuyển qua màng tế bào.

## K

**Kilobase** (kilo bazơ) : 1000 bazơ hoặc cặp bazơ (kbp) dùng làm đơn vị đo chiều dài ADN hoặc ARN.

**Kinase** : Enzym chuyển nhóm photphat vào hợp chất

**Koplik spot** (đốm Koplik) : Vết loét đỏ tâm trắng nơi miệng do virus sởi (rubeola) gây ra.

**Korean hemorrhagic fever** : Sốt xuất huyết Triều Tiên do virus Hanta.

## L

**Latent cycle** (chu trình tiềm tan) : Chu trình theo đó virus cài xen genom vào NST tế bào để trở thành provirus hoặc prophage.

**Latent virus** : Virus tiềm tan

**Leader sequence** (đoạn dẫn đầu) : Đoạn không dịch mã ở đầu 5' của mRNA để ribosom và các protein đặc hiệu nhận diện trong dịch mã.

**Ligase (ligaza) :** Enzym xúc tác tạo liên kết đồng hoá trị giữa hai đầu tự do của phân tử ADN sợi đơn.

**Lympho node (hạch lympho) :** Cơ quan lympho thứ cấp chứa tế bào lympho, đại thực bào, tế bào tua. Là nơi lọc và thải loại KN và hoạt hoá, tăng sinh lympho bào.

**Lypopolysaccharite (LPS) :** Phức lipit chứa đường và axit béo, có nhiều ở vi khuẩn Gram (-) tạo thành cấu trúc hoá học của màng ngoài.

**Lysogeny (tiềm tan) :** Trạng thái vi khuẩn chứa phage ôn hoà, genom của phage cài xen vào NST của vi khuẩn.

**Lytic cycle (chu trình sinh tan) :** Virut nhiễm, nhân lên và làm tan tế bào.

**Lytic infection (gây nhiễm sinh tan) :** Virut gây nhiễm, tạo nhiều virut mới và làm tan tế bào chủ.

## M

**Map unit :** Đơn vị bản đồ : Đơn vị dùng để đo khoảng cách giữa hai gen trên bản đồ di truyền. Một đơn vị tương đương với tần số tái tổ hợp 1%.

**Microinjection :** Vi tiêm : Đưa ADN vào trong tế bào bằng kim mao dẫn và bơm áp lực.

**Momocistronic (đơn vị cistron – gen) :** mARN chỉ mã hoá cho một protein.

**Monocyte (tế bào mono) :** Tế bào bạch cầu lưu động chứa nhiều lyzosom có thể biệt hoá thành đại thực bào.

## N

**Natural killer (tế bào giết tự nhiên (NK)) :** Tế bào lympho đặc biệt có khả năng nhận diện và giết các tế bào lạ hoặc tế bào chủ nhiễm virut theo cách không đặc hiệu.

**Negative control :** Kiểm soát âm.

**Neurotropic virus :** Virut gây bệnh hệ thần kinh.

**Nick (điểm cắt) :** Trong sao chép theo cơ chế tròn xoay, enzym cắt sợi (+) ngoài làm hở đầu 3' – OH để lắp các nucleotit vào.

**Nonsense codon (codon vô nghĩa) :** Codon không mã hoá cho axit amin nào, đó là codon các codon kết thúc dịch mã (UAA, UAG, UGA)

**Nosocomial infection :** Nhiễm trùng bệnh viện.

**Nucleolus :** Hạch nhân.

**Nucleus :** Nhân.

## O

**Okazaki fragment – Đoạn Okazaki :** Các đoạn ADN đơn được tổng hợp gián đoạn trên khuôn sợi muộn sau đó được nối với nhau bằng ligaza.

**Oligonucleotit :** Một đoạn ngắn nucleotit.

**Operator** : Đoạn ADN ngắn nằm kề promoter, là nơi gắn protein ức chế để đóng mở operon nhờ đó quyết định sự hoạt động (hoặc ngừng hoạt động) của gen cấu trúc.

**Operon (operon)** : Ở procaryota, nhóm gen cấu trúc được phiên mã từ một promoter (đoạn khởi động) chung và chịu sự điều khiển chung của một gen điều hoà. Cấu trúc một operon bao gồm gen cấu trúc, gen điều hoà, operator (vùng chỉ huy) và promoter. Khi protein điều hoà gắn vào operator làm cho đoạn này bị đóng nên gen cấu trúc không hoạt động. Nhưng khi môi trường có cơ chất của gen cấu trúc thì chúng sẽ liên kết với chất điều hoà để chất không bám được vào operator. Một khi operator được giải phóng thì gen cấu trúc lại hoạt động.

**Opportunism pathogen** (tác nhân gây bệnh cơ hội) : Ở người khoẻ mạnh các vi sinh vật cư trú bình thường, không gây bệnh nhưng khi cơ thể suy yếu (ví dụ khả năng miễn dịch giảm) thì chúng sẽ trở thành vi sinh vật gây bệnh. Bệnh do chúng gây ra gọi là bệnh cơ hội.

**Opsonin** (opsonin) : Là chất vừa gắn vào thụ thể trên bề mặt đại thực bào vừa gắn vào KN để lôi kéo KN cho đại thực bào tiêu diệt. Chất này có thể là KT (IgG1 và IgG3) hoặc C3b.

**Orf – open reading frame** (khung đọc mở) : Một khung đọc liên không bị dừng bởi codon vô nghĩa (codon dừng).

**Ori** : Điểm khởi đầu sao chép ADN.

**Overlapping genes** (gen chồng lớp) : Virut có genom nhỏ, các gen thường gối lên nhau trên cùng một đoạn ADN, trên các khung đọc khác nhau thường có điểm khởi đầu và kết thúc khác nhau.

## P

**Palindrom** (palindrom) : Đoạn ADN mạch kép có trình tự nucleotit giống nhau trên mỗi sợi nhưng trái chiều

— — — — GACGT CTACTGA ACGTC — — — —

— — — — CTGCA GATGACT TGCAT — — — —

Palindrom Palindrom

**Pattern** (mẫu hình) : Hình dạng các băng đặc trưng cho một cá thể hoặc tế bào.

**Pendemic** (đại dịch) : Dịch gây ra trên phạm vi toàn cầu.

**Permissive cell** (tế bào cho phép) : Là loại tế bào có đủ điều kiện cho virut nhân lên.

**Permutation circular** : Đổi đầu quay vòng.

**Phenotype** (kiểu hình) : Các đặc điểm có thể quan sát được của một cơ thể.

**Photophorylation** (photophoryl hoá) : Sự tạo thành dẫn xuất gắn photphat của phân tử sinh học.

**Pinocytosis** (ẩm bào) : Quá trình tế bào thu nạp các chất thể dịch (ẩm=uống).

**Plaque** : Vết tan.

**Plus – strand nucleic acid** : 1) Mạch ADN hoặc ARN có trình tự nucleotit giống với trình tự của mARN. 2) Phân tử ADN được dùng làm mẫu để ADN – polymeraza gắn vào và tiến hành sao chép.

**Pneumotropic virus** : Virut gây bệnh hệ thống hô hấp.

**Poly A tail** (đuôi poly A) : Đoạn nucleotit adenin được bổ sung vào đầu 3' của mARN nhờ enzym. Đây là một phần của quá trình chế biến tiền mARN thành mARN thực thụ.

**Polycistronic mRNA** (mARN đa cistron (gen)) : Phân tử mARN ở procaryota chứa nhiều gen mã cho nhiều protein. mARN có thể được phân cắt thành các phân tử mARN nhỏ để mỗi phân tử nhỏ mã hoá cho một protein hoặc cũng có thể mARN mã hoá cho một polypeptit lớn sau đó phân cắt nhờ enzym proteaza để được các protein nhỏ.

**Polymerase chain reaction – PCR** (phản ứng chuỗi trùng hợp) : Phương pháp dùng để nhân đoạn ADN cần quan tâm lên nhiều lần trong một thời gian ngắn bằng cách lặp lại chu kỳ tổng hợp nhờ enzym Taq – polymeraza.

**Polysom** : Chuỗi gồm nhiều riboxom nối với nhau trên mARN trong quá trình dịch mã.

**Positive control** (kiểm soát dương) : Sự khởi động hệ thống chức năng nhờ protein điều hoà.

**Postranslational modification** (cải biến sau dịch mã) : Sự thay đổi các liên kết hoá trị xảy ra trong chuỗi polypeptit sau khi tách khỏi riboxom, trước khi trở thành protein thực thụ.

**Pox** : Virut ADN kép có kích thước lớn nhất thuộc họ *Poxviridae*, nhân lên được cả ở ĐVCXS và ĐVKXS, virut đậu mùa.

**Precipitation** (kết tủa) : Phản ứng KT kết hợp với KN hoà tan tạo phức hợp KN – KT có thể nhìn thấy được.

**Primer** (mồi) : Đoạn nucleotit (thường là ARN) có trình tự bổ trợ với đoạn đầu của

**Prion** (prion) : Tác nhân gây nhiễm có bản chất protein. Ví dụ prion gây bệnh bò điên.

**Probe** : Phân tử đánh dấu dùng trong phép lai.

**Procapsid** (procapsit/tiền capsit) : Capsit chưa hoàn thiện. Ở một số virut, khi lắp ráp trước tiên tạo procapsit sau đó axit nucleic chui vào rồi hàn kín lại thành capsit

**Productive infections** (nhiễm sinh sản) : Tạo ra quần thể virut mới.

**Promoter** (promoter) : Đoạn khởi động nằm trên ADN nơi ARN – polymeraza gắn vào để khởi đầu phiên mã.

**Prophage** (prophage) : Genom của phage cài xen vào NST của tế bào vi khuẩn.

**Protease inhibition** (chất ức chế proteaza) : Chất ức chế hoạt động proteaza của virut bằng cách gắn vào vị trí xúc tác, ngăn cản quá trình chế biến protein của virut.

**Protomer** (protome) : Đơn vị cấu trúc cấu tạo nên capsome.

**Provirus** (provirut) : Genom của virut cài xen vào NST của tế bào.

## R

**Radioimmunoassay** : Thử nghiệm MD có sử dụng KT hoặc KN đã gắn chất đồng vị phóng xạ để xác định KN hoặc KT trong phản ứng.

**RdRp** (RNA dependent RNA polymerase – ARN polymeraza phụ thuộc ARN) : Enzym tổng hợp ARN theo hướng 5' – 3' khi dùng sợi ARN (–) làm khuôn.

**Recombinant DNA** (ADN tái tổ hợp) : Phân tử ADN chứa đoạn lạ có nguồn gốc từ 2 hai nhiều nguồn.

**Receptor** (thụ thể) : Điểm tiếp nhận trên bề mặt tế bào, nơi virus bám vào.

**Regulation** (sự điều hoà) : Quá trình kiểm soát tốc độ tổng hợp protein. Cảm ứng và ức chế là ví dụ về sự điều hoà.

**Replacement vector** (vector thay thế) : Là vectơ tách dòng, ví dụ phage, trong đó một số đoạn ADN của vectơ có thể được thay thế bằng ADN ngoại lai.

**Replicating fork** (chạc sao chép) : Chuỗi ADN kép khi duỗi xoắn tạo ra chạc ba gồm hai sợi đơn để tiến hành sao chép.

**Replicative form – RF** – (dạng sao chép) : Dạng trung gian trong quá trình sao chép genom sợi đơn.

**Replicon** (đơn vị sao chép) : Đoạn ADN tính từ điểm khởi đầu theo cả hai phía đến hai điểm kết thúc sao chép.

**Repressor protein** (protein ức chế) : Protein điều hoà gắn vào vị trí đặc hiệu trên ADN và ngăn cản sự phiên mã

**Reservoir** (ổ chứa) : Là nơi sống trước và sau khi truyền bệnh cho cá thể khác

**Restriction enzyme** (enzym giới hạn) : Enzym nhận biết và cắt ADN tại các vị trí xác định tạo ra các đoạn gen có kích thước xác định với đầu bằng hoặc đầu so le.

**Retrovirus** (virus retro) : Virus chứa genom ARN đơn, dương. Trong quá trình nhân lên có giai đoạn trung gian tạo ADN nhờ enzym phiên mã ngược.

**Reverse transcription** (phiên mã ngược) : Quá trình sao chép thông tin từ ARN sang ADN.

**Rho factor** (yếu tố Rho) : protein đóng vai trò kết thúc phiên mã của mARN.

**Ribosomal RNA** (rARN) – ARN riboxom : Một loại ARN có trong thành phần của riboxom. Một số ARN tham gia tích cực vào quá trình tổng hợp protein.

**Ribozyme** : Phân tử ARN có thể xúc tác phản ứng hoá học như một enzym

## S

**SARS** (severe acute respiratory syndrome) : Hội chứng viêm đường hô hấp cấp nặng

**Secondary antibody respond** (đáp ứng kháng thể thứ cấp) : KT được hình thành do tiếp xúc với KN lần 2, chủ yếu là IgG.

**Shine – Dalgarno sequence** (trình tự Shine Dalgarno (SD)) : Đoạn nucleotit ngắn nằm trước vị trí khởi đầu dịch mã của phân tử mARN ở procaryota giúp nó bám vào 3' ARNriboxom 16S (vì mARN ở procaryota không có mũ).

**Species (loài)** : Ở prokaryota các chủng có quan hệ họ hàng được coi là một loài nếu có độ tương đồng giữa các trình tự rARN 16S > 97% và lai ADN – ADN > 70%.

**Supercoiled DNA (ADN siêu xoắn)** : Dạng có mức độ xoắn cao của ADN khép vòng.

## T

**T – cell** : Tế bào lympho biệt hoá trong tuyến ức bao gồm các phân lớp tế bào T độc ( $T_C$ ), T hỗ trợ ( $T_H$ ). Tế bào  $T_H$  lại được chia thành  $T_{H1}$  tham gia vào phản ứng viêm và  $T_{H2}$  (T hỗ trợ) tham gia vào sự tạo thành KT.

**Temperate virus (virut ôn hoà)** : Virut khi nhiễm vào tế bào chủ không gây tan bào nhưng genom của chúng cũng được sao chép cùng với genom của tế bào chủ.

**Termination factor (yếu tố kết thúc)** : Phân tử protein tham gia vào phản ứng kết thúc qua trình tổng hợp protein trên riboxom.

**Terminator** : Protein kết thúc.

**Topoisomerase (topoisomeraza)** : Enzym xúc tác làm thay đổi mức độ siêu xoắn của ADN.

**Transamination (sự chuyển nhóm amin)** : Enzym xúc tác chuyển nhóm amin từ  $\alpha$  – amino axit sang  $\alpha$  – keto axit.

**Transduction (sự tải nạp)** : Sự chuyển vật chất di truyền từ tế bào này sang tế bào khác nhờ phage.

**Transformation (sự biến nạp)** : Sự truyền thông tin di truyền thông qua ADN tự do

(sự chuyển dạng) : Một số virut nhiễm vào tế bào có thể biến tế bào bình thường trở thành tế bào u.

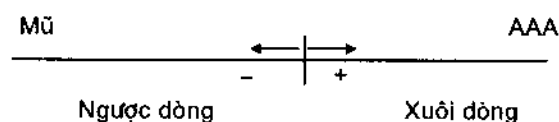
**Transposon (gen nhảy)** : Đoạn ADN có cấu trúc đặc biệt nên có thể nhảy từ một vị trí của NST này sang vị trí của NST khác.

**Transposition** : Sự chuyển chỗ.

## U

**Upper respiratory tract** : Đường hô hấp trên (xoang mũi, hầu, miệng, họng)

**Upstream position (vị trí ngược dòng)** : Chỉ vị trí của một trình tự nucleotit nằm phía trước promoter (ký hiệu là  $-$ ) : trái với xuôi dòng. Down stream ký hiệu là  $(+)$ .



## V

**Vaccine (vacxin)** : KN dùng để gây ĐUMD bảo vệ, chống tác nhân gây bệnh.

**Vaccination (tiêm chủng)** : Sự đưa các tác nhân gây bệnh (KN) đã bị giết chết hoặc làm yếu vào cơ thể để gây ĐUMD bảo vệ.

**Vector** (vector) : 1) Côn trùng hoặc động vật khác có khả năng mang tác nhân gây bệnh từ vật chủ này sang vật chủ khác. 2) Là phân tử di truyền (ADN) có khả năng sao chép và hoạt động như phân tử ADN tái tổ hợp trong tế bào chủ.

**Vero** : Tế bào thận khỉ nuôi cấy mô để nuôi cấy virus.

**Viremia** (viremia) (virus trong máu) : Giai đoạn xuất hiện virus trong máu.

**Virion** (ạt virus) : Axit nucleic được bao bọc bởi vỏ protein.

**Viroid** (viroid) : Phân tử ARN nhỏ, có khả năng gây nhiễm và có bản chất giống virus.

**Virulence** (độc tính) : Mức độ phát sinh bệnh của ký sinh.

## **W**

**Western Blot** (Immunoblot) : Phương pháp xác định protein bằng cách chuyển protein đã tách bằng điện di lên màng nitrocellulose, sau đó cho phản ứng với KT đặc hiệu gắn enzym.

**Wild type** (typ dại) : Chủng vi sinh vật phân lập từ tự nhiên, dạng thông thường hoặc dạng tự nhiên của một gen hoặc một cơ thể

# MỤC LỤC

Trang

Trang

## A. PHẦN ĐẠI CƯƠNG

### Chương 1

#### NHỮNG KHÁI NIỆM CƠ BẢN VỀ VIRUT

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| 1.1. Vài nét lịch sử                 | 9  |
| 1.2. Hình thái và cấu trúc của virut | 10 |

### Chương 2

#### CÁC PHƯƠNG THỨC SINH SẢN CỦA VIRUT

|                                                |    |
|------------------------------------------------|----|
| 2.1. Mối quan hệ giữa virut và tế bào          | 36 |
| 2.2. Đại cương về chu trình nhân lên của virut | 37 |
| 2.3. Các phương thức nhân lên của virut        | 41 |
| 2.4. Phải chăng virut là thể sống ?            | 50 |

### Chương 3

#### CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN LẬP VÀ NUÔI CẤY VIRUT

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| 3.1. Nuôi cấy trên mô tế bào          | 51 |
| 3.2. Nuôi trên phôi gà                | 54 |
| 3.3. Nuôi trên động vật miễn cảm      | 55 |
| 3.4. Nuôi cấy virut gây bệnh thực vật | 56 |
| 3.5. Nuôi cấy phage                   | 56 |

### Chương 4

#### DI TRUYỀN VIRUT

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| 4.1. Một số khái niệm cần thiết về di truyền học | 58 |
| 4.2. Di truyền virut                             | 66 |
| 4.3. Thể thực khuẩn và vectơ tách dòng           | 73 |
| 4.4. Liệu pháp gen                               | 76 |

### Chương 5

#### DỊCH TỄ HỌC VIRUT VÀ BỆNH HỌC PHÁT SINH

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| 5.1. Dịch tế học                                    | 78 |
| 5.2. Đặc điểm bệnh sinh trong quá trình nhiễm virut | 79 |
| 5.3. Các cơ quan đích chủ yếu của virut             | 81 |
| 5.4. Các loại nhiễm virut chính                     | 82 |
| 5.5. Các dạng bệnh lý chính trong nhiễm virut       | 83 |

### Chương 6

#### CHẨN ĐOÁN NHIỄM VIRUT

|                           |    |
|---------------------------|----|
| 6.1. Các kỹ thuật tự động | 61 |
| 6.2. Huyết thanh học      | 61 |

### Chương 7

#### MIỄN DỊCH CHỐNG VIRUT

|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| 7.1. Một số khái niệm cơ bản             | 95  |
| 7.2. Virut và hệ thống miễn dịch         | 99  |
| 7.3. Bệnh lý miễn dịch trong nhiễm virut | 103 |
| 7.4. Cơ chế thoát khỏi miễn dịch         | 105 |

### Chương 8

#### CÁC BIỆN PHÁP CHỐNG VIRUT

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| 8.1. Hoá trị liệu                                                | 106 |
| 8.2. Interferon                                                  | 115 |
| 8.3. Các phương pháp nghiên cứu phát triển thuốc mới chống virut | 118 |
| 8.4. Cơ chế kháng thuốc của virut                                | 121 |
| 8.5. Vacxin chống virut                                          | 121 |

## B. PHẦN CHUYÊN ĐỀ

### Chương 9

#### VIRUT ADENO, HỌ ADENOVIRIDAE

|                                         |     |
|-----------------------------------------|-----|
| 9.1. Giới thiệu                         | 129 |
| 9.2. Phân loại                          | 130 |
| 9.3. Quá trình nhân lên của virut adeno | 130 |
| 9.4. Đặc điểm lâm sàng                  | 131 |
| 9.5. Khả năng gây bệnh                  | 134 |
| 9.6. Chẩn đoán phòng thí nghiệm         | 134 |
| 9.7. Điều trị                           | 135 |
| 9.8. Dịch tế học                        | 135 |
| 9.9. Phòng, chống                       | 136 |
| 9.10. Các virut đi kèm                  | 136 |

### Chương 10

#### VIRUT PARVO, HỌ PARVOVIRIDAE

|                                           |     |
|-------------------------------------------|-----|
| 10.1. Giới thiệu                          | 137 |
| 10.2. Các virut parvo gây bệnh ở động vật | 138 |



|                                                |     |
|------------------------------------------------|-----|
| 10.3. Virut parvo gây bệnh ở người (virut B19) | 138 |
|------------------------------------------------|-----|

### **Chương 11**

#### **VIRUT PAPOVA, HỌ PAPOVAVIRIDAE**

|                       |     |
|-----------------------|-----|
| 11.1. Giới thiệu      | 141 |
| 11.2. Virut papilloma | 141 |
| 11.3. Virut polyoma   | 144 |

### **Chương 12**

#### **VIRUT POX, HỌ POXVIRIDAE**

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 12.1. Giới thiệu         | 148 |
| 12.2. Quá trình nhân lên | 148 |
| 12.3. Bệnh đậu mùa       | 149 |

### **Chương 13**

#### **VIRUT HERPES, HỌ HERPESVIRIDAE**

|                                                       |     |
|-------------------------------------------------------|-----|
| 13.1. Giới thiệu                                      | 151 |
| 13.2. Herpes simplex                                  | 151 |
| 13.3. Bệnh thủy đậu và bệnh zona (Varicella - Zoster) | 153 |
| 13.4. Virut cự bào - Cytomegalo (CMV)                 | 155 |
| 13.5. Virut Epstein-Barr (EB)                         | 157 |
| 13.6. Bệnh ban đào do virut HHV-6 (roseola)           | 159 |

### **Chương 14**

#### **VIRUT HEPADNA, HỌ HEPADNAVIRIDAE**

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| 14.1. Giới thiệu              | 160 |
| 14.2. Bệnh viêm gan B ở người | 161 |

### **Chương 15**

#### **VIRUT ARBO**

|                         |     |
|-------------------------|-----|
| 15.1. Giới thiệu        | 169 |
| 15.2. Một số virut arbo | 174 |

### **Chương 16**

#### **VIRUT TOGA, HỌ TOGAVIRIDAE**

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 16.1. Giới thiệu         | 187 |
| 16.2. Chu trình nhân lên | 187 |
| 16.3. Bệnh rubella       | 188 |

### **Chương 17**

#### **VIRUT FILO, HỌ FILOVIRIDAE**

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| 17.1. Giới thiệu                     | 191 |
| 17.2. Quá trình nhân lên             | 191 |
| 17.3. Đặc điểm lâm sàng và bệnh sinh | 192 |

### **Chương 18**

#### **VIRUT REO, HỌ REOVIRIDAE**

|                  |     |
|------------------|-----|
| 18.1. Giới thiệu | 193 |
| 18.2. Phân loại  | 193 |
| 18.3. Virut reo  | 194 |
| 18.4. Virut rota | 195 |

### **Chương 19**

#### **VIRUT ARENA, HỌ ARENAVIRIDAE**

|                                                      |     |
|------------------------------------------------------|-----|
| 19.1. Giới thiệu                                     | 199 |
| 19.2. Quá trình nhân lên                             | 199 |
| 19.3. Virut Viêm màng não màng đệm lympho bào        | 200 |
| 19.4. Bệnh LASSA                                     | 201 |
| 19.5. Sốt xuất huyết Nam Mỹ - Virut Junin và Machupo | 201 |

### **Chương 20**

#### **VIRUT BUNYA, HỌ BUNYAVIRIDAE**

|                   |     |
|-------------------|-----|
| 20.1. Giới thiệu  | 203 |
| 20.2. Virut Hanta | 204 |
| 20.3. Điều trị    | 204 |

### **Chương 21**

#### **VIRUT ORTHOMYXO, HỌ RTHOMYXOVIRIDAE**

|                    |     |
|--------------------|-----|
| 21.1.1. Giới thiệu | 205 |
| 21.2. Virut cúm    | 205 |
| 21.3. Cúm gia cầm  | 211 |

### **Chương 22**

#### **VIRUT PARAMYXO, HỌ PARAMYXOVIRIDAE**

|                               |     |
|-------------------------------|-----|
| 22.1. Giới thiệu              | 214 |
| 22.2. Phân loại               | 214 |
| 22.3. Bệnh sởi                | 215 |
| 22.4. Bệnh quai bị            | 218 |
| 22.5. Bệnh á cúm              | 219 |
| 22.6. Virut hợp bào hô hấp    | 221 |
| 22.7. Bệnh Newcastle          | 223 |
| 22.8. Viêm não do virut Nipal | 223 |

### **Chương 23**

#### **VIRUT CORONA, HỌ CORONAVIRIDAE**

|                    |     |
|--------------------|-----|
| 23.1. Giới thiệu   | 224 |
| 23.2. Phân loại    | 225 |
| 23.3. Nuôi cấy     | 225 |
| 23.4. Virut corona | 225 |

|                                                  |     |                                             |     |
|--------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------|-----|
| <b>Chương 24</b>                                 |     | 28.4. Thể thực khuẩn ADN đơn, đa diện       | 270 |
| <b>VIRUT CALICI, HỌ CALICIVIRIDAE.</b>           |     | 28.5. Thể thực khuẩn ADN mạch đơn, dạng sợi | 273 |
| <b>VIRUT ASTRO, HỌ ASTROVIRIDAE</b>              |     | 28.6. Thể thực khuẩn ADN kép                | 274 |
| <b>VIRUT HEPE, HỌ HEPEVIRIDAE</b>                |     | 28.7. Hiện tượng tiềm tan và phage λ        | 279 |
| 24.1. Giới thiệu về virus Caliciviridae          | 230 | 28.8. Virus ôn hoà kiểu plasmid             | 285 |
| 24.2. Giới thiệu về virus Astroviridae           | 231 | 28.9. Thể thực khuẩn chuyển vị (phage Mu)   | 286 |
| 24.3. Bệnh viêm gan E – virus họ Heperidae       | 232 | <b>Chương 29</b>                            |     |
| <b>Chương 25</b>                                 |     | <b>VIRUT CỦA CÔN TRÙNG, TẢO VÀ NẤM</b>      |     |
| <b>VIRUT RHABDO, HỌ RHABDOVIRIDAE</b>            |     | 29.1. Virus của côn trùng                   | 289 |
| 25.1. Giới thiệu                                 | 234 | 29.2. Virus gây bệnh cho tôm                | 291 |
| 25.2. Bệnh dại                                   | 235 | 29.3. Virus của nấm và tảo                  | 293 |
| <b>Chương 26</b>                                 |     | <b>Chương 30</b>                            |     |
| <b>VIRUT RETRO, HỌ RETROVIRIDAE</b>              |     | <b>VIRUT THỰC VẬT</b>                       |     |
| 26.1. Giới thiệu                                 | 239 | 30.1. Khả năng lây nhiễm                    | 295 |
| 26.2. Phân loại                                  | 240 | 30.2. Phân loại virus thực vật              | 295 |
| 26.3. Virus retro                                | 240 | 30.3. Hình thái                             | 295 |
| 26.4. Virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) | 245 | 30.4. Các virus ARN ở thực vật              | 297 |
| 26.5. Virus ung thư bạch cầu tế bào T ở người    | 254 | 30.5. Các virus ADN ở thực vật              | 302 |
| <b>Chương 27</b>                                 |     | 30.6. Viroit                                | 306 |
| <b>VIRUT PICORNA, HỌ PICORNAVIRIDAE</b>          |     | 30.7. Virusoit                              | 307 |
| 27.1. Giới thiệu                                 | 256 | <b>Chương 31</b>                            |     |
| 27.2. Quá trình nhân lên                         | 256 | <b>PRION</b>                                |     |
| 27.3. Bệnh bại liệt                              | 257 | 31.1. Prion                                 | 308 |
| 27.4. Viêm gan A                                 | 259 | 31.2. Bệnh prion di truyền                  | 314 |
| 27.5. Bệnh lở mồm long móng                      | 260 | 31.3. Các bệnh prion lây nhiễm              | 316 |
| 27.6. Virus Cocksackie                           | 261 | 31.4. Prion ở nấm men                       | 317 |
| 27.7. Virus ECHO                                 | 263 | 31.5. Chẩn đoán bệnh prion                  | 317 |
| 27.8. Virus rhino – Cảm lạnh                     | 263 | 31.6. Nghiên cứu biện pháp chống bệnh prion | 318 |
| <b>Chương 28</b>                                 |     | 31.7. Lời kết                               | 318 |
| <b>VIRUT CỦA VI KHUẨN</b>                        |     | <b>Chương 32</b>                            |     |
| 28.1. Hình thái và thành phần hoá học của TTK    | 265 | <b>UNG THƯ DO VIRUT</b>                     |     |
| 28.2. Khái quát về quá trình nhân lên của TTK    | 266 | 32.1. Một số khái niệm cơ bản về ung thư    | 320 |
| 28.3. Thể thực khuẩn ARN                         | 268 | 32.2. Chu kỳ tế bào và apoptosis            | 320 |
|                                                  |     | 32.3. Các con đường dẫn đến ung thư         | 323 |

*Chịu trách nhiệm xuất bản :*

Chủ tịch HĐQT kiêm Tổng Giám đốc NGÔ TRẦN ÁI  
Phó Tổng Giám đốc kiêm Tổng biên tập VŨ DƯƠNG THỤY

*Biên tập nội dung :*

LÊ THỊ PHƯỢNG  
NGUYỄN THỊ THU HUYỀN

*Trình bày bìa :*

BÙI QUANG TUẤN

*Sửa bản in :*

LÊ THỊ PHƯỢNG  
NGUYỄN THỊ THU HUYỀN

*Chế bản :*

MINH CHÂU

---

## **VI RUT HỌC**

Mã số : 7K630M5 – DAI

In 1.000 bản khổ 19 x 27 cm, tại Công ty in Thái Nguyên.

Số in: 1710. Số xuất bản: 167/16-05.

In xong và nộp lưu chiểu tháng 7 năm 2005.



**CÔNG TY CỔ PHẦN SÁCH ĐẠI HỌC - DẠY NGHỀ  
HEVOBCO**  
25 HÀN THUYỀN - HÀ NỘI

## TÌM ĐỌC SÁCH THAM KHẢO KỸ THUẬT CỦA NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 Đất ngập nước                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | GS. TS. Lê Văn Khoa                                                                                                                                            |
| 2 Động vật học có xương sống                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | GS. TS. Lê Vũ Khôi                                                                                                                                             |
| 3 Sinh thái học côn trùng                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | PGS. TS. Phạm Bình Quyền                                                                                                                                       |
| 5 Cơ sở hoá sinh                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | PGS. TS. Trịnh Lê Hùng                                                                                                                                         |
| 6 Tài nguyên nước Việt Nam                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Nguyễn Thanh Sơn                                                                                                                                               |
| 7 Virut học                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | PGS. TS. Phạm Văn Ty                                                                                                                                           |
| 8 Vật lý kỹ thuật                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Đặng Hùng                                                                                                                                                      |
| 9 Vật lý siêu dẫn và ứng dụng                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | TS. Nguyễn Huy Sinh                                                                                                                                            |
| 10 Dụng cụ bán dẫn và vi mạch                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Lê Xuân Thế                                                                                                                                                    |
| 11 Mạng máy tính                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Ngọc Văn An                                                                                                                                                    |
| 12 Vô tuyến điện tử                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Ngọc Văn An                                                                                                                                                    |
| 13 Giáo trình cơ học                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Bạch Thành Công                                                                                                                                                |
| 13 Kinh tế môi trường                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | PGS. TS. Hoàng Xuân Cơ                                                                                                                                         |
| 14 Tiếng Anh cơ bản cho sinh viên<br>khoa học tự nhiên                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Trần Thị Nga                                                                                                                                                   |
| 15 Bộ sách về công nghệ sinh học<br><i>Tập một</i> : Sinh học phân tử - Cơ sở<br>khoa học của công nghệ sinh học<br><i>Tập hai</i> : Công nghệ sinh học tế bào<br><br><i>Tập ba</i> : Công nghệ sinh học enzym<br>và protein (XB - 2006)<br><i>Tập bốn</i> : Công nghệ sinh học di<br>truyền (XB - 2006)<br><i>Tập năm</i> : Công nghệ sinh học vi sinh<br>và công nghệ môi trường (XB - 2006) | PGS. TS. Nguyễn Như Hiến<br><br>GS. TS. Vũ Văn Vụ<br>PGS. TS. Nguyễn Mộng Hùng<br>TS. Phan Tuấn Nghĩa<br><br>GS. TS. Lê Đình Lương<br><br>PGS. TS. Phạm Văn Ty |

Bạn đọc có thể mua tại các Công ty Sách - Thiết bị trường học ở địa phương  
hoặc các Cửa hàng của Nhà xuất bản Giáo dục :

- \* 25 Hàn Thuyên, 187 Giảng Võ, 23 Tràng Tiền - Hà Nội.
- \* 15 Nguyễn Chí Thanh - TP Đà Nẵng
- \* 240 Trần Bình Trọng - Quận 5 - TP. Hồ Chí Minh.



8 934980 541098



**Giá: 45.000 đ**