

Аурика Луковкина

**Полный курс за 3 дня.
Микробиология**



Аурика Луковкина

**Полный курс за 3
дня. Микробиология**

«Научная книга»

2009

Луковкина А.

Полный курс за 3 дня. Микробиология / А. Луковкина —
«Научная книга», 2009

Данный учебник предназначен для студентов медицинских ВУЗов, учащихся медицинских колледжей, а также абитуриентов. В нем содержатся сведения об ультраструктуре и физиологии бактерий, рассматриваются вопросы иммунологии и вирусологии, подробно описаны строение и морфология возбудителей различных инфекций, уделено внимание основам медицинской биотехнологии и генной инженерии.

Содержание

Тема 1. Введение в микробиологию	9
1. Предмет и задачи микробиологии	9
2. Систематика и номенклатура микроорганизмов	12
3. Питательные среды и методы выделения чистых культур	15
Тема 2. Морфология и ультраструктура бактерий	17
1. Особенности строения бактериальной клетки. Основные органеллы и их функции	17
2. Строение клеточной стенки и цитоплазматической мембраны	19
3. Дополнительные органеллы бактерий	21
Тема 3. Физиология бактерий	24
1. Рост и размножение бактерий	24
2. Питание бактерий	26
3. Метаболизм бактериальной клетки	28
4. Виды пластического обмена	30
Тема 4. Генетика микроорганизмов. Бактериофаги	32
1. Организация наследственного материала бактерий	32
2. Изменчивость бактерий	34
3. Бактериофаги	36
Тема 5. Распространение микробов в природе и методы микробиологического контроля почвы, воды и воздуха	38
1. Микрофлора почвы	38
2. Микрофлора воды	39
3. Микрофлора воздуха	40
4. Санитарно-бактериологические исследования	41
5. Роль микроорганизмов в круговороте веществ	43
Тема 6. Нормальная микрофлора организма человека	44
1. Нормальная микрофлора человека	44
2. Основные функции нормальной микрофлоры	47
3. Дисбактериоз	48
Тема 7. Микрофлора растительного лекарственного сырья и микробиологический контроль лекарственных средств	50
1. Микрофлора растительного сырья	50
2. Микробиологический контроль лекарственных средств	52
Тема 8. Основы медицинской биотехнологии	53
1. Краткая история развития биотехнологии	53
2. Понятие о биотехнологии, цели и задачи	54
3. Микроорганизмы, клетки и процессы, применяемые в биотехнологии	56
Тема 9. Генная инженерия и область ее применения в биотехнологии	59
1. Понятие и сущность генной инженерии	59
2. Биологические препараты, полученные методом генной инженерии	61
Тема 10. Антибиотики и химиотерапия	63
1. Химиотерапевтические препараты	63
2. Основные осложнения химиотерапии	65
3. Принципы рациональной химиотерапии	67

Тема 11. Общая вирусология	69
1. Морфология и структура вирусов	69
2. Взаимодействие вирусов с клеткой хозяина	71
3. Культивирование вирусов	72
4. Особенности противовирусного иммунитета	73
Тема 12. Учение об инфекции	74
1. Общая характеристика инфекции	74
2. Формы инфекции и периоды инфекционных болезней	76
3. Возбудители инфекций и их свойства	79
Тема 13. Введение в иммунологию	81
1. Понятие об иммунитете. Виды иммунитета	81
2. Неспецифические факторы защиты	83
Тема 14. Иммунная система организма человека	85
1. Центральные и периферические органы иммунной системы	85
2. Клетки иммунной системы	86
3. Формы иммунного ответа	87
Тема 15. Антигены	88
1. Свойства и типы антигенов	88
2. Антигены микроорганизмов	90
Тема 16. Антитела	91
1. Структура иммуноглобулинов	91
2. Классы иммуноглобулинов и их свойства	92
Тема 17. Иммунопатология	94
1. Иммунодефицитные состояния	94
2. Аллергические реакции. Особенности инфекционной аллергии	96
3. Аутоиммунные процессы	98
Тема 18. Прикладная иммунология	99
1. Иммунодиагностика	99
2. Иммунопрофилактика	101
3. Иммунотерапия	102
Тема 19. Возбудители кишечных инфекций – семейство энтеробактерий	103
1. Характеристика семейства энтеробактерий	103
2. Эшерихии	105
3. Шигеллы	107
4. Сальмонеллы	108
5. Иерсинии	110
Тема 20. Возбудители кишечных инфекций	111
1. Вибрионы	111
2. Кампилобактеры	113
Тема 21. Пищевые токсикоинфекции. Пищевые токсикозы	114
1. Общая характеристика и возбудители ПТИ	114
2. Ботулизм	116
Тема 22. Возбудители зооантропонозных инфекций	117
1. Чума	117
2. Сибирская язва	119
3. Туляремия	121
4. Бруцеллез	123

5. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС)	125
Тема 23. Патогенные вибрионы	126
1. Холерный вибрион и его свойства	126
2. Патогенность для животных и человека	128
3. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика холеры	129
4. Парагемолитический вибрион	131
Тема 24. Патогенные кокки	132
1. Стафилококки	132
2. Стрептококки	134
3. Менингококки	136
4. Гонококки	137
Тема 25. Грамотрицательные бактерии – возбудители гнойно-воспалительных заболеваний	139
1. Гемофильная палочка	139
2. Синегнойная палочка	140
3. Клебсиеллы	142
4. Протей	144
Тема 26. Возбудители анаэробной инфекции	146
1. Возбудители неклостридиальной анаэробной инфекции	146
2. Возбудители клостридиальной анаэробной раневой инфекции	148
Тема 27. Вирусные инфекции дыхательных путей, передающиеся воздушно-капельным путем	150
1. Дифтерия	150
2. Коклюш	154
3. Скарлатина	157
Тема 28. Пневмония	159
1. Общее понятие пневмонии. Классификация пневмоний	159
2. Легионеллез	161
3. Нокардиоз	163
Тема 29. Туберкулез	164
1. Морфология и культуральные свойства	164
2. Патогенез	166
3. Диагностика. Профилактика. Лечение	167
Тема 30. Внутрибольничные инфекции	168
1. Понятие и причины возникновения внутрибольничных инфекций	168
2. Возбудители внутрибольничных инфекций, пути передачи, источники инфекции	169
3. Метод диагностики внутрибольничных инфекций	170
4. Мероприятия, направленные на борьбу с внутрибольничными инфекциями	171
Тема 31. Онкогенные вирусы	172
1. Роль вирусов в развитии онкологических заболеваний	172
2. Онкогенные вирусы	173
Тема 32. Микробные формы с дефектной клеточной стенкой	176
1. Бактерии с нарушенной клеточной стенкой	176
2. Микоплазмы	177
3. Хламидии	179
Тема 33. Группа риккетсий	181

1. Характеристика группы	181
2. Риккетсиозы	183
Тема 34. Спирохеты	185
1. Трепонемы	185
2. Боррелии	186
3. Лептоспиры	188
Тема 35. Возбудители ОРВИ	189
1. Вирусы гриппа	189
2. Парагрипп. РС-вирусы	190
3. Аденовирусы	192
4. Риновирусы	193
5. Реовирусы. РС-вирусы	194
Тема 36. Возбудители вирусных воздушно-капельных инфекций	196
1. Вирусы кори и паротита	196
2. Вирус герпеса	198
3. Вирус краснухи	200
Тема 37. Энтеровирусные инфекции	201
1. Вирус полиомиелита	201
2. ЕСНО-вирусы. Вирусы Коксаки	202
Тема 38. ВИЧ (вирус иммунодефицита человека)	204
1. Структура	204
2. Патогенез и иммунологические нарушения	205
3. Эпидемиология. Диагностика. Лечение	206
Тема 39. Заболевания мочеполовых путей. Классические венерические заболевания	207
1. Инфекции, передаваемые половым путем, и их классификация	207
2. Классические венерические заболевания	209
Тема 40. Заболевания мочеполовых путей. Инфекции, передаваемые половым путем, с преимущественным поражением половых органов	214
1. Урогенитальный хламидиоз	214
2. Мочеполовой микоплазмоз и уреоплазмоз	216
3. Трихомониаз	217
4. Генитальный герпес	219
5. Остроконечные кондиломы (папиллома)	220
6. Контагиозный моллюск	221
Тема 41. Вирусные зоонозные инфекции	222
1. Вирус бешенства	222
2. Флавивирусы	223
Тема 42. Возбудители вирусных гепатитов	224
1. Вирус гепатита А	224
2. Вирус гепатита В	225
3. Другие возбудители вирусных гепатитов	227
Тема 43. Патогенные простейшие	228
1. Плазмодии малярии	228
2. Токсоплазмы	229
3. Лямблии	230
4. Трихомонады	231
Тема 44. Патогенные грибы	232

1. Общая характеристика грибов	232
2. Возбудители кератомикозов. Дерматомикозы	234
3. Условно-патогенные грибы	236
4. Возбудители глубоких микозов	237
5. Методы диагностики и лечение микозов	238
Тема 45. Основные методы и принципы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний	239
1. Методы микробиологической диагностики и общие требования к патологическому материалу	239
Тема 46. Санитарно-микробиологические исследования	247
1. Методы санитарно-бактериологических исследований воды	247
2. Исследование почвы	248
3. Исследование воздуха	249
4. Исследование объектов медицинского назначения	250
5. Объекты санитарно-микробиологических исследований в лечебно-профилактических учреждениях	251
Тема 47. Изучение нормальной микрофлоры тела и выявление дисбактериозов	253
1. Дисбактериоз толстого кишечника	253
2. Дисбактериоз влагалища	255
3. Дисбактериоз кожи	257
4. Изучение микрофлоры полости рта	258
5. Изучение микрофлоры верхних дыхательных путей	259
Тема 48. Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций	260
1. Микробиологическая диагностика бактериальных острых кишечных инфекций	260
2. Микробиологическая диагностика гнойно-воспалительных заболеваний	263
3. Микробиологическая диагностика при неклостридиальной раневой анаэробной инфекции	266
4. Сепсис	267
5. Методы диагностики пневмоний	269

Полный курс за 3 дня Микробиология

Тема 1. Введение в микробиологию

1. Предмет и задачи микробиологии

Микроорганизмы – наиболее древняя и самая распространенная форма организации жизни на Земле, что свидетельствует об их значительной роли в природе и жизни человека. Ученые подсчитали, что в биосфере обитает не менее 10^{30} бактерий, а число вирусов и простейших вообще не поддается учету. Эти мельчайшие существа могут быть как растительного, так и животного происхождения. К ним относят бактерии, вирусы, грибы, простейшие и микроводоросли. Общей характерной особенностью этих микроорганизмов является их микроскопический размер. Но все они имеют особенное происхождение, определенное строение и формы жизнедеятельности, при этом они всегда находятся в биоценоотическом (от греч. *bios* – «жизнь» и *coipos* – «общий») отношении с другими живыми существами и неживой природой. При этом они состоят из структур, которые обеспечивают их жизненные процессы, направленные на выживание и размножение.

Микроорганизмы обуславливают круговорот веществ и энергии в природе, осуществляют расщепление органических веществ и синтез белка, обеспечивают плодородие почв и поддерживают газовый состав атмосферы и других природных процессов. Большое значение микроорганизмы играют в производственных процессах, связанных с получением необходимых для человека продуктов и материалов (например, хлебопечении, производстве органических кислот, ферментов, пищевых белков, гормонов, антибиотиков и других лекарственных веществ), а также в виноделии. Из вышеизложенного можно сделать вывод, что микроорганизмы играют важную роль в природе и жизни человека.

Изучение свойств «маленьких зверьков», как назвал микроорганизмы А. Левенгук, позволило выделить среди них безвредные и даже полезные для организма человека и оказывающие неблагоприятное влияние на человеческий организм. Первые – непатогенные, или сапрофиты, питаются органическими веществами от умерших организмов. Они населяют кожу и слизистые оболочки, желудочно-кишечный и уrogenитальный тракты, таким образом составляя экологическое единство с организмом человека и поддерживая постоянство некоторых процессов его жизнедеятельности. Вторые – патогенные – живут и питаются за счет органических субстратов, вызывают у человека различные заболевания и патологические процессы. При снижении сопротивляемости организма сапрофиты могут вызывать болезни и в этом случае ведут себя как патогенные микроорганизмы, и их называют условно-патогенными.

Микроорганизмы изучает наука микробиология.

Микробиология – наука, предметом изучения которой являются микроскопические существа, невидимые вооруженным взглядом и называемые микроорганизмами, их биологические признаки, систематика, экология, взаимоотношения с другими организмами.

Как самостоятельная наука микробиология сформировалась только во второй половине XIX в., и этому поспособствовал ряд гениальных открытий великого французского ученого Луи Пастера (роль микробов в круговороте веществ в природе, в процессах гниения и брожения и т. д.), хотя микроорганизмы были открыты уже в конце XVII в. Наличие в природе невидимых существ предполагали уже очень давно. Так, еще в VI в. до н. э. Гиппократ высказывал предположение о том, что причиной любой заразной болезни является невидимый чело-

веческому глазу организм. Но в то время свое предположение он не мог доказать по естественным причинам. Зато это смог подтвердить А. Левенгук, который, смастерив первый в мире простейший микроскоп, обнаружил мельчайшие организмы в дождевой воде, зубном налете и других материалах и описал их.

С того времени микробиология шагнула далеко вперед, так как для изучения микроорганизмов перед ней открылись широкие возможности использования методов и технологий других наук, например физики и биологии, биоорганической химии, генетики, цитологии, иммунологии и молекулярной биологии. При этом перед микробиологией увеличилось и количество задач, которые не могут быть решены в пределах одной научной дисциплины и специалистами одного профиля. В связи с этим произошла дифференциация микробиологии на самостоятельные научные дисциплины. Теперь микробиология подразделяется на общую и частную. При этом общая микробиология изучает закономерности строения и жизнедеятельности микроорганизмов на молекулярном, клеточном и популяционном уровнях; генетику и взаимоотношения их с окружающей средой. Частная микробиология изучает отдельных представителей микромира в зависимости от их проявлений и влияний на окружающую среду. Частными разделами микробиологии являются медицинская, ветеринарная, сельскохозяйственная, техническая (раздел биотехнологии), морская и космическая микробиология.

Медицинская микробиология занимается изучением патогенных для человека микроорганизмов и в зависимости от их природы делится на бактериологию, вирусологию, микологию и протозоологию. При этом каждая дисциплина проводит микроскопические и другие виды исследований, а также изучает физиологические и генетические особенности патогенных микроорганизмов; роль микроорганизмов в этиологии и патогенезе инфекционных болезней; основные клинические проявления и распространенность вызываемых ими заболеваний; специфическую диагностику, профилактику и лечение заболеваний, вызванных патогенными микроорганизмами; экологию патогенных микроорганизмов.

Медицинская микробиология подразделяется на санитарную, клиническую и фармацевтическую микробиологию.

Предметом изучения санитарной микробиологии являются санитарно-микробиологическое состояние объектов окружающей среды и пищевых продуктов, разработка санитарных нормативов.

Предметами изучения клинической микробиологии являются определение роли условно-патогенных микроорганизмов в возникновении заболеваний человека, а также диагностика и способы профилактики этих болезней.

Предметом изучения фармацевтической микробиологии являются инфекционные болезни лекарственных растений и их порча под действием микроорганизмов; обсеменение лекарственных средств в процессе их изготовления и уже готовых лекарственных форм; методы асептики, антисептики, дезинфекции при производстве лекарственных средств; технология получения микробиологических и иммунологических диагностических, профилактических и лечебных препаратов.

Ветеринарная микробиология изучает возбудителей заболеваний животных, разрабатывает методы их биологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения, направленного на уничтожение микробов-возбудителей в организме больного животного.

Сельскохозяйственная микробиология занимается изучением микроорганизмов, которые участвуют в круговороте веществ, используются для приготовления удобрений, вызывают заболевания растений и др.

Основной задачей технической микробиологии является разработка биотехнологии синтеза микроорганизмами биологически активных веществ: белков, ферментов, витаминов, спиртов, органических веществ, антибиотиков и др.

Морская микробиология изучает микрофлору морей и водоемов.

Космическая микробиология изучает микрофлору космического пространства и других планет; влияние космических условий на свойства микроорганизмов и микрофлору организма человека. Эта дисциплина также разрабатывает методы предупреждения заноса микробов с поверхности Земли в космос и ряд других проблем.

Многочисленные открытия в микробиологии, изучение свойств и взаимоотношений между макро- и микроорганизмами способствовали развитию иммунологии. Эта наука доказала, что иммунная система организма служит для его защиты не только от микробных агентов, но и от любых генетически чужеродных ему веществ с целью сохранения постоянства внутренней среды в нем. Поэтому на основе достижений в иммунологии стали разрабатываться лабораторные методы диагностики, профилактики и лечения инфекционных и неинфекционных заболеваний, а также иммунологические препараты, к которым относятся вакцины, иммуноглобулины, аллергены, диагностические препараты и др.

Таким образом, современная микробиология играет важную роль в диагностике, профилактике и лечении инфекционных и неинфекционных болезней.

2. Систематика и номенклатура микроорганизмов

В процессе изучения микроорганизмы были систематизированы по сходству и различиям, а также по взаимоотношениям между собой. Наука, изучающая принципы классификации, называется таксономией, что в переводе с греческого означает «расположение, порядок». Таксоном называют группу организмов, объединенных по определенным однородным свойствам в рамках той или иной таксономической категории. Такими категориями являются: царство – самая крупная таксономическая категория; далее следуют: подцарство, отдел, класс, порядок, семейство, род, вид, подвид и другие более мелкие категории.

Таксономия микроорганизмов основана на их морфологических, физиологических, биохимических и молекулярно-биологических свойствах.

Согласно современной систематике все микроорганизмы относятся к трем царствам: *Virga* – вирусы; *Eucaryotae* – простейшие и грибы; *Procaryotae* – преимущественно одноклеточные микроорганизмы.

Прокариоты отличаются от эукариотов тем, что не имеют морфологически оформленного ядра, сетчатого аппарата Гольджи, эндоплазматической сети, митохондрий, их рибосомы имеют константу седиментации 70S.

Для названия микроорганизмов в микробиологии была принята бинарная номенклатура, включающая родовое и видовое название. Название рода основывается на морфологическом признаке соответствующего микроорганизма или является производной от фамилии открывшего или изучившего данный микроорганизм. Видовое название связано с наименованием основного вызываемого этим микроорганизмом заболевания или основным местом обитания. При этом если видовую принадлежность микроорганизма установить не удастся (чаще при идентификации микроорганизмов с нетрадиционными условиями существования и пищевыми потребностями), но определена принадлежность к роду, то употребляется термин «species».

Царство прокариотов состоит из двух отделов: цианобактерии (*Cyanobacteria*) – непатогенные микроорганизмы, обитающие во внешней среде (их медицинская микробиология не изучает); бактерии (*Bacteria*) – различные микробы, обитающие во внешней среде, а также в организме человека и животных, при этом медицинская микробиология изучает среди них патогенные микробы.

В свою очередь отделы подразделяются на порядки: собственно бактерии; актиномицеты; спирохеты; риккетсии; хламидии; микоплазмы.

Поскольку бактерии, являясь преимущественно одноклеточными микроорганизмами, способны образовывать ассоциации, или группы, сходных клеток, характеризующиеся клеточными, но не организменными свойствами, то порядки подразделяют на группы. Всего их 19, причем первые четыре из них являются непатогенными для организма человека:

- 1) фототрофные бактерии;
- 2) скользящие бактерии;
- 3) бактерии, образующие слизистую оболочку;
- 4) почкующиеся и (или) стебельковые бактерии;
- 5) спирохеты;
- 6) спиралевидные и изогнутые бактерии;
- 7) грамотрицательные аэробные палочки и кокки;
- 8) грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки;
- 9) грамотрицательные анаэробные бактерии;
- 10) грамотрицательные кокки и коккобациллы;
- 11) грамотрицательные анаэробные кокки;
- 12) грамотрицательные хемолитотрофные бактерии;

- 13) метанобразующие бактерии;
- 14) грамположительные кокки;
- 15) палочки и кокки, образующие эндоспоры;
- 16) грамположительные аспорогенные палочковидные бактерии;
- 17) актиномицеты и родственные организмы;
- 18) риккетсии;
- 19) микоплазмы.

Чтобы отнести выделенный штамм бактерий к какой-либо группе, следует определить морфологию микробных клеток; отношение к окраске по Грамму; тип биологического окисления; способность к спорообразованию.

На основании изучения биохимических свойств бактерий происходит дальнейшая дифференциация групп на семейства, роды и виды.

Основной таксономической единицей систематики бактерий является вид.

Вид – это эволюционно сложившаяся совокупность особей, имеющая единый генотип, который в стандартных условиях проявляется сходными морфологическими, физиологическими, биохимическими и другими признаками.

Таким образом, для видовой идентификации бактерий необходимо знать следующие их свойства:

- 1) морфологические (форму и структуру бактериальной клетки);
- 2) тинкториальные (способность окрашиваться различными красителями);
- 3) культуральные (характер роста на питательной среде);
- 4) биохимические (способность утилизировать различные субстраты);
- 5) антигенные.

Вид не является конечной единицей систематики. Внутри вида выделяют варианты микроорганизмов, отличающиеся отдельными признаками. Так, выделенная из определенного источника и имеющая отличные от других представителей данного вида признаки чистая культура микроорганизмов называется штаммом. Это понятие является более узким, чем вид или подвид, а близким к нему является понятие клона, который представляет собой совокупность потомков, выращенных из единственной микробной клетки.

В зависимости от характера наследственных свойств среди микроорганизмов различают:

- 1) серовары (по антигенной структуре);
- 2) хемовары (по чувствительности к химическим веществам);
- 3) фаговары (по чувствительности к фагам);
- 4) ферментовары;
- 5) бактериоциновары;
- 6) бактериоциногеновары.

Бактериоцины – вещества, продуцируемые бактериями и губительно действующие на другие бактерии. По типу продуцируемого бактериоцина различают бактериоциновары, а по чувствительности – бактериоциногеновары.

В настоящее время для систематики микроорганизмов используется ряд таксономических систем.

1. *Нумерическая таксономия*. Признает равноценность всех признаков. Для ее применения необходимо иметь информацию о многих десятках признаков. Видовая принадлежность устанавливается по числу совпадающих признаков.

2. *Серотаксономия*. Изучает антигены бактерий с помощью реакций с иммунными сыворотками. Наиболее часто применяется в медицинской бактериологии. Недостаток – бактерии не всегда содержат видоспецифический антиген.

3. *Хемотаксономия*. Применяются физико-химические методы, с помощью которых исследуется липидный, аминокислотный состав микробной клетки и ее определенных компонентов.

4. *Генная систематика*. Основана на способности бактерий с гомологичными ДНК к трансформации, трансдукции и конъюгации, на анализе внехромосомных факторов наследственности – плазмид, транспозонов, фагов.

Совокупность основных биологических свойств бактерий можно определить только у чистой культуры – это бактерии одного вида, выращенные на питательной среде.

3. Питательные среды и методы выделения чистых культур

Для культивирования бактерий используют питательные среды, к которым предъявляется ряд требований.

1. *Питательность*. Среда должна быть легкоусвояемой и обязательно содержать углерод, азот, кислород и водород в виде минеральных или органических соединений, неорганические соединения различных солей и факторы роста.

2. *Изотоничность*. Для поддержания осмотического давления среды должны содержать определенную концентрацию хлорида натрия.

3. *Оптимальный pH (кислотность) среды*. Кислотность среды обеспечивает функционирование ферментов бактерий; для большинства бактерий составляет 7,2–7,6.

4. *Оптимальный электронный потенциал*, свидетельствующий о содержании в среде растворенного кислорода. Он должен быть высоким для аэробов и низким для анаэробов.

5. *Прозрачность* (чтобы был виден рост бактерий, особенно для жидких сред).

6. *Стерильность* (чтобы не было других бактерий).

Поскольку бактерии обладают различными свойствами, то для их выращивания и изучения требуется достаточно большое количество питательных сред, которые бы имели различное происхождение, состав, консистенцию и назначение. Поэтому была введена классификация питательных сред.

Классификация питательных сред

I. По происхождению:

- 1) естественные (молоко, желатин, картофель и др.);
- 2) искусственные – среды, приготовленные из специально подготовленных природных компонентов (пептона, аминокептида, дрожжевого экстракта и т. п.);
- 3) синтетические – среды известного состава, приготовленные из химически чистых неорганических и органических соединений (солей, аминокислот, углеводов и т. д.).

II. По составу:

- 1) простые – мясопептонный агар, мясопептонный бульон, агар и бульон Хоттингера и др.;
- 2) сложные – это простые с добавлением дополнительного питательного компонента (кровяного, шоколадного агара): сахарный бульон, желчный бульон, сывороточные агар и бульон, желточно-солевой агар, среда Китта-Тароцци, среда Вильсона-Блера и др.

III. По консистенции:

- 1) твердые (содержат 3–5 % агар-агара);
- 2) полужидкие (0,15–0,7 % агар-агара);
- 3) жидкие (не содержат агар-агара).

IV. По назначению:

1) общего назначения – универсальные – предназначены для культивирования большинства бактерий, так как содержат питательные вещества, в присутствии которых растут многие виды патогенных и непатогенных бактерий (мясопептонный агар, мясопептонный бульон, кровяной агар). Тем не менее из-за большого разнообразия бактерий и их питательных потребностей создать такую универсальную питательную среду, чтобы она была пригодна для культивирования любых бактерий, практически невозможно;

2) специального назначения применяются для выращивания бактерий, не способных размножаться на универсальных средах:

а) **элективные** – среды, на которых растут бактерии только одного вида (рода), а род других подавляется. Например, в щелочной пептонной воде и щелочном мясопептонном бульоне интенсивнее по сравнению с другими сопутствующими бактериями растет холерный вибрион. Показателен и пример избирательности питательных сред, содержащих определенные концентрации антибиотиков: на них развиваются только штаммы, обладающие устойчивостью к ним, антибиотикочувствительные культуры в этих средах погибают;

б) **дифференциально-диагностические** – среды, на которых рост одних видов бактерий отличается от роста других видов по тем или иным свойствам, чаще биохимическим (среды Эндо, Левина, Плоскирева и др.). Кроме того, к дифференциально-диагностическим средам относят и специальные среды, позволяющие определить способность бактерий утилизировать тот или иной субстрат (среды Гиса с углеводами и мясопептонный желатин служат для определения протеолитической активности микроорганизмов; среда Симмонса – для определения способности бактерий разлагать цитрат; среда Хью-Лейфсона используется для дифференцирования аэробных бактерий от факультативно-анаэробных и др.);

в) **среды обогащения** – среды, в которых происходит размножение и накопление бактерий-возбудителей какого-либо рода или вида, т. е. обогащение ими исследуемого материала (селенитовый бульон).

Для получения чистой культуры необходимо владеть методами выделения чистых культур.

Методы выделения чистых культур

Выделяют следующие методы.

1. Механическое разобщение на поверхности плотной питательной среды (метод штриха обжигом петли, метод разведений в агаре, распределение по поверхности твердой питательной среды шпателем, метод Дригальского).
2. Использование элективных питательных сред.
3. Создание условий, благоприятных для развития одного вида (рода) бактерий (среды обогащения).

Чистую культуру получают в виде колоний – это видимое невооруженным глазом, изолированное скопление бактерий на твердой питательной среде, представляющее собой, как правило, потомство одной клетки. Разные виды бактерий образуют колонии, которые одна от другой отличаются по форме, величине, прозрачности, характеру поверхности, высоте, цвету, консистенции.

Тема 2. Морфология и ультраструктура бактерий

1. Особенности строения бактериальной клетки. Основные органеллы и их функции

Отличия бактерий от других клеток

Выделяют следующие отличия:

- 1) бактерии относятся к прокариотам, т. е. не имеют обособленного ядра;
- 2) в клеточной стенке бактерий содержится особый пептидогликан – муреин;
- 3) в бактериальной клетке отсутствуют аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть, митохондрии;
- 4) роль митохондрий выполняют мезосомы – инвагинации цитоплазматической мембраны;
- 5) в бактериальной клетке много рибосом;
- 6) у бактерий могут быть специальные органеллы движения – жгутики;
- 7) размеры бактерий колеблются от 0,3–0,5 до 5–10 мкм.

По форме клеток бактерии подразделяются на:

1) шаровидные (кокковые) формы. Кокки имеют правильную сферическую форму или форму неправильного шара в виде почки или напоминают пламя свечи. В среднем кокки в диаметре составляют 0,5–1,5 мкм. В зависимости от взаиморасположения клеток относительно друг друга кокки делятся на микрококки с отдельным изолированным расположением; диплококки – сцепленные попарно; тетракокки – сцепленные по четыре; стрептококки – сцепленные в цепочку; сарцины – сцепленные по 8, 12, 16 и т. д.; стафилококки – сцепленные беспорядочно, внешним видом напоминая виноградную гроздь;

2) палочковидные (или цилиндрические) формы бактерий. Длина палочки составляет 1–8 мкм, а размер в поперечнике – 0,5–2 мкм. Бактерии различаются по форме и бывают правильной и неправильной, изогнутой, цилиндрической формы; по размерам – мелкие, средние и крупные, причем длина может значительно превышать диаметр поперечника; по форме концов – обрубленные, закругленные, заостренные, утолщенные. Так же как и шаровидные бактерии, палочковидные делятся и по характеру взаиморасположения и бывают расположенными поодиночке, диплобактерии и диплобациллы, сцепленные попарно, а также стрептобактерии и стрептобациллы, сцепленные в цепочку;

3) извитые формы бактерий различаются по характеру и количеству завитков. Среди них различают вибрионы в виде изогнутых палочек или неполных завитков; спиралилы с одним или несколькими завитками; спирохеты, которые делятся на лептоспиры – завитки с загнутыми крючкообразными концами (S-образная форма), боррелии – 4–12 неправильных завитков, трепонемы – 14–17 равномерных мелких завитков.

Стоит отметить, что размеры бактерий, так же как и их форма (хотя и реже), могут изменяться, и это происходит под влиянием окружающей среды, в том числе питательной среды, ее pH, температуры, лекарственного препарата и т. п., а также в зависимости от возраста культуры. При этом подобные изменения не наследуются и являются лишь модификациями.

Ультраструктура бактерий изучается с помощью электронно-микроскопических исследований, дифференциального ультрацентрифугирования и цитохимических методов.

В бактериальной клетке различают:

1) обязательные органеллы:

а) нуклеоид – ядерное вещество, распыленное в цитоплазме клетки. Не имеет ядерной мембраны, ядрышек. В нем локализуется ДНК, представленная двухцепочечной спиралью. Обычно замкнута в кольцо и прикреплена к цитоплазматической мембране. Содержит около 60 млн пар оснований. Это чистая ДНК, она не содержит белков гистонов. Их защитную функцию выполняют метилированные азотистые основания. В нуклеоиде закодирована основная генетическая информация, т. е. геном клетки. Наряду с нуклеоидом в цитоплазме могут находиться автономные кольцевые молекулы ДНК с меньшей молекулярной массой – **плазмиды**. В них также закодирована наследственная информация, но она не является жизненно необходимой для бактериальной клетки;

б) цитоплазму, которая представляет собой сложную коллоидную систему, состоящую из воды (75 %), минеральных соединений, белков, РНК и ДНК, которые входят в состав органелл нуклеоида, рибосом, мезосом, включений;

в) рибосомы, которые представляют собой рибонуклеопротеиновые частицы размером 20 нм, состоящие из двух субъединиц – 30 S и 50 S. Рибосомы отвечают за синтез белка. Перед началом синтеза белка происходит объединение этих субъединиц в одну – 70 S. В отличие от клеток эукариотов рибосомы бактерий не объединены в эндоплазматическую сеть;

г) цитоплазматическую мембрану, которая представляет собой сложный липидобелковый комплекс, располагающийся непосредственно под клеточной стенкой и ограничивающий протопласт клетки. Этот комплекс состоит из липидов (15–30 %), белков (50–70 %), углеводов (2–5 %) и РНК. В цитоплазматической мембране локализуются пермеазы и ферменты окислительного фосфорилирования и регулируется транспорт метаболитов и ионов; происходит выделение ферментов и токсинов; мембрана принимает участие в репликации ДНК нуклеотида и его делении; участвует в синтезе компонентов клеточной стенки, а у некоторых бактерий – и в спорообразовании.

Производными цитоплазматической мембраны клетки являются мезосомы, образующиеся путем ее инвагинации в цитоплазму. Они могут быть в виде концентрических мембран, пузырьков, трубочек, в форме петли. Мезосомы связаны с нуклеоидом и участвуют в делении клетки и спорообразовании;

д) клеточную стенку, которая представляет собой биогетерополимер – плотную структуру, окружающую протопласт клетки и придающую ей постоянную форму;

2) необязательные органеллы:

- а) споры;
- б) капсулы;
- в) ворсинки (реснички, фимбрии);
- г) жгутики.

Включения являются продуктами метаболизма микроорганизмов, которые располагаются в их цитоплазме и используются в качестве запасных питательных веществ. К ним относятся включения гликогена, крахмала, серы, полифосфата (волютина) и др.

2. Строение клеточной стенки и цитоплазматической мембраны

Клеточная стенка – прочное, упругое ригидное образование толщиной 150–200 ангстрем, окружающее протопласт клетки и являющееся одним из основных структурных элементов бактериальной клетки.

Выполняет следующие функции:

- 1) защитную, осуществление фагоцитоза;
- 2) регуляцию осмотического давления;
- 3) рецепторную;
- 4) принимает участие в процессах питания, деления клетки;
- 5) антигенную (определяется продукцией эндотоксина – основного соматического антигена бактерий);
- 6) стабилизирует форму и размер бактерий;
- 7) обеспечивает систему коммуникаций с внешней средой;
- 8) косвенно участвует в регуляции роста и деления клетки.

Клеточная стенка при обычных способах окраски не видна, но если клетку поместить в гипертонический раствор (при опыте плазмолиза), то она становится видимой.

Клеточная стенка вплотную примыкает к цитоплазматической мембране у грамположительных бактерий, у грамотрицательных бактерий клеточная стенка отделена от цитоплазматической мембраны периплазматическим пространством.

Клеточная стенка имеет два слоя:

- 1) наружный – пластичный;
- 2) внутренний – ригидный, состоящий из муреина.

В зависимости от содержания муреина в клеточной стенке различают грамположительные и грамотрицательные бактерии (по отношению к окраске по Грамму).

У **грамположительных бактерий** муреиновый слой составляет 80 % от массы клеточной стенки. По Грамму они окрашиваются в синий цвет. У грамотрицательных бактерий муреиновый слой составляет 20 % от массы клеточной стенки, по Грамму они окрашиваются в красный цвет.

У грамположительных бактерий наружный слой клеточной стенки содержит липопротеиды, гликопротеиды, тейхоевые кислоты, у них отсутствует липополисахаридный слой. Клеточная стенка выглядит аморфной, она не структурирована. Поэтому при разрушении муреинового каркаса бактерии полностью теряют клеточную стенку (становятся протопластами), не способны к размножению.

У **грамотрицательных бактерий** наружный пластический слой четко выражен, содержит липопротеиды, липополисахаридный слой, состоящий из липида А (эндотоксина) и полисахарида (О-антигена). При разрушении грамотрицательных бактерий образуются сферопласты – бактерии с частично сохраненной клеточной стенкой, не способные к размножению.

В зависимости от строения клеточной стенки все бактерии делятся на 4 отдела:

- 1) грациликеты – бактерии с тонкой клеточной стенкой, грамотрицательные (различные извитые, палочковидные, кокковые формы бактерий, а также риккетсии и хламидии);
- 2) фирмикуты – бактерии с толстой клеточной стенкой, грамположительные (палочковидные, кокковые формы бактерий, а также коринебактерии и микобактерии, актиномицеты);
- 3) тенерикеты – бактерии без ригидной клеточной стенки (микоплазмы);
- 4) мендозикеты – архебактерии с дефектной клеточной стенкой и особенным строением рибосом, мембран и рибосомальных РНК.

К клеточной стенке прилегает цитоплазматическая мембрана толщиной 5–7,5 нм. Она обладает избирательной проницаемостью, принимает участие в транспорте питательных веществ, выведении экзотоксинов, энергетическом обмене клетки, является осмотическим барьером, участвует в регуляции роста и деления, репликации ДНК, является стабилизатором рибосом.

Цитоплазматическая мембрана имеет трехслойную структуру и состоит из двух слоев липидов (25–40 %) со встроенными поверхностными и интегральными белками, пронизывающими структуру мембраны. В ее состав входят фосфолипиды, липопротеин, белки, небольшое количество углеводов и другие соединения. Стоит отметить, что липидный состав мембран непостоянен. Он может меняться в зависимости от условий культивирования и возраста культуры. Разные виды бактерий отличаются друг от друга по липидному составу своих мембран.

Цитоплазматическая мембрана по сути является разделительной перегородкой, через которую с помощью ферментов постоянно осуществляется активный транспорт различных веществ и ионов, являющихся жизненно необходимыми для клетки.

В клеточной мембране содержатся и высокочувствительные рецепторы, дающие возможность клетке идентифицировать сигналы, поступающие из окружающей среды, а также питательные вещества и различные антибактериальные соединения. Кроме того, на поверхности цитоплазматической мембраны находятся активные ферментные системы, которые принимают участие в синтезе белка, токсинов, ферментов, нуклеиновых кислот и других веществ, а также в окислительном фосфорилировании.

В случае избыточного роста относительно роста клеточной стенки цитоплазматическая мембрана образует инвагинаты, или выпячивания, представляющие собой либо сложно закрученные структуры – мезосомы, либо менее сложно закрученные структуры – внутрицитоплазматические мембраны. Хотя роль тех и других в жизнедеятельности клетки до конца не изучена, достоверно известно, что они играют немаловажную роль в образовании клеточных стенок и делении клетки, так как обеспечивают энергией синтез клеточной стенки, а также участвуют в секреции веществ и в спорообразовании, на которые затрачивается большое количество энергии.

3. Дополнительные органеллы бактерий

Дополнительными органеллами бактерий являются жгутики, ворсинки, капсулы и споры.

Жгутики – органеллы движения. Есть у подвижных грамположительных и грамотрицательных бактерий. Это особые белковые выросты, напоминающие собой тонкие спирально закрученные нити, исходящие от цитоплазматической мембраны и прикрепленные к клеточной стенке с помощью базального тела, которое состоит из целой системы дисков, соединяющих цитоплазматическую мембрану и клеточную стенку. Жгутики располагаются на поверхности бактериальной клетки. Длина жгутиков составляет 3–12 мкм, а толщина – 12–20 нм. Количество и расположение жгутиков у разных бактерий неодинаковы. Например, монотрихи имеют лишь один жгутик, а лофотрихи – целый пучок, который располагается на одном полюсе клетки, амфитрихи имеют по одному жгутику на каждом конце, у перитрихов жгутики располагаются по всей поверхности.

Химический состав жгутиков определяется одним веществом – флагеллином – белком, обладающим антигенной специфичностью. Кроме того, жгутики бактерий нередко и сами имеют белковый чехол.

При окраске по Грамму жгутики не видны, поэтому о подвижности бактерий можно судить, рассматривая живые микроорганизмы, приготовленные в виде препаратов «висячая» или «раздавленная» капля, с помощью метода фазово-контрастной микроскопии, либо косвенно – по характеру роста в среде Пешкова (полужидком агаре). При этом неподвижные бактерии растут строго по уколу, а подвижные дают диффузный рост. Бактерии находятся в движении за счет вращательных движений жгутиков. Скорость движения бактерии зависит от особенностей расположения жгутиков и физико-химических свойств среды, при этом большое значение имеют ее вязкость, осмотическое давление и другие показатели. Таким образом, будет совершенно естественным, что бактерии, имеющие жгутики, расположенные термально, будут передвигаться гораздо быстрее, чем бактерии со жгутиками, расположенными по всей поверхности.

Что касается направления передвижения бактерии, то они передвигаются либо беспорядочно, либо путем направленного перемещения большинства клеток таксиса. Кроме ориентированного (таксиса) перемещения, различают хемотаксис, вызванный разницей в концентрации химических веществ в среде, а также аэротаксис, связанный с разницей в содержании кислорода, и фототаксис, при котором различие в освещенности является главным фактором направленного движения.

Ворсинки (пили, фимбрии) – более тонкие и короткие по сравнению со жгутиками полые нитевидные белковые выросты, являющиеся поверхностными придатками бактериальной клетки. Известно более 60 типов ворсинок, хотя наиболее изученными являются только два. В зависимости от типа ворсинок определяется их функция:

1) ворсинки первого типа (комон-пили) покрывают всю поверхность бактерии, которая с их помощью способна прикрепляться к клеткам макроорганизмов. Они характерны для грамположительных бактерий;

2) ворсинки второго типа (половые ворсинки, или секс-пили) участвуют в передаче генетического материала от одной клетки к другой при конъюгации бактерий, обеспечивая контакт между мужскими и женскими бактериальными клетками в процессе конъюгации. Через них идет обмен генетической информацией от донора к реципиенту. Донор – мужская клетка – обладает секс-пилями. Женская клетка – реципиент – не имеет секс-пилей. Белок секс-пили кодируется генами F-плазмиды. Также эти ворсинки участвуют и в передаче и распространении лекарственной устойчивости бактерий.

Есть и еще один вид ворсинок, которые несут ответственность за питание и водно-солевой обмен в клетке.

Капсулы – поверхностные структуры большинства бактериальных клеток и представляют собой слизистое образование, которое в зависимости от толщины и строения образует микро- или макрокапсулу, прочно связанную с клеточной стенкой и имеющую четко очерченные внешние границы. Образование капсулы зависит от среды, в которой находится бактерия, она может быть утрачена клеткой с сохранением жизнеспособности. При этом капсулообразование является защитной функцией патогенной бактерии и предохраняет ее от фагоцитоза и других защитных механизмов макроорганизма.

Макрокапсулу можно выявить, используя специальные методы окраски, сочетая позитивные и негативные методы окраски. Как правило, капсула состоит из полисахаридов, реже полипептидов. Поскольку она обладает гидрофильностью, то препятствует фагоцитозу бактерии.

Микрокапсула обнаруживается только при электронной микроскопии и представляет собой утолщение верхних слоев клеточной стенки в виде слизистого образования.

Микрокапсулы характерны для вирулентных бактерий.

Среди бактерий различают:

1) истиннокапсульные бактерии (род *Klebsiella*) – сохраняют капсулообразование и при росте на питательных средах, а не только в макроорганизме;

2) ложнокапсульные – образуют капсулу только при попадании в макроорганизм.

Капсулы могут быть полисахаридными и белковыми. Они играют роль антигена, могут быть фактором вирулентности.

Внимательно изучая строение клетки, следует отличать слизь, покрывающую клетку, от капсулы. Слизь в отличие от макрокапсулы, как правило, не имеет четких внешних границ и представляет собой мукоидные экзополисахариды, которые участвуют в адгезии, или прилипанию к субстратам. Известно, что экзополисахариды синтезируются самими бактериями путем секреции их компонентов или синтезируются при действии внеклеточных ферментов на дисахариды.

Совместными усилиями капсула и слизь играют защитную роль, предохраняя бактерию от повреждений, высыхания (этому способствуют их гидрофильные свойства) и препятствуя действию защитных факторов бактериофагов и макроорганизма.

Споры образуются внутри бактериальной клетки и представляют собой тельца округлой или овальной формы. Факторами образования спор являются обеднение питательной среды, изменение ее влажности и (или) кислотности, а также старение культуры, попадание вегетативных клеток в почву и иное, т. е. возникновение неблагоприятных условий существования для бактерий. Особенности строения и химический состав спор (низкое содержание воды, повышенное количество кальция и др.) обеспечивают им высокую устойчивость к действию физических и химических факторов, что затрудняет борьбу со спороносными патогенными бактериями, способными сохраняться во внешней среде длительное время. Спорообразование присуще грамположительным бактериям. В отличие от вегетативных форм споры более устойчивы к действию химических, термических факторов.

Чаще всего споры образуют бактерии рода *Bacillus* и *Clostridium*.

Процесс спорообразования заключается в утолщении всех оболочек клетки. Они пропитываются солями дикальциата кальция, становятся плотными, клетка теряет воду, замедляются все ее пластические процессы. При попадании споры в благоприятные условия она прорастает в вегетативную форму.

У грамотрицательных бактерий также обнаружена способность сохраняться в неблагоприятных условиях в виде некультивируемых форм. При этом нет типичного спорообразования, но в таких клетках замедлены метаболические процессы, невозможно сразу получить

рост на питательной среде. Но при попадании в макроорганизм они превращаются в исходные формы.

Тема 3. Физиология бактерий

1. Рост и размножение бактерий

Жизнедеятельность бактерий в основном характеризуется их ростом и размножением.

Рост бактерий – увеличение бактериальной клетки в размерах без увеличения числа особей в популяции. Рост всегда предшествует размножению.

Размножение бактерий – процесс, обеспечивающий увеличение числа особей в популяции. Бактерии характеризуются высокой скоростью размножения, при этом она во многом зависит от видовой принадлежности бактерий и условий выращивания, которые включают в себя характер питательной среды, pH, температуру, аэрацию и др. Бактерии размножаются поперечным бинарным делением, при котором из одной материнской клетки образуются две одинаковые дочерние.

Процесс деления бактериальной клетки начинается с репликации хромосомной ДНК. В точке прикрепления хромосомы к цитоплазматической мембране (точке-репликаторе) действует белок-инициатор, который вызывает разрыв кольца хромосомы, и далее идет деспирализация ее нитей. Нити раскручиваются, и вторая нить прикрепляется к цитоплазматической мембране в точке-прорепликаторе, которая диаметрально противоположна точке-репликатору. За счет ДНК-полимераз по матрице каждой нити достраивается точная ее копия. Удвоение генетического материала – сигнал для удвоения числа органелл. В септальных мезосомах идет построение перегородки, делящей клетку пополам.

Двунитевая ДНК спирализуется, скручивается в кольцо в точке прикрепления к цитоплазматической мембране. Это является сигналом для расхождения клеток по септе. Образуются две дочерние особи.

На плотных питательных средах бактерии образуют скопления клеток – колонии, видимые невооруженным глазом, различные по размерам, форме, поверхности, окраске, зависящей от пигмента бактерий, консистенции и т. д. Наиболее распространенными пигментами среди микроорганизмов являются меланины, каротины, ксантофиллы и другие, многие из которых обладают защитным, антимикробным, антибиотикоподобным эффектом. Вид, форма, цвет, консистенция и другие характерные особенности колоний учитываются при идентификации бактерий и отборе колоний для получения чистой культуры. При этом также следует учитывать, что внешний вид колоний характерен для определенных бактерий, но порой в большей степени зависит от условий культивирования.

На жидких средах рост бактерий характеризуется образованием пленки на поверхности питательной среды, равномерного помутнения или осадка.

Размножение бактерий определяется временем генерации. Это период, в течение которого осуществляется деление клетки. Продолжительность генерации зависит от вида бактерий, возраста, состава питательной среды, температуры и др.

Фазы размножения бактериальной клетки на жидкой питательной среде:

1) начальная стационарная фаза; то количество бактерий, которое попало в питательную среду и в ней находится;

2) лаг-фаза (фаза покоя); продолжительность – 3–4 ч, происходит адаптация бактерий к питательной среде, начинается активный рост клеток, но активного размножения еще нет; в это время увеличивается количество белка, РНК;

3) фаза логарифмического размножения; активно идут процессы размножения клеток в популяции, размножение преобладает над гибелью;

4) максимальная стационарная фаза; бактерии достигают максимальной концентрации, т. е. максимального количества жизнеспособных особей в популяции; количество погибших бактерий равно количеству образующихся; дальнейшего увеличения числа особей не происходит;

5) фаза ускоренной гибели; процессы гибели преобладают над процессом размножения, так как истощаются питательные субстраты в среде. Накапливаются токсические продукты, продукты метаболизма. Этой фазы можно избежать, если использовать метод проточного культивирования: из питательной среды постоянно удаляются продукты метаболизма и восполняются питательные вещества.

Кроме размножения и роста, нормальная жизнедеятельность бактерий характеризуется и возрастной изменчивостью, т. е. способностью к изменению особей в разных стадиях роста, созревания и старения.

2. Питание бактерий

Под **питанием** понимают процессы поступления и выведения питательных веществ в клетку и из клетки. Питание в первую очередь обеспечивает размножение и метаболизм клетки. Стоит отметить, что бактериальные клетки не имеют специальных органов питания, поэтому являются голофитными.

Среди необходимых питательных веществ выделяют органогены – это девять химических элементов, концентрация которых в бактериальной клетке превосходит 10–4 моль. К ним относят углерод, кислород, водород, азот, фосфор, калий, магний, кальций, сера.

Кроме органогенов, необходимы микроэлементы. Они обеспечивают активность ферментов. Это цинк, марганец, молибден, кобальт, медь, никель, вольфрам, натрий, хлор.

Для бактерий характерно многообразие источников получения питательных веществ.

В зависимости от источника получения углерода бактерии делят на:

- 1) аутоотрофы (используют неорганические вещества – CO_2 и не нуждаются в сложных органических соединениях);
- 2) гетеротрофы (используют в качестве источника углерода разнообразные органические углеродосодержащие соединения, которыми являются углеводы, углеводороды, аминокислоты и органические кислоты);
- 3) метатрофы (используют органические вещества неживой природы);
- 4) паратрофы (используют органические вещества живой природы).

Процессы питания должны обеспечивать энергетические потребности бактериальной клетки.

По источникам энергии микроорганизмы делят на:

- 1) фототрофы (способны использовать солнечную энергию);
- 2) хемотрофы (получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций);
- 3) хемолитотрофы (используют неорганические соединения);
- 4) хемоорганотрофы (используют органические вещества). Факторами роста бактерий являются витамины, аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, присутствие которых ускоряет рост.

Среди бактерий выделяют:

- 1) прототрофы (способны сами синтезировать необходимые вещества из низкоорганизованных);
- 2) ауксотрофы (являются мутантами прототрофов, потерявшими гены; ответственны за синтез некоторых веществ – витаминов, аминокислот, поэтому нуждаются в этих веществах в готовом виде).

Микроорганизмы ассимилируют питательные вещества в виде небольших молекул, поэтому белки, полисахариды и другие биополимеры могут служить источниками питания только после расщепления их экзоферментами до более простых соединений.

Метаболиты и ионы поступают в микробную клетку различными путями.

Пути поступления метаболитов и ионов в микробную клетку:

- 1) пассивный транспорт (без энергетических затрат):
 - а) простая диффузия;
 - б) облегченная диффузия (по градиенту концентрации, с помощью белков-переносчиков);
- 2) активный транспорт (с затратой энергии, против градиента концентрации; при этом происходит взаимодействие субстрата с белком-переносчиком на поверхности цитоплазматической мембраны).

Встречаются модифицированные варианты активного транспорта – перенос химических групп. В роли белков-переносчиков выступают фосфорилированные ферменты, поэтому субстрат переносится в фосфорилированной форме. Такой перенос химической группы называется транслокацией.

3. Метаболизм бактериальной клетки

Обмен веществ (метаболизм) по сути является совокупностью двух взаимосвязанных противоположных процессов – катаболизма (диссимиляции), который представляет собой распад веществ в процессе ферментативных реакций и накопления выделяемой при этом энергии в молекулах АТФ, и анаболизма (ассимиляции), представляющего собой синтез веществ с затратой энергии.

Изучение обмена веществ у бактерий возможно с помощью применения физико-химических и биохимических методов исследования, которые проводятся в ходе культивирования бактерий в определенных условиях на специальных питательных средах, содержащих определенное соединение в качестве субстрата для трансформации.

Особенности метаболизма у бактерий:

- 1) многообразие используемых субстратов;
- 2) интенсивность процессов метаболизма;
- 3) направленность всех процессов метаболизма на обеспечение процессов размножения;
- 4) преобладание процессов распада над процессами синтеза;
- 5) наличие экзо- и эндоферментов метаболизма.

В процессе метаболизма выделяют два вида обмена:

- 1) пластический (конструктивный):
 - а) анаболизм (с затратами энергии);
 - б) катаболизм (с выделением энергии);
- 2) энергетический обмен (протекает в дыхательных мезосомах):
 - а) дыхание;
 - б) брожение.

В зависимости от акцептора протонов и электронов среди бактерий различают аэробы, факультативные анаэробы и облигатные анаэробы. Аэробы способны получать энергию только путем дыхания и постоянно нуждаются в молекулярном кислороде как конечном акцепторе электронов. Для них характерно окисление, при котором конечным акцептором электронов является кислород.

Облигатные анаэробы растут только в бескислородной среде или в среде с низким значением редокс-потенциала (Eh). Как тип окислительно-восстановительных процессов для них характерна ферментация с переносом электронов от субстрата-донора к субстрату-акцептору. Из этого можно сделать вывод, что для облигатных анаэробов характерно только брожение, в кислородных условиях наступает гибель микроорганизма из-за образования перекисей, идет отравление клетки.

Факультативные анаэробы способны расти как в присутствии кислорода, так и в его отсутствие, используя при этом в качестве терминальных акцепторов электронов молекулярный кислород или органические соединения. Кроме того, среди факультативных анаэробов встречаются бактерии, способные переключаться с окисления на ферментацию, а также такие бактерии, которые способны расти в присутствии атмосферного кислорода, при этом не используя его, а энергию получают исключительно с помощью брожения.

В микробной клетке ферменты являются биологическими катализаторами, отличающимися от других катализаторов исключительной эффективностью и высокой специфичностью как в отношении природы катализируемой реакции, так и в отношении структуры субстрата. Ферменты обеспечивают протекание реакций в физиологических условиях. Скорость этих реакций зависит от условий, в которых находится данный микроорганизм, в частности от температуры среды, ее pH и других факторов.

По строению среди ферментов выделяют:

1) простые ферменты (белки);

2) сложные; состоят из белковой (активного центра) и небелковой частей; необходимы для активизации ферментов.

Различают также:

1) конституитивные ферменты (синтезируются постоянно независимо от наличия субстрата);

2) индуцибельные ферменты (синтезируются только в присутствии субстрата).

Набор ферментов в клетке строго индивидуален для вида. Способность микроорганизма утилизировать субстраты за счет своего набора ферментов определяет его биохимические свойства.

Ферменты, образуемые микроорганизмами, могут локализоваться в различных частях клетки или быть связанными с ее иными структурами, также могут выделяться в окружающую среду. Поэтому по месту действия ферментов среди них выделяют:

1) экзоферменты – действуют вне клетки; принимают участие в процессе распада крупных молекул, которые не могут проникнуть внутрь бактериальной клетки; характерны для грамположительных бактерий;

2) эндоферменты – действуют в самой клетке, обеспечивают синтез и распад различных веществ.

В зависимости от катализируемых химических реакций все ферменты делят на шесть классов:

1) оксидоредуктазы (катализируют окислительно-восстановительные реакции между двумя субстратами);

2) трансферазы (осуществляют межмолекулярный перенос химических групп);

3) гидролазы (осуществляют гидролитическое расщепление внутримолекулярных связей);

4) лиазы (присоединяют химические группы по двум связям, а также осуществляют обратные реакции);

5) изомеразы (осуществляют процессы изомеризации, обеспечивают внутреннюю конверсию с образованием различных изомеров);

6) лигазы, или синтетазы (соединяют две молекулы, вследствие чего происходит расщепление пирофосфатных связей в молекуле АТФ).

Любой микроорганизм имеет свой ферментный состав, который определяется его геномом и является достаточно постоянным признаком. Поэтому определение ферментов имеет большое значение при дифференцировке и идентификации бактерий. При этом некоторые ферменты могут способствовать проявлению патогенных свойств различными возбудителями инфекционных болезней человека.

4. Виды пластического обмена

Основными видами пластического обмена являются:

- 1) белковый;
- 2) углеводный;
- 3) липидный;
- 4) нуклеиновый;
- 5) минеральный.

Белковый обмен характеризуется катаболизмом и анаболизмом. В процессе катаболизма бактерии разлагают белки под действием протеаз с образованием пептидов. Под действием пептидаз из пептидов образуются аминокислоты.

Распад белков в аэробных условиях называется тлением, в анаэробных – гниением.

В результате распада аминокислот клетка получает ионы аммония, необходимые для формирования собственных аминокислот. Бактериальные клетки способны синтезировать все 20 аминокислот. Ведущими из них являются аланин, глутамин, аспарагин. Они включаются в процессы переаминирования и трансаминирования. В белковом обмене процессы синтеза преобладают над распадом, при этом происходит потребление энергии.

В углеводном обмене у бактерий катаболизм преобладает над анаболизмом. Сложные углеводы внешней среды могут расщеплять только те бактерии, которые выделяют ферменты – полисахаридазы. Полисахариды расщепляются до дисахаров, которые под действием олигосахаридаз распадаются до моносахаров, причем внутрь клетки может поступать только глюкоза. Часть ее идет на синтез собственных полисахаридов в клетке, другая часть подвергается дальнейшему расщеплению, которое может идти по двум путям: по пути анаэробного распада углеводов – брожению (гликолизу) и в аэробных условиях – по пути горения.

В зависимости от конечных продуктов выделяют следующие виды брожения:

- 1) спиртовое (характерно для грибов);
- 2) пропионово-кислое (характерно для клостридий, пропиони-бактерий);
- 3) молочно-кислое (характерно для стрептококков);
- 4) масляно-кислое (характерно для сарцин);
- 5) бутилденгликолевое (характерно для бацилл).

Наряду с основным анаэробным распадом (гликолизом) могут быть вспомогательные пути расщепления углеводов (пентозофосфатный, кетодезоксифосфоглюконатный и др.) Они отличаются ключевыми продуктами и реакциями.

Липидный обмен осуществляется с помощью ферментов – липопротеиназ, лецитиназ, липаз, фосфолипаз.

Липазы катализируют распад нейтральных жирных кислот, т. е. ответственны за отщепление этих кислот от глицерина. При распаде жирных кислот клетка запасает энергию. Конечным продуктом распада является ацетил-КоА.

Биосинтез липидов осуществляется за счет ацетилпереносящих белков. При этом ацетильный остаток переходит на глицерофосфат с образованием фосфатидных кислот, а они уже вступают в химические реакции с образованием сложных эфиров со спиртами. Эти превращения лежат в основе синтеза фосфолипидов.

Бактерии способны синтезировать как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты, но синтез последних более характерен для аэробов, так как требует кислорода.

Нуклеиновый обмен бактерий связан с генетическим обменом. Синтез нуклеиновых кислот имеет значение для процесса деления клетки. Синтез осуществляется с помощью ферментов: рестриктазы, ДНК-полимеразы, лигазы, ДНК-зависимые-РНК-полимеразы.

Рестриктазы вырезают участки ДНК, убирая нежелательные вставки, а лигазы обеспечивают сшивку фрагментов нуклеиновой кислоты. ДНК-полимеразы ответственны за репликацию дочерней ДНК по материнской. ДНК-зависимые-РНК-полимеразы отвечают за транскрипцию, осуществляют построение РНК на матрице ДНК.

Минеральный обмен важен для синтеза тела бактерий. Для него необходимы не только азот и углерод, но и зольные элементы – сера, фосфор, калий и кальций, а также микроэлементы – бор, молибден, цинк, марганец, кобальт, никель, йод, бром, медь и др. В состав цитоплазмы бактерий входит сера, которая участвует в синтетических реакциях в виде R-SH. Данная сера восстановленной формы обладает высокой реактивностью и легко поддается дегидрированию с последующим превращением в сложные соединения, которые при гидрировании восстанавливаются, благодаря чему регулируется окислительно-восстановительный потенциал в цитоплазме бактерии.

В нуклеиновых кислотах, многих ферментах, различных фосфолипидах и других органических соединениях содержится фосфор, который не вступает в непосредственное соединение с углеродом, но образует связи через атомы кислорода. В процессе окислительных реакций высвобождается энергия, аккумулированная в цитоплазме клеток. При этом большую роль в энергетическом обмене в клетке играют АТФ– и АДФ-кислоты. Кроме того, фосфор входит в состав нуклеопротеидов, фосфолипидов, простетических групп большинства двухкомпонентных ферментов, являющихся важнейшими соединениями цитоплазмы.

Для нормального развития микроорганизмов необходимы катионы и анионы многих металлов, в том числе магния, кальция, железа. Микроэлементы участвуют в синтезе ферментов и активизируют их.

Тема 4. Генетика микроорганизмов. Бактериофаги

1. Организация наследственного материала бактерий

ДНК является материальной основой наследственности, которая определяет генетические свойства всех организмов, за исключением РНК-содержащих вирусов, у которых вся генетическая информация записана в РНК.

Геном – фрагмент молекулы ДНК, контролирующий синтез одного белка или пептида. Генетическая информация относительно всех признаков, присущих клетке или вириону, записана в генах. Гены, несущие информацию о синтезируемых микроорганизмами ферментах или структурных белках, называются структурными генами, их транскрипции регулируются регуляторными генами.

Наследственный аппарат бактерий представлен одной хромосомой, которая представляет собой молекулу ДНК, она спирализована и свернута в кольцо. Это кольцо в одной точке прикреплено к цитоплазматической мембране. На бактериальной хромосоме располагаются отдельные гены.

Функциональными единицами генома бактерий, кроме хромосомных генов, являются:

- 1) IS-последовательности;
- 2) транспозоны;
- 3) плазмиды.

IS-последовательности – это короткие фрагменты ДНК. Они не несут структурных (кодирующих белок) генов, а содержат только гены, ответственные за транспозицию (способность перемещаться по хромосоме и встраиваться в различные ее участки).

Транспозоны – это более крупные молекулы ДНК. Помимо генов, ответственных за транспозицию, они содержат и структурный ген. Транспозоны способны перемещаться по хромосоме. Их положение сказывается на экспрессии генов. Транспозоны могут существовать и вне хромосомы (автономно), но неспособны к автономной репликации.

Плазмиды – дополнительный внехромосомный генетический материал. Представляет собой кольцевую, двунитевую молекулу ДНК, гены которой кодируют дополнительные свойства, придавая селективные преимущества клеткам. Плазмиды способны к автономной репликации, т. е. независимо от хромосомы или под слабым ее контролем. За счет автономной репликации плазмиды могут давать явление амплификации: одна и та же плаزمида может находиться в нескольких копиях, тем самым усиливая проявление данного признака.

В зависимости от свойств признаков, которые кодируют плазмиды, различают:

1) *R-плазмиды*. Обеспечивают лекарственную устойчивость; могут содержать гены, ответственные за синтез ферментов, разрушающих лекарственные вещества, могут менять проницаемость мембран;

2) *F-плазмиды*. Кодируют пол бактерий. Мужские клетки (F+) содержат F-плазмиду, женские (F-) – не содержат. Мужские клетки выступают в роли донора генетического материала при конъюгации, а женские – реципиента. Они отличаются поверхностным электрическим зарядом и поэтому притягиваются. От донора переходит сама F-плазмиды, если она находится в автономном состоянии в клетке.

F-плазмиды способны интегрировать в хромосому клетки и выходить из интегрированного состояния в автономное. При этом захватываются хромосомные гены, которые клетка может отдавать при конъюгации;

3) *Col-плазмиды*. Кодируют синтез бактериоцинов. Это бактерицидные вещества, действующие на близкородственные бактерии;

4) *Tox-плазмиды*. Кодировать выработку экзотоксинов;

5) *плазмиды биодegradации*. Кодировать ферменты, с помощью которых бактерии могут утилизировать ксенобиотики.

Потеря клеткой плазмиды не приводит к ее гибели. В одной и той же клетке могут находиться разные плазмиды.

2. Изменчивость бактерий

Различают два вида изменчивости – фенотипическую и генотипическую.

Фенотипическая изменчивость – модификации – не затрагивает генотип. Модификации затрагивают большинство особей в популяции. Они не передаются по наследству и с течением времени затухают, т. е. возвращаются к исходному фенотипу.

Генотипическая изменчивость затрагивает генотип. В основе ее лежат мутации и рекомбинации.

Мутации – изменение генотипа, сохраняющееся в ряду поколений и сопровождающееся изменением фенотипа. Особенностью мутаций у бактерий является относительная легкость их выявления.

По локализации различают мутации:

- 1) генные (точечные);
- 2) хромосомные;
- 3) плазмидные.

По происхождению мутации могут быть:

- 1) спонтанными, образующимися самопроизвольно и без видимого внешнего воздействия;
- 2) индуцированными, появляющимися в результате обработки микробной популяции мутагенными агентами, которыми могут быть: радиация, температурные, химические и другие воздействия, т. е. экспериментальным путем.

По направлению мутационного изменения мутации подразделяются на:

- 1) прямые – возникают в геноме «дикого типа» у бактерий в естественных условиях обитания. Образовавшиеся особи являются мутантами.
- 2) обратные (реверсионные) – мутации, завершающиеся возвратом от мутантного типа к дикому. Особи, возникшие в результате таких мутаций, называются реверсентами. Реверсия может быть истинной в результате восстановления первоначального состояния мутантного гена; супрессорной, если реверсия происходит за счет дополнительной мутации.

Диссоциация – одна из форм мутации, в результате которой в популяции микроорганизмов возникают особи, отличающиеся от исходных внешним видом и структурой колоний, так называемые S-формы (круглые, влажные, с блестящей гладкой поверхностью и ровными краями) и R-формы (колонии неправильной формы, непрозрачные, сухие, с неровными краями и шероховатой поверхностью). S- и R-колонии являются крайними формами диссоциации, между которыми могут встречаться переходные формы. Диссоциация – явление генетической природы, оно связано с хромосомными мутациями генов, контролирующих синтез липополисахаридов клеточной стенки бактерий. Эта форма мутации известна у многих видов, возникает в природных условиях, но чаще выявляется в стареющих культурах.

Рекомбинации – это обмен генетическим материалом между двумя особями с появлением рекомбинантных особей с измененным генотипом.

У бактерий существует несколько механизмов рекомбинации:

- 1) конъюгация;
- 2) слияние протопластов;
- 3) трансформация;
- 4) трансдукция.

Конъюгация – обмен генетической информацией при непосредственном контакте донора и реципиента. Наиболее высокая частота передачи у плазмид, при этом плазмиды могут иметь разных хозяев. После образования между донором и реципиентом конъюгационного

мостики одна нить ДНК-донора поступает по нему в клетку-реципиент. Чем дольше этот контакт, тем большая часть донорской ДНК может быть передана реципиенту.

Слияние протопластов – механизм обмена генетической информацией при непосредственном контакте участков цитоплазматической мембраны у бактерий, лишенных клеточной стенки.

Трансформация – передача генетической информации в виде изолированных фрагментов ДНК при нахождении реципиентной клетки в среде, содержащей ДНК-донора. Для трансдукции необходимо особое физиологическое состояние клетки-реципиента – компетентность. Это состояние присуще активно делящимся клеткам, в которых идут процессы репликации собственных нуклеиновых кислот. В таких клетках действует фактор компетентности – это белок, который вызывает повышение проницаемости клеточной стенки и цитоплазматической мембраны, поэтому фрагмент ДНК может проникать в такую клетку.

Эффективность трансформации зависит от физико-химических условий, а также физиологического состояния реципиентов и трансформирующей ДНК.

Трансдукция – это передача генетической информации между бактериальными клетками с помощью умеренных трансдуцирующих фагов. Трансдуцирующие фаги могут переносить один или более генов. Трансдукция бывает:

1) специфической (переносится всегда один и тот же ген, трансдуцирующий фаг всегда располагается в одном и том же месте);

2) неспецифической (передаются разные гены, локализация трансдуцирующего фага непостоянна).

3. Бактериофаги

Бактериофаги (фаги) – это вирусы, поражающие клетки бактерий. Они не имеют четкой структуры, не способны сами синтезировать нуклеиновые кислоты и белки, поэтому являются облигатными внутриклеточными паразитами. Бактериофаги широко распространены в природе и находятся в воде, почве, пищевых продуктах, различных выделениях из организма людей и животных. Выявляются у большинства патогенных и непатогенных микроорганизмов.

Фаги различаются по форме, типу взаимодействия с микробной клеткой и специфичности.

Большинство фагов имеет форму головастика или сперматозоида, некоторые фаги имеют кубическую или нитевидную форму. Размеры колеблются от 20 до 800 нм у нитевидных фагов.

Фаги, напоминающие своим внешним видом головастиков, изучены наиболее полно. Под микроскопом отчетливо видно, что они состоят из вытянутой икосаэдрической головки и хвостового отростка, внутри которого имеется цилиндрический стержень, сообщаемый отверстием с головкой. Снаружи хвостовой отросток покрыт чехлом, который способен сокращаться наподобие мышцы. Заканчивается хвостовой отросток шестиугольной базальной пластинкой, имеющей короткие шипы с нитевидными структурами, называемыми фибриллами.

Химический состав фагов ограничивается двумя основными химическими компонентами: нуклеиновыми кислотами (ДНК или РНК) и белком. Двунитчатая ДНК плотно упакована в виде спирали внутри головки. Белки же входят в состав оболочки, окружающей нуклеиновую кислоту, и во все структурные элементы хвостового отростка. Структурные белки фага различаются по составу полипептидов и бывают в виде множества идентичных субъединиц, которые уложены по спиральному или кубическому типу симметрии. У некоторых фагов, кроме структурных белков, обнаружены геномные, или внутренние, белки, связанные с нуклеиновой кислотой, а также белки-ферменты, которые участвуют во взаимодействии фага с клеткой.

Фаги по сравнению с бактериями являются более устойчивыми к действию химических и физических факторов. Так, ряд дезинфицирующих веществ не оказывает существенного влияния на фаги, но отмечается их высокая чувствительность к формалину и кислотам. При температуре 65–70 °С наступает инактивация большинства фагов. При высушивании в запаянных ампулах, а также при замораживании в глицерине при температуре – 185 °С они способны сохраняться длительное время. Ультрафиолетовые лучи и ионизирующая радиация вызывают их инактивацию, а в более низких дозах – мутацию.

Фаги могут существовать в двух формах:

- 1) внутриклеточной (это профаг, чистая ДНК);
- 2) внеклеточной (это вирион).

Фаги, как и другие вирусы, обладают антигенными свойствами и содержат группоспецифические и типоспецифические антигены.

Различают два типа взаимодействия фага с клеткой:

- 1) литический (продуктивная вирусная инфекция). Это тип взаимодействия, при котором происходит репродукция вируса в бактериальной клетке. Она при этом погибает. Вначале происходит адсорбция фагов на клеточной стенке. Затем следует фаза проникновения. В месте адсорбции фага действует лизоцим, и за счет сократительных белков хвостовой части в клетку впрыскивается нуклеиновая кислота фага. Далее следует средний период, в течение которого подавляется синтез клеточных компонентов и осуществляется дисконъюнктивный способ репродукции фага. При этом в области нуклеоида синтезируется нуклеиновая кислота фага, а затем на рибосомах осуществляется синтез белка. Фаги, обладающие литическим типом взаимодействия, называют вирулентными.

В заключительный период в результате самосборки белки укладываются вокруг нуклеиновой кислоты и образуются новые частицы фагов. Они выходят из клетки, разрывая ее клеточную стенку, т. е. происходит лизис бактерии;

2) лизогенный. Это умеренные фаги. При проникновении нуклеиновой кислоты в клетку идет интеграция ее в геном клетки, наблюдается длительное сожительство фага с клеткой без ее гибели. При изменении внешних условий могут происходить выход фага из интегрированной формы и развитие продуктивной вирусной инфекции.

Клетка, содержащая профаг в геноме, называется лизогенной и отличается от исходной наличием дополнительной генетической информации за счет генов профага. Это явление лизогенной конверсии.

По признаку специфичности выделяют:

- 1) поливалентные фаги (лизируют культуры одного семейства или рода бактерий);
- 2) моновалентные (лизируют культуры только одного вида бактерий);
- 3) типовые (способны вызывать лизис только определенных типов (вариантов) бактериальной культуры внутри вида бактерий).

Фаги могут применяться в качестве диагностических препаратов для установления рода и вида бактерий, выделенных в ходе бактериологического исследования. Однако чаще их применяют для лечения и профилактики некоторых инфекционных заболеваний. Умеренные фаги используются в качестве векторов для получения рекомбинантных ДНК в генной инженерии и биотехнологии.

Тема 5. Распространение микробов в природе и методы микробиологического контроля почвы, воды и воздуха

1. Микрофлора почвы

Плодородие почвы обеспечивается не только наличием в ней неорганических и органических веществ, но и различными видами микроорганизмов, которые обуславливают качественный состав почвы. Наиболее богаты микроорганизмами верхние слои почвы. Так, на глубине 5–15 см их содержится 1 000 000 в 1 мм³, но с увеличением глубины их число снижается, и на глубине 1,5 м и более можно встретить лишь единичные особи. Плотность микрофлоры особенно высока в черноземных, каштановых почвах, а также в хорошо удобряемых сероземах. Всего лишь 1 г плодородной почвы содержит несколько миллионов бактерий большинства известных к настоящему времени видов, миллион спор грибов, полсотни тысяч водорослей и четверть сотни тысяч простейших. Микрофлора плодородной почвы представлена микробными популяциями водорослей, актиномицетов, нитрифицирующих, денитрифицирующих, целлюлозоразлагающих бактерий, пигментных микробов, грибов, простейших, серобактерий, азотфиксирующих бактерий. Вместе с растениями и животными они составляют сложные и многообразные биогеоценозы, плотность и состав которых, а также функциональная активность и другие важные характеристики зависят прежде всего от типа и структуры почвы, от ее физико-химических показателей, в том числе от влажности и интенсивности инсоляции.

Почвенные микроорганизмы участвуют во всех процессах превращения веществ и энергии. При этом они осуществляют синтез биомассы и аккумуляцию энергии, биологическую фиксацию азота, брожение, гниение, нитрификацию и т. д. Так как все эти процессы протекают в природе с достаточно большой скоростью, то в результате происходит относительно быстрое превращение органических веществ в гумус, определяющий плодородие почвы.

Через почву могут передаваться возбудители многих инфекционных заболеваний, таких как столбняк, газовая гангрена, ботулизм.

Аспорогенные, патогенные и условно-патогенные бактерии, а также многие вирусы способны выживать в почве в течение от нескольких дней до нескольких месяцев, а споры возбудителей столбняка, сибирской язвы, анаэробной раневой инфекции могут сохраняться в течение многих лет. Кроме того, для возбудителей ботулизма, актиномикоза, глубоких микозов и микотоксикозов почва и вовсе является естественной средой обитания. Поэтому ранения кожных покровов, загрязненные землей, требуют безотлагательной профилактики с целью предупреждения развития раневой инфекции.

2. Микрофлора воды

Вода открытых морских и пресноводных водоемов, так же как и почва, является естественной средой обитания разнообразных бактерий, грибов, вирусов, микроскопических водорослей, простейших, также участвующих в циклах превращений соединений азота, углерода, серы, фосфора и других важных элементов. При этом отмечается обеднение микрофлорой грунтовых вод: в них содержатся лишь единичные микроорганизмы. Это объясняется их задержкой более верхними слоями почвы.

Так же как и в различных слоях почвы, состав микроорганизмов в различных слоях воды неодинаков и обусловлен степенью их адаптации к определенным условиям, включающим физико-химические условия, освещенность, степень растворимости кислорода и диоксида углерода, содержание органических и минеральных веществ и др. Этим обусловлены и различия в функциях микроорганизмов на поверхности воды и на дне водоема. Так, на поверхности воды микроорганизмы образуют пленку, в которой протекают процессы фотосинтеза. На дне, в иле, при наличии анаэробных условий активно протекают процессы гниения и брожения, хемоавтотрофного, метилтрофного и гетеротрофного синтеза.

Количественный и качественный состав микрофлоры воды также зависит от состава и концентрации минеральных и органических веществ, физико-химического состояния, рН среды, температуры и иных факторов. Так, в водоемах с низким содержанием органических соединений распространены сапрофитные микроорганизмы, не проявляющие требовательности к питательным субстратам. При повышенном содержании органических веществ в воде отмечается бурный рост популяции микроорганизмов, более требовательных к питательным веществам, что стимулирует их потребление простейшими, а это в свою очередь приводит к разрастанию водорослей с последующим явлением «цветения» воды.

В водах пресных водоемов встречаются кокковидные (микрোকки), палочковидные (псевдомонады, аэромонады и др.) и извитые бактерии. При загрязнении воды органическими веществами увеличивается число анаэробных (особенно в иле на дне водоема) и аэробных бактерий, а также грибов. При этом микрофлора воды способна выполнять и роль активного фактора в процессе самоочищения воды от органических отходов, утилизирующихся микроорганизмами.

В отличие от тех возбудителей, которые могут находиться в почве, для водных источников характерна другая группа условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. К ним относят возбудителей заболеваний, имеющих водный путь передачи: лептоспироза, туляремии, гепатита А, острых кишечных инфекций (например, дизентерии, брюшного тифа и холеры, которые могут принимать характер водных эпидемий). Загрязнение водоемов данными видами микроорганизмов происходит в результате поступления в них фекально-бытовых сточных вод из прибрежных населенных пунктов, а также сточных вод животноводческих и птицеводческих хозяйств, попадания в воду трупов животных, погибших от различных инфекций. Таким образом, при массивном поступлении фекально-бытовых, а также ливневых и промышленных сточных вод в водоемах отмечается увеличение содержания заносных условно-патогенных и патогенных микробов. При этом, даже если в воде условия для их жизнедеятельности не являются благоприятными, они способны переживать их какое-то время. Сроки выживания во многом зависят от степени интенсивности процессов самоочищения воды и свойств самих микроорганизмов.

3. Микрофлора воздуха

Микрофлора воздуха во многом связана с микрофлорой почвы и воды, но тем не менее является самой непригодной для размножения микроорганизмов вследствие отсутствия питательных веществ, достаточного количества влаги и высушивания под солнечными лучами. Все эти факторы обуславливают быструю гибель микробов в воздухе. Эти же причины определяют видовой и численный состав микрофлоры атмосферного воздуха, ее вариабельность и динамичность. Больше количество микроорганизмов отмечается в воздухе больших населенных пунктов, меньшее – в воздухе сельской местности, над лесами, горами и морями.

Состав микрофлоры воздуха зависит от состава микрофлоры почвы, воды, времени года, климатических и метеорологических условий. Так, при достаточно высокой температуре и влажности воздуха микроорганизмов в нем гораздо больше, чем в сухом холодном воздухе. Чаще всего в воздухе находятся споровые формы бактерий и грибов; аспорогенные бактерии представлены чаще пигментообразующими видами.

Что касается воздуха закрытых помещений, то он может содержать и микрофлору верхних дыхательных путей и кожи человека. Обсемененность воздуха помещения во многом зависит от объема самого помещения, степени уборки, освещенности, частоты проветриваний, количества людей (и состояния их здоровья) в данном помещении, вида трудовой деятельности и других факторов.

Бактерии, вирусы и грибы попадают в воздух транзиторно в процессе жизнедеятельности человека (при разговоре, чиханьи, кашле) и сохраняются в воздухе в течение времени, достаточного для инфицирования находящихся в помещении людей. Так они становятся причиной заболеваний, передающихся воздушно-капельным путем. К таким заболеваниям относят: скарлатину, дифтерию, коклюш, туберкулез, стафилококковые инфекции, являющиеся бактериальными инфекциями, и грипп, парагрипп, корь и другие вирусные инфекции.

4. Санитарно-бактериологические исследования

Загрязнение объектов окружающей среды условно-патогенными и патогенными микроорганизмами представляет собой серьезную эпидемиологическую опасность. В связи с этим санитарно-бактериологические исследования приобретают важное практическое значение, так как позволяют оценить санитарно-гигиеническое состояние почвы, воды и воздуха. Эти исследования проводятся центрами государственного противозидемического надзора по следующим критериям:

1) общее микробное число (ОМЧ) – общее количество микроорганизмов в определенном объеме воздуха или воды;

2) наличие санитарно-показательных микроорганизмов – условно-патогенных микроорганизмов, присутствие которых в пробе свидетельствует о возможном загрязнении того или иного объекта патогенными бактериями, которые поражают те же органы и ткани или полости организма и животных, в которых обитают и эти условно-патогенные микроорганизмы. Кроме того, наличие санитарно-показательных организмов в объектах внешней среды является свидетельством загрязнения их экскретами человека или животных, а их количественный учет позволяет определить массивность загрязнения и степень эпидемической опасности объекта.

Почва

Кроме общего микробного числа, существуют два критерия состояния почвы:

- 1) присутствие бактерий группы кишечной палочки;
- 2) наличие патогенных и условно-патогенных энтеробактерий.

По общему микробному числу микроорганизмов на 1 г почвы делятся на:

- 1) чистые (до 10 000);
- 2) слабозагрязненные (до 100 000);
- 3) сильнозагрязненные (более 1 000 000).

Этот показатель важен для оценки пригодности земли для хозяйственных застроек, организации зон отдыха, охранных зон источников водоснабжения.

В качестве санитарно-показательных микроорганизмов почвы выбраны представители бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, так как они являются представителями нормальной микрофлоры кишечника и так же, как и патогенные энтеробактерии – возбудители острых кишечных инфекций, не приспособлены к самостоятельному существованию, т. е. все представители этого семейства (патогенные и условно-патогенные), как правило, не размножаются в воде и не могут сохраняться в ней достаточно длительный срок; при этом многие из них имеют примерно одинаковую продолжительность выживания.

Санитарно-микробиологическое исследование почвы регламентируется МУ 2.1.7.730-99 «Гигиеническая оценка качеств почв населенных мест». В соответствии со схемой оценки эпидемической опасности почв населенных пунктов, приведенной в данном нормативном документе, загрязненной считается почва, содержащая бактерии группы кишечной палочки (БГКП) в количестве больше 10 клеток на 1 г почвы.

Питьевая вода

Санитарное состояние воды оценивается по таким критериям, как:

1) общее микробное число (ОМЧ). Для питьевой воды нормальным считается общее микробное число в 1 мл воды, не превышающее 100 КОЕ (колониеобразующих единиц)/мл.

Для источников непитьевого водоснабжения и для открытых водоемов значение этого показателя значительно выше;

2) наиболее вероятное число колиформных бактерий (НВЧ) – граммотрицательных, не образующих спор палочек, не обладающих оксидазной активностью, ферментирующих лактозу или манит при температуре 37 °С в течение 24 ч (лактозоположительные кишечные палочки). НВЧ не должно быть больше 0,7 в 100 мл воды;

3) число термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ), обладающих всеми признаками колиформных бактерий, кроме этого, способных ферментировать лактозу до кислоты из газа при температуре 44 °С в течение 24 ч. Наличие термотолерантных колиформных бактерий является свидетельством свежфекального загрязнения воды.

Колиформные бактерии и термотолерантные колиформные бактерии должны быть обнаружены более чем в 300 мл воды.

Бактерии семейства Enterobacteriaceae выбраны санитарно-показательными микроорганизмами воды по тем же причинам, что и для почвы.

Нормативными документами, регламентирующими санитарно-микробиологическое исследование воды, являются ГОСТ-18963073 и МУК 4.2.671-97 «Методы санитарно-микробиологического анализа питьевой воды».

Воздух

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха подразумевает изучение воздуха только тех или иных закрытых помещений по таким критериям, как:

1) общее микробное число в 1 м³ воздуха;

2) наличие в 1 м³ воздуха санитарно-показательных микроорганизмов, которыми в данном случае являются золотистый стафилококк и синегнойная палочка (последняя – только в воздухе медицинских учреждений хирургического профиля). Золотистый стафилококк является санитарно-показательным микроорганизмом в связи с тем, что в воздухе наряду с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами, являющимися возбудителями широкого спектра инфекционных заболеваний, передающихся воздушно-капельным путем, чаще всего выявляются представители нормальной микрофлоры кожи и верхних дыхательных путей.

Стоит отметить, что золотистый стафилококк и синегнойная палочка являются основными возбудителями внутрибольничных инфекций, поэтому контроль бактериального загрязнения воздуха этими бактериями является одним из важнейших путей их профилактики.

Уровень микробной загрязненности воздуха лечебно-профилактических учреждений и специальных производств (по общему микробному числу) нормируется приказами Минздрава России и различными методическими рекомендациями. Посев воздуха с целью выделения возбудителей внутрибольничных инфекций производится по эпидемиологическим показаниям.

5. Роль микроорганизмов в круговороте веществ

Минерализация органических соединений растительного и животного происхождения до углерода, азота, серы, фосфора и иного происходит с помощью микроорганизмов.

Круговорот углерода протекает при активном участии в нем растений, водорослей, цианобактерий, которые фиксируют CO_2 в процессе фотосинтеза, а также при участии микроорганизмов, разлагающих органические вещества отмерших растений и животных с выделением CO_2 . Аэробное разложение органических веществ сопровождается образованием CO_2 и воды, анаэробное брожение – кислотами, спиртами и CO_2 .

Атмосферный азот связывают только клубеньковые бактерии и свободноживущие почвенные микроорганизмы. Псевдомонады, протей, бациллы, клостридии минерализуют органические соединения растительных, животных и микробных остатков, превращая их в соединения аммония. Этот процесс получил название аммонификации (или минерализации азота). Во время распада белков в присутствии кислорода образуются диоксид углерода, аммиак, сульфаты и вода, при отсутствии кислорода – аммиак, амины, диоксид углерода, органические кислоты, индол, скатол, сероводород. Наиболее усвояемыми для растений являются нитраты, или азотнокислые соли. Они появляются при распаде органических веществ в процессе окисления аммиака до азотистой, а впоследствии – и азотной кислоты. Этот процесс называется нитрификацией, а микроорганизмы, вызывающие его, – нитрифицирующими. Процесс нитрификации протекает в две фазы:

1) аммиак окисляется до азотистой кислоты с образованием нитритов. Этот процесс осуществляют бактерии рода нитрозомонас и др.;

2) азотистая кислота окисляется до азотной и превращается в нитраты. Этот процесс обеспечивают бактерии рода нитробактер и др.

Процесс нитрификации является примером взаимоотношений микроорганизмов, при которых один микроорганизм размножается, используя продукты жизнедеятельности другого микроорганизма.

Нитраты играют двоякую роль в плодородии почвы: с одной стороны они повышают плодородие, а с другой – в результате процесса денитрификации восстанавливаются с выделением свободного азота. Этот процесс обедняет запас азота в виде солей в почве, приводя тем самым к снижению ее плодородия.

Тема 6. Нормальная микрофлора организма человека

1. Нормальная микрофлора человека

Организм человека и населяющие его микроорганизмы являются единой экосистемой. Поверхности кожи и слизистых оболочек тела человека обильно заселены бактериями. При этом количество бактерий, населяющих покровные ткани (кожу, слизистые оболочки), во много раз превосходит число собственных клеток хозяина. Количественные колебания бактерий в биоценозе могут достигать для некоторых бактерий нескольких порядков и, тем не менее, укладываются в принятые нормативы.

Нормальная микрофлора человека – это совокупность множества микробиоценозов, характеризующихся определенными взаимосвязями и местом обитания.

В организме человека в соответствии с условиями обитания формируются биотопы с определенными микробиоценозами. Любой микробиоценоз – это сообщество микроорганизмов, существующее как единое целое, связанное цепями питания и микроэкологией.

Виды нормальной микрофлоры:

1) *резидентная* – постоянная, характерна для данного вида. Количество характерных видов относительно невелико и относительно стабильно, хотя численно они всегда представлены наиболее обильно. Резидентная микрофлора обнаруживается в определенных местах тела человека, при этом важным фактором является его возраст;

2) *транзиторная* – временно попавшая, не характерная для данного биотопа; она активно не размножается, поэтому, хотя видовой состав транзиторных микроорганизмов и разнообразен, но они не являются многочисленными. Характерной особенностью этого вида микрофлоры является то, что, как правило, попадая на кожу или слизистые оболочки из окружающей среды, не вызывает заболеваний и не обитает постоянно на поверхностях тела человека. Она представлена сапрофитными условно-патогенными микроорганизмами, которые обитают на коже или слизистых оболочках в течение нескольких часов, дней или недель. Присутствие транзиторной микрофлоры определяется не только поступлением микроорганизмов из окружающей среды, но и состоянием иммунной системы организма хозяина, составом постоянной нормальной микрофлоры. Состав транзиторной микрофлоры не является постоянным и зависит от возраста, внешней среды, условий труда, рациона питания, перенесенных заболеваний, травм и стрессовых ситуаций.

Нормальная микрофлора формируется с рождения, и в это время на ее формирование оказывает влияние микрофлора матери и внутрибольничной среды, характер вскармливания. Заселение бактериями организма продолжается на протяжении всей его жизни. При этом качественный и количественный состав нормальной микрофлоры регулируется сложными антагонистическими и синергическими отношениями между отдельными ее представителями в составе биоценозов. Микробное обсеменение характерно для всех систем, имеющих контакты с окружающей средой. Тем не менее в норме многие ткани и органы здорового человека стерильны, в частности кровь, ликвор, суставная жидкость, плевральная жидкость, лимфа грудного протока, внутренние органы: сердце, мозг, паренхима печени, почек, селезенки, матка, мочевого пузыря, альвеолы легких. Стерильность в данном случае обеспечивается неспецифическими клеточными и гуморальными факторами иммунитета, препятствующими проникновению микробов в эти ткани и органы.

На всех открытых поверхностях и во всех открытых полостях формируется относительно стойкая микрофлора, специфичная для данного органа, биотипа или его участка.

Наибольшей обсемененностью характеризуются:

1) *толстый кишечник*. В составе нормальной микрофлоры преобладают анаэробные бактерии (96–99 %) (бактероиды, анаэробные молочнокислые бактерии, клостридии, анаэробные стрептококки, фузобактерии, эубактерии, вейлонеллы), аэробные и факультативно-анаэробные бактерии (1–4 %) (грамотрицательные колиформные бактерии – кишечная палочка, энтерококки, стафилококки, протеи, псевдомонады, лактобациллы, грибы рода *Candida*, отдельные виды спирохет, микобактерий, микоплазм, простейших и вирусов);

2) *ротовая полость*. Нормальная микрофлора разных отделов ротовой полости различна и определяется биологическими особенностями обитающих здесь видов. Представители микрофлоры ротовой полости делятся на три категории:

- а) стрептококки, нейссерии, вейлонеллы;
- б) стафилококки, лактобактерии, нитевидные бактерии;
- в) дрожжеподобные грибы;

3) *мочевыделительная система*. Нормальная микрофлора наружной части уретры у мужчин и женщин представлена коринебактериями, микобактериями, грамотрицательными бактериями фекального происхождения и неспорообразующими анаэробами (это пептококки, пептострептококки, бактероиды). На наружных половых органах у мужчин и женщин локализуются микобактерии смегмы, стафилококки, микоплазмы и сапрофитные трепонемы;

4) *верхние дыхательные пути*. Собственная микрофлора носа состоит из коринебактерий, нейссерий, коагулазо-отрицательных стафилококков и α -гемолитических стрептококков; в качестве транзитных видов могут присутствовать *S. aureus*, *E. coli*, β -гемолитические стрептококки. Микрофлора зева более разнообразна из-за смешивания микрофлоры полости рта и воздухоносных путей и состоит из: нейссерий, дифтероидов, α - и β -гемолитических стрептококков, энтерококков, микоплазм, коагулазо-отрицательных стафилококков, моракселл, бактероидов, боррелий, трепонем и актиномицетов. В верхних дыхательных путях преобладают стрептококки и нейссерии, встречаются стафилококки, дифтероиды, гемофильные бактерии, пневмококки, микоплазмы, бактероиды;

5) *кожа*, особенно ее волосистая часть. В связи с постоянным контактом с внешней средой кожа является местом обитания транзитных микроорганизмов, при этом имея постоянную микрофлору, состав которой различен в разных анатомических зонах и зависит от содержания кислорода в окружающей бактерии среде, а также от близости к слизистым оболочкам, особенностей секреции и других факторов. Состав резидентной микрофлоры кожи и слизистых оболочек характеризуется наличием *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Micrococcus spp.*, *Sarcinia spp.*, *Propionibacterium spp.*, коринеформными бактериями. В состав транзитной микрофлоры входят: *Streptococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Acinebacter spp.*, *Moraxella spp.*, *Pseudomonadaceae*, *Lactobacillus spp.*, *Nocardiodes spp.*, *aspergillus spp.*, *Candida albicans*.

Микроорганизмы, составляющие нормальную микрофлору, представляют собой четкую морфологическую структуру в виде биопленки – полисахаридного каркаса, состоящего из полисахаридов микробных клеток и муцина. В нем находятся микроколонии клеток нормальной микрофлоры. Толщина биопленки – 0,1–0,5 мм. В ней содержится от нескольких сотен до нескольких тысяч микроколоний, образующихся как из анаэробных, так и аэробных бактерий, соотношение которых в большинстве биоценозов составляет 10:1–100:1.

Формирование биопленки создает для бактерий дополнительную защиту. Внутри биопленки бактерии более устойчивы к действию химических и физических факторов.

Факторы, влияющие на состояние нормальной микрофлоры:

1) эндогенные:

- а) секреторная функция организма;
- б) гормональный фон;

в) кислотно-основное состояние;

2) экзогенные: условия жизни (климатические, бытовые, экологические).

Этапы формирования нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ):

1) *случайное обсеменение слизистой*. В ЖКТ попадают лактобациллы, клостридии, бифидобактерии, микрококки, стафилококки, энтерококки, кишечная палочка и др.;

2) *формирование сети из ленточных бактерий на поверхности ворсинок*. На ней фиксируются в основном палочковидные бактерии, постоянно идет процесс формирования биопленки.

2. Основные функции нормальной микрофлоры

Нормальная микрофлора рассматривается как самостоятельный экстракорпоральный орган с определенной анатомической структурой и следующими функциями.

1. *Антагонистическая функция.* Нормальная микрофлора обеспечивает колонизационную резистентность, т. е. устойчивость соответствующих участков тела (эпитопов) к заселению случайной, в том числе и патогенной, микрофлорой. Эта устойчивость обеспечивается как выделением веществ, оказывающих бактерицидное и бактериостатическое действие, так и конкуренцией бактерий за питательные субстраты и экологические ниши.

2. *Иммуногенная функция.* Бактерии, являющиеся представителями нормальной микрофлоры, постоянно поддерживают иммунную систему в должном состоянии своими антигенами.

3. *Пищеварительная функция.* Нормальная микрофлора принимает участие в полостном пищеварении за счет своих ферментов.

4. *Метаболическая функция.* Нормальная микрофлора участвует в обмене белков, липидов, уратов, оксалатов, стероидных гормонов, холестерина за счет своих ферментов.

5. *Витаминообразующая функция.* Как известно, в процессе метаболизма отдельные представители нормальной микрофлоры образуют витамины. Так, бактерии толстого кишечника синтезируют биотин, рибофлавин, пантотеновую кислоту, витамины К, Е, В₂, фолиевую кислоту, не всасывающиеся в толстом кишечнике, поэтому следует рассчитывать только на те из них, которые в небольшом количестве образуются в подвздошной кишке.

6. *Детоксикационная функция.* Нормальная микрофлора способна обезвреживать образующиеся в организме токсические продукты обмена веществ или организмы, попавшие из внешней среды, путем биосорбции или трансформации в нетоксичные соединения.

7. *Регуляторная функция.* Нормальная микрофлора участвует в регуляции газового, водно-солевого обмена, поддержании рН среды.

8. *Генетическая функция.* Нормальная микрофлора в этом случае является неограниченным банком генетического материала, так как обмен генетического материала постоянно происходит как между самими представителями нормальной микрофлоры, так и патогенными видами, попадающими в ту или иную экологическую нишу.

При этом нормальная микрофлора кишечника играет важную роль в конверсии желчных пигментов и желчных кислот, абсорбции питательных веществ и продуктов их расщепления. Ее представители продуцируют аммиак и другие продукты, которые могут адсорбироваться и участвовать в развитии печеночной комы.

3. Дисбактериоз

Дисбактериоз (дисбиоз) – это любые количественные или качественные изменения типичной для данного биотопа нормальной микрофлоры человека, возникающие в результате воздействия на макро– или микроорганизм различных неблагоприятных факторов.

Микробиологическими показателями дисбиоза служат:

- 1) снижение численности одного или нескольких постоянных видов;
- 2) потеря бактериями тех или иных признаков или приобретение новых;
- 3) повышение численности транзиторных видов;
- 4) появление новых, не свойственных данному биотопу видов;
- 5) ослабление антагонистической активности нормальной микрофлоры.

Причинами развития дисбактериоза могут быть:

- 1) антибиотико– и химиотерапия;
- 2) тяжелые инфекции;
- 3) тяжелые соматические заболевания;
- 4) гормонотерапия;
- 5) лучевые воздействия;
- 6) токсические факторы;
- 7) дефицит витаминов.

Дисбактериоз различных биотопов имеет различные клинические проявления. Дисбактериоз кишечника может проявляться в виде диареи, неспецифического колита, дуоденита, гастроэнтерита, хронических запоров. Дисбактериоз органов дыхания протекает в форме бронхитов, бронхиолитов, хронических заболеваний легких. Основными проявлениями дисбиоза ротовой полости являются гингивиты, стоматит, кариес. Дисбактериоз половой системы у женщин протекает как вагиноз.

В зависимости от выраженности этих проявлений различают несколько фаз дисбактериоза:

- 1) компенсированную, когда дисбактериоз не сопровождается какими-либо клиническими проявлениями;
- 2) субкомпенсированную, когда в результате дисбаланса нормальной микрофлоры возникают локальные воспалительные изменения;
- 3) декомпенсированную, при которой происходит генерализация процесса с возникновением метастатических воспалительных очагов.

Лабораторная диагностика дисбактериоза

Основной метод – бактериологическое исследование. При этом в оценке его результатов преобладают количественные показатели. Проводится не видовая идентификация, а только до рода.

Дополнительный метод – хроматография спектра жирных кислот в исследуемом материале. Каждому роду соответствует свой спектр жирных кислот.

Коррекция дисбактериоза:

- 1) устранение причины, вызвавшей дисбаланс нормальной микрофлоры;
- 2) использование эубиотиков и пробиотиков.

Эубиотики – это препараты, содержащие живые бактерициногенные штаммы нормальной микрофлоры (колибактерин, бифидумбактерин, бификол и др.).

Пробиотики – это вещества немикробного происхождения и продукты питания, содержащие добавки, стимулирующие собственную нормальную микрофлору. Стимулирующие веще-

ства – олигосахариды, гидролизат казеина, муцин, молочная сыворотка, лактоферин, пищевые волокна.

Тема 7. Микрофлора растительного лекарственного сырья и микробиологический контроль лекарственных средств

1. Микрофлора растительного сырья

Обсеменение растительного лекарственного сырья микроорганизмами возможно несколькими путями:

1) в процессе обсеменения инфицирование происходит через воду, нестерильную аптечную посуду, воздух производственных помещений и руки персонала;

2) за счет нормальной микрофлоры растений и фитопатогенных микроорганизмов – возбудителей заболеваний растений, способных распространяться и заражать большое количество растений.

Эпифиты – микроорганизмы, развивающиеся в норме на поверхности растений, они не наносят вреда, являются антагонистами некоторых фитопатогенных микроорганизмов, растут за счет обычных выделений растений и органических загрязнений поверхности растений. Эпифитная микрофлора препятствует проникновению фитопатогенных микроорганизмов в растительные ткани, усиливая иммунитет растений. Наибольшее количество эпифитной микрофлоры составляют грамотрицательные бактерии *Erwinia herbicola*, они образуют золотисто-желтые колонии. Эти бактерии являются антагонистами возбудителя мягкой гнили овощей. Обнаруживают в норме и другие бактерии – *Pseudomonas fluorescens*, реже – *Bacillus mesentericus* и небольшое количество грибов. Микроорганизмы находятся не только на листьях, стеблях, но и на семенах растений. Нарушение поверхности растений и их семян способствует накоплению на них большого количества пыли и микроорганизмов. Состав микрофлоры растений зависит от вида, возраста растений, типа почвы и температуры окружающей среды. При повышении влажности численность эпифитных микроорганизмов возрастает, при понижении влажности – уменьшается.

Ризосфера – зона почвы около корней растений, где содержится значительное количество микроорганизмов. В ней часто присутствуют неспорообразующие бактерии (псевдомонады, микобактерии и др.), актиномицеты, спорообразующие бактерии и грибы. Они переводят различные субстраты в соединения, доступные для растений, синтезируют биологически активные соединения, вступают в симбиотические взаимоотношения с растениями, обладают антагонистическими свойствами против фитопатогенных бактерий.

Ризоплана – поверхность корня растений. В ней в большей степени, чем в ризосфере, представлены псевдомонады.

Микориза – симбиоз мицелия грибов с корнями высших растений. Она улучшает рост растений.

Растения окультуренных почв в большей степени загрязнены микроорганизмами, чем растения лесов и лугов. В нижней прикорневой части растений содержится особенно много микроорганизмов. Это явление связано с попаданием микроорганизмов из почвы. В большом количестве обнаруживаются микроорганизмы на растениях, растущих на орошаемых полях, свалках, вблизи складирования навоза, в местах выпаса скота. При этом растения могут загрязняться патогенными микроорганизмами и при неправильной заготовке могут быть хорошей питательной средой для размножения микроорганизмов. Одним из способов, препятствующих их росту на растениях, является процесс высушивания растений.

Фитопатогенными микроорганизмами являются следующие.

1. *Бактерии*. Болезни, вызываемые бактериями, называют бактериозами. Среди возбудителей бактериозов встречаются псевдомонады, микобактерии, коринебактерии, агробактерии и др. К бактериозам относятся различные виды гнилей, некрозы тканей.

Бактериозы различают:

1) общие: вызывают гибель всего растения или его отдельных частей и проявляются на корнях (корневые гнили) или в сосудистой системе растений;

2) местные: ограничиваются поражением отдельных участков растений, проявляясь на паренхимных тканях.

Передача возбудителей бактериозов происходит через зараженные семена, остатки больных растений, почву, воду, воздух, путем переноса насекомыми, моллюсками, нематодами. Бактерии проникают в растения через устьица, нектарники и другие части растений, а также даже через небольшие повреждения. При проникновении бактерий внутрь растений происходит повреждение растительных клеток, они мацерируются и отслаиваются друг от друга. Такой путь проникновения называется интрацеллюлярным и межклеточным, а заболевания – паренхиматозными. В случаях распространения и размножения бактерий в сосудистых пучках происходит как бы закупоривание их просвета бактериальной массой. В результате этого процесса и действия бактериальных токсинов растения увядают.

2. *Вирусы*, которые делят на возбудителей:

1) мозаики, когда появляется пятнистая расцветка пораженных листьев и плодов, растения отстают в росте;

2) желтухи, которая проявляется карликовостью растений, измененными многочисленными боковыми побегами, цветками и т. д.

3. *Грибы*, поражающие растения, могут в случае приготовления из пораженного зерна продуктов питания вызывать пищевые отравления – микотоксикозы. Гриб поражает в поле колоски злаковых: образуются склероции гриба, называемые рожками.

Для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами возделывают выносливые растения, очищают и обрабатывают семена, обеззараживают почву, удаляют пораженные растения, уничтожают переносчиков возбудителей болезней, обитающих на растениях.

2. Микробиологический контроль лекарственных средств

Обсеменение лекарственного сырья возможно на всех этапах его заготовки и при хранении. Увлажнение растений и растительного сырья способствует активному размножению микроорганизмов. Размножившись, микроорганизмы вызывают изменение фармакологических свойств препаратов, полученных из лекарственных растений. Микроорганизмы могут попадать из окружающей среды, от людей и обсеменять лекарственные препараты в процессе их изготовления из растительного сырья. Для соблюдения санитарного режима изготовления лекарственных препаратов проводят санитарно-микробиологический контроль объектов окружающей среды предприятия и каждой серии выпускаемой лекарственной формы. Лекарственные средства для парентерального введения в виде инъекций, глазные капли, мази, пленки и иное, в отношении которых имеются соответствующие указания в нормативно-технической документации, должны быть стерильными. Контроль стерильности лекарственных средств проводят путем посева на тиогликолевую среду для выявления различных бактерий, в том числе анаэробов; при посеве на среду Сабуро выявляют грибы, главным образом рода *Candida*. Стерильность лекарственных средств с антимикробным действием определяют путем мембранной фильтрации: фильтр после фильтрации исследуемого препарата делят на части и вносят для подращивания задержанных микроорганизмов в жидкие питательные среды. При отсутствии роста препарат считается стерильным.

Лекарственные средства, не требующие стерилизации, обычно содержат микроорганизмы, поэтому их испытывают на микробиологическую чистоту. Для этого проводят количественное определение жизнеспособных бактерий и грибов в 1 г или 1 мл препарата, а также выявляют микроорганизмы, которые не должны присутствовать в нестерильных лекарственных средствах. В 1 г или 1 мл лекарственного сырья для приема внутрь должно быть не более 1000 бактерий и 100 дрожжевых и плесневых грибов. В случаях местного применения количество микроорганизмов не должно превышать 100 микробных клеток на 1 г или 1 мл препарата. В таблетированных препаратах не должно быть патогенной микрофлоры, а общая обсемененность не должна превышать 10 тыс. микробных клеток на таблетку.

Тема 8. Основы медицинской биотехнологии

1. Краткая история развития биотехнологии

Как нам известно из древней истории, еще 6000–5000 лет до н. э. люди выпекали хлеб, варили пиво, готовили сыр, а из винограда делали вино. Они и не подозревали, что благодаря им уже в те далекие времена зародилась такая наука, как биотехнология. Не обоснованный научно, этот этап развития биотехнологии длился долгое время вплоть до XIX в., когда Л. Пастер открыл природу процесса брожения. Открытие этого процесса считается началом второго, научного этапа традиционной биотехнологии. С этого момента и по сегодняшний день получены и выделены ферменты, открыты и до сих пор открываются многие микроорганизмы. Кроме того, в результате изучения физиологии, биохимии и генетики микроорганизмов были разработаны способы их выращивания в массовых количествах; получены культуры животных и растительных клеток и разработаны способы их искусственного культивирования; получены многие продукты микробиологического синтеза, необходимые для медицины, сельского хозяйства и промышленности. Таким образом, вначале сформировалась техническая микробиология, а затем – биотехнология, при этом промышленное производство сводилось в основном к получению продуктов на основе природных штаммов.

С течением времени на основе достижений молекулярной биологии и микробиологии, генетики и генетической инженерии, иммунологии и химической технологии на смену старой биотехнологии пришла новая, основанная на применении искусственно получаемых штаммов – суперпродуцентов, использовании иммобилизованных ферментов, применении культур животных и растительных клеток, широком использовании генетической инженерии для получения клеток-рекомбинантов, моноклональных антител и других биологически активных веществ.

2. Понятие о биотехнологии, цели и задачи

Биотехнология – научное понятие, объединяющее в себе такие науки, как микробиология, молекулярная биология, генная инженерия, химическая технология и ряд других наук. Необходимость биотехнологии обусловлена потребностями общества в новых, более дешевых продуктах для народного хозяйства, в том числе медицины и ветеринарии, а также в принципиально новых технологиях.

Биотехнология – это получение продуктов из биологических объектов или с применением биологических объектов, в качестве которых могут быть использованы организмы животных и человека. Например, получение иммуноглобулинов из сывороток вакцинированных лошадей или людей; получение препаратов крови доноров; отдельные органы (получение гормона инсулина из поджелудочных желез крупного рогатого скота и свиней) или культуры тканей (получение лекарственных препаратов). Но чаще всего в качестве биологических объектов используются одноклеточные микроорганизмы, а также животные и растительные клетки. Это обусловлено следующими причинами:

1) клетки являются своего рода биофабриками, которые в процессе жизнедеятельности вырабатывают разнообразные ценные продукты. Ими являются белки, жиры, углеводы, витамины, аминокислоты, антибиотики, гормоны, антитела, антигены, ферменты, спирты и иное, т. е. продукты, крайне необходимые в жизни человека, но недоступные для получения другими способами в связи со сложностью технологии процессов или экономической нецелесообразностью;

2) клетки чрезвычайно быстро воспроизводятся. Это их свойство позволяет за относительно короткое время искусственно вырастить на сравнительно дешевых и недефицитных питательных средах в промышленных масштабах огромные количества биомассы микробных, животных или растительных клеток;

3) биосинтез сложных веществ, таких как белки, антибиотики, антигены, антитела и иное, значительно экономичнее и технологически доступнее, чем химический синтез;

4) возможность проведения биотехнологического процесса в промышленных масштабах при наличии соответствующего технологического оборудования и аппаратуры, доступность сырья, технологии переработки и др.

Клетки животных и растений, микробные клетки в процессе ассимиляции и диссимиляции (или жизнедеятельности) образуют новые продукты и выделяют метаболиты, обладающие разнообразными физико-химическими свойствами и биологическим действием. При этом продукты ассимиляции и диссимиляции предложено делить на 4 категории:

1) сами клетки как источник целевого продукта. К примеру, для получения живой или убитой корпускулярной вакцины используют выращенные бактерии или вирусы; а дрожжи используют как кормовой белок или основу для получения гидролизатов питательных сред и т. д.;

2) макромолекулы, синтезирующиеся клетками в процессе выращивания. К ним относятся ферменты, токсины, антигены, антитела, пептидогликаны и др.;

3) первичные метаболиты – низкомолекулярные вещества, необходимые для роста клеток. Ими являются аминокислоты, витамины, нуклеотиды, органические кислоты;

4) вторичные метаболиты – низкомолекулярные соединения, не требующиеся для роста клеток. Ими являются антибиотики, алкалоиды, токсины и гормоны.

Биотехнология использует эту продукцию клеток как сырье, которое в результате технологической обработки превращается в конечный продукт, который может использоваться в различных отраслях: в медицине для производства антибиотиков, витаминов, ферментов, аминокислот, гормонов, вакцин, антител, компонентов крови, диагностических препаратов,

иммуномодуляторов, алкалоидов, пищевых белков, нуклеиновых кислот, нуклеозидов, нуклеотидов, липидов, антиметаболитов, антиоксидантов, противопристных и противоопухолевых препаратов; в химической промышленности используют ацетон, этилен, бутанол; в пищевой промышленности используют аминокислоты, органические кислоты, пищевые белки, ферменты, липиды, сахара, спирты, дрожжи; в ветеринарии и сельском хозяйстве используют кормовой белок для производства кормовых антибиотиков, витаминов, гормонов, вакцин, а также биологических средств защиты растений и инсектицидов; в энергетике – биогаз и этанол.

Достижения в биотехнологии позволяют применять ее для решения проблем, связанных с нарушением экологии (например, для очистки сточных вод, переработки отходов и побочных продуктов производства, а также их дегидратации (фенола, нефтепродуктов и других вредных веществ, пагубно влияющих на окружающую среду) с помощью микроорганизмов.

В настоящее время в биотехнологии выделяют медико-фармацевтическое, продовольственное, сельскохозяйственное и экологическое направления, поэтому биотехнология подразделяется на медицинскую, сельскохозяйственную, промышленную и экологическую.

Медицинская биотехнология подразделяется на фармацевтическую и иммунобиологическую, сельскохозяйственная – на ветеринарную и биотехнологию растений, промышленная – на соответствующие отраслевые направления (пищевая, легкая промышленность, энергетика и т. д.).

Кроме того, биотехнология подразделяется на старую (традиционную) и новую, которую чаще связывают с геной инженерией.

Таким образом, можно сказать, что биотехнология в некоторой степени является не только наукой, но и производством. Доказательством этого может служить тот факт, что промышленное производство в биотехнологии, основанное на принципах брожения (ферментация), биоконверсии (превращение одного вещества в другое), культивировании растительных и животных клеток, бактерий и вирусов, генетических манипуляциях, невозможно без промышленного оборудования и аппаратуры, отработки и оптимизации технологических процессов, разработки способов оценки и контроля продукции на всех ее стадиях. В связи с этим биотехнологическая промышленность в своем распоряжении имеет крупные заводы, опытно-конструкторские учреждения, научно-исследовательские институты. И хотя на предприятиях промышленной биотехнологии вырабатывается огромное количество (буквально тысячи тонн) продукции, тем не менее потребности быстрорастущего народного хозяйства биотехнология в полной мере удовлетворить не в состоянии. Поэтому развитию биотехнологии в настоящее время уделяется постоянное внимание, и эта отрасль быстро развивается.

3. Микроорганизмы, клетки и процессы, применяемые в биотехнологии

Как нам известно, в природе существует огромное число микроорганизмов, каждый из которых способен синтезировать продукты или осуществлять реакции, которые могут быть пригодны для использования в биотехнологии. На современном этапе развития биотехнологии практическое применение нашло около 100 видов микроорганизмов – бактерии, грибы, дрожжи, вирусы, водоросли, т. е. наиболее изученные.

Дрожжи широко используют в хлебопечении, пивоварении, виноделии, выработки кормового белка, питательных сред для выращивания бактерий и культур животных клеток. Из 500 известных видов дрожжей используется лишь *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces uvarum*.

Среди бактерий в биотехнологии применяют представителей таких родов, как:

1) *Acetobacter*, превращающих этанол в уксусную кислоту, а уксусную кислоту – в углекислый газ и воду;

2) *Bacillus* – для получения ферментов (*B. subtilis*), средств защиты растений (*B. thuringiensis*);

3) *Clostridium* – для сбраживания сахаров в ацетон, этанол, бутанол;

4) молочнокислые бактерии (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*);

5) псевдомонады (например, *P. denitrificans* – для получения витамина В₂, *Corynebacterium glutamatum* – для получения аминокислот и др.).

Актиномицеты (род *Streptomyces*), грибы *Penicillium chrysogenum*, *Cephalosporium acremonium* и иные применяются в биотехнологии для получения разнообразных антибиотиков.

Кроме того, бактерии, дрожжи и вирусы используют в качестве реципиентов чужеродного генетического материала с целью получения рекомбинантных штаммов – продуцентов биотехнологической продукции. Например, получены рекомбинантные штаммы *E. coli*, продуцирующие интерфероны, инсулин, гормон роста, антигены вируса СПИДа; штаммы *B. subtilis*, вырабатывающие интерферон; штаммы дрожжей, продуцирующих интерлейкин-2, антиген вируса гепатита В; рекомбинантные вирусы осповакцины, синтезирующие антигены гепатита В, вируса бешенства, клещевого энцефалита и др.

Для получения вакцин и диагностических препаратов используют и патогенные микроорганизмы (брюшного тифа, коклюша, дифтерии, столбняка и др.).

Культуры животных и растительных клеток, строение, физиология, процесс культивирования которых являются более сложными, чем бактериальных клеток, также нашли широкое применение в биотехнологии. Тем не менее из культур тканей растений получают разнообразные соединения, используемые в медицине, и прежде всего алкалоиды, противовоспалительные вещества, противолейкозные и противоопухолевые, противобактериальные, сердечные и почечные средства, ферменты, витамины, опиаты и иное, сельском хозяйстве, химической и других отраслях промышленности. Кроме того, животные клетки используют не только для получения продукции, синтезируемой клетками, но и для выращивания в клетках вирусов с целью получения из них вакцин и диагностических препаратов.

Основными условиями успешного проведения технологического процесса получения продуктов микробного или клеточного синтеза являются:

1) выбор или получение высокопродуктивного промышленного штамма-продуцента и поддержание его в активном состоянии. Это обусловлено тем, что различные штаммы могут иметь существенные различия по количеству и качеству продукции того или иного вещества,

что в значительной мере сказывается на экономической эффективности и активности целевого продукта;

2) подбор питательных сред, которые смогли бы обеспечить максимальное накопление биомассы или целевого продукта. При этом питательные среды должны состоять из дешевого, недефицитного и доступного сырья. С этой целью в крупномасштабном производстве для приготовления питательных сред служит обычно сравнительно дешевое сырье, которым являются меласса, парафины нефти, дрожжи, уксусная кислота, природный газ. При получении медицинских препаратов применяются казеин, препараты крови, среды из мясных гидролизатов.

С целью получения продукции в максимальных количествах активный штамм-продуцент выращивают на оптимальной питательной среде в оптимальных условиях культивирования. Выращивание проводят в ферментаторах, или культиваторах, вместимость которых может варьировать от 2 л до 100–400 м³ в зависимости от потребности в продукте. Процесс культивирования ведется в асептических условиях, чтобы получить чистые культуры целевых микроорганизмов или культуры клеток.

В ферментаторах применяют суспензионное (глубинное) культивирование, реже поверхностное – на плотных питательных средах (бактерии, грибы) или в жидком монослое (культуры животных клеток).

Полученную биомассу микроорганизмов или культуры клеток подвергают переработке, вид которой определяется технологией получения целевого продукта.

Наиболее типовые процессы:

1) концентрирование биомассы сепарированием, центрифугированием и приготовление из нее жидкого или сухого продукта;

2) высушивание, проводимое лиофильным способом из замороженного состояния или путем распыления в потоке теплого воздуха в специальных лиофильных аппаратах и распылительных сушилках;

3) сбор центрифугата после отделения биомассы и выделения из нее целевого продукта. В некоторых случаях предварительно прибегают к разрушению клеток механическим, осмотическим или ультразвуковым способом с целью увеличения выхода целевого продукта.

Если из биомассы или центрифугата необходимо выделить активную субстанцию (витамины, аминокислоту, антиген, фермент и др.), то применяют многоступенчатые физические (сепарирование, центрифугирование) или физико-химические (осаждение нейтральными солями, спиртом, ацетоном, ультрафильтрацию, хроматографию, электрофорез) методы очистки, выбор которых зависит от свойств выделяемого вещества, зависящих от природы, молекулярной массы, лабильности к внешним воздействиям и т. д. Чистота получаемого продукта определяется наличием в нем примесей и выражается коэффициентом очистки – отношением числа активных единиц продуктов к 1 мг белка или азота (так называемая удельная активность) в очищенном препарате к удельной активности исходного продукта.

Как правило, в препаратах активная субстанция содержит примеси питательных сред, на которых выращивали микроорганизмы, а также продукты метаболизма и продукты распада микробной клетки. К примесям относятся белки, полисахариды и их комплексы, нуклеиновые кислоты, соли и другие низкомолекулярные вещества – бесполезные для препаратов, но нередко вызывающие нежелательные побочные реакции организма при применении препаратов в виде местных реакций, повышения температуры тела, аллергических проявлений. Этим объясняется стремление к получению препаратов, содержащих активную субстанцию в максимально очищенном состоянии.

После получения активной субстанции из нее конструируют конечный препарат, который в зависимости от назначения и способа применения может быть в жидком или сухом состоянии или в виде мазей. Поскольку он может быть предназначен для наружного, парентерального или энтерального, аэрозольного применения, то может быть стерильным и нестерильным.

Кроме того, конечный препарат, помимо примесей (от которых не удалось освободиться), содержит и необходимые добавки, которыми являются консерванты для поддержания стерильности препарата при хранении, стабилизаторы для повышения устойчивости лабильного активного начала при хранении, активаторы.

В конечной композиции препарат фасуется, этикируется и снабжается инструкцией по применению.

Каждая серия препарата проходит стандартизацию в соответствии с технической документацией на производстве и в Государственном институте стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича или в Фармакологическом комитете в зависимости от назначения препарата.

Тема 9. Генная инженерия и область ее применения в биотехнологии

1. Понятие и сущность генной инженерии

Основой биотехнологии является генная инженерия, которая по существу сводится к генетической рекомбинации (т. е. обмену генами между двумя хромосомами), приводящей к возникновению клеток или организмов с двумя и более наследственными детерминантами (генами), по которым родители различались между собой. Метод рекомбинации заключается в:

- 1) выделении ДНК из разных видов организмов или клеток;
- 2) получении гибридных молекул ДНК;
- 3) введении рекомбинантных (гибридных) молекул в живые клетки;
- 4) создании условий для экспрессии и секреции продуктов, кодируемых генами.

Гены, кодирующие те или иные структуры, выделяются из хромосом или плазмид, прицельно выщепляются из этих генетических образований с помощью ферментов рестрикции или синтезируются химически. Набор ферментов, способных резать ДНК по определенным связям, является важным инструментом генетической инженерии. В последнее время обнаружены ферменты, расщепляющие по определенным связям РНК наподобие рестрикции ДНК, поэтому их называют рибозимами, но их роль пока до конца не изучена.

С помощью химического синтеза могут быть получены сравнительно небольшие гены. Для этого вначале расшифровывают число и последовательность аминокислот в белковой молекуле вещества и по этим данным узнают очередность нуклеотидов в гене, так как каждой аминокислоте соответствуют три нуклеотида. С помощью синтезатора химическим путем создают ген, аналогичный природному гену.

Полученный таким образом целевой ген сшивают с другим геном с помощью ферментов лигаз. В дальнейшем он используется в качестве вектора для встраивания гибридного гена в клетку. В качестве вектора могут служить плазмиды, бактериофаги, вирусы человека, животных и растений.

Количество плазмид в бактериальной клетке может колебаться от одной до нескольких сотен и зависит от размера плазмиды: чем большие размеры она имеет, тем меньше ее копий в клетке. С помощью ампликации генов (увеличения числа копий определенного гена в клетке) можно резко повысить производство кодируемого вещества клеткой.

Бактериофаг как вектор используется аналогично. Целевой ген встраивается в геном фага, реплицируется вместе с генами вируса при размножении последнего в бактериальной клетке. Чаще всего используется фаг ламбда, содержащий ДНК из 50 000 пар нуклеотидов. Его преимущество перед плазмидами заключается в том, что фаговый вектор позволяет клонировать большие фрагменты чужеродной ДНК.

В случае использования в качестве векторов вирусов человека, животных и растений чужеродный ген встраивают в ДНК вируса. Он реплицируется вместе с размножением последнего в клетке.

Применяют в качестве вектора и космиды – гибрид плазмиды с фагом, использующийся для клонирования больших фрагментов ДНК эукариот.

Для РНК-содержащих вирусов передача генетической информации возможна с помощью ревертазы, передающей информацию о структуре белка от РНК к ДНК, являющейся комплементарной РНК.

Получение рекомбинантных молекул ДНК и рекомбинантных бактерий сводится к тому, что экспрессируемый ген в виде рекомбинантной ДНК встраивается в бактериальную или животную клетку, приобретающую новое свойство – способность продуцировать несвойственное этой клетке вещество, кодируемое экспрессируемым геном. Для лучшего проникновения вектора через стенку бактерий иногда прибегают к воздействию на стенку (например, хлоридом кальция), чтобы увеличить ее проницаемость.

В качестве реципиентов экспрессируемого гена чаще всего используют *E. coli*, *B. subtilis*, псевдомонады, дрожжи, вирусы с учетом возможности встройки чужеродного гена, а также уровня выраженности (экспрессии) синтеза вещества, кодируемого геном, возможности его секреции в окружающую среду, легкости и доступности массового культивирования, экологической безопасности. Некоторые штаммы рекомбинантных бактерий способны переключать на синтез чужеродного вещества, экспрессируемого геном, до 50 % своего синтетического потенциала, поэтому они нашли применение в биотехнологической промышленности и называются промышленными штаммами.

Некоторые штаммы микроорганизмов хорошо экспрессируют чужеродные гены, но плохо секретируют продукт в окружающую среду. В таких случаях применяют дезинтеграцию, или разрушение, клетки с целью высвобождения из нее синтезированного продукта.

В некоторых случаях, несмотря на наличие экспрессии и секреции, продукт не удается получить из-за разрушения в процессе синтеза или после него протеазами и другими ингибиторами.

С целью повышения уровня секреции целевого белка к гену целевого белка присоединяют ген белка, хорошо секретируемого клеткой реципиента. В результате образованный химерный белок, хорошо секретируемый клеткой, собирают и от него отщепляют целевой белок. Также возможно присоединение гениндикатора к гену целевого белка, в результате чего получают химерный индикаторный белок, а из него – целевой белок.

2. Биологические препараты, полученные методом генной инженерии

Несмотря на то что методом генной инженерии получена не одна сотня препаратов, в практику внедрена только часть: интерфероны, интерлейкины, фактор VIII, инсулин, гормон роста, тканевый активатор пламиногена, вакцина против гепатита В, моноклональные антитела для предупреждения отторжения при пересадках почки, диагностические препараты для выявления ВИЧ и др. Это обусловлено несколькими факторами.

1. Невозможность управлять распространением экологически опасных рекомбинантных микроорганизмов, хотя в последнее время эти опасения отвергнуты;

2. Использование рекомбинантных штаммов продуцентов предусматривает разработку сложных технологических процессов по получению и выделению целевых продуктов, на которую уходит значительное количество времени, а также средств.

3. При получении препаратов методом генной инженерии требуется проведение исследовательских работ, направленных на доказательство идентичности, а также иногда – решение дополнительных задач по приданию продукту природного характера.

Медицинскими препаратами, разрабатываемыми методами современной биотехнологии, являются антикоагулянты и тромболитики – тканевые активаторы пламиногена, фиксаторы VIII и IX; колониестимулирующие факторы – соматомедин С, гранулоцитарный и макрофагальный колониестимулирующие факторы; иммуноцитокينات – интерфероны, интерлейкины, фактор некроза опухолей, пептиды вилочковой железы и иные; гормоны – гормоны роста, инсулин, эритропоэтин; вакцины против ВИЧ-инфекции, малярии, гепатита В и иные; ферменты – липаза, протеазы; рецепторы – Т-4 лимфоцитов и др.; моноклональные антитела для иммунотерапии опухолей, предупреждения реакций отторжения; диагностикумы для выявления ВИЧ-инфекции, сифилиса, гепатита В и др.

Метод генной инженерии является одним из самых перспективных при получении многих белковых биологических веществ, представляющих ценность для медицины. В области создания биологически активных веществ медицинского назначения с помощью данного метода создаются препараты второго поколения, являющиеся аналогами природных веществ, обладающими большей эффективностью действия.

При определении целесообразности и экономичности методов генной инженерии для получения медицинских или других препаратов учитываются:

- 1) доступность;
- 2) экономичность;
- 3) качество получаемого препарата;
- 4) новизна;
- 5) безопасность проведения работ и др.

Положительные стороны метода генной инженерии перед остальными заключаются в следующем.

1. Природный микроорганизм или животные и растительные клетки не культивируются в промышленных условиях. С целью получения диагностических препаратов или вакцин прибегают к клонированию или синтезу генов протективных антигенов, их встраиванию в легко культивируемые бактерии. При выращивании этих рекомбинантных бактерий-реципиентов получают нужные антигены, являющиеся основой для создания диагностического препарата или вакцины.

2. Микроорганизм высоко патогенен и опасен при промышленном производстве. Так, для получения ВИЧ-диагностических препаратов и вакцин необходимые антигены получают методом генной инженерии.

3. Исходное сырье для получения препарата традиционным способом является дефицитным или дорогостоящим.

4. Метод активно используется для получения принципиально новых продуктов и препаратов, не существующих в природе. Например, только с помощью генной инженерии можно получить рекомбинантные поливалентные живые вакцины, несущие антигены нескольких микроорганизмов.

5. Метод позволяет заменить многие методы, основанные на получении продуктов *in vivo*, на способы получения этих продуктов *in vitro*. Так, если ранее диагностические, лечебные и профилактические сыворотки получали из крови иммунизированных лошадей или вакцинированных людей-доноров, то в настоящее время предпочтение отдается гибридной технике получения антител, основанной на получении клеток-гибридов путем слияния В-лимфоцитов, взятых от иммунизированных животных, и миеломных (раковых) клеток, способных быстро размножаться на искусственных питательных средах и продуцировать при этом антитела к антигену, использованному для иммунизации.

6. Метод позволяет получать многие фармакологические вещества путем выращивания в промышленных условиях культур клеток лекарственных растений.

Тема 10. Антибиотики и химиотерапия

1. Химиотерапевтические препараты

Химиотерапия – лечение инфекционных и опухолевых заболеваний химическими препаратами, не являющимися продуктами реакции организма на возбудителя.

Химиотерапевтические препараты – это лекарственные вещества, используемые для подавления жизнедеятельности и уничтожения микроорганизмов в тканях и средах больного, обладающие избирательным, этиотропным (действующим на причину) действием.

Химиопрепараты должны обладать такими качествами, как:

1) хорошее растворение в воде, что обеспечивает доставку лекарственного вещества во внутреннюю среду организма. Малорастворимые или нерастворимые вещества пригодны только для местного применения, для внутреннего применения используются их соответствующие производные;

2) достаточная стабильность во внутренней среде организма при отсутствии кумулятивного эффекта (способности накапливаться в макроорганизме);

3) безвредность. Хотя любой химиотерапевтический препарат в той или иной мере оказывает побочное действие на организм человека, оно должно быть по возможности минимальным, а способность вызывать образование отклонений в развитии мутации по возможности должны отсутствовать.

Безвредность оценивается химиотерапевтическим индексом – отношением минимальной терапевтической дозы препарата к максимально переносимой. Следовательно, чем меньше показатель, тем лучше препарат. Индекс препарата, приближающийся к 1, свидетельствует о том, что данное вещество не может быть использовано как средство химиотерапии.

По направленности действия химиотерапевтические препараты делят на:

1) противопротозойные;

2) противогрибковые;

3) противовирусные;

4) антибактериальные. При этом в связи с особенностями возбудителей среди антибактериальных препаратов отдельно выделяются противотуберкулезные (антимикобактериальные) и противосифилитические средства.

Химиотерапевтические препараты делятся по способности накапливаться в тех или иных органах. Например, цитостатики накапливаются в опухолевых клетках, тем самым подавляя их рост; уросептики накапливаются в моче, подавляя развитие возбудителей инфекций почек и мочевыводящих путей.

По химическому строению выделяют несколько групп химиотерапевтических препаратов:

1) *сульфаниламидные препараты* (сульфаниламиды) – производные сульфаниловой кислоты. Они нарушают процесс получения микробами необходимых для их жизни и развития ростовых факторов – фолиевой кислоты и других веществ. К этой группе относят стрептоцид, норсульфазол, сульфаметизол, сульфометаксазол и др.;

2) *производные нитрофурана*. Механизм действия состоит в блокировании нескольких ферментных систем микробной клетки. К ним относят фурациллин, фурагин, фуразолидон, нитрофуразон и др.;

3) *хинолоны*. Нарушают различные этапы синтеза ДНК микробной клетки. К ним относят налидиксовую кислоту, циноксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин;

4) *азолы* – производные имидазола. Обладают противогрибковой активностью. Ингибируют биосинтез стероидов, что приводит к повреждению наружной клеточной мембраны грибов и повышению ее проницаемости. К ним относят клотримазол, кетоконазол, флуконазол и др.;

5) *диаминопиримидины*. Нарушают метаболизм микробной клетки. К ним относят триметоприм, пириметамин;

6) *антибиотики* – это группа соединений природного происхождения или их синтетических аналогов.

Принципы классификации антибиотиков

I. По механизму действия:

1) нарушающие синтез микробной стенки (β -лактамы; ванкомицин, тейкоплактин);

2) нарушающие функции цитоплазматической мембраны (циклические полипептиды, полиеновые антибиотики);

3) нарушающие синтез белков и нуклеиновых кислот (группа левомецетина, тетрациклина, макролиды, линкозамиды, аминогликозиды, фузидин, анзамицины).

II. По типу действия на микроорганизмы:

1) антибиотики с бактерицидным действием (влияющие на клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану);

2) антибиотики с бактериостатическим действием (влияющие на синтез макромолекул).

III. По спектру действия:

1) с преимущественным действием на грамположительные микроорганизмы (линкозамиды, биосинтетические пенициллины, ванкомицин);

2) с преимущественным действием на грамотрицательные микроорганизмы (монобактамы, циклические полипептиды);

3) широкого спектра действия (аминогликозиды, левомецетин, тетрациклины, цефалоспорины).

IV. По химическому строению:

1) β -лактамы антибиотики:

а) пенициллины, среди которых выделяют природные (аминипенициллин) и полусинтетические (оксациллин);

б) цефалоспорины (цефопорин, цефазолин, цефотаксим);

в) монобактамы (примбактам);

г) карбапенемы (имипинем, меропинем);

2) аминогликозиды (канамицин, неомицин);

3) тетрациклины (тетрациклин, метациклин);

4) макролиды (эритромицин, азитромицин);

5) линкозамиды (линкомицин, клиндамицин);

6) полиены (амфотерицин, нистатин);

7) гликопептиды (ванкомицин, тейкоплактин);

8) полипептиды (грамидин, полимиксин М и В);

9) антрациклиновые антибиотики (к ним относятся противоопухолевые антибиотики – доксорубин, карминомицин, рубомицин, акларубин).

2. Основные осложнения химиотерапии

Все осложнения химиотерапии можно разделить на две группы: осложнения со стороны макроорганизма и со стороны микроорганизма.

Осложнения со стороны макроорганизма

Осложнения со стороны макроорганизма следующие.

1. *Аллергические реакции* наблюдаются в 10 % случаев и характеризуются появлением сыпи, зуда, крапивницы и др. Степень выраженности может быть различной – от легких форм до анафилактического шока. Наличие аллергии на один из препаратов группы является противопоказанием для использования и других препаратов этой группы, так как возможна перекрестная чувствительность.

2. *Прямое токсическое действие* зависит от свойств препарата, его дозы, способа введения и состояния больного. Наиболее частым побочным действием этой группы является поражение печени. Подобным действием обладают тетрациклины, при этом они нарушают формирование костной ткани и зубов. Прием аминогликозидов приводит к поражению печени и почек, что связано с их обезвреживающей и выделительной функциями. Кроме этого, аминогликозиды могут вызывать необратимое поражение слухового нерва. Левомецитин может поражать органы кроветворения, а также оказывает эмбриотоксическое действие. Ципрофлоксацин может оказывать нейротоксическое действие, фторхинолоны – вызывать артропатии. Наименее токсичным является пенициллин, но при его длительном использовании возможно поражение центральной нервной системы.

3. *Побочные токсические эффекты*. Эти осложнения связаны не с прямым, а с опосредованным действием на различные системы организма. Антибиотики, действующие на синтез белка и нуклеиновый обмен, всегда угнетают иммунную систему. Хлорамфеникол может подавлять синтез белков в клетках костного мозга, вызывая лимфопению. Фурагин, проникая через плаценту, может вызывать гемолитическую анемию плода.

4. *Реакции обострения*. При применении химиотерапевтических средств в первые дни заболевания может происходить массовая гибель возбудителей, сопровождающаяся освобождением большого количества эндотоксина и других продуктов распада. Это может сопровождаться ухудшением состояния вплоть до токсического шока. Такие реакции чаще бывают у детей. Поэтому антибиотикотерапия должна сочетаться с дезинтоксикационными мероприятиями.

5. *Развитие дисбиоза*. Он чаще возникает на фоне применения антибиотиков широкого спектра действия. Предупредить развитие этого вида осложнений невозможно, но реально свести до минимума его последствия. С этой целью рекомендуется использовать антибиотики узкого спектра действия; параллельно антибактериальным антибиотикам назначать противогрибковые препараты; применять эубиотики для восстановления нормальной микрофлоры.

Осложнения со стороны микроорганизма

Проявляются развитием лекарственной устойчивости. В ее основе лежат мутации хромосомных генов или приобретение плазмид устойчивости. Существуют роды микроорганизмов, обладающие природной устойчивостью.

Биохимическую основу устойчивости обеспечивают следующие механизмы:

1) энзиматическая инактивация антибиотиков. Этот процесс обеспечивается с помощью синтезируемых бактериями ферментов, разрушающих активную часть антибиотиков;

2) изменение проницаемости клеточной стенки для антибиотика или подавление его транспорта в бактериальные клетки;

3) изменение структуры компонентов микробной клетки.

Развитие того или иного механизма резистентности зависит от химической структуры антибиотика и свойств бактерий.

Методы борьбы с лекарственной устойчивостью:

1) поиск и создание новых химиотерапевтических препаратов;

2) создание комбинированных препаратов, которые включают в себя химиотерапевтические средства различных групп, усиливающих действие друг друга;

3) периодическая смена антибиотиков;

4) соблюдение основных принципов рациональной химиотерапии.

3. Принципы рациональной химиотерапии

Принципы рациональной химиотерапии состоят в следующем.

1. *Микробиологический принцип* – назначение лекарственных препаратов строго по показаниям, т. е. только в тех случаях, когда без них нельзя обойтись, с учетом противопоказаний (например, повышенной чувствительности или аллергической реакции к препаратам той или иной группы).

Выбор препарата для химиотерапии может проводиться в различных вариантах возникающих ситуаций.

При этиологически расшифрованных заболеваниях выбор препарата должен определяться с учетом чувствительности возбудителя (антибиотикограмма), выделенного от данного конкретного больного в результате бактериологического исследования.

При выделении возбудителя, но без определения его чувствительности к химиотерапевтическим препаратам, или при эмпирической инициальной химиотерапии заболевания с неидентифицированным, но предполагаемым возбудителем выбор препарата для химиотерапии должен основываться на показателях антибиотикочувствительности соответствующих микроорганизмов (наиболее вероятных возбудителей данной нозологической формы заболевания) по данным литературы или при ориентации на данные о региональной чувствительности тех или иных инфекционных агентов-возбудителей данного заболевания.

2. *Фармакологический принцип*. При выборе препарата необходимо учитывать данные его фармакокинетики.

Лечение должно проводиться строго по схеме, рекомендованной для выбранного химиопрепарата (способ и кратность введения препаратов, длительность лечения) с учетом коэффициента увеличения концентрации препарата в целях создания эффективных концентраций препарата непосредственно в органах и тканях (примерно 4 МПК – минимальная подавляющая концентрация, определенная по возможности методом серийных разведений).

Длительность приема химиопрепаратов должна составлять как минимум 2–3 дня – в целях профилактики формирования устойчивых к данному препарату штаммов возбудителей, а также формирования бактерионосительства.

При дерматомикозах, кандидозе и трихомониазе влажной кожи с целью предупреждения рецидивов лечение продолжают в течение 2–4 недель после исчезновения симптомов заболевания.

3. *Принцип иммунохимиотерапии*. Химиотерапию желательно проводить с помощью средств, способствующих повышению активности защитных механизмов макроорганизма.

Весьма эффективны при проведении химиотерапии комбинации препаратов с различными механизмами и спектром действия.

Однако при комбинированном применении препаратов необходимо учитывать несколько факторов:

1) лекарственную совместимость предполагаемых к совместному использованию химиопрепаратов;

2) возможность того, что препараты, содержащие одно и то же вещество в качестве активного действующего начала, могут носить различные торговые названия, так как выпускаются разными фирмами и могут быть дженериками (препаратами, производимыми по лицензии с оригинала) одного и того же химиопрепарата;

3) комбинированное применение антибиотиков повышает риск развития дисбаланса нормальной микрофлоры.

4. *Клинический принцип*. При назначении препаратов следует учитывать общее состояние больного, возраст, пол, состояние иммунной системы, сопутствующие заболевания, а также наличие беременности.

5. *Эпидемиологический принцип*. Подбирая химиопрепарат, необходимо учитывать, к каким лекарственным препаратам микроорганизмы устойчивы в среде, в которой находится больной. Распространенность устойчивости к данному препарату не остается постоянной и изменяется в зависимости от того, насколько широко используется препарат.

6. *Фармацевтический принцип*. Необходимо учитывать срок годности и условия хранения препарата, поскольку при истечении срока годности и несоблюдении правил хранения в нем образуются токсичные продукты деградации.

Тема 11. Общая вирусология

1. Морфология и структура вирусов

Вирусы – микроорганизмы, составляющие царство *Vira*.

Отличительные признаки:

- 1) содержат лишь один тип нуклеиновой кислоты (РНК или ДНК);
- 2) не имеют собственных белоксинтезирующих и энергетических систем;
- 3) не имеют клеточной организации;
- 4) обладают дизъюнктивным (разобленным) способом репродукции (синтез белков и нуклеиновых кислот происходит в разных местах и в разное время);
- 5) облигатный паразитизм вирусов реализуется на генетическом уровне;
- 6) вирусы проходят через бактериальные фильтры.

Вирусы могут существовать в двух формах: внеклеточной (вириона) и внутриклеточной (вируса).

По форме вирионы могут быть:

- 1) округлыми;
- 2) палочковидными;
- 3) правильными многоугольниками;
- 4) нитевидными и др.

Размеры их колеблются от 15–18 до 300–400 нм.

В центре вириона – вирусная нуклеиновая кислота, покрытая белковой оболочкой – капсидом, который имеет строго упорядоченную структуру. Капсидная оболочка построена из капсомеров. Нуклеиновая кислота и капсидная оболочка составляют нуклеокапсид.

Нуклеокапсид сложноорганизованных вирионов покрыт внешней оболочкой – суперкапсидом, которая может включать в себя множество функционально различных липидных, белковых, углеводных структур.

Строение ДНК– и РНК-вирусов принципиально не отличается от НК других микроорганизмов. У некоторых вирусов в ДНК встречается урацил.

ДНК может быть:

- 1) двуцепочечной;
- 2) одноцепочечной;
- 3) кольцевой;
- 4) двуцепочечной, но с одной более короткой цепью;
- 5) двуцепочечной, но с одной непрерывной, а с другой фрагментированной цепями.

РНК может быть:

- 1) однонитевой;
- 2) линейной двунитевой;
- 3) линейной фрагментированной;
- 4) кольцевой;
- 5) содержащей две одинаковые однонитевые РНК.

Вирусные белки подразделяют на:

- 1) геномные – нуклеопротеиды. Обеспечивают репликацию вирусных нуклеиновых кислот и процессы репродукции вируса. Это ферменты, за счет которых происходит увеличение количества копий материнской молекулы, или белки, с помощью которых на матрице нуклеиновой кислоты синтезируются молекулы, обеспечивающие реализацию генетической информации;

2) белки капсидной оболочки – простые белки, обладающие способностью к самосборке. Они складываются в геометрически правильные структуры, в которых различают несколько типов симметрии: спиральный, кубический (образуют правильные многоугольники, число граней строго постоянно) или смешанный;

3) белки суперкапсидной оболочки – это сложные белки, разнообразные по функции. За счет их происходит взаимодействие вирусов с чувствительной клеткой. Выполняют защитную и рецепторную функции.

Среди белков суперкапсидной оболочки выделяют:

1) якорные белки (одним концом они располагаются на поверхности, а другим уходят в глубину; обеспечивают контакт вириона с клеткой);

2) ферменты (могут разрушать мембраны);

3) гемагглютинины (вызывают гемагглютинацию);

4) элементы клетки хозяина.

Сложные вирионы ортомиксовирусов, парамиксовирусов, тогавирусов, вирусов группы оспы во внешней оболочке содержат липиды и углеводы. Источником липидов является оболочка клетки хозяина, поэтому вирусные липиды идентичны липидам, которые входят в оболочку клетки хозяина. Некоторые вирионы в составе внешней оболочки содержат полисахариды в виде гликопротеидов.

2. Взаимодействие вирусов с клеткой хозяина

Взаимодействие идет в единой биологической системе на генетическом уровне.

Существует четыре типа взаимодействия:

- 1) продуктивная вирусная инфекция (взаимодействие, в результате которого происходит репродукция вируса, а клетки погибают);
- 2) abortивная вирусная инфекция (взаимодействие, при котором репродукции вируса не происходит, а клетка восстанавливает нарушенную функцию);
- 3) латентная вирусная инфекция (идет репродукция вируса, а клетка сохраняет свою функциональную активность);
- 4) вирус-индуцированная трансформация (взаимодействие, при котором клетка, инфицированная вирусом, приобретает новые, ранее не присущие ей свойства).

После адсорбции вирионы проникают внутрь путем эндоцитоза (виропексиса) или в результате слияния вирусной и клеточной мембран. Образующиеся вакуоли, содержащие целые вирионы или их внутренние компоненты, попадают в лизосомы, в которых осуществляется депротенинизация, т. е. «раздевание» вируса, в результате чего вирусные белки разрушаются. Освобожденные от белков нуклеиновые кислоты вирусов проникают по клеточным каналам в ядро клетки или остаются в цитоплазме.

Нуклеиновые кислоты вирусов реализуют генетическую программу по созданию вирусного потомства и определяют наследственные свойства вирусов. С помощью специальных ферментов (полимераз) снимаются копии с родительской нуклеиновой кислоты (происходит репликация), а также синтезируются информационные РНК, которые соединяются с рибосомами и осуществляют синтез дочерних вирусных белков (трансляцию).

После того как в зараженной клетке накопится достаточное количество компонентов вируса, начинается сборка вирионов потомства. Процесс этот происходит обычно вблизи клеточных мембран, которые иногда принимают в нем непосредственное участие. В составе вновь образованных вирионов часто обнаруживаются вещества, характерные для клетки, в которой размножается вирус. В таких случаях заключительный этап формирования вирионов представляет собой обволакивание их слоем клеточной мембраны.

Последним этапом взаимодействия вирусов с клетками является выход или освобождение из клетки дочерних вирусных частиц. Простые вирусы, лишённые суперкапсида, вызывают деструкцию клетки и попадают в межклеточное пространство. Другие вирусы, имеющие липопротеидную оболочку, выходят из клетки путем почкования. При этом клетка длительное время сохраняет жизнеспособность. В отдельных случаях вирусы накапливаются в цитоплазме или ядре зараженных клеток, образуя кристаллоподобные скопления – тельца включений.

3. Культивирование вирусов

Основные методы культивирования вирусов:

1) биологический – заражение лабораторных животных. При заражении вирусом животное заболевает. Если болезнь не развивается, то патологические изменения можно обнаружить при вскрытии. У животных наблюдаются иммунологические сдвиги. Однако далеко не все вирусы можно культивировать в организме животных;

2) культивирование вирусов в развивающихся куриных эмбрионах. Куриные эмбрионы выращивают в инкубаторе 7–10 дней, а затем используют для культивирования. В этой модели все типы зачатков тканей подвержены заражению. Но не все вирусы могут размножаться и развиваться в куриных эмбрионах.

В результате заражения могут происходить и появляться:

- 1) гибель эмбриона;
- 2) дефекты развития: на поверхности оболочек появляются образования – бляшки, представляющие собой скопления погибших клеток, содержащих вирионы;
- 3) накопление вирусов в аллантоисной жидкости (обнаруживают путем титрования);
- 4) размножение в культуре ткани (это основной метод культивирования вирусов).

Различают следующие типы культур тканей:

- 1) перевиваемые – культуры опухолевых клеток; обладают большой митотической активностью;
- 2) первично трипсинизированные – подвергшиеся первичной обработке трипсином; эта обработка нарушает межклеточные связи, в результате чего выделяются отдельные клетки. Источником являются любые органы и ткани, чаще всего – эмбриональные (обладают высокой митотической активностью).

Для поддержания клеток культуры ткани используют специальные среды. Это жидкие питательные среды сложного состава, содержащие аминокислоты, углеводы, факторы роста, источники белка, антибиотики и индикаторы для оценки развития клеток культуры ткани.

О репродукции вирусов в культуре ткани судят по их цитопатическому действию, которое носит разный характер в зависимости от вида вируса.

Основные проявления цитопатического действия вирусов:

- 1) размножение вируса может сопровождаться гибелью клеток или морфологическими изменениями в них;
- 2) некоторые вирусы вызывают слияние клеток и образование многоядерного синцития;
- 3) клетки могут расти, но делиться, в результате чего образуются гигантские клетки;
- 4) в клетках появляются включения (ядерные, цитоплазматические, смешанные). Включения могут окрашиваться в розовый цвет (эозинофильные включения) или в голубой (базофильные включения);
- 5) если в культуре ткани размножаются вирусы, имеющие гемагглютинины, то в процессе размножения клетка приобретает способность адсорбировать эритроциты (гемадсорбция).

4. Особенности противовирусного иммунитета

Противовирусный иммунитет начинается со стадии презентации вирусного антигена Т-хелперами.

Сильными антигенпрезентирующими свойствами при вирусных инфекциях обладают дендритные клетки, а при простом герпесе и ретровирусных инфекциях – клетки Лангерганса.

Иммунитет направлен на нейтрализацию и удаление из организма вируса, его антигенов и зараженных вирусом клеток. Антитела, образующиеся при вирусных инфекциях, действуют непосредственно на вирус или на клетки, инфицированные им. В этой связи выделяют две основные формы участия антител в развитии противовирусного иммунитета:

1) нейтрализацию вируса антителами; это препятствует рецепции вируса клеткой и проникновению его внутрь. Опсонизация вируса с помощью антител способствует его фагоцитозу;

2) иммунный лизис инфицированных вирусом клеток с участием антител. При действии антител на антигены, экспрессированные на поверхности инфицированной клетки, к этому комплексу присоединяется комплемент с последующей его активацией, что и обуславливает индукцию комплементзависимой цитотоксичности и гибель инфицированной вирусом клетки.

Недостаточная концентрация антител может усиливать репродукцию вируса. Иногда антитела могут защищать вирус от действия протеолитических ферментов клетки, что при сохранении жизнеспособности вируса приводит к усилению его репликации.

Вируснейтрализующие антитела действуют непосредственно на вирус лишь в том случае, когда он, разрушив одну клетку, распространяется на другую.

Когда вирусы переходят из клетки в клетку по цитоплазматическим мостикам, не контактируя с циркулирующими антителами, то основную роль в становлении иммунитета играют клеточные механизмы, связанные прежде всего с действием специфических цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-эффекторов и макрофагов. Цитотоксические Т-лимфоциты непосредственно контактируют с клеткой-мишенью, повышая ее проницаемость и вызывая осмотическое набухание, разрыв мембраны и выход содержимого в окружающую среду.

Механизм цитотоксического эффекта связан с активацией мембранных ферментных систем в зоне прилипания клеток, образованием цитоплазматических мостиков между клетками и действием лимфотоксина. Специфические Т-киллеры появляются уже через 1–3-е суток после заражения организма вирусом, их активность достигает максимума через неделю, а затем медленно понижается.

Одним из факторов противовирусного иммунитета является интерферон – природный белок, обладающий противовирусной активностью в отношении внутриклеточных форм вируса. Он образуется в местах размножения вируса и вызывает специфическое торможение транскрипции вирусного генома и подавление трансляции вирусной мРНК, что препятствует накоплению вируса в клетке-мишени. Интерферон подавляет репродукцию любых вирусов. Его специфичность имеет видовой характер: человеческий интерферон ингибирует репродукцию вирусов в клетках человека, мышинный – мыши и т. д. Интерферон обладает противоопухолевым свойством, что может свидетельствовать о роли вирусов в возникновении опухолей.

После внедрения в организм вируса интерферон начинает образовываться любыми клетками (наиболее активные его продуценты – лейкоциты и лимфоциты) уже через 2 ч, опережая механизм антителообразования.

Стойкость противовирусного иммунитета переменна. При ряде инфекций (ветряной оспе, паротите, кори, краснухе) иммунитет достаточно стойкий, а повторные заболевания встречаются крайне редко. Менее стойкий иммунитет развивается при инфекциях дыхательных путей (гриппе) и кишечного тракта.

Тема 12. Учение об инфекции

1. Общая характеристика инфекции

Инфекции – это совокупность биологических реакций, которыми макроорганизм отвечает на внедрение возбудителя.

Диапазон проявлений инфекций может быть различным. Крайними формами проявления инфекций являются:

- 1) бактерионосительство, персистенция, живая вакцинация;
- 2) инфекционная болезнь; имеются клинические проявления инфекции, эти реакции могут привести к летальному исходу.

Инфекционный процесс является совокупностью физиологических и патологических процессов, которые возникают и развиваются в организме при внедрении в него патогенных микробов, вызывающих нарушение постоянства его внутренней среды и физиологических функций. Крайней степенью инфекционного процесса является инфекционная болезнь.

Инфекционные болезни имеют ряд характерных особенностей, отличающих их от других болезней:

- 1) инфекционные болезни имеют своего возбудителя – микроорганизм;
- 2) инфекционные болезни контагиозны, т. е. способны передаваться от больного к здоровому;
- 3) инфекционные болезни оставляют после себя более или менее выраженную невосприимчивость или повышенную чувствительность к данному заболеванию;
- 4) для инфекционных болезней характерен ряд общих признаков: лихорадка, симптомы общей интоксикации, вялость, адинамия;
- 5) инфекционные болезни имеют четко выраженную стадийность, этапность.

Для возникновения инфекционного заболевания необходимо сочетание следующих факторов:

- 1) наличия микробного агента;
- 2) восприимчивости макроорганизма;
- 3) наличия среды, в которой происходит это взаимодействие.

Микробный агент – это патогенные и условно-патогенные микроорганизмы.

Патогенность – потенциальная способность определенных видов микробов вызывать инфекционный процесс; характеризуется комплексом болезнетворных свойств микроба, который сформировался в процессе борьбы за существование и приспособление к паразитированию в организме, будь то растение, животное или человек. Патогенность является видовым признаком болезнетворных микробов, при этом каждый вид, как правило, способен вызывать определенную инфекционную болезнь.

Вирулентность – степень патогенности данной культуры, являющаяся показателем качественного, индивидуального признака патогенности микроорганизма. Она имеет свойство изменяться под влиянием естественных условий. Вирулентность можно повысить последовательными пассажами через восприимчивых лабораторных животных или путем трансформации или трансдукции. Ослабить вирулентность можно, воздействуя на микроорганизмы различными факторами, к которым можно отнести защитные силы организма, антимикробные препараты, высокую температуру, дезинфицирующие вещества, иммунные сыворотки, пере-seвы с одной питательной среды на другую и др.

Существенное значение для возникновения инфекционного заболевания имеет инфицирующая доза возбудителя – минимальное количество микробных клеток, способных вызвать

инфекционный процесс. Инфицирующие дозы зависят от видовой принадлежности возбудителя, его вирулентности и состояния неспецифической и иммунной защиты.

Ткани, лишенные физиологической защиты против конкретного вида микроорганизма, служат местом его проникновения в макроорганизм, или входными воротами инфекции. Входные ворота определяют локализацию возбудителя в организме, патогенетические и клинические особенности заболевания.

Внешняя среда может оказывать влияние как на макроорганизм, так и на микробов-возбудителей. Это природно-климатические, социально-экономические, культурно-бытовые условия.

Для ряда инфекций характерны эпидемии и пандемии.

Эпидемия – это широкое распространение инфекции в популяции с охватом больших территорий, характеризующееся массовостью заболеваний.

Пандемии – распространение инфекций практически на всю территорию земного шара с очень высоким процентом случаев заболеваний.

Эндемичные заболевания (с природной очаговостью) – это заболевания, для которых отмечены территориальные ареалы с повышенной заболеваемостью данной инфекцией.

2. Формы инфекции и периоды инфекционных болезней

Классификация инфекций

Инфекции классифицируют следующим образом.

I. По этиологии:

- 1) бактериальные;
- 2) вирусные;
- 3) протозойные;
- 4) микозы;
- 5) микст-инфекции.

II. По количеству возбудителей:

- 1) моноинфекции;
- 2) полиинфекции.

III. По тяжести течения:

- 1) легкие;
- 2) тяжелые;
- 3) средней тяжести.

IV. По длительности:

- 1) острые;
- 2) подострые;
- 3) хронические;
- 4) латентные.

V. По путям передачи:

- 1) горизонтальные:

- а) воздушно-капельный путь;
- б) фекально-оральный;
- в) контактный;
- г) трансмиссивный;
- д) половой;

- 2) вертикальные:

- а) от матери к плоду (трансплацентарный);
- б) от матери к новорожденному в родовом акте;

- 3) артифициальные (искусственные) – при инъекциях, обследованиях, операциях и т. д.
- В зависимости от локализации возбудителя различают:

1) очаговую инфекцию, при которой микроорганизмы локализуются в местном очаге и не распространяются по всему организму;

2) генерализованную инфекцию, при которой возбудитель распространяется по организму лимфогенным и гематогенным путем. При этом развивается бактериемия или вирусемия.

Наиболее тяжелая форма – сепсис.

Выделяют также:

1) экзогенные инфекции; возникают в результате заражения человека патогенными микроорганизмами, поступающими из окружающей среды с пищей, водой, воздухом, почвой, выделениями больного человека, реконвалесцента и микробоносителя;

2) эндогенные инфекции; вызываются представителями нормальной микрофлоры – условно-патогенными микроорганизмами самого индивидуума.

Разновидность эндогенных инфекций – аутоинфекции – возникают в результате самозаражения путем переноса возбудителя из одного биотопа в другой.

Выделяют следующие периоды инфекционных болезней.

I. *Инкубационный период* начинается от момента проникновения возбудителя в организм до появления первых признаков заболевания. Продолжительность – от нескольких часов до нескольких недель. Инкубационный период лейшманиоза и лепры может длиться до нескольких месяцев и лет. Продолжительность этого периода во многом зависит от степени общей резистентности и специфического иммунитета организма, его реактивности, повышенной чувствительности, дозы и вирулентности возбудителя, а также влияния вредных факторов окружающей среды. Инкубационный период характеризуется размножением и накоплением микробов и их токсинов, суммацией образующихся раздражений, повышением реактивности организма человека к возбудителю и продуктам его жизнедеятельности (токсинам). Заражение может закончиться либо развитием болезни, либо, если организм будет способен активно мобилизовать свои защитные силы и обезвредит внедрившийся возбудитель, заболевание не разовьется. В этот период возбудитель обычно не выделяется в окружающую среду, поэтому больной не представляет эпидемиологической опасности для окружающих.

II. *Продромальный (период предвестников болезни) период* характеризуется отсутствием характерных для данной болезни симптомов на фоне развивающихся неспецифических, являющихся общими для многих болезней признаками (исключение – оспа), возникающими вследствие общей интоксикации организма продуктами жизнедеятельности микробов, а также возможным действием бактериальных эндотоксинов, которые освобождаются при гибели возбудителя в организме. Возбудитель интенсивно размножается, колонизирует ткань, начинает продуцировать ферменты и токсины. Продолжительность продромального периода бывает от нескольких часов до нескольких дней. В этот период при большинстве заболеваний возбудители также не выделяются в окружающую среду.

III. *Разгар болезни* характеризуется появлением специфических симптомов. Наиболее типичными признаками инфекционной болезни являются лихорадка, воспаление, поражение центральной и вегетативной нервной системы. Могут наблюдаться функциональные и органические нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, пищеварения, мочевого выделения, при некоторых инфекциях – кожные изменения. В картине крови также наблюдаются характерные изменения. В начале данного периода в крови обнаруживаются специфические антитела. Возбудитель продолжает интенсивно размножаться, накапливаться, выделяет в кровь токсины и ферменты. Происходит выделение возбудителя из организма, поэтому больной представляет опасность для окружающих.

IV. *Исход.* Могут быть разные варианты:

1) рецидив заболевания характеризуется возвратом клинических проявлений болезни без повторного заражения и происходит за счет оставшихся в организме возбудителей;

2) суперинфекция, т. е. инфицирование организма человека тем же возбудителем до выздоровления. Если же повторное инфицирование происходит после выздоровления, это называется реинфекцией (чаще отмечается при гриппе, дизентерии, гонорее);

3) микробоносительство (или бактерионосительство) – носительство возбудителя какого-либо инфекционного заболевания без клинических проявлений. Бактерионосительство следует отличать от персистенции (инфицированности) – явления, когда микроорганизмы попадают в организм человека и могут существовать в нем, не проявляя себя достаточно долгое время. Отличие состоит в том, что при бактерионосительстве человек выделяет возбудителя в окружающую среду и является опасным для окружающих. При персистенции инфици-

рованный человек не выделяет микроорганизмы в окружающую среду и не является опасным для окружающих в эпидемиологическом отношении;

4) клиническое выздоровление: симптомы заболевания угасли, но возбудитель еще находится в организме и выделяется организмом во внешнюю среду, при этом пути выделения возбудителя зависят от локализации процесса. Этот вариант опасен формированием носительства и рецидивом заболевания. Микробиологическое – полное выздоровление;

5) летальный исход. В этом случае трупы инфекционных больных, представляющие эпидемиологическую опасность из-за высокого содержания в них возбудителя, важно подвергнуть дезинфекции.

3. Возбудители инфекций и их свойства

Среди бактерий по способности вызывать заболевание выделяют:

- 1) патогенные;
- 2) условно-патогенные;
- 3) сапрофитные.

Патогенные виды потенциально способны вызывать инфекционное заболевание.

Патогенность – это способность микроорганизмов, попадая в организм, вызывать в его тканях и органах патологические изменения. Это качественный видовой признак, детерминированный генами патогенности – вирулонами. Они могут локализоваться в хромосомах, плазмидах, транспозонах.

Условно-патогенные бактерии могут вызывать инфекционное заболевание при снижении защитных сил организма.

Сапрофитные бактерии никогда не вызывают заболевания, так как они не способны размножаться в тканях макроорганизма.

Реализация патогенности идет через вирулентность – это способность микроорганизма проникать в макроорганизм, размножаться в нем и подавлять его защитные свойства. Это штаммовый признак, он поддается количественной характеристике. Вирулентность – фенотипическое проявление патогенности.

Количественными характеристиками вирулентности являются:

- 1) DLM (минимальная летальная доза) – это количество бактерий, при введении которых соответствующим путем в организм лабораторных животных получают 95–98 % гибели животных в эксперименте;
- 2) LD50 – это количество бактерий, вызывающих гибель 50 % животных в эксперименте;
- 3) DCL (смертельная доза) вызывает 100 %-ную гибель животных в эксперименте.

К факторам вирулентности относят:

- 1) адгезию – способность бактерий прикрепляться к эпителиальным клеткам. Факторами адгезии являются реснички адгезии, адгезивные белки, липополисахариды у грамотрицательных бактерий, тейхоевые кислоты у грамположительных бактерий, у вирусов – специфические структуры белковой или полисахаридной природы;
- 2) колонизацию – способность размножаться на поверхности клеток, что ведет к накоплению бактерий;
- 3) пенетрацию – способность проникать в клетки;
- 4) инвазию – способность проникать в подлежащие ткани. Эта способность связана с продукцией таких ферментов, как гиалуронидаза и нейраминидаза;
- 5) агрессию – способность противостоять факторам неспецифической и иммунной защиты организма.

К факторам агрессии относят:

- 1) вещества разной природы, входящие в состав поверхностных структур клетки: капсулы, поверхностные белки и т. д. Многие из них подавляют миграцию лейкоцитов, препятствуя фагоцитозу;
- 2) ферменты – протеазы, коагулазу, фибринолизин, лецитиназу;
- 3) токсины, которые делят на экзо- и эндотоксины.

Экзотоксины – высокоядовитые белки. Они термолabileны, являются сильными антигенами, на которые в организме вырабатываются антитела, вступающие в реакции токсинейтрализации. Этот признак кодируется плазмидами или генами профагов.

Эндотоксины – сложные комплексы липополисахаридной природы. Они термостабильны, являются слабыми антигенами, обладают общетоксическим действием. Кодированы хромосомными генами.

Тема 13. Введение в иммунологию

1. Понятие об иммунитете. Виды иммунитета

Иммунология – это наука, предметом изучения которой является иммунитет, при этом используются достижения молекулярной биологии, микробиологии, генетики, биохимии, биологии клетки.

Инфекционная иммунология изучает закономерности иммунной системы по отношению к микробным агентам, специфические механизмы противомикробной защиты.

Под **иммунитетом** понимают совокупность биологических явлений, направленных на сохранение постоянства внутренней среды и защиту организма от инфекционных и других генетически чужеродных для него агентов. Явления иммунитета многообразны. Основная его задача – распознавание чужеродного агента.

Иммунитет может быть инфекционным, противоопухолевым, трансплантационным.

Виды иммунитета следующие.

1. *Наследственный иммунитет* (врожденный, или видовой) обнаруживается уже при рождении и является генотипическим признаком, который передается по наследству. Он может быть видовым и индивидуальным.

Видовой иммунитет – невосприимчивость одного вида животных или человека к микроорганизмам, вызывающим заболевания у других видов. Он генетически детерминирован у человека как биологического вида, т. е. человек не болеет зоонозными заболеваниями. Видовой иммунитет всегда активный и формируется после перенесенной инфекции; постинфекционный иммунитет может сохраняться в течение длительного времени, иногда в течение всей жизни. Активный иммунитет может быть гуморальным (обусловлен антителами), клеточным (обусловлен иммунокомпетентными клетками) и клеточно-гуморальным (обусловлен антителами и иммунокомпетентными клетками).

Индивидуальный врожденный иммунитет – пассивный, так как обеспечивается передачей иммуноглобулинов класса А и I плоду от матери через плаценту (плацентарный иммунитет), и, таким образом, новорожденный защищен от инфекций, которыми переболела мать.

2. *Приобретенным иммунитетом* называют такую невосприимчивость организма человека к инфекционным агентам, которая формируется в процессе его индивидуального развития и характеризуется строгой специфичностью. Он всегда индивидуальный, не передается по наследству. Он может быть естественным и искусственным. Естественный приобретенный иммунитет появляется после перенесенного инфекционного заболевания или при бытовых скрытых контактах с небольшими дозами микробных агентов. Искусственный приобретенный иммунитет возникает при вакцинации. Искусственный иммунитет можно создавать активно и пассивно. Активный формируется введением антигенных препаратов, вакцин, анатоксинов. Пассивный иммунитет формируется введением готовых сывороток и иммуноглобулинов, т. е. готовых антител.

Кроме того, иммунитет может быть стерильным (организм свободен от соответствующего возбудителя) и нестерильным (возбудитель соответствующего заболевания сохраняется в организме, и только при этом условии поддерживается иммунитет).

Как один из видов иммунитета выделяют и местный иммунитет. Данный вид иммунитета защищает отдельные участки организма от возбудителей болезней и формируется при участии секреторного иммуноглобулина А, а характеризуется более активным фагоцитозом.

Иммунная система осуществляет свои защитные функции с помощью комплекса взаимосвязанных реакций, носящих присущий только иммунной системе специфический и обще-

физиологический (неспецифический) характер. Поэтому все формы иммунного реагирования подразделяются на специфические и неспецифические.

К неспецифическим факторам защиты относятся:

- 1) механические (кожа и слизистые оболочки);
- 2) физико-химические (ферменты, реакция среды и др.);
- 3) иммунобиологическая защита, осуществляемая нормальными иммунными клетками

и гуморальными компонентами.

К специфическим факторам относятся:

- 1) антителообразование;
- 2) иммунный фагоцитоз и киллерная функция иммунных макрофагов и лимфоцитов;
- 3) гиперчувствительность немедленного типа;
- 4) гиперчувствительность замедленного типа;
- 5) иммунологическая память;
- 6) иммунологическая толерантность.

И те и другие факторы защиты функционируют во взаимодействии и составляют единую систему защиты организма от антигенов. При этом они могут включаться в процесс защиты не одновременно и не все сразу. В зависимости от характера антигенного воздействия ведущими могут быть одна или несколько форм реагирования.

Создание иммунитета лежит в основе специфической иммунопрофилактики инфекционных заболеваний.

2. Неспецифические факторы защиты

Противоинфекционную защиту осуществляют:

- 1) кожа и слизистые оболочки;
- 2) лимфатические узлы;
- 3) лизоцим и другие ферменты полости рта и ЖКТ;
- 4) нормальная микрофлора;
- 5) воспаление;
- 6) фагоцитирующие клетки;
- 7) естественные киллеры;
- 8) система комплемента;
- 9) интерфероны.

Неповрежденная кожа и слизистые оболочки являются барьером, препятствующим проникновению микроорганизмов внутрь организма. Установлено, что в нормальном, неповрежденном состоянии кожные покровы обладают и бактерицидными свойствами. Чистая кожа здорового человека оказывает губительное действие на гемолитический стрептококк, сальмонеллы брюшного тифа и паратифов, *E. coli* и другие микробы. Мытье рук не только способствует механическому удалению микробов с поверхности кожи, но и увеличивает ее бактерицидные свойства. В результате слущивания эпидермиса удаляются многие транзиторные микроорганизмы. Бактерицидными свойствами обладает секрет потовых и сальных желез. Это связано с тем, что кислая среда пота содержит уксусную, молочную и жирные кислоты, оказывающие бактерицидное действие на многие микроорганизмы. Но при наличии травм, ожогов кожа формирует входные ворота для инфекции.

Противомикробные функции осуществляют и слизистые оболочки глаз, носа, ротовой полости, желудка и других органов, являясь непроницаемыми для различных микробов. Секреты, выделяемые слизистыми оболочками, слюнными и пищеварительными железами, слезы смывают микроорганизмы с поверхности слизистых, оказывают бактерицидное действие.

Лизоцим – белок, содержащийся в тканевых жидкостях, плазме, сыворотке крови, лейкоцитах, материнском молоке, слюне и др. Он вызывает лизис бактерий, неактивен в отношении вирусов.

Гиалуриновая кислота также имеет определенное значение в неспецифической резистентности. Она задерживает проникновение микробов в ткани и органы. Выраженным бактерицидным свойством в отношении многих возбудителей, в частности кишечных инфекций и пищевых токсикоинфекций, обладает желудочный сок.

Представители нормальной микрофлоры могут выступать в качестве антагонистов патогенных микроорганизмов, препятствуя их внедрению и размножению.

Если микроб преодолевает барьер, созданный кожными покровами и слизистыми оболочками, то защитную функцию начинают выполнять лимфатические узлы, задерживающие и обезвреживающие патогенные микробы. Именно в них развивается воспаление, оказывающее губительное действие на возбудителей инфекции.

Воспаление – защитная функция организма, характеризующаяся освобождением из тканей лейкотоксина, лейкопенического фактора, гистамина, серотонина и других веществ, активирующих лейкоциты, скопление которых ограничивает очаг инфекции на месте входных ворот и препятствует распространению микробов в ткани, кровь и органы. Повышенная температура тела, ацидоз и гипоксия, обусловленные воспалением, оказывают губительное действие на микроорганизмы.

Ведущим звеном в развитии воспаления является фагоцитоз. Микрофаги – гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы), которые первыми проникают в очаг воспаления; макрофаги –

подвижные (моноциты крови, полибласты, гистоциты и др.) и неподвижные (клетки селезенки, лимфатической ткани, купферовские клетки печени и др.) осуществляют фагоцитоз и принимают участие в иммунологических реакциях.

Завершенный фагоцитоз – защитная функция организма.

Различают следующие стадии фагоцитоза:

- 1) аттракцию;
- 2) адгезию;
- 3) эндоцитоз;
- 4) киллинг;
- 5) элиминацию.

Если отсутствуют последние две стадии, то это незавершенный фагоцитоз. При этом процесс теряет защитную функцию, бактерии внутри макрофагов разносятся по организму. Существуют факторы, ускоряющие фагоцитоз. К ним относят соли магния и кальция, электролиты, комплемент, антитела, гистамин, лимфокины, пирогенные вещества, которые обладают способностью повышать температуру как тканей, так и всего организма.

Естественные киллеры – популяция клеток, обладающая естественной цитотоксичностью по отношению к клеткам-мишеням. Морфологически представляют собой большие гранулосодержащие лимфоциты. Являются клетками с эффекторной противоопухолевой, противовирусной и противопаразитарной активностью.

Комплемент – это система неспецифических белков сыворотки крови, состоящая из девяти фракций. Активация одной фракции активирует последующую фракцию. Обладает бактерицидным действием, так как имеет сродство с поверхностными структурами бактериальной клетки и совместно с лизоцимом может вызывать цитолиз.

Интерфероны – белки, обладающие противовирусным, противоопухолевым, иммуномодулирующим действием. Интерферон действует посредством регуляции синтеза нуклеиновых кислот и белков, активируя синтез ферментов и ингибиторов, блокирующих трансляцию вирусных мРНК. Как правило, он не спасает клетку, уже пораженную вирусом, но предохраняет соседние клетки от вирусной инфекции.

Тема 14. Иммунная система организма человека

1. Центральные и периферические органы иммунной системы

Иммунная система человека обеспечивает специфическую защиту организма от генетически чужеродных молекул и клеток, в том числе инфекционных агентов – бактерий, вирусов, грибов, простейших.

Лимфоидные клетки созревают и функционируют в определенных органах.

Органы иммунной системы делят на:

1) первичные (центральные); вилочковая железа, костный мозг являются местами дифференцировки популяций лимфоцитов;

2) вторичные (периферические); селезенка, лимфатические узлы, миндалины, ассоциированная с кишечником и бронхами лимфоидная ткань заселяются В- и Т-лимфоцитами из центральных органов иммунной системы; после контакта с антигеном в этих органах лимфоциты включаются в рециркуляцию.

Вилочковая железа (тимус) играет ведущую роль в регуляции популяции Т-лимфоцитов. Тимус поставляет лимфоциты, в которых для роста и развития лимфоидных органов и клеточных популяций в различных тканях нуждается эмбрион.

Дифференцируясь, лимфоциты благодаря освобождению гуморальных веществ получают антигенные маркеры.

Корковый слой густо заполнен лимфоцитами, на которые воздействуют тимические факторы. В мозговом слое находятся зрелые Т-лимфоциты, покидающие вилочковую железу и включающиеся в циркуляцию в качестве Т-хелперов, Т-киллеров, Т-супрессоров.

Костный мозг поставляет клетки-предшественники для различных популяций лимфоцитов и макрофагов, в нем протекают специфические иммунные реакции. Он служит основным источником сывороточных иммуноглобулинов.

Селезенка заселяется лимфоцитами в позднем эмбриональном периоде после рождения. В белой пульпе имеются тимус-зависимые и тимуснезависимые зоны, которые заселяются Т и В-лимфоцитами. Попадающие в организм антигены индуцируют образование лимфобластов в тимусзависимой зоне селезенки, а в тимуснезависимой зоне отмечается пролиферация лимфоцитов и образование плазматических клеток.

Лимфоциты поступают в **лимфатические узлы** по афферентным лимфатическим сосудам. Перемещение лимфоцитов между тканями, кровеносным руслом и лимфоузлами позволяет антиген-чувствительным клеткам обнаруживать антиген и скапливаться в тех местах, где происходит иммунная реакция, а распространение по организму клеток памяти и их потомков позволяет лимфоидной системе организовать генерализованный иммунный ответ.

Лимфатические фолликулы пищеварительного тракта и дыхательной системы служат главными входными воротами для антигенов. В этих органах наблюдается тесная связь между лимфоидными клетками и эндотелием, как и в центральных органах иммунной системы.

2. Клетки иммунной системы

Иммунокомпетентными клетками организма человека являются Т- и В-лимфоциты.

Т-лимфоциты возникают в эмбриональном тимусе. В постэмбриональном периоде после созревания Т-лимфоциты расселяются в Т-зонах периферической лимфоидной ткани. После стимуляции (активации) определенным антигеном Т-лимфоциты преобразовываются в большие трансформированные Т-лимфоциты, из которых затем возникает исполнительное звено Т-клеток.

Т-клетки участвуют в:

- 1) клеточном иммунитете;
- 2) регулировании активности В-клеток;
- 3) гиперчувствительности замедленного (IV) типа.

Различают следующие субпопуляции Т-лимфоцитов:

1) *Т-хелперы*. Запрограммированы индуцировать размножение и дифференцировку клеток других типов. Они индуцируют секрецию антител В-лимфоцитами и стимулируют моноциты, тучные клетки и предшественники Т-киллеров к участию в клеточных иммунных реакциях. Эта субпопуляция активируется антигенами, ассоциируемыми с продуктами генов МНС класса II – молекулами класса II, представленными преимущественно на поверхности В-клеток и макрофагов;

2) *супрессорные Т-клетки*. Генетически запрограммированы для супрессорной активности, отвечают преимущественно на продукты генов МНС класса I. Они связывают антиген и секретируют факторы, инактивирующие Т-хелперы;

3) *Т-киллеры*. Узнают антиген в комплексе с собственными МНС-молекулами класса I. Они секретируют цитотоксические лимфокины.

Основная функция В-лимфоцитов заключается в том, что в ответ на антиген они способны размножаться и дифференцироваться в плазматические клетки, продуцирующие антитела.

В-лимфоциты разделяют на две субпопуляции: В₁ и В₂.

В₁-лимфоциты проходят первичную дифференцировку в пейеровых бляшках, затем обнаруживаются на поверхности серозных полостей. В ходе гуморального иммунного ответа способны превращаться в плазмциты, которые синтезируют только IgM. Для их превращения не всегда нужны Т-хелперы.

В₂-лимфоциты проходят дифференцировку в костном мозге, затем в красной пульпе селезенки и лимфоузлах. Их превращение в плазмциты идет с участием Т-хелперов. Такие плазмциты способны синтезировать все классы Ig человека.

В-клетки памяти – это долгоживущие В-лимфоциты, произошедшие из зрелых В-клеток в результате стимуляции антигеном при участии Т-лимфоцитов. При повторной стимуляции антигеном эти клетки активируются гораздо легче, чем исходные В-клетки. Они обеспечивают (при участии Т-клеток) быстрый синтез большого количества антител при повторном проникновении антигена в организм.

Макрофаги отличаются от лимфоцитов, но также играют важную роль в иммунном ответе. Они могут быть:

- 1) антиген-обработывающими клетками при возникновении ответа;
- 2) фагоцитами в виде исполнительного звена.

3. Формы иммунного ответа

Иммунный ответ – это цепь последовательных сложных кооперативных процессов, идущих в иммунной системе в ответ на действие антигена в организме.

Различают:

- 1) первичный иммунный ответ (возникает при первой встрече с антигеном);
- 2) вторичный иммунный ответ (возникает при повторной встрече с антигеном).

Любой иммунный ответ состоит из двух фаз:

- 1) индуктивная, представление и распознавание антигена; возникает сложная кооперация клеток с последующей пролиферацией и дифференцировкой;
- 2) продуктивная; обнаруживаются продукты иммунного ответа.

При первичном иммунном ответе индуктивная фаза может длиться неделю, при вторичном – до трех дней за счет клеток памяти.

В иммунном ответе антигены, попавшие в организм, взаимодействуют с антигенпредставляющими клетками (макрофагами), которые экспрессируют антигенные детерминанты на поверхности клетки и доставляют информацию об антигене в периферические органы иммунной системы, где происходит стимуляция Т-хелперов.

Далее иммунный ответ развивается по одному из трех вариантов:

- 1) клеточный иммунный ответ;
- 2) гуморальный иммунный ответ;
- 3) иммунологическая толерантность.

Клеточный иммунный ответ – это функция Т-лимфоцитов. Происходит образование эффекторных клеток – Т-киллеров, способных уничтожать клетки, имеющие антигенную структуру, путем прямой цитотоксичности и путем синтеза лимфокинов, которые участвуют в процессах взаимодействия клеток (макрофагов, Т-клеток, В-клеток) при иммунном ответе. В регуляции иммунного ответа участвуют два подтипа Т-клеток: Т-хелперы усиливают иммунный ответ, Т-супрессоры оказывают противоположное влияние.

Гуморальный иммунитет – это функция В-клеток. Т-хелперы, получившие антигенную информацию, передают ее В-лимфоцитам. В-лимфоциты формируют клон антителопродуцирующих клеток. При этом происходит преобразование В-клеток в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины (антитела), которые имеют специфическую активность против внедрившегося антигена.

Образующиеся антитела вступают во взаимодействие с антигеном с образованием комплекса АГ-АТ, который запускает в действие неспецифические механизмы защитной реакции. Эти комплексы активируют систему комплемента. Взаимодействие комплекса АГ-АТ с тучными клетками приводит к дегрануляции и выделению медиаторов воспаления – гистамина и серотонина.

При низкой дозе антигена развивается иммунологическая толерантность. При этом антиген распознается, но в результате этого не происходит ни продукции клеток, ни развития гуморального иммунного ответа.

Иммунный ответ характеризуется:

- 1) специфичностью (реактивность направлена только на определенный агент, который называется антигеном);
- 2) потенцированием (способностью производить усиленный ответ при постоянном поступлении в организм одного и того же антигена);
- 3) иммунологической памятью (способностью распознавать и производить усиленный ответ против того же самого антигена при повторном его попадании в организм, даже если первое и последующие попадания происходят через большие промежутки времени).

Тема 15. Антигены

1. Свойства и типы антигенов

Антигены – это высокомолекулярные соединения. При попадании в организм вызывают иммунную реакцию и взаимодействуют с продуктами этой реакции: антителами и активированными лимфоцитами.

Классификация антигенов

Классифицируют антигены следующим образом.

I. По происхождению:

- 1) естественные (белки, углеводы, нуклеиновые кислоты, бактериальные экзо- и эндотоксины, антигены клеток тканей и крови);
- 2) искусственные (динитрофенилированные белки и углеводы);
- 3) синтетические (синтезированные полиаминокислоты, полипептиды).

II. По химической природе:

- 1) белки (гормоны, ферменты и др.);
- 2) углеводы (декстран);
- 3) нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК);
- 4) конъюгированные антигены (динитрофенилированные белки);
- 5) полипептиды (полимеры α -аминокислот, кополимеры глутамина и аланина);
- 6) липиды (холестерин, лецитин, которые могут выступать в роли гаптена, но, соединившись с белками сыворотки крови, они приобретают антигенные свойства).

III. По генетическому отношению:

- 1) аутоантигены (происходят из тканей собственного организма);
- 2) изоантигены (происходят от генетически идентичного донора);
- 3) аллоантигены (происходят от неродственного донора того же вида);
- 4) ксеноантигены (происходят от донора другого вида).

IV. По характеру иммунного ответа:

- 1) тимусзависимые антигены (иммунный ответ зависит от активного участия Т-лимфоцитов);
- 2) тимуснезависимые антигены (запускают иммунный ответ и синтез антител В-клетками без Т-лимфоцитов).

Выделяют также:

- 1) внешние антигены; попадают в организм извне. Это микроорганизмы, трансплантированные клетки и чужеродные частицы, которые могут попадать в организм алиментарным, ингаляционным или парентеральным путем;
- 2) внутренние антигены; возникают из поврежденных молекул организма, которые распознаются как чужие;
- 3) скрытые антигены – определенные антигены (например, нервная ткань, белки хрусталика и сперматозоиды); анатомически отделены от иммунной системы гистогематическими барьерами в процессе эмбриогенеза; толерантность к этим молекулам не возникает; их попадание в кровоток может приводить к иммунному ответу.

Иммунологическая реактивность против измененных или скрытых собственных антигенов возникает при некоторых аутоиммунных заболеваниях.

Свойства антигенов:

- 1) антигенность – способность вызывать образование антител;
- 2) иммуногенность – способность создавать иммунитет;
- 3) специфичность – антигенные особенности, благодаря наличию которых антигены отличаются друг от друга.

Гаптены – низкомолекулярные вещества, которые в обычных условиях не вызывают иммунную реакцию, но при связывании с высокомолекулярными молекулами приобретают иммуногенность. К гаптенам относятся лекарственные препараты и большинство химических веществ. Они способны вызывать иммунный ответ после связывания с белками организма.

Антигены или гаптены, которые при повторном попадании в организм вызывают аллергическую реакцию, называются аллергенами.

2. Антигены микроорганизмов

Инфекционные антигены – это антигены бактерий, вирусов, грибов, простейших.

Существуют следующие разновидности бактериальных антигенов:

1) группоспецифические (встречаются у разных видов одного рода или семейства);

2) видоспецифические (встречаются у различных представителей одного вида);

3) типоспецифические (определяют серологические варианты – серовары, антигеновары – внутри одного вида).

В зависимости от локализации в бактериальной клетке различают:

1) *O-АГ* – полисахарид; входит в состав клеточной стенки бактерий. Определяет антигенную специфичность липополисахарида клеточной стенки; по нему различают сероварианты бактерий одного вида. *O-АГ* слабо иммуногенен. Он термостабилен (выдерживает кипячение в течение 1–2 ч), химически устойчив (выдерживает обработку формалином и этанолом);

2) *липид А* – гетеродимер; содержит глюкозамин и жирные кислоты. Он обладает сильной адьювантной, неспецифической иммуностимулирующей активностью и токсичностью;

3) *H-АГ*; входит в состав бактериальных жгутиков, основа его – белок флагеллин. Термостабилен;

4) *K-АГ* – гетерогенная группа поверхностных, капсульных антигенов бактерий. Они находятся в капсуле и связаны с поверхностным слоем липополисахарида клеточной стенки;

5) *токсины, нуклеопротеины, рибосомы и ферменты бактерий*.

Антигены вирусов:

1) суперкапсидные антигены – поверхностные оболочечные;

2) белковые и гликопротеидные антигены;

3) капсидные – оболочечные;

4) нуклеопротеидные (сердцевинные) антигены.

Все вирусные антигены Т-зависимые.

Протективные антигены – это совокупность антигенных детерминант (эпитопов), которые вызывают наиболее сильный иммунный ответ, что предохраняет организм от повторного инфицирования данным возбудителем.

Пути проникновения инфекционных антигенов в организм:

1) через поврежденную и иногда неповрежденную кожу;

2) через слизистые оболочки носа, рта, ЖКТ, мочеполовых путей.

Гетероантигены – общие для представителей разных видов антигенные комплексы или общие антигенные детерминанты на различающихся по другим свойствам комплексах. За счет гетероантигенов могут возникать перекрестные иммунологические реакции.

У микробов различных видов и у человека встречаются общие, сходные по строению антигены. Эти явления называются антигенной мимикрией.

Суперантигены – это особая группа антигенов, которые в очень малых дозах вызывают поликлональную активацию и пролиферацию большого числа Т-лимфоцитов. Суперантигенами являются бактериальные энтеротоксины, стафилококковые, холерные токсины, некоторые вирусы (ротавирусы).

Тема 16. Антитела

1. Структура иммуноглобулинов

Антитела (иммуноглобулины) – это белки, которые синтезируются под влиянием антигена и специфически с ним реагируют.

Они состоят из полипептидных цепей. В молекуле иммуноглобулина различают четыре структуры:

1) первичную – это последовательность определенных аминокислот. Она строится из нуклеотидных триплетов, генетически детерминируется и определяет основные последующие структурные особенности;

2) вторичную (определяется конформацией полипептидных цепей);

3) третичную (определяет характер расположения отдельных участков цепи, создающих пространственную картину);

4) четвертичную. Из четырех полипептидных цепей возникает биологически активный комплекс. Цепи попарно имеют одинаковую структуру.

Большинство молекул иммуноглобулинов составлены из двух тяжелых (H) цепей и двух легких (L) цепей, соединенных дисульфидными связями. Легкие цепи состоят или из двух κ -цепей, или из двух λ -цепей. Тяжелые цепи могут быть одного из пяти классов (IgA, IgG, IgM, IgD и IgE).

Каждая цепь имеет два участка:

1) *постоянный*. Остается постоянным в последовательности аминокислот и антигенности в пределах данного класса иммуноглобулинов;

2) *вариабельный*. Характеризуется большой непостоянностью последовательности аминокислот; в этой части цепи происходит реакция соединения с антигеном.

Каждая молекула IgG состоит из двух соединенных цепей, концы которых формируют два антигенсвязывающих участка. На вариабельном участке каждой цепи имеются гипервариабильные участки: три в легких цепях и четыре в тяжелых. Разновидности последовательности аминокислот в этих гипервариабильных участках определяют специфичность антитела. При определенных условиях эти гипервариабильные области могут также выступать в роли антигенов (идиотипов).

В молекуле иммуноглобулина меньше двух антигенсвязывающих центров быть не может, но один может быть завернут внутрь молекулы – это неполное антитело. Оно блокирует антиген, и тот не может связаться с полными антителами.

При энзиматическом расщеплении иммуноглобулинов образуются следующие фрагменты:

1) *Fc-фрагмент* содержит участки обеих постоянных частей; не обладает свойством антитела, но имеет сродство с комплементом;

2) *Fab-фрагмент* содержит легкую и часть тяжелой цепи с одним антигенсвязывающим участком; обладает свойством антитела;

3) *F(ab)₂-фрагмент* состоит из двух связанных между собой Fab-фрагментов.

Другие классы иммуноглобулинов имеют такую же основную структуру. Исключение – IgM: является пентамером (состоит из пяти основных единиц, связанных в области Fc-концов), а IgA – димер.

2. Классы иммуноглобулинов и их свойства

Существует пять классов иммуноглобулинов у человека.

I. *Иммуноглобулины G* – это момеры, включающие в себя четыре субкласса (IgG_1 ; IgG_2 ; IgG_3 ; IgG_4), которые отличаются друг от друга по аминокислотному составу и антигенным свойствам. Антитела субклассов IgG_1 и IgG_4 специфически связываются через Fc-фрагменты с возбудителем (иммунное опсонирование), а благодаря Fc-фрагментам взаимодействуют с Fc-рецепторами фагоцитов, способствуя фагоцитозу возбудителя. IgG_4 участвует в аллергических реакциях и не способен фиксировать комплемент.

Свойства иммуноглобулинов G:

- 1) играют основополагающую роль в гуморальном иммунитете при инфекционных заболеваниях;
- 2) проникают через плаценту и формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных;
- 3) способны нейтрализовать бактериальные экзотоксины, связывать комплемент, участвовать в реакции преципитации.

II. *Иммуноглобулины M* включают в себя два субкласса: IgM_1 и IgM_2 .

Свойства иммуноглобулинов M:

- 1) не проникают через плаценту;
- 2) появляются у плода и участвуют в антиинфекционной защите;
- 3) способны агглютинировать бактерии, нейтрализовать вирусы, активировать комплемент;
- 4) играют важную роль в элиминации возбудителя из кровеносного русла, активации фагоцитоза;
- 5) образуются на ранних сроках инфекционного процесса;
- 6) отличаются высокой активностью в реакциях агглютинации, лизиса и связывания эндотоксинов грамотрицательных бактерий.

III. *Иммуноглобулины A* – это секреторные иммуноглобулины, включающие в себя два субкласса: IgA_1 и IgA_2 . В состав IgA входит секреторный компонент, состоящий из нескольких полипептидов, который повышает устойчивость IgA к действию ферментов.

Свойства иммуноглобулинов A:

- 1) содержатся в молоке, молозиве, слюне, слезном, бронхиальном и желудочно-кишечном секрете, желчи, моче;
- 2) участвуют в местном иммунитете;
- 3) препятствуют прикреплению бактерий к слизистой;
- 4) нейтрализуют энтеротоксин, активируют фагоцитоз и комплемент.

IV. *Иммуноглобулины E* – это момеры, содержание которых в сыворотке крови ничтожно мало. К этому классу относится основная масса аллергических антител – реагинов. Уровень IgE значительно повышается у людей, страдающих аллергией и зараженных гельминтами. IgE связывается с Fc-рецепторами тучных клеток и базофилов.

Свойства иммуноглобулинов E: при контакте с аллергеном образуются мостики, что сопровождается выделением БАВ, вызывающих аллергические реакции немедленного типа.

V. *Иммуноглобулины D* – это момеры. Функционируют в основном в качестве мембранных рецепторов для антигена. Плазматические клетки, секретирующие IgD , локализуются преимущественно в миндалинах и аденоидной ткани.

Свойства иммуноглобулинов D:

- 1) участвуют в развитии местного иммунитета;

- 2) обладают антивирусной активностью;
- 3) активируют комплемент (в редких случаях);
- 4) участвуют в дифференцировке В-клеток, способствуют развитию антиидиотипического ответа;
- 5) участвуют в аутоиммунных процессах.

Тема 17. Иммунопатология

1. Иммунодефицитные состояния

Иммунодефицитными состояниями называют нарушения иммунного статуса и способности к нормальному иммунному ответу на разные антигены. Эти нарушения обусловлены дефектами одного или нескольких звеньев иммунной системы.

Иммунодефицитные состояния делят на:

1) врожденные (связаны с генетическим блоком развития иммунной системы в онтогенезе, преддетерминированным нарушением процессов пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток);

2) приобретенные (возникают вследствие нарушений иммунорегуляции, связанных с перенесенными инфекциями, травмами, лечебными воздействиями и др.).

По уровню дефекта иммунной системы выделяют:

1) преимущественные дефекты В-системы (синдромы гипогаммаглобулинемии или агаммаглобулинемии);

2) преимущественные дефекты Т-системы;

3) комбинированные дефекты Т- и В-систем.

Основные причины иммунодефицитных состояний:

1) инфекции, сопровождающиеся размножением возбудителя непосредственно в клетках иммунной системы (вирус СПИДа, инфекционного мононуклеоза). Инфицированные иммунокомпетентные клетки могут разрушаться под действием самого возбудителя, его компонентов или продуктов жизнедеятельности (токсинов, ферментов), а также вследствие специфической иммунной реакции организма, направленной против микробных агентов, включенных в клеточную мембрану;

2) нарушение процессов иммунорегуляции в ходе перенесенной инфекции. При этом нарушается соотношение регуляторных субпопуляций Т-хелперов и Т-супрессоров;

3) врожденные или приобретенные метаболические и гормональные дефекты, встречающиеся при таких заболеваниях, как сахарный диабет, ожирение, уремия, истощение и др.;

4) иммунопролиферативные заболевания;

5) применение иммуносупрессирующих воздействий и препаратов.

Иммунодефицитные состояния приводят к возникновению оппортунистических инфекций, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, опухолей, аллергических и аутоиммунных процессов.

Для инфекционных заболеваний, возникших на фоне иммунодефицитных состояний, характерны:

1) рецидивирование острых инфекций;

2) затяжной вялотекущий характер заболеваний;

3) выраженная склонность к генерализации инфекционного процесса;

4) высокий риск хронизации заболеваний с частыми последующими обострениями и неуклонно прогрессирующим характером течения патологического процесса;

5) раннее, быстрое присоединение условно-патогенной микрофлоры;

6) ведущая роль микст-инфекции в формировании воспалительного процесса;

7) необычные возбудители;

8) атипичные формы заболеваний;

9) тяжелое течение заболеваний;

10) оппортунистические инфекции;

11) резистентность к стандартной терапии.

2. Аллергические реакции. Особенности инфекционной аллергии

Аллергия – это состояние повышенной чувствительности организма к повторной сенсибилизации антигенами.

Аллергия возникает на повторное внедрение аллергена. Реакция идет через продолжительный иммунный ответ и проявляется через определенный латентный период.

Аллергены – это антигены, на которые в организме возникает аллергическая реакция. Аллергены могут быть различного происхождения:

- 1) бытовыми;
- 2) лекарственными;
- 3) животного происхождения;
- 4) растительными;
- 5) пищевыми;
- 6) инфекционными.

Любая форма аллергии – это защитная реакция организма, но она может носить патологический характер, так как элиминация антигенов осуществляется за счет гибели собственных клеток и тканей организма.

В основе аллергии может лежать гуморальный и клеточный иммунный ответ. По механизмам и клиническим проявлениям выделяют четыре типа аллергии.

1. *Анафилактический*. Образуются комплексы АГ-АТ, которые фиксируются на различных клетках-мишенях, тучных клетках, базофилах, сенсибилизируя их к соответствующему аллергену. При повторном попадании аллергена в организм происходит выделение медиаторов аллергии, которые вызывают соответствующую клиническую картину.

2. *Цитотоксический*. При повторной сенсибилизации антиген адсорбируется на мембране соответствующих клеток, поэтому выработанные антитела являются антителами и к тканевым антигенам. Образующийся комплекс АГ-АТ ведет к цитолизу – гибели собственных клеток.

3. *Иммунокомплексный*. При повторном введении антигена избыток комплекса АГ-АТ приводит к мощной активизации комплемента, он оказывает повреждающее действие на клетки тканей организма.

4. *Клеточный*. В его основе преобладает клеточный иммунный ответ. За развитие реакции ответственны Т-киллеры. Развивается гиперчувствительность замедленного типа. Лежит в основе инфекционной аллергии.

Инфекционный аллерген – слабый аллерген, состояние аллергии развивается только в его присутствии.

Инфекционная аллергия развивается:

- 1) при хронической форме дизентерии, гонорее, туберкулезе, в третичном периоде сифилиса; при этом образуются гуммы – опухолеподобные разрастания лимфоидной ткани;
- 2) при особо опасных инфекциях: чуме, сибирской язве, туляремии, бруцеллезе;
- 3) при глубоких микозах;
- 4) в период реконвалесценции при тифопаратифозных заболеваниях.

При ряде инфекций может быть использован аллергологический метод диагностики, который заключается в постановке аллергических проб:

- 1) при туберкулезе – проба Манту с туберкулином;
- 2) при хронической форме дизентерии – проба Цуверкалова с дизентерином;
- 3) при гонорее – проба с гоновакциной;
- 4) при бруцеллезе – проба Бюрне с бруцеллином;

- 5) при туляремии – проба с туляремином;
- 6) при сибирской язве – проба с антраксином.

Положительные аллергические пробы дают больные, бактерионосители и вакцинированные живой вакциной.

3. Аутоиммунные процессы

Аутоиммунные процессы – это такие состояния, при которых происходит выработка аутоантител (или накопление клона сенсibilизированных лимфоцитов к антигенам собственных тканей организма).

Когда аутоиммунные механизмы вызывают нарушение структуры и функций органов и тканей, говорят об аутоиммунной агрессии и аутоиммунных заболеваниях. Механизмы иммунного повреждения тканей аналогичны иммунным повреждениям, индуцированным экзоаллергенами – по типу гиперчувствительности замедленного и немедленного типов.

Существует несколько механизмов образования аутоантител. Одним из них является образование аутоантител против естественных первичных антигенов иммунологически забарьерных тканей.

Выделяют три механизма индукции аутоиммунного ответа (аутосенсibilизации):

- 1) образование аутоантигенов;
- 2) возникновение или депрессия клонов Т- и В-лимфоцитов, несущих рецепторы к детерминантам собственных тканей (отмена толерантности);
- 3) размножение в организме микроорганизмов, содержащих перекрестно реагирующие антигены.

Выработка аутоантител и активация аутологичных Т-лимфоцитов в норме не происходит благодаря врожденному состоянию естественной иммунологической толерантности к собственным антигенам, которая формируется в период эмбриогенеза. При этом аутореактивные клоны иммунокомпетентных клеток в результате контакта с аутоантигенами элиминируются, блокируются или переходят в супрессивное состояние.

Аутоиммунный ответ может развиваться в результате иммунизации собственными антигенами организма, к которым не выработалась толерантность (или она утрачена). В результате иммунная система при контакте с аутоантигенами реагирует с ними как с чужеродными.

Утрата естественной иммунологической толерантности к определенным антигенам может быть следствием:

- 1) антигенной стимуляции модифицированными или перекрестно реагирующими антигенами;
- 2) нарушения иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Аутоиммунизация возможна под действием перекрестно реагирующих антигенов, которые обнаружены у многих бактерий и вирусов. При попадании в организм они распознаются соответствующими клонами Т-хелперов, которые активируют В-лимфоциты к иммунному ответу. Следствием этого может явиться аутоагрессия.

При инфекциях и некоторых деструктивных процессах в клетках организма могут обнажаться (десквамироваться) ранее скрытые антигенные детерминанты, против которых начинается аутоиммунный процесс.

Аутоиммунные процессы могут возникать при первичных изменениях в иммунной системе – при лимфопролиферативных заболеваниях (лейкозах). При этом происходит репродукция «запрещенного» клона лимфоцитов.

Тема 18. Прикладная иммунология

1. Иммунодиагностика

Иммунодиагностика – это использование реакций иммунитета для диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Реакции иммунитета – это взаимодействие антигена с продуктами иммунного ответа. В любой реакции иммунитета выделяют две фазы:

1) специфическую – обусловлена взаимодействием антигена с антителом и образованием комплекса АГ-АТ;

2) неспецифическую.

Все реакции иммунитета делятся на:

1) простые; участвуют два компонента (антиген и антитело);

2) сложные; участвуют три компонента и более (антиген, антитело, комплемент и т. д.).

Выделяют также:

1) прямые; результат учитывается визуально без специальных индикаторных систем;

2) непрямые; для учета требуются специальные системы индикации.

Для иммунодиагностики используются следующие реакции иммунитета.

1. *Реакция агглютинации* – это склеивание и осаждение корпускулярного антигена под действием антитела в присутствии электролита.

Различают следующие модификации реакции агглютинации:

а) реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА);

б) латекс-агглютинацию;

в) ко-агглютинацию;

г) антиглобулиновый тест (реакция Кумбса).

Самая распространенная реакция – РПГА. В ней один из компонентов (антиген или антитело) адсорбирован на эритроцитах, которые при образовании комплекса АТ-АГ склеиваются и выпадают в осадок. В латекс-агглютинации в качестве сорбента используют частицы латекса, а в ко-агглютинации – клетки золотистых стафилококков. Реакция Кумбса используется для выявления неполных антител.

2. *Реакция преципитации* – это осаждение антигена из раствора под действием антитела преципитирующей сыворотки в присутствии электролита. В реакции участвует растворимый антиген.

3. *Реакция связывания комплемента (РСК)* – сложная многокомпонентная непрямая реакция иммунитета. Включает в себя две системы:

а) исследуемую, состоящую из антигена и антитела (один из них неизвестен), в которую вносится также и комплемент;

б) индикаторную, состоящую из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним.

Если в исследуемой системе антиген и антитело соответствуют друг другу, то они образуют комплекс, связывающий комплемент. В этом случае в индикаторной системе не произойдет изменений. Если же в исследуемой системе антиген и антитело не соответствуют друг другу, то комплекс АГ-АТ не образуется, комплемент остается свободным. Он связывается комплексом АГ-АТ индикаторной системы и тем самым обуславливает гемолиз эритроцитов.

4. *Реакции с участием меченых антигенов или антител:*

1) радиоиммунный анализ (РИА); основан на использовании меченых радиоактивным йодом или водородом антител. Образующийся комплекс АГ-АТ с радиоактивной меткой обнаруживается с помощью радиометров;

2) реакция иммунофлюоресценции; основана на том, что антитела иммунной сыворотки метят флюорохромами. Комплекс АГ-АТ обнаруживают при флюоресцентной микроскопии;

3) иммуноферментный анализ (ИФА); компонент реакции метят ферментом, который при положительном результате включается в комплекс АГ-АТ. При добавлении соответствующего субстрата происходит изменение окраски.

5. *Реакция токсиннейтрализации* (для определения типа токсина возбудителя). Смесь токсина и антитоксической сыворотки вводят белым мышам, и, если они соответствуют друг другу, т. е. нейтрализуются, мыши не погибают.

2. Иммунопрофилактика

Иммунопрофилактика – это использование иммунологических закономерностей для создания искусственного приобретенного иммунитета (активного или пассивного).

Для иммунопрофилактики используют:

- 1) антительные препараты (вакцины, анатоксины), при введении которых у человека формируется искусственный активный иммунитет;
- 2) антительные препараты (иммунные сыворотки), с помощью которых создается искусственный пассивный иммунитет.

Вакцинами называют антигенные препараты, полученные из возбудителей или их структурных аналогов, которые используют для создания искусственного активного приобретенного иммунитета.

По способу приготовления различают:

1) *живые вакцины*. Готовятся из авирулентных штаммов возбудителя. По существу они воспроизводят в организме человека легко протекающую инфекцию, но не инфекционную болезнь, в ходе которой формируются и активируются те же механизмы защиты, что и при развитии инфекционного иммунитета. Они создают напряженный и длительный иммунитет;

2) *убитые вакцины*. Их готовят из микроорганизмов, инактивированных прогреванием, УФ-лучами, химическими веществами в условиях, исключающих денатурацию антигенов;

3) *химические вакцины*. Содержат химически чистые антигены возбудителей. Обладают слабой иммуногенностью;

4) *генно-инженерные вакцины*. Разрабатываются в вирусологии, при этом создаются гибридные вакцинные штаммы. В геном известного вакцинного штамма вводятся гены, отвечающие за его главные антигенные маркеры;

5) *комбинированные вакцины*. Представляют собой препараты, состоящие из микробного антигенного компонента и синтетических полиионов – мощных стимуляторов иммунного ответа;

6) *ассоциированные вакцины*. Представляют собой комплекс убитой вакцины и анатоксина.

Анатоксины – это антигенные препараты, полученные из экзотоксинов при их стерилизационной обработке. При этом анатоксин лишен токсичности исходного экзотоксина, но сохраняет его антигенные свойства. При введении анатоксинов формируется антитоксический иммунитет, так как они индуцируют синтез антитоксических антител – антитоксинов.

Пассивная иммунопрофилактика проводится как экстренная профилактика контактными лицам, когда необходимо быстро создать пассивный искусственный иммунитет. Проводится готовыми антительными препаратами – антимикробными и антитоксическими иммунными сыворотками.

Антибактериальные сыворотки содержат антитела к целлюлярным антигенам бактерий. Антитоксические сыворотки содержат антитела к экзотоксинам белков. Их получают путем иммунизации лошадей анатоксинами. В организм человека эти сыворотки вводят дробно по методу Безредка во избежание анафилактического шока.

Единица действия антитоксической сыворотки – 1 МЕ. Одна МЕ – это минимальное количество антитоксической сыворотки, которое способно нейтрализовать 100 летальных доз соответствующего экзотоксина.

3. Иммуноterapia

Иммуноterapia – это использование иммунологических закономерностей для лечения больных. Цель иммунотерапии – повышение специальных механизмов защиты в отношении микробных агентов.

Иммуноterapia может быть использована при хронических вялотекущих заболеваниях. При этом вводят антигенные препараты для стимуляции защитных свойств организма – лечебные вакцины (всегда убитые).

Для иммунотерапии хронических форм инфекций используют аутовакцины. Их готовят непосредственно из выделенных от данного больного возбудителей. Это убитые вакцины. Аутовакцины имеют преимущество: индуцируют в макроорганизме иммунный ответ на антигены конкретного возбудителя, учитывая его штаммовые особенности.

При лечении острых тяжелых генерализованных форм инфекционных заболеваний возникает необходимость экстренного создания пассивного искусственного приобретенного иммунитета. Для этих целей используют антительные препараты – антитоксические и антибактериальные иммунные сыворотки, иммуноглобулины, плазму.

Введение антитоксических сывороток эффективно только до адсорбции токсина клетками организма, поэтому лечение ими должно быть начато как можно раньше.

Препараты иммуноглобулинов получают из нормальной или иммунной сыворотки и плазмы крови человека.

Иммунокоррекция – современное направление в терапии инфекционных и неинфекционных заболеваний. Для этого используют:

- 1) иммуносупрессоры (подавляют иммунитет);
- 2) иммуностимуляторы (стимулируют иммунитет);
- 3) иммуномодуляторы (могут оказывать разнонаправленное действие на иммунную систему в зависимости от ее исходного состояния).

Эти препараты могут быть:

- 1) экзогенного происхождения;
- 2) эндогенного происхождения;
- 3) синтетическими.

Препараты экзогенного (микробного) происхождения чаще всего используют при хронических инфекциях, длительном незаживании ран. Они стимулируют иммунную систему. Их получают из компонентов бактерий – липополисахаридов и пептидогликанов клеточной стенки. Препараты: пирогенал, рибомуним, нуклеинат натрия.

Препараты экзогенного происхождения представляют собой иммунорегуляторные пептиды. Могут быть:

- 1) тимусового происхождения (Т-активин, тималин); используются при поражениях тимуса и Т-системы, аллергических состояниях;
- 2) костномозгового происхождения (миелопептиды); используются при поражениях В-системы.

Для лечения вирусных инфекций, опухолевых процессов, лейкопений используют интерферон.

Синтетические препараты представляют собой функциональные аналоги препаратов эндогенного (ликонид) и экзогенного происхождения (тимоген), иммуномодуляторов (макадин, левомизол).

Тема 19. Возбудители кишечных инфекций – семейство энтеробактерий

1. Характеристика семейства энтеробактерий

Семейство Enterobacteriaceae включает в себя многочисленных представителей, имеющих общее местообитание – кишечник.

Энтеробактерии делят на:

- 1) патогенные (шигеллы, сальмонеллы, эшерихии, иерсинии и др.);
- 2) условно-патогенные (37 родов).

Все патогенные энтеробактерии могут вызывать у человека острые кишечные инфекции, условно-патогенные – гнойно-воспалительные заболевания и пищевые токсикоинфекции.

Энтеробактерии – грамотрицательные палочки средней величины с закругленными концами, располагающиеся беспорядочно. Одни из них подвижны за счет жгутиков, другие неподвижны. Являются факультативными анаэробами.

Они не требовательны к питательным средам. На мясопептонном агаре образуют однотипные колонии. Средней величины, круглые, гладкие, выпуклые, блестящие, бесцветные. В мясопептонном бульоне растут, давая равномерное помутнение.

Биохимические тесты – общие для всего семейства. На основании этих тестов семейство энтеробактерий дифференцируют от других, сходных по морфологии.

Все энтеробактерии:

- 1) ферментируют глюкозу до кислоты или до кислоты и газа;
- 2) редуцируют нитраты в нитриты;
- 3) каталаза +, оксидаза —, OF-тест ++.

Антигены энтеробактерий состоят из:

- 1) О-антигена, который локализуется в клеточной стенке. По химической природе это глицидолипидный комплекс;
- 2) К-антигена – это поверхностный, капсульный антиген;
- 3) Н-антигена (термолабильного, жгутикового); его имеют подвижные энтеробактерии;
- 4) пилифимбриального антигена; им обладают бактерии, имеющие ворсинки, пили, фимбрии.

Классификация энтеробактерий

Классификация энтеробактерий основана на их биохимических свойствах. Согласно классификации Берджи семейство энтеробактерий делится на 40 родов, роды – на виды.

В ряде случаев возможна внутривидовая дифференциация на:

- 1) ферментовары;
- 2) серогруппы и серовары;
- 3) фаговары;
- 4) колециновары.

Эта дифференциация необходима для эпидемиологического анализа, т. е. для установления источника и путей распространения инфекции.

Кишечная инфекция – результат взаимодействия возбудителя с соответствующими структурами макроорганизма при необходимых условиях внешней среды.

Этот процесс состоит из нескольких фаз:

- 1) адгезии;
- 2) инвазии;
- 3) колонизации;
- 4) продукции экзо- и энтеротоксинов.

Адгезия – обязательное условие возникновения любого инфекционного процесса. Разные энтеробактерии обладают тропизмом только к определенным эпителиальным клеткам, поэтому прикрепляются только на определенном уровне ЖКТ.

Адгезия идет в два этапа:

- 1) неспецифическая адгезия (приближение);
- 2) специфическая адгезия (в результате лиганд-специфического взаимодействия соответствующих структур энтеробактерий (ворсинок, фимбрий) и рецепторов плазмолеммы эпителиальных клеток).

Инвазия – проникновение бактерий в эпителиальные клетки с размножением или без него.

Инвазия, колонизация и продукция токсинов в разной степени выражены у разных энтеробактерий, поэтому патогенез и клиника кишечных инфекций существенно различаются.

2. Эшерихии

Род *Escherichia* включает в себя семь видов. Наибольшее значение имеет вид *E. coli*, которые по патогенности делят на:

- 1) патогенные (диарейные);
- 2) условно-патогенные (входят в состав нормальной микрофлоры кишечника).

Они подвижны, капсул не образуют.

Биохимические свойства:

- 1) ферментируют глюкозу с образованием кислоты и газа;
- 2) ферментируют лактат.

Антигенное строение:

- 1) по О-антигену делятся на серогруппы (более 160);
- 2) большинство имеют К-АГ и Н-АГ.

Заболевания, вызываемые эшерихиями, делят на две группы:

1) эндогенные коли-инфекции; вызываются собственной кишечной палочкой, которая при снижении иммунологической реактивности вызывает гнойно-воспалительные заболевания;

2) экзогенные коли-инфекции – эшерихиозы. Это типичные кишечные инфекции, вызываются только патогенными *E. coli*, попавшими в организм извне. Основным источником – человек.

Патогенные *E. coli* делят на четыре основных класса.

I. ЕТЕС – энтеротоксигенные эшерихии коли. Обладают тропизмом к эпителию тонкого кишечника. Попав в организм, они прикрепляются к рецепторам мембран энтероцитов. У них есть СФ-фактор колонизации, за счет которого они заселяют эпителиальные клетки тонкого кишечника. Внутри клеток они не проникают, и воспаление не развивается.

Они продуцируют экзоэнтеротоксин, синтез которого кодируется плазмидой. Этот токсин состоит из:

- 1) ЛТ – термолабильной фракции;
- 2) СТ – термостабильной фракции.

Токсин обладает цитотоническим действием. В результате его воздействия нарушается процесс энтеросорбции, что ведет к развитию диарейного синдрома. Клинически заболевание протекает как легкая форма холеры.

II. ЕИЕС – энтероинвазивные эшерихии коли. Обладают тропизмом к эпителиальным клеткам толстого кишечника. Факторами их вирулентности являются наличие на поверхности клеточной стенки белков наружной мембраны, способность к инвазии и внутриклеточному размножению. Размножение бактерий приводит к гибели клетки. На месте погибших клеток образуются язвы и эрозии, окруженные воспалением.

III. ЕРЕС – энтеропатогенные эшерихии коли. Вызывают энтероколиты у детей до года. Поражается эпителий тонкого кишечника. Фактор вирулентности – способность к ограниченной инвазии.

IV. ЕНЕС – энтерогеморрагические эшерихии коли. Обладают тропизмом к эпителиальным клеткам толстого кишечника. Фактор вирулентности – продукция двух типов шиггоподобных токсинов (SLT). Вызывают гемоколит.

Основной метод диагностики – бактериологическое исследование.

Необходимо определить:

1) принадлежность выделенной культуры *E. coli* к патогенной серогруппе (реакции агглютинации и преципитации);

2) наличие токсина (с помощью иммуноферментного анализа (ИФА)), если выделенная структура принадлежит к серогруппе ETEC;

3) наличие белков наружной мембраны (ИФА), если выделенная структура принадлежит к серогруппе EIEC;

4) особое белковое вещество, общее для всей группы (ИФА), – у группы EPEC;

5) наличие SLT (ИФА) – у EHEC.

Специфической профилактики нет.

Лечение: антибиотики.

3. Шигеллы

Относятся к роду *Shigella*.

Являются возбудителями дизентерии. Морфология такая же, как и у других представителей семейства энтеробактерий. Неподвижны, капсул не образуют.

Хорошо растут на простых питательных средах. На среде Эндо образуют бесцветные колонии.

Род включает в себя четыре вида, различающиеся по биохимическим свойствам (способности ферментировать маннит и лактозу) и антигенному строению:

1) *Sh. dysenteriae*; не ферментируют лактозу и маннит; по антигенным свойствам внутри вида делятся на 12 сероваров; один из них – шигелла Григорьева-Шига – самый патогенный;

2) *Sh. flexneri*; ферментирует только маннит; по антигенным свойствам делится на 6 сероваров, которые делятся на подсеровары.

3) *Sh. boydii*; ферментирует только маннит; по антигенному строению делится на 18 сероваров;

4) *Sh. sonnei*; ферментирует только лактозу; в антигенном отношении вид однороден, внутри вида выделяют ферментовары, фаговары, колециновары.

Шигеллы, минуя желудок и тонкий кишечник, попадают в толстый кишечник. Прикрепляются к рецепторам мембран колоноцитов и проникают внутрь с помощью белка наружной мембраны. Гибель клеток приводит к образованию эрозий и язв, окруженным перифокальным воспалением.

Факторы патогенности:

1) белки наружной мембраны (обеспечивают способность к инвазии и внутриклеточному размножению);

2) контактный гемолизин (способствует лизису мембран вакуолей клетки);

3) экзотоксин (обладает энтеротропным, цито- и нейротоксическим действием);

4) эндотоксин (оказывает на организм общетоксическое действие и предохраняет попавшие в организм шигеллы от действия защитных сил макроорганизма).

Различают три клинические формы дизентерии, которые отличаются по возбудителям, эпидемиологии и частично по клинике:

1) дизентерия Григорьева-Шига. Возбудитель – *Sh. dysenteriae*, серовар – шигелла Григорьева-Шига. Пути передачи – алиментарный, контактно-бытовой. Особенности клиники: протекает тяжело, характерен понос с кровью, симптомы ЦНС, может быть бактериемия;

2) дизентерия Флекснера. Возбудители – *Sh. flexneri* и *Sh. boydii*. Путь передачи водный. Особенности клиники: протекает как типичная дизентерия различной степени тяжести;

3) дизентерия *Sonnei*. Путь передачи пищевой. Особенности клиники: могут быть симптомы пищевой токсикоинфекции, рвота.

Диагностика:

1) бактериологическое исследование;

2) иммуноиндикация (ИФА);

3) серодиагностика (имеет ретроспективное значение).

Этиотропная терапия: в среднетяжелой и тяжелой степени заболевания назначаются антибиотики (те, которые выводятся кишечником) с учетом чувствительности возбудителя.

Специфическая профилактика: дизентерийный бактериофаг (применяется в очагах инфекции).

4. Сальмонеллы

Род *Salmonella* включает в себя более 2,5 тыс. сероваров.

Морфология сходна с другими представителями семейства. Бактерии подвижны, спор и капсул не образуют.

Хорошо растут на простых питательных средах. Образуют небольшие прозрачные колонии.

Биохимические свойства:

- 1) ферментируют углеводы до кислоты и газа;
- 2) лактозу не разлагают;
- 3) дезаминируют и декарбоксилируют некоторые аминокислоты.

По биохимическим различиям род делится на шесть групп.

Антигенная структура:

- 1) О-антиген. По его строению сальмонеллы делятся на 65 серогрупп;
- 2) Н-антиген. По его строению внутри серогруппы сальмонеллы делятся на серовары.

У человека сальмонеллы могут вызывать две группы заболеваний:

- 1) антропонозные – брюшной тиф и паратиф А и В; возбудители: *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*;
- 2) зооантропонозные – сальмонеллезы; возбудители: *S. typhimurium*, *S. haifa*, *S. anatum*, *S. ranarum*, *S. infantis*.

Брюшной тиф и паратиф А и В объединены в одну группу – тифопаратифозные заболевания – из-за общего возбудителя, клиники, патогенеза. Источник инфекции – больной (или бактерионоситель).

Заболевание включает в себя пять фаз.

Первая фаза: происходит внедрение возбудителя в организм, прикрепление его к рецепторам мембран эритроцитов и проникает внутрь клеток (соответствует инкубационному периоду болезни).

Вторая фаза – первичной локализации: сальмонеллы проникновение в лимфатический аппарат тонкого кишечника, сенсibiliзируют его, размножаются в макрофагах; это сопровождается гибелью микроорганизмов и выделением эндотоксина, который попадает в кровь и вызывает эндотоксинемию (соответствует продромальному периоду).

Третья фаза – бактериемии: возбудитель прорывает лимфатический барьер и попадает в кровь, распространяясь по всем паренхиматозным органам (начало болезни).

Четвертая фаза – вторичной локализации: в паренхиматозных органах возникают брюшнотифозные гранулемы (разгар болезни).

Пятая фаза – выделительно-аллергическая: повторный контакт возбудителя с первинно-сенсibiliзированным лимфатическим аппаратом тонкого кишечника; образуются язвы на слизистой оболочке.

Исход болезни может быть различным:

- 1) выздоровление;
- 2) формирование носительства;
- 3) летальный.

Диагностика тифопаратифозных заболеваний:

- 1) в фазу бактериемии – кровь на гемокультуру (РПГА), если есть сыпь – соскоб с розеол;
- 2) в фазу реконвалесценции – бактериологическое исследование фекалий, мочи, желчи;
- 3) для выявления носительства – серологическое исследование.

Этиотропная терапия: антибиотики с учетом чувствительности возбудителя.

Специфическая профилактика: убитая брюшнотифозная вакцина.

Вторая группа заболеваний – сальмонеллезы – характеризуется многообразием клинических проявлений. Источник инфекции – больные животные, инфицированные продукты питания. Путь заражения алиментарный. Чаще всего сальмонеллез протекает как пищевая токсикоинфекция. При этом сальмонеллы поражают энтероциты тонкого кишечника и фиксируются в его лимфатическом аппарате. При прорыве лимфатического барьера развивается бактериемия, разнос возбудителя по различным органам, регистрируются внекишечные формы сальмонеллеза.

5. Иерсинии

Род *Yersinia* содержит семь видов, из которых патогенными для человека являются *Y. pestis* (возбудитель чумы), *Y. pseudotuberculosis* (возбудитель псевдотуберкулеза), *Y. enterocolitica* – возбудитель острых кишечных инфекций, кишечного иерсиниоза.

Y. enterocolitica – это грамотрицательные подвижные палочки, не образующие спор и капсул. Культивируются на простых питательных средах при температуре 20–26 °С.

Биохимические свойства:

- 1) ферментируют сорбозу, инозит с образованием кислоты;
- 2) образуют уреазу.

По специфичности О-антигены делятся на 30 сероваров. Чаще всего заболевание вызывают серовары О₃ и О₉.

Иерсинии устойчивы и способны к размножению во внешней среде, выдерживают низкие температуры. Способны размножаться в молоке, овощах, фруктах, мороженом при низкой температуре. В открытых водоемах они выживают и размножаются.

Иерсиниозы – зооантропонозные заболевания. Резервуар – различные грызуны, которые выделяют бактерии с фекалиями и мочой. Путь заражения алиментарный. Заболевания регистрируются в виде вспышек или спорадических случаев.

Y. enterocolitica – факультативные внутриклеточные паразиты. Патогенность иерсиний связана с инвазивными свойствами и действием цитокинов, вирулентные штаммы обладают устойчивостью к фагоцитозу и бактерицидному действию сыворотки. Эти свойства кодируют гены плазмид. Маркерами вирулентности являются кальций зависимость и аутоагглютинация.

Заражение может реализоваться по-разному: от бессимптомного носительства и легких форм до тяжелых и генерализованных, септических (чаще у пожилых, страдающих хроническими заболеваниями).

В патогенезе различают четыре фазы.

I. Внедрение. Иерсинии обладают тропизмом к эпителиальным клеткам тонкого кишечника, проникают в лимфатический аппарат.

II. Энтеральная. Размножение сопровождается гибелью микроорганизмов, выделением эндотоксина. Клинически выражается явлениями энтероколита и лимфаденита. На этой стадии процесс может заканчиваться, тогда развивается типичная кишечная инфекция. Если происходит прорыв лимфатического барьера, то следует третья фаза.

III. Бактериемия: развиваются сепсис и скарлатиноподобная лихорадка.

IV. Вторично-очаговые и аллергические проявления. Регистрируются гепатиты, артриты, крапивница. Могут быть поражения любых органов.

Диагностика:

- 1) бактериологическое исследование; материал – испражнения, кровь, моча; посев на среду Серова; посеvy подвергнутся холодовому обогащению неделю;
- 2) серологическое исследование (РПГА);
- 3) иммуноиндикация.

Этиотропная терапия:

- 1) антибиотики;
- 2) сульфаниламиды.

Специфическая профилактика не проводится.

Тема 20. Возбудители кишечных инфекций

1. Вибрионы

Семейство Vibrionaceae состоит из четырех родов. Патогенны для человека представители только одного рода – *Vibrio*.

Это палочковидные бактерии средней величины, напоминающие запятую, слегка изогнутые, подвижные, спор и капсул не образуют, грамотрицательные. Склонны к полиморфизму. Являются аэробами или факультативными анаэробами.

Могут оставаться жизнеспособными во внешней среде при низких температурах в течение 4–6 недель.

Биохимические тесты – общие для всех представителей семейства:

- 1) ферментируют глюкозу;
- 2) редуцируют каталазу и оксидазу;
- 3) редуцируют нитраты в нитриты.

Род *Vibrio* делится на 21 вид.

Наиболее важные из них:

- 1) *V. cholerae* – возбудитель холеры;
- 2) *V. eltor*; протекает легче, но располагает к носительству.

Холерные вибрионы не требовательны к питательным средам, но обладают щелочелюбивостью. Элективными средами являются пептонная вода и щелочной агар. На пептонной воде холерные вибрионы растут уже через 6 ч в виде пленки.

На щелочном агаре через 12 ч формируются круглые, гладкие, выпуклые, блестящие колонии, бесцветные или с голубым оттенком.

Биохимические свойства:

- 1) ферментируют углеводы с образованием кислоты;
- 2) разжижают желатин;
- 3) гидролизуют казеин;
- 4) восстанавливают нитраты в нитриты;
- 5) образуют индол.

Антигенное строение:

- 1) H-антиген, общий для всех представителей рода;
- 2) по O-антигену делятся на серогруппы (возбудители холеры принадлежат к группам O₁ и O₁₃₉).

Факторы патогенности:

- 1) экзотоксин (оказывает цитотоническое действие);
- 2) эндотоксин.

Холера – острая кишечная инфекция, при которой на фоне общей интоксикации развивается своеобразный гастроэнтерит и наступают обезвоживание и обессоливание организма.

Различают следующие фазы заболевания.

Первая фаза характеризуется энтеритом; происходят адгезия возбудителя на энтероцитах и колонизация; испражнения принимают вид рисового отвара.

Вторая фаза характеризуется гастроэнтеритом с появлением рвоты; рвотные массы по виду не отличаются от фекальных; с рвотой и поносом больной теряет воду и соли, наступает обезвоживание.

Третья фаза – холерный алгид – полное обезвоживание организма.

Диагностика:

- 1) экспресс-диагностика – иммуноиндикация;
- 2) молекулярно-генетические методы;
- 3) бактериологическое исследование – основной метод; материал – рвотные массы, фекалии; посев только на элективные питательные среды. Необходимо установить принадлежность к серогруппе O₁ и O₁₃₉.

Лечение:

- 1) восполнение потери жидкости и солей (имеет основное значение);
- 2) антибиотики.

Специфическая профилактика:

- 1) убитая холерная вакцина;
- 2) холероген-анатоксин.

2. Кампилобактеры

Род *Campylobacter* включает в себя пять видов, из которых патогенными для человека являются *C. jejuni*, *C. fetus*, *C. coli*.

Это изогнутые палочки, S-образные или с завитками, подвижны, жгутики располагаются на одном или двух концах клетки. Для них характерны винтообразные движения. Грамотрицательные, спор и капсул не образуют. По типу получения энергии – микроаэрофилы.

Требовательны к питательным средам. Растут на спинномозговом, шоколадном агаре. Колонии бесцветные, прозрачные, выпуклые. Культивирование посевов осуществляют в микроаэрофильных условиях.

Хорошо размножаются во внешней среде, особенно в водоемах. Лучше размножаются при низких температурах. Устойчивы к действию кислоты желудочного сока и желчи, что обеспечивает кампилобактерам преодоление желудочного барьера и сохранение в желчном пузыре.

Биохимические свойства:

- 1) не ферментируют углеводы;
- 2) расщепляют аминокислоты;
- 3) не гидролизуют желатин и мочевины;
- 4) обладают каталазной и оксидазной активностью.

Факторы патогенности:

- 1) экзотоксин, обеспечивающий колонизацию;
- 2) эндотоксин, обладающий цито- и общетоксическим действием.

Источником инфекции являются больные люди и животные (кошки, собаки, попугаи). От них кампилобактеры попадают в пищевые продукты и воду. Пути передачи – алиментарный и контактно-бытовой.

Заболевание характеризуется сезонностью, наибольшее число заболевших приходится на лето.

Кампилобактериоз характеризуется многообразием клинических проявлений:

1) *кишечная форма*. Протекает как энтероколит с диарейным синдромом. Возбудитель попадает в организм и прикрепляется к энтероцитам, проникает в них. Может размножаться внутри эпителия тонкой кишки (о чем свидетельствует наличие крови и слизи в фекалиях);

2) *генерализованная (внекишечная) форма*. Заболевание может возникать как первичное, при этом в силу высокой инвазионной способности кампилобактеры прорывают лимфатический барьер кишечника и попадают в кровь. Генерализованная форма развивается как осложнение кишечной формы;

3) *перинатальный кампилобактериоз*. Если заболевание развивается во время беременности, это грозит абортom, патологией в родах и патологией новорожденного, который инфицируется при рождении;

4) *кампилобактериоз ротовой полости*;

5) *кампилобактериоз, протекающий в виде гингивитов и стоматитов*.

Диагностика:

- 1) иммуноиндикация (основной метод);
- 2) серодиагностика (возможна);
- 3) бактериологическое исследование (проводится, но рост бактерий очень медленный).

Этиотропная терапия – антибиотики с учетом чувствительности возбудителя.

Специфической профилактики нет.

Тема 21. Пищевые токсикоинфекции. Пищевые токсикозы

1. Общая характеристика и возбудители ПТИ

Пищевые токсикоинфекции (ПТИ) – обширная группа острых кишечных инфекций, развивающихся после употребления в пищу продуктов, инфицированных возбудителями и их токсинами.

Клинически эти болезни характеризуются внезапным началом, сочетанием синдромов интоксикации, гастроэнтерита и частым развитием обезвоживания.

Пищевые токсикоинфекции могут вызываться:

- 1) сальмонеллами;
- 2) шигеллами;
- 3) условно-патогенными микроорганизмами (*P. vulgaris*, *P. mirabilis*, энтерококки);
- 4) энтеротоксическими штаммами стафилококка (*St. aureus*, *St. albus*);
- 5) стрептококками (β -гемолитические стрептококки группы А);
- 6) споровыми анаэробами (*Clostridium perfringens*);
- 7) споровыми аэробами (*Bac. cereus*);
- 8) галофильными вибрионами (*Vibrio parahaemolyticus*) и др.

Чаще всего они вызываются сальмонеллами и условно-патогенными возбудителями, широко распространенными в окружающей среде. Большинство из них обитает в кишечнике здоровых людей в виде сапрофитов. Для развития заболевания требуется ряд способствующих факторов:

- 1) достаточная доза возбудителя;
- 2) соответствующие вирулентность и токсигенность;
- 3) сниженная сопротивляемость макроорганизма;
- 4) наличие сопутствующих заболеваний и др.

Возбудители ПТИ способны продуцировать токсины как в пищевых продуктах, так и в организме человека. При разрушении возбудителей в желудочно-кишечном тракте образуются дополнительные порции различного рода токсичных веществ. На массивное попадание в желудочно-кишечный тракт человека возбудителей и токсичных продуктов организм отвечает стеротипной реакцией.

Действие комплекса токсинов обуславливает местные изменения в желудочно-кишечном тракте (воспалительный процесс, извращение моторики), общетоксический синдром (головную боль, гипертермию, нарушение деятельности сердечно-сосудистой и нервной систем и др.).

В целом для этой группы болезней характерны короткий инкубационный период, острое начало и бурное развитие, сочетание признаков поражения желудочно-кишечного тракта и выраженной интоксикации.

Существуют некоторые особенности клинической картины, зависящие от вида возбудителя:

1) сальмонеллезные ПТИ характеризуются тяжелым течением, возможны эпидемические вспышки;

2) при стафилококковой этиологии болезнь развивается наиболее остро после очень короткого инкубационного периода (30–60 мин); начинается с появления тошноты, рвоты, наблюдается сильная режущая боль в животе, напоминающая желудочные колики;

3) при клостридиальной этиологии ПТИ развивается быстро, начавшись появлением интенсивных, колющего характера болей в животе, сопровождается тошнотой, рвотой и жидким кровянистым стулом при нормальной температуре тела;

4) для ПТИ протейной этиологии характерен резкий зловонный запах каловых масс.

Диагностика:

1) бактериологическое исследование выделений больных, пищевых продуктов;

2) серодиагностика.

2. Ботулизм

Возбудитель ботулизма относится к роду *Clostridium*, вид *Cl. botulinum*. Является возбудителем пищевых токсикозов.

Пищевые токсикозы – это заболевания, возникающие при употреблении пищи, содержащей экзотоксины возбудителя, при этом сам возбудитель не играет решающей роли в развитии заболевания.

Cl. botulinum – это грамположительные крупные палочки. Образуют субтерминально расположенные споры. Капсулы не имеют. Строгие анаэробы.

Размножаются на глюкозо-кровяном агаре, образуя неправильной формы колонии с отростками или ровными краями, зоной гемолиза вокруг колоний. При росте в столбике агара напоминают комочки ваты или чечевицу. В жидких средах образуется равномерное помутнение, а затем на дно пробирки выпадает компактный осадок.

Естественной средой обитания клостридий ботулизма является кишечник рыб, животных, микроорганизмы с испражнениями попадают в почву. Способны длительное время сохраняться и размножаться во внешней среде в виде споровых форм. Вегетативные формы малоустойчивы во внешней среде.

Ферментативная активность непостоянна и для идентификации не используется.

По антигенной структуре продуцируемых токсинов различают серовары А, В, С₁, D, E, F, Q. Антигенная специфичность самих бактерий не определяется.

Клостридии ботулизма продуцируют самый мощный из экзотоксинов – ботулинический. Ботулинический токсин накапливается в пищевом продукте, размножаясь в нем. Такими продуктами обычно являются консервы домашнего приготовления, сырокопченые колбасы и др.

Токсин обладает нейротропным действием. При развитии заболевания всегда развивается токсинемия, поражается продолговатый мозг и ядра черепно-мозговых нервов. Токсин устойчив к действию пищеварительных ферментов, он быстро всасывается из верхних отделов пищеварительного тракта в кровь и попадает на нервно-мышечные синапсы.

Ботулинический токсин связывается с мембраной синапсомы, проникает в нервную клетку путем эндоцитоза.

Механизм действия токсина состоит в ингибции кальций-зависимого освобождения ацетилхолина, блокаде функциональной активности нейрона. В первую очередь поражаются бульбарные нервные центры. Появляются общая интоксикация, признаки поражения органа зрения – двоение в глазах, расстройство аккомодации, расширение зрачков, поражение глазодвигательных мышц. Вместе с тем затрудняется глотание, появляются афония, головная боль, головокружение, рвота.

Заболевание отличается высокой летальностью.

Диагностика:

1) заражение лабораторных мышей; материал – рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, кровь;

2) обнаружение токсина в реакции токсинейтрализации;

3) серодиагностика.

Лечение: антитоксическая противоботулиническая сыворотка.

Тема 22. Возбудители зооантропонозных инфекций

1. Чума

Возбудитель чумы относится к роду *Yersinia*, вид *Y. pestis*. Возбудитель чумы был открыт в 1894 г.

Чумные бактерии – это грамотрицательные полиморфные мелкие палочки с закругленными концами длиной 1–2 мкм, толщиной 0,3–0,7 мкм. Они неподвижны. Спор не образуют. В организме больного и при размножении на питательных средах образуют капсулу. В окрашенных метиленовой синькой мазках выявляется биполярность.

Являются факультативными анаэробами; могут расти в анаэробных условиях. Размножаются на простых питательных средах, но лучше при добавлении гемолизированной крови. Оптимальная температура для культивирования – 28 °С.

Иерсинии чумы хорошо переносят низкие температуры: при 0 °С не погибают в течение полугода, могут длительно сохранять жизнеспособность в окружающей среде и в организме человека и животных: на одежде остаются живыми в течение 5–6 месяцев, в стерильной почве и в молоке – до 3 месяцев, в воде – до 1 месяца, гное из бубонов – от 20 до 30 суток, мокроте – 10 суток, овощах и фруктах – 6–11 суток. У бактерий чумы выявлены штаммы, резистентные одновременно к четырем антибиотикам.

Они чувствительны к УФ-облучению, высушиванию, действию высоких температур: при кипячении в течение 1 мин погибают.

Биохимическая активность: расщепляют углеводы с образованием кислоты, слабая протеолитическая активность – желатин не разжижают, молоко не свертывают.

Антигены палочки чумы:

- 1) O-антиген (соматический, локализуется в клеточной стенке);
- 2) F-антиген (поверхностный белковый термостабильный антиген);
- 3) V- и W-антигены (обладают антифагоцитарной активностью).

Факторы патогенности:

- 1) наличие антигенов, обладающих антифагоцитарной активностью;
- 2) образование пестицинов;
- 3) способность ассимилировать гемин и синтезировать пурины;
- 4) способность продуцировать токсин («мышинный яд» – блокирует действие ряда метаболитов и гормонов).

Основными хозяевами иерсиний чумы в природе являются грызуны (суслики, тарбаганы и др.). Заражение человека происходит трансмиссивным (переносчики – блохи), контактным и алиментарным путями. Больные легочной формой чумы заражают окружающих аэрогенным путем.

Инкубационный период при чуме длится 3–6 суток, иногда до 9 суток. Отмечаются случаи, когда инкубационный период длился всего несколько часов.

Начинается чума внезапно без продромального периода. Появляются потрясающий озноб, сильная головная боль, головокружение. Лицо больного бледнеет, появляются синюшный оттенок и выражение страдания (ужаса). Клинические проявления чумы зависят от входных ворот инфекции. Различают следующие формы заболевания:

- 1) кожно-бубонную;
- 2) первично-легочную;
- 3) вторично-легочную;
- 4) первично-септическую;

5) вторично-септическую.

Основное место размножения возбудителя – лимфатические узлы. Недостаточная барьерная функция лимфоузлов приводит к развитию первично-септической формы чумы.

Вторично-септическая форма развивается на фоне бубонной или легочной форм.

После перенесенного заболевания остается прочный продолжительный иммунитет.

Чума – особо опасная инфекция. Работа с материалами, содержащими возбудителя болезни, проводится в специальных лабораториях подготовленным персоналом при соблюдении установленных мер безопасности.

Диагностика:

1) бактериологическое исследование. Материалы – гной из бубонов, отделяемое язвы, мокрота. Посевы подвергаются холодовому обогачению;

2) серодиагностика – РПГА;

3) реакции иммуноиндикации.

Лечение: проводится антибиотикотерапия стрептомицином, который излечивает в большинстве случаев и легочные формы. Также назначение стрептомицина сочетают с хлорамфениколом и тетрациклином. Используют противочумный иммуноглобулин и специфический фаг. В случае осложнения показано введение пенициллина и сульфаниламидных препаратов.

Специфическая профилактика: живая или химическая чумная вакцина; создается стойкий иммунитет на шесть месяцев.

Общие мероприятия включают: раннюю диагностику чумы; немедленную изоляцию и госпитализацию больных; установление карантина; изоляцию отдельных лиц или групп людей при подозрении на контакт с заразным материалом; проведение в очагах тщательной дезинсекции и дератизации; индивидуальную защиту медперсонала; выполнение международных конвенций по профилактике чумы; обеспечение охраны границ государства от заноса чумы.

2. Сибирская язва

Возбудитель относится к роду *Bacillus*, вид *B. anthracis*. Впервые был описан в 1849 г.

Сибиреязвенные бациллы – это грамположительные крупные неподвижные палочки длиной 3–5 мкм, шириной 1–1,2 мкм, располагающиеся попарно или короткими цепочками в организме или длинными цепями на питательных средах. Вне организма в присутствии кислорода образуют споры, располагающиеся центрально. Споровые формы отличаются особенной стойкостью во внешней среде. При благоприятных условиях споры в теплое время года могут прорасти в вегетативные формы, а с наступлением осени снова превращаются в споры. В организме и на питательных средах образуют капсулу, содержащую специфические протеины.

Возбудитель является аэробом или факультативным анаэробом. Хорошо размножается на простых питательных средах. На поверхности агара образует шероховатые колонии с неровными краями. Рост в бульоне характеризуется появлением белых хлопьев, оседающих на дно пробирки.

На питательном агаре с пенициллином наблюдается превращение бактерий в протопласты в виде отдельных шаров, расположенных цепью, – феномен «жемчужного ожерелья».

Биохимически высокоактивны:

- 1) разжижают желатин;
- 2) расщепляют углеводы;
- 3) восстанавливают нитраты;
- 4) гидролизуют крахмал, казеин.

Антигены сибиреязвенных бацилл:

- 1) видовой капсульный антиген белковой природы;
- 2) групповой соматический антиген полисахаридной природы; локализован в клеточной стенке, термостабильный.

Факторы патогенности следующие.

1. Токсин, состоящий из трех компонентов:

- а) отекающего фактора, вызывающего дермонекротическую реакцию;
- б) летального токсина, вызывающего отек легких и тяжелую гипоксию;
- в) протективного антигена.

2. Капсула; обладает антифагоцитарной активностью; бескапсульные культуры неvirulentны.

В естественных условиях сибирской язвой болеют животные: крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи, олени, верблюды. Заражение происходит через рот с поглощением вместе с кормом спор возбудителей. Патологический процесс развивается в кишечнике.

Человек заражается от больных животных при непосредственном контакте, через инфицированные предметы, изделия из зараженного сырья, мясо больных животных. Возможен трансмиссивный путь передачи.

Клинические формы заболевания:

- 1) кожная – местом проникновения возбудителя являются поврежденные кожные покровы. Характеризуется образованием карбункула;

- 2) кишечная – заражение происходит при употреблении в пищу мяса больных животных. Характеризуется тяжелой интоксикацией, рвотой, тошнотой, поносом с кровью;

- 3) легочная – заражение происходит аэрогенным путем во время работы с материалом, инфицированным спорами бациллы. Протекает по типу тяжелой бронхопневмонии, при этом бациллы выделяются с мокротой.

Осложнением любой клинической формы, а также у ослабленных и истощенных людей является развитие сибиреязвенной септицемии.

У переболевших создается антиинфекционный иммунитет. В течение болезни создается специфическая сенсibilизация.

Диагностика:

- 1) бактериологическое исследование; материал для исследования определяется клинической формой заболевания;
- 2) аллергическая проба с антраксином; положительная реакция определяется с первых дней заболевания и сохраняется в течение многих лет после выздоровления;
- 3) серодиагностика – термопреципитация по Аксоли.

Лечение:

- 1) противосибиреязвенный иммуноглобулин;
- 2) антибиотики (пенициллин, стрептомицин, эритромицин, тетрациклины).

Профилактика включает специфические и неспецифические методы. Специфическая профилактика:

- 1) живая сибиреязвенная вакцина; создает иммунитет на год;
- 2) экстренная профилактика – противосибиреязвенный иммуноглобулин.

Неспецифическая профилактика включает своевременное выявление, изоляцию и лечение больных, тщательную дезинфекцию помещений, территории и всех предметов; недопущение в пищу мяса животных, больных сибирской язвой; тщательный контроль за выпуском и реализацией кожевенных и меховых изделий из животного сырья.

3. Туляремия

Возбудитель туляремии относится к роду *Francisella*, вид *F. tularensis* и открыт в 1912 г. Современной классификацией бактерии туляремии отнесены к роду с неопределенной принадлежностью.

Это очень мелкие полиморфные, кокковидные или палочковидные грамотрицательные бактерии размером 0,2–0,7 мкм. Спор не образуют. Жгутиков не имеют. Образуют небольшую капсулу. Цитоплазма клеток гранулярная, нуклеоид расположен в центральной части клетки.

Факультативные анаэробы. На простых питательных средах не растут. Хорошо развиваются при температуре 37 °С в средах, обогащенных витаминами. Для размножения требуется введение в среду цистеина. Возможен рост на средах, содержащих яичный желток, на кровяном агаре с добавлением глюкозы и цистеина. На плотных средах образуют небольшие колонии беловатого цвета.

В окружающей среде возбудитель долго сохраняет жизнеспособность. Малоустойчив к действию высокой температуры.

Биохимические свойства нестабильны, что обусловлено свойствами самих бактерий, их способностью ферментировать белки, питательностью среды. Ферментативная активность маловыражена. Продуцируют сероводород.

В реакции агглютинации обнаружена общность антигенов туляремийной бактерии и бруцелл. Антигены – О-антиген; соматический, локализуется в клеточной стенке, индуцирует синтез агглютининов и преципитинов.

Фактор патогенности – эндотоксин, наличие экзотоксина не установлено.

Возбудитель туляремии характеризуется полиадаптивностью: приспособлен более чем к 140 видам позвоночных и 100 видам членистоногих, способных передавать туляремийную инфекцию. Наибольшее эпидемиологическое значение имеют грызуны – водяные крысы, полевки, домовые мыши, хомяки, зайцы.

Заражение человека происходит при прямом контакте с больными животными или трупами погибших, через инфицированную воду и пищевые продукты. Переносчиками заболевания могут быть клещи, комары, слепни.

В организм человека возбудитель попадает через кожу и слизистые оболочки глаз, рта, носа, дыхательных путей и пищеварительного тракта. Затем возбудитель оказывается в лимфатических путях, где интенсивно размножается и появляется в крови.

Клинические формы туляремии:

- 1) бубонная;
- 2) ангинозно-бубонная;
- 3) кишечная;
- 4) легочная;
- 5) первично-септическая.

При каждой форме болезни поражаются лимфатические узлы, а при генерализованной вследствие бактериемии – все ткани и органы. По длительности течения туляремия бывает острой, затяжной, рецидивирующей. По тяжести различают легкую, средней тяжести и тяжелую. Сопровождается развитием специфической аллергической реакции, возникающей на 3–5 дни заболевания и сохраняющейся после выздоровления в течение многих лет.

После перенесенного заболевания остается стойкий, длительный иммунитет.

Диагностика:

1) серодиагностика; со второй недели заболевания определяют антитела в сыворотке крови в реакциях агглютинации и РНГА; при повторных исследованиях наблюдается нарастание титра антител;

2) заражение исследуемым материалом (пунктат из бубона, сосков, язвы, отделяемое конъюнктивы, налет из зева, мокрота, кровь) белых мышей или морских свинок; из органов животных делают мазки и посев на свернутую желточную среду;

3) реакция термопреципитации;

4) постановка аллергической пробы с тулярином; проба становится положительной с 3–5-ти дней заболевания.

Лечение: применяют антибиотики – стрептомицин, тетрациклин, хлорамфеникол, вакцину из убитых туляремийных бактерий.

Профилактика основана на применении специфических и неспецифических методов. Специфическая профилактика проводится живой вакциной Гайского-Эльберта, инактивированной, приготовленной из протективного антигена вакциной. Создается иммунитет на 5–6 лет.

Неспецифическая профилактика заключается в проведении общих противоэпидемических мероприятий в очагах и включает борьбу с грызунами и переносчиками.

4. Бруцеллез

Возбудитель относится к роду *Brucella*. Возбудитель бруцеллеза впервые был обнаружен в 1886 г. в селезенке умершего человека, а в 1887 г. был получен в чистой культуре. В середине XX в. были открыты несколько видов бруцелл.

Патогенны для человека три вида:

- 1) *B. melitensis* – бруцеллы мелкого рогатого скота;
- 2) *B. abortus* – бруцеллы крупного рогатого скота;
- 3) *B. suis* – бруцеллы свиней.

Это мелкие (от 0,6 до 1,5 мкм в длину и 0,5–0,7 мкм в ширину) грамотрицательные коккобактерии, располагающиеся отдельными особями, парами или небольшими группами. Жгутиков не имеют. Спор не образуют. Свежевыделенные штаммы могут образовывать нежную капсулу.

Бруцеллы требовательны к питательным средам. Используют специальные среды с добавлением сыворотки крови, глюкозы, тиамина, биотина. Рост очень медленный. При высеве от больного они развиваются медленно – в течение 3–10 суток, а иногда рост появляется лишь на 15–30-е сутки. Оптимальная температура роста составляет 37 °С, а крайние границы – 20–40 °С. На плотных питательных средах образуют мелкие выпуклые бесцветные с перламутровым блеском колонии. В жидких средах образуют равномерное помутнение. Под влиянием антибиотиков переходят в L-формы.

Являются строгими аэробами. Обладают большой устойчивостью к действию факторов окружающей среды, длительно сохраняют жизнеспособность при низких температурах, высокоустойчивы к высокой температуре и дезинфектантам.

Биохимические свойства бруцелл:

- 1) расщепляют глюкозу и некоторые другие углеводы;
- 2) разлагают мочевины и аспарагин;
- 3) гидролизуют белок, пептоны, аминокислоты;
- 4) имеют ферменты: каталаза, гиалуронидаза, пероксидаза, липаза, фосфатаза.

Антигены бруцелл:

- 1) Vi-антиген (поверхностный);
- 2) соматические видоспецифические антигены А и В.

У *B. melitensis* преобладают М-антигены, у *B. abortus* и *B. suis* – А-антигены.

Факторы патогенности:

- 1) эндотоксин;
- 2) ферменты агрессии и защиты: гиалуронидаза, нейраминидаза и т. д.;
- 3) способность размножаться в клетках лимфоидно-макрофагальной системы.

К бруцеллам восприимчивы мелкий и крупный рогатый скот, свиньи, лошади, верблюды, собаки, охраняющие овец и поедающие плоды и плаценты при абортках, кошки, грызуны.

Заразными являются моча, испражнения, околоплодная жидкость, молоко и молочные продукты больных животных.

Установлено и миграционное свойство бруцелл – переход от своих обычных хозяев к животным других видов, что имеет немаловажное эпидемиологическое значение, которое должно учитываться в лабораторной диагностике бруцеллеза и при проведении профилактических мероприятий.

Бруцеллез является зоонозной инфекцией. Человек заражается контактным, алиментарным и воздушно-капельным путем от животных, реже – от больного бруцеллезом человека.

Чаще заболевание носит профессиональный характер – болеют животноводы, работники мясокомбинатов, зоотехники, ветеринары и т. д.

Инкубационный период длится 1–3 недели, реже – до нескольких месяцев. Возбудитель способен проникать в организм через неповрежденные слизистые оболочки. После проникновения распространяется лимфогенным путем, попадает в кровь, а затем в селезенку, костный мозг, лимфоузлы, где локализуется внутриклеточно. Может длительно сохраняться в организме.

С первых дней болезни возникает реакция гиперчувствительности замедленного типа, сохраняющаяся длительное время после выздоровления. Бруцеллез характеризуется ундулирующей лихорадкой с атипичными и полиморфными симптомами и имеет остросептический и хронический метастатический характер. Отмечается частое поражение опорно-двигательного аппарата, кроветворной, гепатолиенальной, нервной и половой систем. Нередко беременность заканчивается абортom.

Бруцеллез нередко дает рецидивы и может продолжаться месяцами и даже годами. До применения антибиотиков возможны летальные исходы. Легкие и бессимптомные формы бруцеллеза поддаются распознаванию трудно, поэтому их диагностируют только лабораторным путем.

Дифференциальная диагностика данного заболевания имеет большое значение, так как бруцеллез имеет много общих клинических признаков с малярией, ревматизмом, туберкулезом, брюшным и сыпным тифом.

У переболевших бруцеллезом возникает повышенная устойчивость к повторному заражению. В основе инфекционного и постинфекционного иммунитета при бруцеллезе лежат активность системы Т-лимфоцитов, фагоцитоз и состояние аллергии, которые препятствуют распространению бруцелл в организме.

Диагностика:

- 1) бактериологическое исследование. Материалом для него служат кровь, спинномозговая и околосуставная жидкости, испражнения, моча больного человека;
- 2) серологическое исследование – реакция агглютинации Райта, РСК, РНГА. Неполные антитела выявляют в реакции Кумбса.

Лечение: применяют антибиотики (стрептомицин, эритромицин, левомицетин и др.). При хронических формах показаны вакцинотерапия и введение бруцеллина. С целью предупреждения рецидивов показано применять противобруцеллезный γ -глобулин.

Специфическая профилактика: живая бруцеллезная вакцина используется редко.

5. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС)

Возбудитель ГЛПС – вирус ранее относили к семейству Bunyaviridae, не рассматривая как арбовирус. В настоящее время систематическое положение данного вируса пересматривается.

Вирион вируса имеет сферическую форму, размеры до 50 нм. Вирус содержит «минус-нить» РНК, связанную с геномным белком – РНК-полимеразой. Нуклеокапсид построен по спиральному типу симметрии и сверху покрыт суперкапсидной оболочкой, в которой содержатся липиды, что обуславливает высокую чувствительность вируса ГЛПС к эфиру. Гликопротеиды суперкапсидной оболочки являются вариант-специфическими антигенами (различают 2 серовара вируса ГЛПС) и обладают гемагглютинирующей активностью. Вирус хорошо размножается в культуре ткани Vero африканских зеленых мартышек, патогенен для лабораторных животных, не размножается в курином эмбрионе.

Сохраняется при температуре 60 °С, но разрушается при нагревании, действии УФ и солнечного света, детергентов. В воздухе его инактивация происходит быстрее при повышенной влажности.

ГЛПС является зооантропонозной острой тяжелой инфекцией, которая характеризуется лихорадкой, явлениями общей интоксикации, поражением мелких сосудов и капилляров (геморрагический синдром), особенно в почках, что обуславливает развитие почечной недостаточности.

Источником инфекции и резервуаром вируса в природе являются грызуны, особенно рыжие полевки, вследствие чего инфекция широко распространена в степных и лесостепных зонах на территории Европы и Азии. Распространению вируса среди животных способствуют клещи, но для человека трансмиссивный путь заражения не установлен.

Основной путь заражения человека алиментарный (т. е. употребление в пищу продуктов, инфицированных экскрементами грызунов), возможен пылевой путь. От больного заражения не происходит.

Первичная репродукция вируса, по-видимому, происходит в клетках слизистых оболочек кишечника, конъюнктивы глаз и в регионарных лимфоузлах. Адсорбируясь на клетках-мишенях, вирус проникает в них путем эндоцитоза и репродуцируется в цитоплазме клетки. Из лимфоузлов вирус поступает в кровь. Развивается вирусемия, сопровождающаяся лихорадкой и поражением капилляров с развитием геморрагического синдрома, который проявляется сыпью, инъектированностью склеры, гиперемией лица и шеи. Током крови вирус обязательно заносится в почки, где поражает сосуды мозгового слоя и клетки почечной ткани. С мочой вирус выделяется в течение всего лихорадочного периода.

Вирус ГЛПС может размножаться в клетках селезенки, легких, эндотелия сосудов. Иммуные комплексы, откладываясь в почечных клубочках и извитых канальцах, обуславливают развитие почечного синдрома вплоть до анурии. Тенденции к хронизации инфекции при этом заболевании нет; после выздоровления функция почек восстанавливается через 1–3 месяца.

Тяжесть течения ГЛПС варьирует от крайне тяжелых до стертых субклинических форм. Высокая летальность при этом заболевании наблюдается в случаях развития инфекции на фоне патологии почек.

После перенесенного заболевания формируется стойкий иммунитет.

Основным методом микробиологической диагностики ГЛПС является серологический. Антитела в высоких титрах (1:1000 и выше) обнаруживаются с помощью непрямой РИФ, ИФА. Эти же реакции могут быть использованы для целей иммуноиндикации. Возможно вирусологическое исследование. Иммунопрофилактика ГЛПС не проводится.

Тема 23. Патогенные вибрионы

1. Холерный вибрион и его свойства

Возбудитель холеры относится к семейству Vibrionaceae, роду *Vibrio*, виду *V. cholerae*. Вид *V. cholerae* подразделяется на четыре биовара: *cholerae*, *eltor*, *proteus*, *albensis*. Впервые биовар классического холерного вибриона был описан еще 1854 г. Ф. Пачини, но подробно исследован лишь в 1883 г. исследователем Р. Кохом. Этот вид включает многочисленных представителей, объединенных в один вид на основании морфологических, культуральных, биохимических свойств и данных геносистематики. Внутри вида они отличаются по своим биохимическим, антигенным и патогенным свойствам. К патогенным представителям вида, вызывающим у человека холеру, относятся холерные вибрионы, принадлежащие только к серогруппам O_1 и O_{139} (Бенгал).

Все другие холерные вибрионы являются условно-патогенными и могут вызывать у человека вибрионогенные диареи.

Холерный вибрион – грамтрицательная небольшая изогнутая палочка длиной 1,5–3,0 мкм и толщиной 0,3 мкм, подвижная за счет полярного жгутика толщиной 25 нм. Клеточная стенка и цитоплазматические мембраны трехслойные, между ними находятся вакуоли, образование которых связывают с синтезом экзотоксина. Нуклеоид располагается в центре клетки. Спор, капсул не образует. Холерные вибрионы подвержены изменчивости, которая зависит от физических, химических и биологических факторов. На искусственных средах и в старых культурах вибрионы могут принимать форму зерен и шаров, палочек, нитей, спиралей, образовывать колбовидные образования и L-формы, но при пересеве на свежие среды, как правило, вибрионы возвращаются к своим исходным формам.

Холерный вибрион может быть аэробом или факультативным анаэробом (оксидазопозитивным). Оптимальный рост отмечен при температуре 18–37 °С, а крайние границы роста составляют 14–42 °С.

Холерные вибрионы не требовательны к питательным средам, относятся к галофильным микроорганизмам, поэтому хорошо растут при рН 8,5–9,0. На плотных питательных средах образуют прозрачные, выпуклые дисковидные колонии с голубоватым оттенком и ровными краями. На щелочном бульоне и пептонной воде уже через 6 ч появляется нежная пленка, состоящая из холерных вибрионов.

Холерные вибрионы разжижают свернутую сыворотку, желатин и образуют индол, аммиак, а также ферментируют с образованием кислоты глюкозу, левулезу, галактозу, сахарозу, мальтозу, маннозу, манит, крахмал, медленно – глицерин. В первые 48 ч не ферментируют лактозы и арабинозы. По способности ферментировать маннозу, арабинозу и сахарозу вибрионы разделяются на хемовары.

Гемолитическая активность и гемагглютинирующие свойства холерных вибрионов в отношении эритроцитов барана, козы, кур, а также способность образовывать ацетилметилкарбинол являются нестабильными признаками, которые учитываются как второстепенные данные в дифференцировке микробов рода *Vibrio*.

Холерные вибрионы продуцируют экзотоксин, который обладает энтеротоксическим свойством и играет важную роль в патогенезе холеры. Эндотоксин также оказывает сильное токсическое действие.

Холерные вибрионы имеют термостабильные О-антигены (соматические) и термолабильные Н-антигены (жгутиковые). Первые обладают видовой и типовой специфичностью, а вторые являются неспецифическими и общими для всего рода *Vibrio*.

У больных и вибрионосителей обнаружены неагглютинирующие формы, природа которых до сих пор окончательно не установлена. Но полагают, что они являются следствием изменчивости холерных вибрионов, утративших не только агглютинабельность, но и некоторые биологические свойства, их называют НАГ-вибрионами. По морфологическим, культуральным и биохимическим признакам они сходны с холерными вибрионами, но не обладают общими с ними О- и Н-антигенами. Их довольно часто выделяют из воды и других объектов внешней среды.

Холерные вибрионы способны сохраняться достаточно длительно при низких температурах; в воде – до нескольких суток, в кишечнике рыб, в устрицах, креветках и крабах – от 1 до 40 суток, в почве – до 2 месяцев, а в испражнениях – до 5 суток. Холерный вибрион Эль-Тор обладает большей устойчивостью, в воде (в том числе и морской) сохраняется свыше 4 недель, на продуктах – 1–10 суток, в кишечнике мух – 4–5 суток. В благоприятных условиях холерные вибрионы Эль-Тор способны размножаться в различных водоемах и иле.

К солнечному свету и высушиванию холерные вибрионы малоустойчивы. Так, при температуре 80 °С они выживают в течение 5 мин, но при 100 °С погибают мгновенно.

Холерные вибрионы обладают высокой чувствительностью к дезинфицирующим веществам, особенно к кислотам. Например, в растворе соляной кислоты концентрации 1:10 000 они погибают в течение 1 мин. Высокая чувствительность проявляется и по отношению к действию желудочного сока.

2. Патогенность для животных и человека

Холера является одной из самых древних инфекций. Ее эпидемическими очагами являются Индия, Азия и Африка.

Холера – антропонозная инфекция, относится к числу особо опасных или карантинных инфекций, так как характеризуется высокой летальностью и способностью к эпидемическому или пандемическому распространению.

Холера – это острая кишечная инфекция, характеризующаяся проявлениями своеобразного гастроэнтерита или энтерита, с ярко выраженной интоксикацией и большей или меньшей степенью обезвоженности организма в результате нарушения водно-солевого обмена.

В естественных условиях животные не болеют холерой. Но в лабораторных условиях внутрибрюшинное введение культуры кроликам и морским свинкам сопровождается общим токсикозом, перитонитом, приводящим к гибели животного.

Что касается человека, то холерные вибрионы передаются от больных и носителей через пищу, воду, мух и грязные руки. Таким способом микробы попадают через рот в тонкий кишечник. Хотя кислое содержимое желудка и является неблагоприятной средой для них, тем не менее в ряде случаев под действием различных факторов, нейтрализующих или снижающих бактерицидные свойства желудочного сока, защитный барьер нарушается. А наличие щелочной среды и продуктов белкового распада в кишечнике создает благоприятные условия для размножения холерных вибрионов, вырабатывающих энтеротоксин, который активизирует фермент аденилциклазу в эпителиальных клетках тонкого кишечника и повышает продукцию аденозинмонофосфата, приводящего к изменению механизма проницаемости эпителиальных клеток, что и обуславливает развитие профузного поноса. Быстрая дегидратация ведет к потере электролитов (калия и бикарбоната натрия).

Инкубационный период при холере составляет от нескольких часов до 6 дней.

В течении болезни различают три периода:

1) холерный энтерит, или холерный понос, или диарея. Этот период длится 1–2 суток, и у части больных инфекционный процесс заканчивается выздоровлением;

2) холерный гастроэнтерит – характеризуется обильным поносом и многократной рвотой, которые приводят к обезвоживанию организма. При этом снижается температура тела, уменьшается диурез, понижается содержание в крови минеральных и белковых веществ, появляются судороги. Испражнения больного по внешнему виду напоминают рисовый отвар;

3) холерный алгид – характеризуется тяжелыми симптомами. Снижен тургор кожи – она собирается в складки. Появляется цианоз. Голос у больного становится охриплым, вплоть до полной афонии. Температура тела может снизиться до 35,5–34 °С. Вязкость крови повышается, вследствие чего развивается резкое ослабление сердечной деятельности. Наблюдается задержка мочеиспускания. В ряде случаев может развиваться холерная кома, приводящая к прострации и смерти.

Кроме того, отмечаются и случаи скоротечной формы холеры (сухая холера) при отсутствии поноса и рвоты в результате резкой интоксикации, приводящие к смерти больного.

Холера, вызываемая вибрионом Эль-Тор, в большинстве случаев протекает в стертой и легкой форме. Тяжелые формы (вплоть до летального исхода) наблюдаются у лиц с различными соматическими болезнями, которые снижают общую резистентность организма и барьерную функцию желудка.

У лиц, перенесших холеру, развивается прочный антитоксический и антибактериальный (антиинфекционный) иммунитет.

3. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика холеры

Диагностика

Материалом для исследования служат испражнения, рвотные массы, органы трупа, вода, предметы, а в некоторых случаях и продукты питания. Взятие и доставка материала производится с соблюдением определенных правил. Анализ материала поэтапный и включает 3 этапа.

I. *Микроскопическое исследование мазков из испражнений*. Мазки окрашиваются по Грамму и водным раствором фуксина с целью обнаружения холерных вибрионов. Этот анализ позволяет получить предварительный ответ в течение уже нескольких минут при условии обследования в ранней стадии.

II. *Посев испражнений больного в 1 %-ную пептонную воду, на щелочной мясопептонный агар или бактоагар TCBS*. Через 6 ч на поверхности пептонной воды образуется пленка, мазки из которой окрашивают по Грамму. Выросшую культуру изучают на подвижность, а также ставят реакции агглютинации на предметном стекле со специфической агглютинирующей О-сывороткой, разведенной 1:100. Для выделения чистой культуры делают пересев с пептонной воды на плотные среды. Если в пептонной воде первой генерации холерных вибрионов не обнаружено, то каплю с поверхностного слоя пересевают на вторую пептонную воду. Выросшую культуру вибрионов на плотных питательных средах исследуют на подвижность и агглютинабельные свойства, а затем для накопления чистой культуры отсевают на скошенный агар.

III. *Развернутую реакцию агглютинации со специфической О-сывороткой и типоспецифическими сыворотками Огава и Инаба, а также определение ферментативных свойств проводят для окончательной идентификации*.

В некоторых случаях для диагностики холеры применяют серологические методы исследования – реакцию агглютинации и определение вибриоцидных антител.

Лечение

Патогенетическая терапия включает борьбу с обезвоживанием, гипопроteinемией, нарушением обмена веществ, а также последствиями токсикоза путем введения солевых растворов натрия и калия, вливания плазмы или сухой сыворотки, глюкозы. Применяют согревающие ванны. Назначают препараты, тонизирующие сердечно-сосудистую систему. Кроме того, проводится и антибактериальная терапия: больным назначают вначале внутривенное, а затем пероральное введение антибиотиков тетрациклинового ряда, левомицетин, стрептомицин.

Профилактика

В качестве профилактических средств используют специфические и неспецифические методы. Неспецифическая профилактика включает такие мероприятия, как:

- 1) обнаружение первых случаев холеры, учет больных и информирование вышестоящих органов здравоохранения;
- 2) изоляция и госпитализация больных и носителей с соблюдением особых мер предосторожности, обсервация и лабораторное обследование контактных лиц;
- 3) текущая и заключительная дезинфекция в отделении для больных холерой и в очаге;

4) строгое соблюдение правил личной гигиены; кипячение и хлорирование воды, обеззараживание посуды;

5) охрана источников водоснабжения, усиление санитарного надзора за пищевыми блоками, борьба с мухами. Необходим систематический контроль водоемов, особенно в летний период, в местах массового отдыха населения.

Специфическая профилактика является вспомогательным средством и включает в себя иммунизацию холерной моновакциной, содержащей 8 млрд микробных тел в 1 мл, или холерным анатоксином. Поствакцинальный иммунитет сохраняется в пределах полугода. Кроме того, с профилактической целью контактировавшим с больным лицом или подозрительным на холеру проводят химиопрофилактику – прием внутрь тетрациклина.

4. Парагемолитический вибрион

Vibrio parahaemolyticus был открыт японскими учеными в 1963 г. Выделен из морской воды и у морских животных, а также из испражнений людей, больных острым энтеритом.

Парагемолитический вибрион – возбудитель токсикоинфекций, продуцирующий гемолизин, который обладает энтеротоксическим свойством.

Природным резервуаром данного вибриона является морская вода побережья Японии. Вибрион обнаруживается в организме морских рыб и ракообразных. Пищевые отравления возникают у лиц, употребляющих сырые морские продукты.

Штаммы парагемолитического вибриона, высеваемые у людей, вызывают лизис эритроцитов и цитопатическое действие в культурах тканей и клеток человека. Штаммы, выделенные из морепродуктов и морской воды, этих свойств лишены, а также непостоянно ферментируют сахарозу и арабинозу.

Лечение и предупреждение данного заболевания соответствуют основным принципам лечения других токсикоинфекций.

Тема 24. Патогенные кокки

1. Стафилококки

Семейство Staphilococcaceae, род Staphylococcus.

Являются возбудителями стафилококковой пневмонии, стафилококка новорожденных, сепсиса, пузырчатки.

Это мелкие грамположительные кокки. В мазках располагаются скоплениями, часто гроздевидными. Спор не образуют, неподвижны. Образуют микрокапсулы. Являются факультативными анаэробами.

Нетребовательны к питательным средам, хорошо растут на простых средах, дают пигментные колонии. Элективной средой для стафилококков является желточно-солевой агар, реже – молочно-солевой агар.

Стафилококки устойчивы к действию высоких концентраций хлорида натрия.

В отличие от микрококков стафилококки способны разлагать глюкозу в анаэробных условиях, глицерин – в аэробных условиях. Они чувствительны к лизостафину, так как в состав их клеточной стенки входят особые теиховые кислоты – рибитол-теиховые.

Стафилококки активны биохимически, обладают протеолитической и сахаролитической активностью. По биохимическим свойствам делятся на виды:

1) *St. aureus* (имеет много факторов патогенности, может иметь разнообразную локализацию поражений);

2) *St. epidermidis* (поражает кожу);

3) *St. saprophiticus* (паразит мочеполового тракта).

Для дифференциации этих трех видов используют три теста:

1) ферментацию манита в анаэробных условиях;

2) продукцию плазмокоагулазы;

3) чувствительность к антибиотику новобиоцину.

Для *St. aureus* все три теста положительны, для *St. saprophiticus* все три теста отрицательны, *St. epidermidis* чувствителен к новобиоцину.

Антигены стафилококков разделяют на:

1) экстрацеллюлярные (вариантспецифические белки экзотоксинов и экзоферментов);

2) целлюлярные:

а) поверхностные (гликопротеиды) – вариантспецифические;

б) глубокие (теиховые кислоты) – группоспецифические.

Факторы патогенности стафилококков следующие.

I. Роль адгезинов выполняют комплексы поверхностных белков клеточной стенки с теиховыми кислотами.

II. Гиалуронидаза – фактор инвазии в ткани в межклеточные промежутки клеток.

III. Ферменты агрессии:

1) плазмокоагулаза;

2) фибринолизин;

3) лецитиназа;

4) фосфатазы;

5) фосфотидазы;

6) экзонуклеазы;

7) протеазы.

IV. Токсины:

- 1) гематолизины (α , β , γ , δ , ϵ); вызывают гемолиз эритроцитов человека, обладают дерматонекротическим действием;
- 2) гемотоксины; ответственны за развитие токсического шока;
- 3) лейкоцидин; состоит из двух фракций; для одной мишенями являются макрофаги, для другой – полиморфноядерные лейкоциты;
- 4) экзофолиативный экзотоксин; вызывает множественные поражения кожи;
- 5) энтеротоксины (А, В, С, D, Е); при алиментарном пути заражения вызывают пищевой токсикоз или пищевые токсико-инфекции у детей, повреждают энтероциты.

Диагностика:

- 1) бактериологическое исследование. Среда – кровяной, желточно-солевой агар;
- 2) серодиагностика. Выявляют антитела к α -гемотоксину в реакции токсинейтрализации.

Лечение:

1. Химиотерапия – антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны.
2. Фаготерапия – поливалентные фаги.
3. Иммунотерапия:
 - 1) стафилококковые анатоксины;
 - 2) лечебные аутовакцины;
 - 3) готовые антительные препараты.

Специфическая профилактика: стафилококковый анатоксин (активная).

2. Стрептококки

Относятся к семейству Streptococcaceae, роду Streptococcus.

Это грамположительные кокки, в мазках располагаются цепочками или парно. Являются факультативными анаэробами. Не растут на питательных средах. На кровяном агаре дают мелкоочечные беспигментные колонии, окруженные зоной гемолиза: α – зеленеющий, β – прозрачный. Заболевание чаще вызывается β -гемолитическим стрептококком. В сахарном бульоне дают придонно-пристеночный рост, а сам бульон остается прозрачным. Растут при температуре 37 °С.

Стрептококки способны расщеплять аминокислоты, белки, углеводы. По биохимическим свойствам выделяют 21 вид. Большинство из них условно-патогенные.

Наибольшее значение в развитии инфекционных заболеваний имеют:

- 1) *S. pyogenes*, возбудитель специфической стрептококковой инфекции;
- 2) *S. pneumoniae*, возбудитель пневмонии, может вызывать ползучую язву роговицы, отиты, сепсис;
- 3) *S. agalactiae*, может входить в состав нормальной микрофлоры влагалища; инфицирование новорожденных приводит к развитию у них сепсиса и менингита;
- 4) *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. mitis*, входят в состав нормальной микрофлоры полости рта; при дисбиозе ротовой полости являются ведущими факторами в развитии кариеса.

Антигены стрептококков.

1. Экстрацеллюлярные – белки и экзоферменты. Это вариантспецифические антигены.
2. Целлюлярные:
 - 1) поверхностные представлены поверхностными белками клеточной стенки, а у *S. pneumoniae* – белками капсул. Они вариантспецифичны;
 - 2) глубокие – тейхоевые кислоты, компоненты пептидогликана, полисахариды. Они группоспецифичны.

Факторы патогенности следующие.

I. Комплексы тейхоевых кислот с поверхностными белками (играют роль адгезинов).

II. М-белок (обладает антифагоцитарной активностью). Это суперантиген, т. е. вызывает поликлональную активацию клеток иммунной системы.

III. OF-белок – фермент, который вызывает гидролиз липопротеидов сыворотки крови, снижая ее бактерицидные свойства. OF-белок важен для адгезии. По наличию или отсутствию этого белка выделяют:

- 1) OF⁺-штаммы (ревматогенные); входными воротами является зев;
- 2) OF⁻-штаммы (нефритогенные); первичная адгезия на коже.

IV. Ферменты агрессии и защиты:

- 1) гиалуронидаза;
- 2) стрептокиназа;
- 3) стрептодорназа;
- 4) протеазы;
- 5) пептидазы.

V. Экзотоксины:

- 1) гемолизины:

- а) О-стрептолизин (обладает кардиотоксическим действием, сильный иммуноген);

б) S-стрептолизин (слабый иммуноген, не обладает кардиотоксическим действием);

2) эритрогенин (обладает пирогенным действием, вызывает парез капилляров, тромбоцитоз, является аллергеном, встречается у штаммов, вызывающих осложненные формы инфекции, у возбудителей скарлатины, рожистого воспаления).

Лечение:

1) этиотропная терапия антибиотиками;

2) УФ-терапия.

Специфической профилактики нет.

3. Менингококки

Относятся к роду *Neisseria*, род *N. meningitidis*.

Это диплококки бобовидной формы, в мазках имеют вид кофейных зерен. Спор не образуют, жгутиков не имеют, в организме образуют капсулу. Грамотрицательные. Строгие аэробы.

Менингококки требовательны к питательным средам – растут только на средах, содержащих человеческий белок (сывороточный агар, асцит-агар), при температуре 37 °С. На сывороточном агаре образуют нежные прозрачные колонии средней величины. В сывороточном бульоне дают рост в виде помутнения и осадка на дне.

Биохимически малоактивны, ферментируют только глюкозу и мальтозу, образуя кислоту, но не образуя газ. Крайне неустойчивы во внешней среде, чувствительны к перемене температуры, погибают при температуре ниже 37 °С.

По капсульному полисахаридному антигену менингококки подразделяют на четыре основные серогруппы (группы А, В, С, D) и три дополнительные (X, Y, Z).

Факторы вирулентности менингококков:

- 1) адгезины – фимбрии (пили);
- 2) эндотоксин; защищает от внутриклеточного переваривания, обеспечивая незавершенность фагоцитоза; за счет незавершенности фагоцитоза происходит внутриклеточное размножение возбудителя;
- 3) ферменты агрессии – гиалуронидаза, нейраминидаза;
- 4) поверхностные белки, обладающие антилизоцимной активностью;
- 5) сидерофоры – это клеточные включения, активно связывающие трехвалентное железо, конкурируя с эритроцитами.

Менингококки патогенны только для человека.

Менингококковая инфекция – антропонозная инфекция, источником является больной (или бактерионоситель). Основной путь передачи воздушно-капельный.

Клинические формы могут быть различными: менингококковый назофарингит, цереброспинальный менингит, менингококкцемия (менингококковый сепсис), менингококковый эндокардит и др.

После перенесенного заболевания формируется стойкий видоспецифический антимикробный иммунитет. У детей младшего возраста имеется пассивный иммунитет, обусловленный полученными от матери IgG.

Диагностика:

- 1) бактериологическое исследование; материал для исследования определяется клинической формой заболевания; среда – сывороточный агар;
- 2) иммуноиндикация: иммунофлюоресценция, ИФА, реакция преципитации, латекс-агглютинации;
- 3) серодиагностика: РПГА с парными сыворотками (для диагностики генерализованных форм инфекции).

Лечение: этиотропная терапия: сульфаниламиды, пенициллины, хлорамфеникол.

Специфическая профилактика:

- 1) химическая менингококковая вакцина, содержащая полисахаридные антигены серогрупп А и С (активный антимикробный иммунитет);
- 2) человеческий иммуноглобулин (пассивный антимикробный иммунитет).

4. Гонококки

Относятся к роду *Neisseria*, вид *N. gonorrhoeae*.

Это диплококки бобовидной формы, в мазках располагаются внутриклеточно в протоплазме лейкоцитов, имеют вид кофейных зерен.

Спор не образуют, неподвижны, образуют микрокапсулу, грамотрицательные. Являются облигатными аэробами.

Гонококки исключительно требовательны к питательным средам, растут только на средах, содержащих человеческие белки (сывороточном агаре, асцит-агаре и др.). На сывороточном агаре образуют мелкие блестящие колонии в виде капель.

Биохимически малоактивны, расщепляют только глюкозу (до кислоты).

Антигены гонококков:

- 1) белковые антигены наружной мембраны;
- 2) липополисахаридные антигены клеточной стенки.

Общепринятого деления на серогруппы и серовары нет.

Факторы вирулентности:

- 1) адгезины – фимбрии (пили);
- 2) эндотоксин; подавляет фагоцитоз, обеспечивая внутриклеточное расположение гонококков;
- 3) ферменты агрессии – гиалуронидаза, нейраминидаза.

Патогенны только для человека. Вызывают лишь специфические нозологические формы гнойно-воспалительных заболеваний.

Гонококковая инфекция – антропонозная инфекция, источник заражения – больной человек, носительства не бывает. Путь передачи половой, возможно заражение новорожденного при прохождении через родовые пути больной матери.

Клинические формы гонококковой инфекции:

- 1) гонорея (урогенитальная, экстрагенитальная);
- 2) гонококковая септикопиемия;
- 3) специфический конъюнктивит новорожденных (возникает только при прохождении родовых путей больной гонореей матери).

По длительности течения гонореи и выраженности клинических признаков различают:

- 1) свежую гонорею (длительность течения не более двух месяцев):

- а) острую;
- б) подострую;
- в) торпидную.

- 2) хроническую гонорею (вялотекущее заболевание продолжительностью более двух месяцев или с неустановленным сроком).

По клиническому течению различают:

- 1) неосложненную гонорею (гнойное воспаление нижних отделов уrogenитального тракта);
- 2) осложненную гонорею (процесс распространяется на верхние отделы мочеполовой системы).

Перенесенное заболевание не оставляет стойкого иммунитета.

Диагностика:

- 1) при острой форме:

- а) бактериоскопия мазка отделяемого уретры, шейки матки;
- б) бактериологическое исследование;

2) при хронической форме:

- а) бактериоскопия;
- б) бактериологическое исследование;
- в) серодиагностика – РСК;
- г) иммуноиндикация.

Особенность серодиагностики: диагноз ставится качественно (по обнаружению в сыворотке обследуемого антител) по результатам однократной реакции (без парных сывороток). Это объясняется тем, что постинфекционный иммунитет при гонорее не формируется (нет постинфекционных антител).

Лечение: этиотропная терапия антибиотиками.

Специфическая профилактика не разработана.

Тема 25. Грамотрицательные бактерии – возбудители гнойно-воспалительных заболеваний

1. Гемофильная палочка

Семейство Pasteurellaceae, род Haemophilus, вид *H. influenza*.

Это мелкие или средних размеров прямые палочки, неспорообразующие, неподвижные, грамотрицательные, аэробы. В организме образуют капсулу.

Для культивирования требуются питательные среды, содержащие кровь (кровяной агар) или ее препараты (шоколадный агар).

В окружающей среде микроорганизмы быстро погибают от действия температуры выше 55 °С, солнечных лучей, высушивания, дезинфицирующих растворов.

Биохимическая активность выражена слабо. Расщепляют в основном углеводы до кислоты (без образования газа). По способности образовывать индол, продуцировать уреазу и орнитиндекарбоксилазу гемофилы инфлюэнции делятся на шесть биоваров.

Антигенная структура:

- 1) соматический белковый О-антиген;
- 2) капсульный полисахаридный К-антиген;

По строению капсульного К-антигена вид делится на пять сероваров (обозначаемых *a, b, c, d, e*). Серовар *b* – наиболее частый возбудитель менингитов.

Факторы патогенности:

- 1) эндотоксин;
- 2) капсульный полисахарид, обладающий антифагоцитарной активностью.

Экзотоксин не продуцирует.

Гемофильная палочка может входить в состав нормальной микрофлоры слизистой ротоглотки и верхних дыхательных путей, поэтому инфекция может возникать как эндогенная.

При экзогенном инфицировании вызывает инфекции ЛОР-органов и органов дыхания (отиты, пневмонии), менингит. Путь передачи воздушно-капельный. Источником инфекции являются больной или бактерионоситель (антропонозная инфекция). Чаще всего заболевание развивается как вторичная инфекция при снижении общей резистентности организма, обусловленной основным заболеванием.

Бактериальные менингиты, вызванные гемофильной палочкой, возникают чаще всего у детей от шести месяцев до трех лет. Это связано с тем, что у детей в возрасте до трех месяцев обнаруживаются сывороточные антитела, переданные им от матери, но впоследствии исчезающие, и только к 3–5-и годам вновь появляются бактерицидные комплементзависимые антитела к капсульному полисахариду возбудителя.

Диагностика:

1) бактериологическое исследование – основной метод; материал – мокрота, спинномозговая жидкость, кровь; среда – кровяной агар. Необходимо дифференцировать от сходных микроорганизмов этого же рода – представителей нормальной микрофлоры носоглотки и ротовой полости;

2) экспресс-метод – иммуноиндикация с помощью реакции иммунофлюоресценции со специфической сывороткой типа *b* (используют при диагностике менингитов).

Этиотропная терапия проводится антибиотиками с учетом чувствительности возбудителя.

Специфическая профилактика: химическая вакцина.

2. Синегнойная палочка

Относится к семейству Pseudomonadaceae, роду Pseudomonas, виду P. aeruginosa.

Род Pseudomonas, кроме синегнойной палочки, включает в себя еще более 20 видов, многие из которых также могут вызывать заболевание у человека.

Это прямые или слегка изогнутые палочки средних размеров, подвижные (лофотрихи или монотрихи), грамотрицательные, облигатные аэробы. Спор не образуют, имеют тонкую слизистую капсулу.

Синегнойная палочка не требовательна к питательным средам, хорошо растет на искусственных питательных средах. На мясопептонном бульоне дает рост в виде помутнения с сероватой пленкой на поверхности. На плотных питательных средах формируются крупные полупрозрачные колонии флюоресцирующего зеленоватого цвета. При этом в толщу среды диффундируют синевато-зеленые водорастворимые пигменты – пиоцианин или флюоресцеин. Способность псевдомонад образовывать пигменты – наиболее характерный дифференциально-диагностический признак.

Культура синегнойной палочки при культивировании на питательных средах имеет кислото-сладкий ароматный запах (специфический запах жасмина).

Устойчива во внешней среде. Обладает естественной устойчивостью к антибиотикам.

Биохимические свойства:

- 1) низкая сахаролитическая активность, расщепляет глюкозу до кислоты;
- 2) высокая протеолитическая активность, разлагает некоторые аминокислоты;
- 3) редуцирует нитриты до газообразного азота;
- 4) разжижает желатин.

Метаболизм только окислительный.

Антигенная структура:

1) соматический O-антиген, группоспецифический, по его строению делится на серогруппы;

- 2) жгутиковый H-антиген;
- 3) M-антиген внеклеточной слизи.

Факторы патогенности:

1) в организме может образовывать капсулоподобное вещество, имеющее защитные свойства;

2) выделяет термолабильный экзотоксин А, обладающий цитотоксическим и дермoneкротическим действием;

- 3) выделяет эндотоксин;
- 4) некоторые штаммы продуцируют гемолизины и лейкоцидин;
- 5) имеет ферменты агрессии: плазмокоагулаза, протеазы, антиэластазы.

Синегнойная палочка может обитать в кишечнике человека, обнаруживается на коже и слизистых оболочках.

Чаще всего синегнойная инфекция является внутрибольничной. Источник – больной (или бактерионоситель). Может вызывать различные заболевания. Особенно часто выделяется при гнойно-воспалительных осложнениях ожоговых ран.

Иммунитет после перенесенной инфекции обусловлен гуморальными и клеточными механизмами.

Диагностика: бактериологическое исследование; материал определяется клиническими проявлениями заболевания.

Этиотропная терапия:

- 1) антибиотики (цефалоспорины, аминогликозиды);

- 2) синегнойный бактериофаг;
- 3) синегнойная иммунная плазма;
- 4) убитая лечебная стафило-протейно-синегнойная вакцина.

3. Клебсиеллы

Род *Klebsiella* включает в себя несколько патогенных для человека видов. Наиболее значимы *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*.

Это грамотрицательные палочки средней величины, не образующие спор. Факультативные анаэробы. В препаратах располагаются поодиночке, попарно или короткими цепочками. Не имеют жгутиков, неподвижны. Спор не образуют.

Это истинно капсульные бактерии: образуют капсулу в организме и на питательных средах. Капсула имеет полисахаридную структуру.

Нетребовательны к питательным средам. На плотных питательных средах образуют характерные куполообразные мутные слизистые колонии. При росте на мясопептонном бульоне вызывают равномерное помутнение, иногда со слизистой пленкой на поверхности.

Клебсиеллы устойчивы к факторам внешней среды, благодаря капсуле длительно сохраняются в воде, на предметах, в помещениях.

Обладают выраженной сахаролитической активностью, ферментируют углеводы с образованием кислоты и газа. По биохимическим свойствам род делится на шесть видов. Для дифференциации используют следующие тесты:

- 1) ферментацию глюкозы;
- 2) ферментацию лактозы;
- 3) образование уреазы;
- 4) утилизацию цитрата.

Антигенная структура:

- 1) соматический О-антиген – группоспецифический;
- 2) капсульный К-антиген.

К-антигены являются общими с антигенами эшерихий и сальмонелл.

Факторы патогенности:

- 1) обладают выраженными адгезивными свойствами;
- 2) главный фактор – капсула, защищающая микроорганизмы от фагоцитоза;
- 3) имеют К-антиген, подавляющий фагоцитоз;
- 4) выделяют эндотоксин.

Клебсиеллы нередко обнаруживаются на коже и слизистых оболочках, в связи с чем возможно развитие эндогенной инфекции. Но экзогенное заражение встречается чаще. Источником инфекции могут быть больной, бактерионоситель, объекты внешней среды. Пути передачи – воздушно-капельный, контактно-бытовой.

K. pneumoniae может вызывать у человека пневмонию, поражение суставов, мозговых оболочек, мочеполовых органов, гнойные послеоперационные осложнения, сепсис.

K. ozaenae поражает слизистую оболочку верхних дыхательных путей и придаточных пазух носа, вызывая их атрофию.

K. rhinoscleromatis поражает слизистую оболочку носа, трахею, бронхи, глотку, гортань. Постинфекционный иммунитет нестойкий.

Диагностика:

- 1) бактериологическое исследование; материал – отделяемое пораженных слизистых оболочек;
- 2) иммуноиндикация.

Этиотропная терапия:

- 1) антибиотики, фторхинолоны с учетом чувствительности возбудителя;
- 2) убитая лечебная вакцина Солко-Уровак (для лечения урогенитальных инфекций);
- 3) вакцина ВП-4 (для лечения инфекций дыхательных путей).

Специфическая профилактика: вакцина IRS-19.

4. Протей

Род *Proteus*. Возбудителем гнойно-воспалительных заболеваний является вид *P. mirabilis*.

Это полиморфные грамотрицательные палочки с закругленными концами, факультативные анаэробы. Капсулообразование отсутствует. Имеют перитрихально расположенные жгутики. Н-формы этих бактерий отличаются высокой подвижностью, хотя встречаются и неподвижные (О-формы).

Нетребовательны к питательным средам. На мясопептонном агаре Н-форма протей дает характерный ползучий рост в виде нежной вуали голубовато-дымчатого цвета (феномен роевания), затягивающей всю поверхность сплошным налетом без образования отдельных колоний. В жидкой питательной среде дает рост в виде диффузного помутнения. При культивировании характерен гнилостный запах.

О-формы образуют крупные с ровными краями колонии. Некоторые штаммы вызывают гемолиз эритроцитов в кровяных средах.

В окружающей среде устойчивы, могут сохранять жизнеспособность в слабых растворах дезинфектантов. Широко распространены в природе. Являются обитателями кишечника человека и животных.

Биохимические свойства:

- 1) ферментируют глюкозу до кислоты;
- 2) не разлагают маннит и лактозу;
- 3) продуцируют сероводород;
- 4) разжижают желатин, расщепляют мочевины с образованием аммиака;
- 5) обладают протеолитической и пептолитической активностью.

Антигенное строение:

- 1) соматический О-антиген – группоспецифический;
- 2) жгутиковый Н-антиген – вариантспецифический.

По Н-антигену протей делят на 110 сероваров. Внутри вида различают фаговары, бактерициновары, бактериоциногеновары.

Факторы патогенности:

- 1) адгезины – пили;
- 2) эндотоксин;
- 3) патогенные амины – индол, скатол;
- 4) ферменты агрессии – протеазы.

Протей в небольших количествах могут обнаруживаться в кишечнике здорового человека, поэтому протейная инфекция может развиваться как эндогенная.

Основным местом их обитания являются объекты внешней среды, гниющие продукты, сточные воды, почва. Источником инфекции для человека могут быть больной и бактерионоситель.

Бактерии участвуют в развитии гнойно-воспалительных заболеваний мочевыводящих путей, быстро распространяются по ожоговой поверхности, давая характерный гнилостный запах.

Постинфекционный иммунитет нестойкий.

Диагностика: основной метод – бактериологическое исследование; материал определяется локализацией очага поражения. Посев по методу Шушкевича в каплю конденсированной влаги свежекошенного мясопептонного агара; характерен рост в виде вуали по всей поверхности среды.

Этиотропная терапия:

- 1) антибиотики, нитрофураны, фторхинолоны;

- 2) протейный или колипротейный бактериофаг;
 - 3) убитая лечебная стафило-протейно-синегнойная вакцина.
- Специфическая профилактика не разработана.

Тема 26. Возбудители анаэробной инфекции

1. Возбудители неклостридиальной анаэробной инфекции

Неклостридиальные анаэробные бактерии в большинстве своем входят в состав нормальной микрофлоры человека, поэтому вызывают гнойно-воспалительные заболевания, возникающие как эндогенная инфекция.

К ним относят:

- 1) грамположительные кокки. Наиболее часто гнойно-воспалительные заболевания вызывают бактерии семейства *Peptococcaceae*, рода *Peptococcus*; семейства *Peptostreptococcaceae*, рода *Peptostreptococcus*;
- 2) грамотрицательные кокки (семейство *Veilonellaceae*, род *Veilonella*);
- 3) грамположительные неподвижные палочки (семейства *Lactobacillaceae*, род *Lactobacillus*, *Bifidobacteriaceae*, род *Bifidobacterium*), *Eubacteriaceae*, род *Eubacterium*, *Propionibacteriaceae*, род *Propionibacterium*);
- 4) грамотрицательные палочки (семейства *Bacteroidaceae*, род *Bacteroides*, *Fusobacteriaceae*, род *Fusobacterium*, *Prevotellaceae*, род *Prevotella*).

Факторы патогенности:

- 1) адгезины: у грамотрицательных – пили, у грамположительных – комплекс поверхностных белков с тейхоевыми кислотами;
- 2) капсулообразование (возможно);
- 3) многообразные ферменты агрессии и защиты: гиалуронидаза, супероксиддисмутаза, гепариназа, ДНК-аза, коллагеназа, протеаза;
- 4) продукты метаболизма, токсичные для клеток тканей, – индол, скатол, сероводород, аммиак и др.

Экзотоксин отсутствует.

Для заболеваний, вызванных неклостридиальными анаэробами, характерны:

- 1) фекальный запах гноя;
- 2) абсцессы с некрозом;
- 3) локализация рядом с поврежденной слизистой;
- 4) развитие на фоне лечения аминогликозидами I-го поколения;
- 5) наличие газов в тканях, симптом крепитации;
- 6) черное окрашивание экссудата;
- 7) развитие септических тромбофлебитов.

Диагностика: основной метод – бактериологическое исследование.

Особенности исследования:

- 1) при заборе материала, транспортировке, в ходе работы, при культивировании посевов соблюдают анаэробные условия;
- 2) бактериологическое исследование начинают с первичного посева, затем проводят первичную микроскопию. Используют среды со сниженным окислительно-восстановительным материалом, элективная среда – с аминогликозидом;
- 3) для посева крови при сепсисе используют жидкие среды с глюкозой со сниженным окислительно-восстановительным потенциалом.

Ускоренная диагностика:

- 1) хроматография спектра жирных кислот в исследуемом материале. Каждому роду присущи свои спектры жирных кислот;

2) люминесцентная микроскопия. Спонтанная флюоресценция характерна для *Fusobacterium* и *Prevotella*;

3) тест-системы для ИФА (при инфекциях, вызванных *B. fragilis*).

Этиотропная терапия:

1) грамположительные, грамотрицательные кокки – бензилпенициллин, клиндамицин, доксициклин, ванкомицин;

2) грамотрицательные палочки – цефалоспорины, метронидазол, клиндамицин, хлорамфеникол;

3) грамположительные палочки – бензилпенициллин, хлорамфеникол, аминогликозиды нового поколения, клиндамицин, ванкомицин.

Специфическая профилактика и иммунотерапия не разработаны.

2. Возбудители клостридиальной анаэробной раневой инфекции

Относятся к семейству Clostridiaceae, роду Clostridium.

Это палочки средней величины или крупные с закругленными, прямыми или заостренными концами, полиморфны. Большинство видов подвижны за счет перитрихально расположенных жгутиков. Образуют овальные или сферические эндоспоры. Грамположительны. Отдельные виды образуют капсулы. Являются облигатными анаэробами.

Клостридии обладают протеолитическими и сахаролитическими свойствами.

Род Clostridium включает в себя до 100 видов, из которых патогенными для человека являются возбудители газовой гангрены, столбняка и ботулизма.

Возбудителем газовой гангрены чаще всего является *C. perfringens*. Это крупные грамположительные палочки. В организме образуют капсулу. На жидких питательных средах растут быстро, вызывая помутнение. В столбике агара образуют дисковидные колонии. На кровяном агаре образуют средней величины колонии с зоной гемолиза.

Факторы патогенности:

1) экзотоксин (гистотоксин), способный растворять большие участки пораженных тканей;

2) высокая инвазивная способность;

3) ферменты агрессии – гиалуронидаза.

C. perfringens в виде споровых форм способны длительно сохраняться в почве. Попадая в раны, споры прорастают. Вегетативные формы размножаются и выделяют экзотоксин. За счет действия ферментов и токсинов образуются очаги некроза, отек, появляются газообразование в тканях, общая интоксикация.

Заболевание сопровождается формированием антитоксического иммунитета.

Диагностика: бактериологическое исследование; материал – раневое отделяемое.

Этиотропная терапия:

1) антитоксическая противогангренозная сыворотка;

2) антибиотикотерапия.

Возбудитель столбняка – *C. tetani*. Это крупные грамположительные палочки. Капсул не образуют. На плотных питательных средах образуют шероховатые колонии средней величины серо-желтого цвета, которые распространяются по среде в виде сети тонких нитей. В столбике полужидкого агара колонии имеют вид чечевичек или пушинок с плотным коричневым центром.

Главный фактор патогенности – экзотоксин, состоящий из двух фракций:

1) тетаноспазмина, обладающего нейротропным действием (поражает продолговатый мозг, блокирует освобождение медиатора в синапсах);

2) тетанолизина – гемолизина, обладающего гемолитическим и кардиотоксическим действием.

C. tetani в виде спор способны длительное время сохраняться в почве. Заражение происходит при проникновении возбудителя в организм через дефекты кожи и слизистых при ранах, ожогах, через операционные раны. Больной не заразен для окружающих.

Возбудитель не способен к инвазии, поэтому остается на месте входных ворот.

Столбняк – тяжелое заболевание с высокой летальностью. Ведущий симптом – судорожный синдром.

После перенесенного заболевания иммунитет не вырабатывается.

Диагностика:

1) реакция токсинейтрализации;

2) биопробы на мышах.

Этиотропная терапия:

- 1) противостолбнячная анитоксическая сыворотка;
- 2) противостолбнячный человеческий иммуноглобулин.

Специфическая профилактика:

1) экстренная:

- а) противостолбнячный человеческий иммуноглобулин;
- б) столбнячный анатоксин;

2) плановая:

- а) АКДС – детям в 5–6 месяцев;
- б) ревакцинация АДС и АС-м.

Тема 27. Вирусные инфекции дыхательных путей, передающиеся воздушно-капельным путем

1. Дифтерия

Морфология и культуральные свойства

Возбудитель относится к роду *Carinobakterium*, виду *C. difteria*.

Это тонкие палочки, прямые или слегка изогнутые, грамположительные. Для них характерен выраженный полиморфизм. На концах булавовидные утолщения – метакроматические зерна волютина, обуславливающие неравномерное окрашивание клеток анилиновыми красителями. Эти включения располагаются по одному на каждом конце и могут быть выявлены при окраске по методу Нейссера. В мазках бактерии располагаются под углом в виде V или X, что обусловлено их собственным «щелкающим» делением.

Спор и капсул не образует, но у многих штаммов выявляют микрокапсулу. Неподвижны. Имеют фимбрии. Являются факультативными анаэробами или аэробами.

Выделяясь во внешнюю среду со слюной, пленками, дифтерийные палочки способны сохранять жизнеспособность на предметах в течение нескольких дней. Хорошо переносят высушивание. Чувствительны к антибиотикам и дезинфицирующим средствам.

Каринобактерии требовательны к питательным средам, для их культивирования применяются сывороточные среды или среды с добавлением крови. Используется среда Ру (свернутая сыворотка). На ней видимый рост наблюдается через 10–12 ч, колонии выпуклые, величинной с булавочную головку, серовато-белого цвета, с гладкой поверхностью, не сливаются друг с другом.

Для выделения используются элективные питательные среды с добавлением толурита калия в такой концентрации, в которой он не подавляет рост каринобактерий, но ингибирует рост сопутствующей микрофлоры. На кровяно-толуритовом агаре формируются колонии от серого до черного цвета. На жидких средах наблюдается рост в виде пленки или помутнения с осадком.

По биохимическим свойствам, характеру роста на питательных средах каринобактерии подразделяются на три биовара:

- 1) *gravis*;
- 2) *mitis*;
- 3) *intermedius*.

Для дифференцировки биоваров учитывают следующие биохимические свойства:

- 1) расщепление углеводов;
- 2) восстановление нитратов;
- 3) расщепление цистеина.

Антигенное строение:

- 1) групповой полисахаридный антиген;
- 2) видовой O-антиген;
- 3) вариантспецифический K-антиген.

По K-антигену вид подразделяется на 11 сероваров.

Факторы вирулентности:

- 1) ворсинки, фимбрии или пили (отвечают за способность к адгезии);

- 2) колонизация и инвазия (за счет ферментов нейраминидаза, гиалуронидаза, протеазы);
- 3) корд-фактор (нарушает фосфорилирование процессов дыхания клеток макроорганизма);
- 4) ведущий фактор – экзотоксин. Это белок, состоящий из пептидов А и В. Пептид В выполняет функцию акцептора, он распознает соответствующие рецепторы клеток, связывается с ними и формирует внутримембранный канал, через который в клетку проникает пептид А. Пептид А реализует биологическую активность токсина.

Патогенез

Источник инфекции – больные люди и носители. Пути передачи – воздушно-капельный, контактно-бытовой. Восприимчивость к заболеванию высокая, наиболее чувствительны к возбудителю дети. Заболевание развивается у лиц, не имеющих антитоксического иммунитета.

Возбудитель проникает через слизистые оболочки ротоглотки, реже – глаз, половых органов, кожу, раневую поверхность. В месте входных ворот возбудитель прикрепляется к соответствующим рецепторам эпителиальных клеток, вызывая воспалительный процесс. Затем происходит колонизация и выделение экзотоксина (гистотоксина).

Токсин блокирует ферменты синтеза белка в клетках хозяина, что приводит к их гибели. Это обуславливает некроз и летальный исход.

Сам возбудитель остается на месте входных ворот инфекции, а патогенез и клиническая картина определены действием экзотоксина, который оказывает общее и местное действие.

Патоморфологическим проявлением взаимодействия макро-и микроорганизма при дифтерии является фибринозное воспаление. Экзотоксин сначала поражает непосредственно эпителиальные клетки, а затем близлежащие кровеносные сосуды, повышая их проницаемость. В выходящем из сосудов экссудате обнаруживается фибриноген, при свертывании которого на поверхности слизистой оболочки образуются серовато-белого цвета пленчатые налеты, плотно спаянные с окружающей тканью. Они тяжело снимаются, при их отрыве обнажается эрозивная поверхность. Разрастание этих пленок и переход их на воздухоносные пути приводят к развитию истинного крупа и асфиксии.

Затем в воспалительный процесс вовлекаются:

- 1) регионарные лимфатические узлы (лимфадениты);
- 2) сосуды (токсин быстро проникает в кровь, при этом возникает паретическое расширение сосудов, что приводит к застою и стазу);
- 3) сердце (токсин поражает миокард, проводящую систему сердца, что приводит к параличу сердечной мышцы);
- 4) избирательно поражает кору надпочечников, что оказывает вторично неблагоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему;
- 5) почки (нефрит);
- 6) периферическая нервная система – полиневриты, парезы, параличи (в первую очередь – парез мягкого неба);
- 7) подавляется иммунная система (на пятый – седьмой дни антитела отсутствуют).

Сила токсина измеряется в DLM.

1 DLM – это минимальное количество токсина, которое при подкожном введении морской свинке весом 250 г вызывает ее гибель на четвертые-пятые сутки при характерной патологоанатомической картине: надпочечники увеличены, резко гиперемированы, в полостях геморрагический экссудат.

В зависимости от локализации существуют разнообразные формы дифтерии: дифтерия зева, носа, гортани, глаз, наружных половых органов, кожи, ран и др. В большинстве случаев наблюдается дифтерия зева. Инкубационный период составляет 2–10 дней. Заболевание начи-

нается с повышения температуры тела, появления боли при глотании, пленки на миндалинах, увеличения лимфатических узлов. У взрослых возможно течение дифтерии по типу лакунарной ангины. У детей раннего возраста нередко одновременно с зевом и носом в патологический процесс вовлекается гортань, в результате отека которой развивается дифтерийный круп, могущий привести к асфиксии и смерти больного. Также причиной смерти больного могут стать такие осложнения болезни, как токсический миокардит, острая недостаточность гипофизарно-надпочечниковой системы, паралич дыхательных мышц.

После перенесенного заболевания формируются нестойкий и непродолжительный антибактериальный иммунитет и стойкий анитоксический. Достаточно продолжительным является поствакционный иммунитет – до 3–5 лет.

Наиболее восприимчивы к дифтерии дети от года до четырех лет.

Диагностика. Профилактика. Лечение

Микробиологическая диагностика.

1. Основной метод – бактериологическое исследование.
2. Определение токсигенности видовой культуры (реакция преципитации Вагая).

Способы определения токсигенности:

- 1) биологическая проба – морским свинкам внутрикожно вводится бульонная культура;
- 2) постановка ИФА;
- 3) использование ДНК-зондов, с помощью которых определяется наличие токсического оперона в геноме выделенной культуры;
- 4) реакция преципитации Вагая.

Исследованию подлежат:

- 1) лица с подозрением на дифтерию;
- 2) больные с различными заболеваниями ЛОР-органов.

Особенности бактериологического исследования при дифтерии:

- 1) осуществляется посев материала на элективные питательные среды;
- 2) слизистые оболочки носа, зева, половых органов, кожа в составе нормальной микрофлоры содержат различных представителей рода *Carinobacterium*. Они условно-патогенны, объединены в понятие дифтероиды. У ослабленных больных, с вторичным иммунодефицитом, у онкологических больных могут вызывать различные гнойно-воспалительные процессы. В ходе бактериологического исследования надо дифференцировать каринобактерии дифтерии от дифтероидов.

Отличия дифтероидов от возбудителей дифтерии:

- 1) различия по морфологическим свойствам. Дифтероиды в мазках располагаются беспорядочно или в виде палисады. В цитоплазме зерна волютина отсутствуют;
- 2) различия в биохимической активности;
- 3) для выявления различий в антигенных свойствах используют реакцию агглютинации по идентификации с видовой дифференцированной сывороткой;
- 4) чувствительность к бактериофагу.

Культуральные свойства не отличаются.

Этиотропная терапия: анитоксическая противодифтерийная сыворотка; вводится в дозе 10 000–50 000 АЕ (в зависимости от возраста и тяжести заболевания).

1 АЕ – это такое минимальное количество сыворотки, которое нейтрализует 100 DLF дифтерийного токсина.

Серотерапия эффективна в ранний период болезни, пока токсин не фиксирован клетками организма и ткани существенно не повреждены.

Профилактика:

1) активная. Используются вакцины: АД (дифтерийный анатоксин), АДС, АДСМ, АКДС. Вакцинация АКДС проводится трехкратно детям в возрасте трех месяцев. Ревакцинация проводится под контролем определения содержания (титра) антитоксинов сыворотки с помощью реакции РПГА с дифтерийным анатоксическим эритроцитарным диагностикумом. Если РПГА положительна при разведении 1:20 и выше, титр считается защитным;

2) пассивная. Проводится в очагах заболевания антитоксической сывороткой, доза которой определяется формой и тяжестью заболевания.

2. Коклюш

Морфология и культуральные свойства

Возбудителем коклюша является *Bordetella pertussis*, относящаяся к отряду Gracilicutes, роду *Bordetella*. Возбудитель коклюша был выделен от больного ребенка Ж. Борде и О. Жангу в 1906 г.

В состав рода *Bordetella*, кроме возбудителя коклюша, входят *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* – сходные по ряду свойств с возбудителем коклюша, в том числе и по экологическим особенностям. Все три вида выделяются из верхних дыхательных путей человека.

Морфология и физиология. Возбудитель коклюша представляет собой небольшие овоидные палочки с закругленными концами длиной 0,5–1,0 мкм и шириной 0,2–0,3 мкм. В препарате они располагаются поодиночке или попарно. Неподвижны, спор и жгутиков не имеют, но образуют микрокапсулу. Грамотрицательны, хорошо окрашиваются анилиновыми красителями. Хемоорганотрофы, метаболизм только окислительный, являются строгими аэробами. Возбудитель коклюша является очень требовательным к питательным средам, не растет на простых питательных средах, в качестве факторов роста добавляются некоторые аминокислоты. Рост на простых питательных средах ингибируется образующимися жирными кислотами, поэтому для их нейтрализации применяют кровь, древесный уголь или ионообменные смолы. Возбудитель культивируется на картофельно-глицериновом агаре с добавлением крови (среда Борде-Жангу), на кровяном агаре и на полусинтетическом казеиново-угольном агаре без добавления крови (среда КУА), образуя серовато-кремовые мелкие, круглые, с ровными краями, блестящие, напоминающие капельки ртути или зерна жемчуга колонии. Оптимальная температура роста 35–37 °С, рН среды 7,2. Колонии коклюшного микроба на питательных средах появляются через 48–72 ч. Свежевыделенные культуры образуют S-форму колоний (I фаза), при дальнейшем культивировании могут образовывать R-формы (II фаза). На кровяных средах образуют зону гемолиза.

Ферментативность. *B. pertussis* биохимически малоактивна. Сахаров не расщепляет, не обладает протеолитической активностью, не восстанавливает нитратов.

Антигены. Антигенная структура бактерий рода *Bordetella* сложная. Они имеют O-антиген, состоящий из 14 компонентов. Родовым является агглютиноген 7. Видоспецифический агглютиноген для возбудителя коклюша – агглютиноген 1, для *B. parapertussis* – 14, для *B. bronchiseptica* – 12. Кроме агглютиногена 1, у *B. pertussis* имеются другие агглютиногены, из которых наиболее часто встречаются 2 и 3. По содержанию этих агглютиногенов выделяют 4 серовара: 1,2,3; 1,2,0; 1,0,3; 1,0,0.

Факторы патогенности. *B. pertussis* образует:

1) термолабильный токсин – токсический белок, прочно связанный с клеткой. Максимальное количество его обнаруживается в период логарифмической фазы роста, в отмирающих клетках он не выявляется. Токсин удается отделить от клетки только после интеграции бактерий. Обладает антифагоцитарной активностью и стимулирует лимфоцитоз, ферменты агрессии, повышающие сосудистую проницаемость, а также оказывающие гистаминсенсibiliзирующее действие, вызывающее гибель эпителиальных клеток;

2) гистаминсенсibiliзирующий фактор, который является белком, прочно связанным с клеткой коклюшного микроба;

3) лимфоцитозстимулирующий фактор – белок, связанный с телом клетки, стимулирует лимфоцитоз.

Резистентность. Возбудитель коклюша характеризуется малой устойчивостью к воздействию физических и химических факторов. При попадании во внешнюю среду он быстро погибает, в сухой мокроте сохраняется в течение нескольких часов. При нагревании до 50 °С погибает через 30 мин.

Эпидемиология. Коклюш – антропонозное заболевание; источником инфекции являются больные люди, особенно опасные в начальной стадии болезни, выделяющие возбудителя до 4–6 недель болезни. Возбудитель коклюша обитает в верхних дыхательных путях больного человека или носителя. Заражение может произойти от больного стертыми формами. Передача инфекции осуществляется воздушно-капельным путем. Заболевание встречается повсеместно. Чаще болеют дети дошкольного возраста. Отмечается высокая восприимчивость к коклюшу у грудных детей, для них же он является наиболее опасным заболеванием. Повышение уровня заболеваемости наблюдается в осенне-зимние периоды.

Патогенез

Коклюш – острая инфекционная болезнь, характеризующаяся циклическим течением и приступами спастического кашля.

Входными воротами инфекции являются верхние дыхательные пути, где и развивается катаральное воспаление: возбудитель коклюша заселяет слизистую оболочку гортани, бронхов, бронхиол и легочные альвеолы. Токсическое действие возбудителя приводит к раздражению нервных рецепторов слизистой оболочки дыхательных путей, в результате чего и появляется кашель, а также к спазму мелких бронхов, голосовой щели, развитию сосудистого спазма и появлению фонических судорог скелетных мышц. В возникновении приступов кашля имеет также значение сенсбилизация к токсинам *B. pertussis*.

Клиническая картина. Инкубационный период составляет 2–14 дней. Появляются недомогание, небольшой кашель, насморк, поднимается невысокая температура тела. С развитием болезни начинаются приступы спастического кашля, заканчивающиеся выделением мокроты. Частота приступов за день может быть от 5 до 50. Коклюш – заболевание с длительным течением – продолжается до 2 месяцев. Различают легкую, среднетяжелую и тяжелую формы коклюша.

Иммунитет. После перенесенного заболевания вырабатывается стойкий пожизненный иммунитет. У больных коклюшем и переболевших обнаруживают агглютинины, преципитины и комплементсвязывающие антитела.

Диагностика. Лечение. Профилактика

Лабораторная диагностика

На ранней стадии болезни, а также при атипичных формах наиболее достоверным является бактериологический метод лабораторной диагностики, в позднем периоде – серологический.

Бактериологический метод сводится к выделению возбудителя и его идентификации. Материалом для исследования является слизь из верхних дыхательных путей, взятая либо тампоном, либо методом «кашлевых пластинок» (открытая чашка с питательной средой, которую держат у рта больного в момент кашля на расстоянии 6–8 см). Взятый материал засевают на одну из питательных сред, используемых для культивирования коклюшного микроба. Посевы выращивают 2–3 суток. Выросшую культуру идентифицируют и дифференцируют от других видов рода по комплексу свойств.

При стертых формах болезни, а также при отсутствии бактериологического подтверждения и для ретроспективного диагноза проводят серологическую диагностику в реакциях агглютинации, непрямой гемагглютинации и связывания комплемента.

Лечение.

При тяжелых формах болезни назначают антибиотики, нормальный гомологичный иммуноглобулин. Показаны антигистаминные препараты, холодный свежий воздух.

Профилактика осуществляется специфическим методом: применяют адсорбированную коклюшно-дифтерийно-столбнячную вакцину (АКДС), которую вводят детям трехкратно с 4 месяцев. Детям до 1 года и непривитым при контакте с больным вводят нормальный человеческий иммуноглобулин.

3. Скарлатина

Возбудитель скарлатины

Скарлатина – острое инфекционное заболевание, вызываемое *Streptococcus pyogenes*. Заболевание сопровождается общей интоксикацией, характерной ярко-красной сыпью (от чего, собственно и произошло название заболевания: *scarlatinum* – «красный цвет»), ангиной.

В 1902 г. Г. Н. Габричевский высказал предположение о стрептококковой этиологии заболевания, о том, что возбудителем этого заболевания является особый токсигенный гемолитический стрептококк. Многие исследователи отрицали роль стрептококка в этиологии скарлатины ввиду того, что стрептококки, выделяемые от скарлатинозных больных, не отличались по своим морфологическим, культуральным и серологическим свойствам от стрептококков, вызывающих другие стрептококковые инфекции. Они считали, что возбудителями скарлатины являются вирус и другие микроорганизмы, но многочисленные попытки выделить этот вирус оказались безрезультатными. Лишь в 1924 г. исландские ученые выделили и подробно изучили особый вид гемолитического стрептококка группы А, вызывающего скарлатину.

Streptococcus pyogenes в отличие от других стрептококков вырабатывает особый эритрогенный токсин, нейтрализующийся сывороткой больных скарлатиной. При внутрикожном введении этого токсина здоровым лицам, не болевшим скарлатиной и восприимчивым к ней, на месте введения возникает воспалительная реакция в виде покраснения и припухлости кожи – положительная реакция Дика. У лиц, перенесших скарлатину и невосприимчивых к заболеванию, вследствие наличия в организме антитоксинов эта реакция не наблюдается – отрицательная реакция Дика. При заражении здоровых лиц с положительной реакцией Дика *Streptococcus pyogenes* в ряде случаев возникает скарлатина. Антитела, индуцируемые скарлатинозным токсином, не нейтрализуют токсины других стрептококков. По антигенной структуре скарлатинозный стрептококк относится к серогруппе А, обладает М-антигеном.

Эпидемиология

Источником инфекции являются больной или носитель. Основным путем передачи инфекции является воздушно-капельный – от больного человека или носителя к здоровому; возможно заражение через поврежденную кожу. Взрослые люди, как правило, не болеют скарлатиной. Наиболее восприимчивы к заболеванию дети дошкольного возраста.

Патогенез и клиническая картина

Скарлатина является токсико-септическим заболеванием, которое сопровождается лихорадочной реакцией, ангиной (нередко некротической), увеличением лимфатических узлов, мелкоклеточной сыпью на коже.

Входными воротами инфекции являются слизистая оболочка зева и носоглотки, реже – поврежденная кожа. Развиваются скарлатинозная ангина и подчелюстной лимфаденит. Микроорганизмы размножаются в миндалинах, выделяя токсин, который попадает в кровь, способствуя развитию общей интоксикации с последующей аллергизацией и появлением нефритов, артритов, лимфаденитов. Инкубационный период скарлатины продолжается от 1 до 12 дней, в среднем – 4–5 дней.

Диагностика. Лечение. Профилактика

Лабораторная диагностика

Диагноз ставят на основании клинических и эпидемиологических данных. Для лабораторного подтверждения диагноза применяют микробиологический и серологический методы исследования. Материалом для микробиологического исследования служат слизь зева, гной, отделяемое ран, кровь и др. Слизь из зева, гной, отделяемые из ран, засевают на кровяной агар, кровь – в жидкую питательную среду или на полужидкий агар. Из бульона и полужидкого агара выращивают культуру и пересевают на кровяной агар. У выделенной культуры определяют серогруппу, а также наличие М-антигенов, при необходимости изучают комплекс биологических свойств.

Серологические методы направлены на выявление у больного антител к токсинам и ферментам стрептококков, изучают наличие антигалауронидазы, анти-О-стрептолизина, антидезоксирибонуклеазы, антистрептокиназы и др.

Лечение.

Основным методом лечения скарлатины является антибиотикотерапия, преимущественно пенициллином. При наличии у больного чувствительности к пенициллину назначают эритромицин, тетрациклин и др.

Профилактика.

Специфическая профилактика данного заболевания до последнего времени не разработана. Неспецифическая профилактика сводится к общим санитарно-гигиеническим мероприятиям, которые должны быть направлены на предотвращение возможного распространения инфекции, особенно в закрытых коллективах, в том числе детских учреждениях, интернатах, санаториях, воинских частях и др.

Для предупреждения хронических стрептококковых инфекции важным в системе профилактики является правильное лечение острых стрептококковых инфекций. Лечение больных ангиной и скарлатиной рассматривается как первичная профилактика ревматизма. В качестве вторичной профилактики больным для предупреждения рецидивов проводится пенициллинопрофилактика.

Тема 28. Пневмония

1. Общее понятие пневмонии. Классификация пневмоний

На сегодняшний день пневмония остается не только одним из распространенных заболеваний, но и частой причиной смерти.

Пневмония, или воспаление легких, – понятие, объединяющее в себе различные воспалительные заболевания легкого, которые могут возникать как самостоятельно, так и являться осложнением других болезней.

Пневмония характеризуется четкой обособленностью от других очаговых воспалительных заболеваний легких неинфекционного происхождения, а также от воспаления легких, сопровождающего отдельные нозологические формы, такие как чума, брюшной тиф, корь, краснуха, грипп, Ку-рикетсиоз и др.

Пневмония – острое инфекционное заболевание, особенностями которого являются:

- 1) очаговое поражение легочной ткани;
- 2) наличие внутриальвеолярной экссудации, которая выявляется при физикальном и (или) инструментальном исследовании;
- 3) выраженные в различной степени лихорадочная реакция и интоксикация.

Пневмонии могут развиваться как экзогенная, так и эндогенная инфекция. В первом случае источником инфекции являются больные люди или животные. Путь распространения – воздушно-капельный или искусственный.

В случае отдельных заболеваний (таких как туберкулез, чума, сибирская язва, легионеллез, Ку-лихорадка, мелиоидоз и др.) развиваются пневмонии, приводящие к специфическим гистопатологическим изменениям в легких. Примером этому может служить туберкулезная пневмония, характеризующаяся специфической инфекцией нижних дыхательных путей.

Пневмонии являются полиэтиологическими заболеваниями, возбудители которых принадлежат к различным группам микроорганизмов: бактерии, вирусы, грибы и простейшие, но основными все же являются бактериальные и вирусные пневмонии.

Классификация пневмоний

Существует следующая классификация пневмоний.

1. Внебольничная пневмония, или домашняя, амбулаторная. Пневмония развивается как первичное острое заболевание еще до поступления больного в стационар. Ее развитие обусловлено поражением легких патогенными или условно-патогенными микроорганизмами, которые обладают повышенной вирулентностью.

Основными возбудителями внебольничных пневмоний являются: в 50–90 % случаев, особенно у людей среднего и пожилого возраста – *S. pneumoniae* (пневмоний); в 20–30 % случаев, чаще у лиц молодого возраста и у детей старше 5 лет, – *M. pneumoniae*; менее чем в 5 % случаев – *S. aureus*; с такой же частотой – *E. coli*, *K. pneumoniae*; в 2–8 % случаев – *C. pneumoniae*; в 2–10 % случаев с очень высоким уровнем смертности – *L. pneumophila*; в 1–2 % случаев – *H. influenzae*, *M. catarrhalis*. Стоит отметить тот факт, что у детей до пятилетнего возраста, особенно на первом году жизни, основными возбудителями внебольничных пневмоний являются RS-вирусы и вирусы парагриппа 3-го типа.

2. Госпитальная, или нозокомиальная, внутрибольничная пневмония. В отличие от внебольничной может развиваться уже через 2 дня или в более поздние сроки после поступления

больного в стационар. Она присоединяется к заболеванию, ставшему причиной госпитализации больного. Ее развитие обусловлено такими основными факторами риска, как:

- 1) хирургические вмешательства на органах грудной клетки и брюшной полости;
- 2) госпитализация в отделение интенсивной терапии;
- 3) искусственная вентиляция легких, особенно длительная и повторная;
- 4) длительное пребывание в стационаре.

Возбудителями госпитальных пневмоний чаще являются грамотрицательные условно-патогенные бактерии – *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Moraxella spp.*, а также *S. aureus*. Чтобы спрогнозировать вероятные возбудители госпитальной пневмонии, следует учитывать данные эпидемиологической обстановки, включающие показатели преобладающей микрофлоры в конкретном лечебно-профилактическом учреждении.

Различие внебольничной и госпитальной пневмонии обусловлено местом возникновения. Они различаются природой возбудителей и, как следствие, клиническими особенностями.

3. Атипичные, или интерстициальные пневмонии характеризуются отсутствием выраженных характерных рентгенологических изменений. В этом случае вместо инфильтрата обнаруживается поражение интерстициальной ткани легких с усилением легочного рисунка. Течение атипичных пневмоний может быть от легкого, стертого до тяжелого с выраженной интоксикацией и характеризуется наличием кашля с минимальным отделением мокроты в течение 3 или более суток. В картине крови может наблюдаться отсутствие или слабо выраженный лейкоцитоз.

Основными возбудителями атипичных пневмоний являются микоплазмы (*M. pneumoniae*), хламидии (*C. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *C. psittaci*), легионеллы (*L. pneumophila*), риккетсии (*Coxiella burnetii*).

4. Аспирационные пневмонии возникают на фоне энцефалопатии, тяжелых травм, психической заторможенности, цереброваскулярных заболеваний и других неврологических нарушений, алкоголизма, ослабляющих естественные механизмы защиты дыхательных путей.

Основными возбудителями внебольничных аспирационных пневмоний являются облигатные неклостридиальные анаэробные бактерии, чаще – бактероиды.

У стационарных больных аспирационные пневмонии чаще вызываются синегнойной палочкой и золотистым стафилококком.

Для этиологии аспирационных пневмоний (как внебольничных, так и госпитальных) характерно участие неклостридиальных облигатных анаэробов в чистом виде или в сочетании с аэробной грамотрицательной микрофлорой, вызывающих тяжелую и рано возникающую деструкцию легочной ткани, или абсцесс, гангренозный абсцесс.

Пневмонии у больных с иммунодефицитом, помимо вышеперечисленных возбудителей, нередко вызываются простейшими (*Pneumocystis carinii*), нетуберкулезными микобактериями, нокардиями, грибами родов *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium*, цитомегаловирусами.

2. Легионеллез

Возбудителями данного заболевания являются легионеллы, относящиеся к семейству Legionellaceae, роду Legionella, включающему более 40 видов, половина из которых вызывает пневмонию. Наиболее частым возбудителем является *L. pneumophila*.

Легионеллы – грамотрицательные палочки размером от 0,3–0,9 до 2–3 мкм с заостренными концами, иногда встречаются нитевидные формы длиной до 20 мкм, т. е. легионеллы полиморфны. Спор, капсул они не образуют, но имеют жгутики, поэтому и подвижны.

Легионеллы являются аэробами, отмечен хороший рост в присутствии 5 %-ного углекислого газа, но растут только на специальных сложных питательных средах. Являясь факультативными внутриклеточными паразитами, они хорошо размножаются в тканевых культурах, развивающихся куриных эмбрионах, в организме экспериментальных животных, на специальных, сложных по составу, искусственных питательных средах. На этих средах видимый рост появляется на 3–5-е сутки. Колонии крупные, выпуклые, блестящие, могут иметь пигмент коричневого цвета, диффундирующий в агар.

Биохимическая активность легионелл невысокая.

Легионеллы имеют соматический и жгутиковый антигены, обладающие групповой и типовой специфичностью. По антигенному строению *L. pneumophila* делятся на 14 сероваров.

Важнейшими факторами патогенности легионелл являются продукция эндотоксина и внутрифагоцитарный паразитизм.

Легионеллы в течение года способны сохраняться в водопроводной воде. Высокую степень чувствительности проявляют к этиловому спирту, фенолу, формалину, а также высокой температуре. Под действием этих факторов они погибают в течение нескольких минут.

Легионеллез (болезнь легионеров) впервые была зарегистрирована в 1976 г. в Филадельфии, в последующем вспышки этого заболевания отмечались в разных странах мира. Легионеллез – сапронозная инфекция. Легионеллы широко распространены в природе, обитают в воде, открытых водоемах с теплой водой, богато заселенной водорослями и простейшими.

Путь заражения – воздушно-капельный. Характерным для распространения легионелл является наличие мелкодисперсного источника распыления воды (кондиционеров, душевых установок и т. д.). Подвержены этому заболеванию люди разных возрастов, но, как показывает статистика, легионеллезом чаще болеют мужчины среднего и пожилого возраста, особенно те, чья работа связана с водой.

Входными воротами инфекции являются дыхательные пути, в нижних отделах которых и развивается воспалительный процесс. Попав в организм, легионеллы размножаются преимущественно в альвеолярных макрофагах, полиморфно-ядерных нейтрофилах, моноцитах, т. е. являются внутрифагоцитарными паразитами.

Легионеллез имеет две основные формы: пневмоническую (болезнь легионеров, или филадельфийская лихорадка) и острое респираторное заболевание без пневмонии (лихорадка Понтиак). Инкубационный период составляет от 5 до 7 дней, после которого в 5 % случаев развивается тяжелая пневмония с поражением центральной нервной и пищеварительной систем, почек. В остальных 95 % случаев у больных, инфицированных теми же штаммами *L. pneumophila*, развивается лихорадка Понтиак с клинической картиной, соответствующей острому респираторному заболеванию.

Во время эпидемий филадельфийской лихорадки отмечаются летальные исходы, и их показатель достаточно высок – 18–20 %.

Повторные заболевания неизвестны. В сыворотке больных к концу первой недели заболевания появляются антитела, титр которых нарастает и достигает максимума на 4–5-й неделе заболевания.

Основными методами микробиологической диагностики являются иммуноиндикация (РИФ, ИФА), серодиагностика (ИФА) и генодиагностика (ПЦР).

Материалом для исследования служат мокрота, сыворотка крови, плевральная жидкость, кусочки легочной ткани.

Этиотропная терапия проводится антибиотиками (эритромицин и его комбинации с рифампицином).

Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика включает проведение санитарно-гигиенических мероприятий (промывание горячей водой мест общего пользования, контроль работы кондиционеров), а также выявление водного резервуара возбудителей и его оздоровление.

3. Нокардиоз

Род *Nocardia* и род *Rhodococcus* (вместе с 19 другими родами) выделены в самостоятельную группу нокардиоформных актиномицетов.

Наибольшую роль в патологии человека играют *N. asteroides* и *R. bronchiales*.

Для морфологии нокардий характерен полиморфизм. Они имеют первичный мицелий, при фрагментации которого образуются короткие ветвящиеся нити, кокки и палочки различной длины, имеющие характерное зигзагообразное расположение. Они неподвижны, капсул не имеют, частично кислотоустойчивы, грамположительные, аэробы.

Для культивирования нокардий используют специальные питательные среды, на которых через 2–3 недели формируются кожистые, врастающие в агар, или сухие, крошащиеся колонии. Они пигментированы (красного, желтого, оранжевого и иного цветов). На поверхности колоний образуется воздушный мицелий.

Семейство *Nocardiaceae* делится на рода по биохимическим свойствам.

Антигенное строение изучено мало.

Основными местами обитания нокардий являются почва и, вероятно, вода, поэтому нокардиоз является сапронозной инфекцией. Больные нокардиозом не являются источником инфекции. Возможный путь заражения – воздушно-капельный.

Клинически нокардиоз протекает как легочное или системное заболевание.

После перенесенного заболевания формируется нестерильный иммунитет, который носит клеточный характер.

Материалом для исследования служат мокрота, смывы или биопробы, полученные при бронхоскопии. При бактериоскопии могут быть обнаружены типичные по морфологии клетки нокардий.

Основным методом микробиологической диагностики нокардиоза является бактериологическое исследование.

В качестве средств этиотропной терапии используют сульфаниламиды.

Специфическая профилактика не разработана.

Тема 29. Туберкулез

1. Морфология и культуральные свойства

Возбудитель относится к роду *Mycobacterium*, вид *M. tuberculosis*.

Это тонкие палочки, слегка изогнутые, спор и капсул не образуют. Клеточная стенка окружена слоем гликопептидов, которые называются микозидами (микрокапсулами).

Туберкулезная палочка тяжело воспринимает обычные красители (по Грамму окрашивается 24–30 ч). Грамположительна.

Туберкулезная палочка имеет особенности строения и химического состава клеточной стенки, которые отражаются на всех биологических свойствах. Главная особенность – в клеточной стенке содержится большое количество липидов (до 60 %). Большинство из них – миколовые кислоты, которые входят в каркас клеточной стенки, где находятся в виде свободных гликопептидов, входящих в состав корд-факторов. Корд-факторы обуславливают характер роста в виде жгутов.

В состав клеточной стенки входит липоарабиноманан. Его терминальные фрагменты – кэп – определяют способность возбудителя специфически связываться с рецепторами макрофагов.

Микобактерии туберкулеза окрашиваются по Цилю-Нильсену. Этот метод основан на кислотоустойчивости микобактерий, которая определяется особенностями химического состава клеточной стенки.

В результате лечения противотуберкулезными препаратами возбудитель может утратить кислотоустойчивость.

Для микобактерий туберкулеза характерен выраженный полиморфизм. В их цитоплазматической мембране обнаруживаются характерные включения – зерна Муха. Микобактерии в организме человека могут переходить в L-формы.

По типу получения энергии аэробы. По требованиям к температуре – мезофиллы.

Размножение их происходит очень медленно, время генерации – 14–16 ч. Это связано с выраженной гидрофобностью, которая обусловлена высоким содержанием липидов. Это затрудняет поставку питательных веществ в клетку, что снижает метаболическую активность клетки. Видимый рост на средах – 21–28 дней.

Микобактерии требовательны к питательным средам. Факторы роста – глицерин, аминокислоты. Растут на картофельно-глицериновых, яично-глицериновых и синтетических средах. Во все эти среды необходимо добавлять вещества, которые ингибируют рост контаминирующей флоры.

На плотных питательных средах образуются характерные колонии: морщинистые, сухие, с неровными краями, не сливаются друг с другом.

В жидких средах растут в виде пленки. Пленка сначала нежная, сухая, со временем утолщается, становится бугристо-морщинистой с желтоватым оттенком. Среда при этом непрозрачная.

Туберкулезные бактерии обладают определенной биохимической активностью, и изучение ее используется для дифференцировки возбудителя туберкулеза от других представителей группы.

Факторы патогенности:

- 1) миколовые кислоты;
- 2) корд-фактор;
- 3) сульфатиды;

- 4) микозиды;
- 5) липоарабиноманан.

2. Патогенез

Возбудитель туберкулеза проникает в организм в составе мелкодисперсных аэрозолей. Возбудитель должен попасть в альвеолы, где они поглощаются резидентными макрофагами, взаимоотношение с которыми и определяет дальнейшее развитие инфекции. Туберкулез относится к классическим внутримакрофагальным инфекциям.

Внутри макрофагов туберкулезные бактерии оказываются устойчивыми к бактерицидным факторам фагоцитов благодаря мощной липидной оболочке. В результате взаимодействия микобактерий и макрофагов под влиянием факторов вирулентности развивается воспаление гранулематозного типа.

Гранулема развивается сразу после инфицирования, но в дальнейшем она получает мощный импульс к развитию, когда в организме появляются Т-лимфоциты, сенсибилизированные к возбудителю.

Доиммунная гранулема через 2–3 недели под влиянием Т-лимфоцитов превращается в специфическую (постиммунную), которая называется туберкуломой.

Из легких туберкулезная палочка попадает в регионарные лимфатические узлы, далее – в кровотоки. Дальнейшие события связаны со специфическим воспалением, в основе которого лежит аллергическая реакция на бактериальные антигены.

Путь заражения воздушно-капельный. Источник – больной человек, который в острый период выделяет с мокротой туберкулезные палочки.

Наиболее часто встречается туберкулез легких, но могут поражаться и кишечник, и опорно-двигательный аппарат, и мочеполовая система, и др.

Выделяют два патогенетических варианта туберкулеза.

I. Первичный туберкулез. Возникает у лиц, ранее не имевших контакта с возбудителем. Инфицирование происходит в детском возрасте или подростковом периоде. Развивается без аллергии к возбудителю. В зоне внедрения возбудитель захватывается макрофагами, развивается неспецифическая гранулематозная реакция. Бактерии легко проходят этот барьер, быстро проникают в регионарные лимфатические узлы, кровь и различные органы.

Через 2–3 недели формируется первичный туберкулезный комплекс, включающий в себя:

- 1) первичный аффект – очаг в легочной ткани;
- 2) лимфаденит – воспаление регионарных лимфоузлов;
- 3) лимфангит – воспаление лимфатических сосудов.

Наиболее часто он самоизлечивается, подвергается фиброзу и кальцификации (очаг Гона). В этом очаге бактерии персистируют, но во внешнюю среду не выделяются.

В других случаях развивается острый туберкулез.

II. Вторичный туберкулез. Протекает хронически. Возникает при реактивации первичного очага (через пять и более лет). Возможно также реинфицирование извне.

Развитию вторичного туберкулеза способствуют неблагоприятные условия жизни, хронические заболевания, алкоголизм, стрессы и др.

Особенности иммунитета при туберкулезе:

- 1) нестерильный, поддерживается теми бактериями, которые персистируют в организме;
- 2) неустойчивый, т. е. не предохраняет от реактивации эндогенной инфекции и реинфекции извне;
- 3) антитела образуются, но они не имеют защитного значения;
- 4) основной механизм иммунитета – клеточный; основное значение имеет инфекционная аллергия.

3. Диагностика. Профилактика. Лечение

Диагностика:

1) микроскопическое исследование. Из мокроты делают два мазка. Один окрашивают по Цилю-Нильсену, второй обрабатывают флюорохромом и исследуют с помощью прямой флюоресцентной микроскопии. Является достоверным методом;

2) бактериологическое исследование. Является обязательным. Недостаток – микобактерии медленно растут на питательных средах (четыре недели). В ходе исследования определяется чувствительность к туберкулостатическим препаратам.

Применяют ускоренные методы обнаружения микобактерий в посевах, например по методу Прайса. Микроколонии позволяют увидеть наличие корд-фактора, когда образовавшиеся его бактерии складываются в косы, цепочки, жгуты;

3) полимерная цепная реакция (ПЦР). Применяется при внелегочных формах;

4) серодиагностика – ИФА, РПГА, реакция флюоресценции. Не является ведущим методом;

5) проба Манту с туберкулином – аллергологический метод. Туберкулин – препарат из убитой культуры микобактерий. Проба ставится для отбора лиц для ревакцинации для оценки течения туберкулезного процесса;

6) микрокультивирование на стеклах в среде Школьниковова;

7) биологический метод. Используется редко, когда возбудитель трудно выделить из исследуемого материала. Материалом от больного заражают лабораторных животных (морских свинок, кроликов). Наблюдение ведут до гибели животного, а затем исследуют пунктат его лимфатических узлов.

Специфическая профилактика

Живая вакцина БЦЖ. Вакцинация осуществляется в роддоме на 4–7-й дни жизни внутривенным методом.

Ревакцинацию проводят лицам с отрицательной туберкулиновой пробой с интервалом в 5–7 лет до 30-летнего возраста. Таким образом создают инфекционный иммунитет, при котором возникает реакция гиперчувствительности замедленного типа.

Лечение

Большинство антибиотиков на микобактерии туберкулеза не действует, поэтому применяют туберкулостатические препараты.

Используется два ряда препаратов:

1) препараты первого ряда: изониазид, пипразинамид, стрептомицин, рифампицин, этамбутол, фтивазид;

2) препараты второго ряда (при неэффективности препаратов первого ряда): амикацин, каномидин, аминосалицилат натрия (ПАСК), дапсон, циклосерин и др.

Особенности терапии при туберкулезе:

1) лечение должно быть начато как можно раньше, сразу после выявления заболевания;

2) всегда комбинированная – используется не менее двух препаратов;

3) проводится длительно (4–6 месяцев), что связано с большой продолжительностью жизненного цикла микобактерий;

4) должна быть непрерывной, так как перерывы ведут к формированию устойчивости возбудителя и хронизации процесса.

Тема 30. Внутрибольничные инфекции

1. Понятие и причины возникновения внутрибольничных инфекций

Внутрибольничные инфекции (нозокомиальные, или госпитальные, инфекции) – это любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, поражающее больного во время поступления в больницу или обращения в нее за лечебной помощью или сотрудников больницы вследствие их работы в данном учреждении.

В последнее время внутрибольничные инфекции стали достаточно значимой проблемой здравоохранения: согласно статическим данным Всемирной организации здравоохранения они достигают 5–10 %, но в зависимости от профиля стационара – 20–30 %. Количество внутрибольничных инфекций существенно зависит:

- 1) от объема проводимых диагностических и лечебных инвазивных манипуляций;
- 2) от количества персонала, контактирующего с пациентами;
- 3) от характера основного заболевания пациентов, их восприимчивости к инфекции;
- 4) от использования в терапии иммунодепрессивных препаратов.

Согласно статистике наиболее восприимчивыми к внутрибольничным инфекциям являются пациенты хирургических отделений, они составляют примерно 92 % от всех случаев внутрибольничной инфекции. Остальные 8 % приходятся на больных урологических отделений и родовспомогательных учреждений. При этом выделяется группа наиболее высокого риска, в которую входят новорожденные и лица старше 65 лет (лица с ослабленной иммунной защитой).

Заболеемость внутрибольничными инфекциями может быть спорадическая или возможны эпидемические вспышки этих инфекций.

При этом как в том, так и в другом случае возможны различные варианты их проявления.

Рост внутрибольничных инфекций связан с:

- 1) понижением иммунобиологической резистентности людей;
- 2) изменением биологических свойств микроорганизмов, являющихся возбудителями этих заболеваний;
- 3) изменением медицинских технологий.

В стационарах различного профиля складываются специфические микрoэкологические условия со своими особенностями, которые и определяют характер и возможности формирования эпидемических штаммов возбудителей – штаммов, которые сформировались под влиянием комплекса экологических факторов, вызывающих в медицинских учреждениях вспышки заболеваний.

2. Возбудители внутрибольничных инфекций, пути передачи, источники инфекции

Понятие «внутрибольничная инфекция» объединяет большую группу различных эндогенных и экзогенных заболеваний, в формировании которых может принимать участие множество видов как патогенных, так и условно-патогенных возбудителей бактериальной, грибковой, вирусной и протозойной природы. Участие в эпидемическом процессе одновременно большого числа разных возбудителей создает угрозу частых супер- и реинфекций.

Структура внутрибольничных инфекций определяется госпитальными гнойно-септическими инфекциями (в 85 % случаев), в том числе сальмонеллезами, эшерихиозами, вирусными гепатитами (в 15 % случаев).

Наиболее частыми возбудителями внутрибольничных инфекций являются:

1) грамположительные кокки (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* и *Enterococcus faecalis*);

2) грамотрицательные (аэробные и факультативно-анаэробные) палочки (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Salmonella typhimurium*);

3) грамположительные и грамотрицательные, чаще анаэробные палочки (*Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium inortiformum*);

4) дрожжеподобные грибы.

Кроме того, среди возбудителей внутрибольничных инфекций регистрируются *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia trachomatis*.

Часто внутрибольничные инфекции вызываются ассоциациями возбудителей. Известны инфекционные заболевания, вызываемые ассоциациями бактерий. Например, прогрессивная синергистическая гангрена брюшной стенки является послеоперационным осложнением, которое вызывается совместным действием золотистых стафилококков и негемолитических стрептококков.

Основные пути передачи внутрибольничных инфекций:

1) воздушно-капельный;

2) контактно-бытовой;

3) специфические искусственные пути передачи – инструментальный, имплантационный, ангиогенный (постинфузионный, посткатетеризационный).

Возникновение и течение внутрибольничных инфекций определяется рядом условий:

1) при лечебно-диагностических манипуляциях у больных возможно формирование необычных входных ворот инфекции с непосредственным внедрением возбудителя в кровеносное русло, органы и системы;

2) среди людей, ослабленных основным заболеванием, оперативным вмешательством или травмой, происходит развитие процесса в замкнутом ограниченном пространстве стационара.

Источниками инфекции являются больные, бактерионосители и внешняя среда стационара. Это обусловлено высокой устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды и способностью существовать и размножаться в условиях минимального количества питательных веществ большинства бактерий, являющихся возбудителями инфекций.

3. Метод диагностики внутрибольничных инфекций

Основным методом диагностики внутрибольничных инфекций является бактериологический метод. Он проводится в обязательном порядке, если в стационар поступает больной с гнойной инфекцией; если в стационаре выявляется госпитальная гнойно-септическая инфекция. В последующем данная методика применяется по показаниям и после различных манипуляций, но не реже 1 раза в 5–6 дней. Сроки проведения бактериологических исследований зависят от специфики отделений.

Материал от больного берется в зависимости от клинических проявлений и формы инфекции.

При выделении возбудителя внутрибольничной инфекции бактериологическое исследование позволяет установить видовую принадлежность выделенной чистой культуры, а также провести в качестве заключительного этапа ее внутривидовую дифференцировку и определить резистентность основных возбудителей к антибиотикам в динамике. С помощью последнего вида исследования можно установить процесс формирования госпитальных штаммов возбудителей. Так, для *S. aureus*, *S. typhimurium*, *P. mirabilis* используется фаготипирование с помощью типовых бактериофагов, а для большинства остальных возбудителей (в первую очередь синегнойной и кишечной палочек, протей) проводятся определение серовара или серотипирование.

Таким образом, бактериологическое исследование при внутрибольничных инфекциях служит основой проведения эпидемиологического анализа, суть которого заключается в определении источника инфекции путем сравнения биологических свойств штаммов возбудителей, выявленных от заболевших, с характеристиками микроорганизмов, выделенных из других источников, которыми могут быть медперсонал и объекты внешней среды.

Предвестниками эпидемического неблагополучия являются:

1) одномоментное появление двух и более случаев инфекции, идентичных по этиологии и по клиническим формам;

2) увеличение удельного веса штаммов, идентичных по результатам внутривидовой идентификации.

Статистически значимое возрастание гентамициннезависимых изолятов является свидетельством предвестника роста инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами. Статистически значимое возрастание метициллинрезистентных стафилококков является предвестником роста кокковых инфекций. Рост потребления нитрофурановых препаратов является предвестником роста псевдомонадной инфекции. Рост числа пирогенных реакций после инфузий более чем в 2 раза по сравнению с обычным уровнем свидетельствует о загрязнении растворов живыми бактериями. Наличие «условно чистых» операций, при которых обсемененность послеоперационной раны перед наложением швов выше 10⁵ микробных тел в 1 г ткани, является предвестником роста эндогенных инфекций.

4. Мероприятия, направленные на борьбу с внутрибольничными инфекциями

Основным средством борьбы с внутрибольничными инфекциями является их неспецифическая профилактика, которая должна включать:

1) качественный и регулярный бактериологический контроль за стерилизацией медицинских инструментов и перевязочного материала;

2) своевременное выделение групп повышенного риска среди пациентов и изоляция больных для предотвращения распространения инфекции;

3) проведение планового (1 раз в квартал) бактериологического обследования медперсонала на носительство возбудителей госпитальных инфекций и своевременную санацию выявленных носителей. По эпидемиологическим показаниям бактериологическое обследование может производиться и чаще;

4) регулярное санитарно-бактериологическое обследование объектов внешней среды, включая те, которые выполняют или могут выполнять роль факторов передачи. К ним относятся: медицинские инструменты, перевязочные материалы; помещения, где заражение наиболее вероятно (перевязочные, процедурные, операционные, реанимационные палаты);

5) максимально возможное уменьшение числа инвазивных процедур;

6) ротация антибиотиков в стационаре, предотвращающая формирование больничных штаммов с множественной лекарственной устойчивостью, а также ограничение использования антибиотиков с профилактической целью.

Тема 31. Онкогенные вирусы

1. Роль вирусов в развитии онкологических заболеваний

Одним из типов взаимодействия вирусов и клеток являются вирусиндуцированные трансформации, при которых клетки, инфицированные вирусом, приобретают новые, ранее не присущие им свойства.

Одним из проявлений такого взаимодействия является злокачественная трансформация, при которой клетки, инфицированные вирусом, приобретают способность к неконтролируемому делению, развивается опухоль. Такие вирусы называются онкогенными.

Первый онкогенный вирус – вирус саркомы кур – был открыт Ф. Раусом еще в 1911 г.

Большой вклад в развитие проблем теории вирусного онкогенеза внесли выдающиеся отечественные вирусологи Л. А. Зильбер и В. М. Жданов.

В настоящее время к онкогенным относят вирусы, вызывающие образование доброкачественных или злокачественных опухолей у животных или человека, а также злокачественное перерождение клеток культур тканей. Такие вирусы обнаружены как среди ДНК-содержащих вирусов (семейства Poxviridae, Paroviridae, Herpesviridae, Adenoviridae, Hepadnaviridae), так и РНК-содержащих вирусов – онкорнавирусов (семейство Retroviridae).

Несмотря на то что онкогенные вирусы принадлежат к различным семействам, механизм опухолевого перерождения клеток при вирусном онкогенезе един – ДНК или ДНК-транскрипт онкорнавирусов встраивается в геном клетки и сообщает ей новые свойства. Меняются ее поверхностные белки, нарушаются ассоциативные связи с соседними клетками, клетка приобретает способность к неконтролируемому делению, что ведет к развитию опухоли.

2. Онкогенные вирусы

Семейство Poxviridae

Семейство Poxviridae – ДНК-содержащие вирусы крупных размеров длиной от 130 до 240 нм. Вирусы имеют суперкапсидную оболочку, чувствительны к эфиру. ДНК – двунитевая, линейная. Нуклеокапсид имеет сложный тип симметрии. Имеют геномный фермент – ДНК-зависимую РНК-полимеразу.

При размножении вирусов в клетках образуются характерные цитоплазматические базофильные включения, выявляемые при иммерсионной микроскопии, что используется в диагностике вызываемых ими заболеваний. Вирусы размножаются в культуре клеток и куриных эмбрионах.

Один из наиболее значимых онкогенных вирусов этого семейства – возбудитель контактиозного моллюска. Естественная восприимчивость людей к нему не очень высока, но усиливается при иммунодефицитных состояниях различной природы. Болезнь встречается повсеместно. Инкубационный период продолжается от 2 недель до 6 месяцев. Заболевание характеризуется образованием узелков телесного, белого, желтого, красного цвета или полупрозрачных. У взрослых они чаще всего располагаются в низу живота, на лобке, внутренних поверхностях бедер, гениталиях, так как основным путем заражения является половой. Заражение детей происходит контактно-бытовым путем, и поэтому опухолевидные разрастания локализуются на коже лица, туловища, конечностях. Поверхность узелков гладкая, в центре имеется углубление, из которого при надавливании с боков выделяется масса беловатого цвета, состоящая из эпидермальных ороговевших клеток, жира и моллюсковидных телец. Диаметр узелков в среднем составляет 2–5 мм, но возможно слияние элементов с образованием гигантских моллюсков размером до 2–3 см, по мере развития превращающихся в нагнаивающиеся папулы. При микроскопии окрашенных по Романовскому-Гимза мазков из содержимого узелка обнаруживают внутриклеточные базофильные включения – тельца Гендерсона-Патерсона или тельца моллюсков. При серологическом обследовании больных методом непрямой иммунофлюоресценции выявляют антитела к антигенам вируса моллюска. Заболевание может длиться от 6 месяцев до 2 лет.

Семейство Papovaviridae

Семейство Papovaviridae состоит из вирусов, вызывающих хронические и латентные инфекции, доброкачественные (папилломы) и злокачественные (полиомы) опухоли у различных животных и человека.

Вирионы имеют сферическую форму, размеры до 55 нм, тип симметрии нуклеокапсида кубический. Капсидная оболочка построена из 72 капсомеров, суперкапсидной оболочки нет, устойчивы к эфиру. Вирионы содержат несколько структурных белков. Внутренние белки, соединенные с ДНК, являются клеточными гистонами, а капсидные белки – типоспецифическими Т-антигенами.

Геном вирусов представлен циклически замкнутой двунитевой ДНК, обладающей инфекционной и трансформирующей активностью.

Папилломавирусы человека вызывают кожные бородавки, папилломы слизистых оболочек мочеполовых, дыхательных путей и пищеварительного тракта. Особенно высока онкогенность сероваров 16, 18 и 38. Геномы этих вирусов обнаружены в опухолях гениталий, гортани.

Папилломы кожи и слизистых оболочек характеризуются разрастанием покровного эпителия в виде небольших сосочков, выступающих над поверхностью кожи. Это доброкачественные опухоли, склонные к злокачественному перерождению. Роль папилломавирусов в развитии этих опухолей подтверждена вирусологическими, серологическими исследованиями и методами иммуноиндикации.

Семейство Herpesviridae

Среди представителей семейства Herpesviridae к онкогенным вирусам относятся из α -герпесвирусов вирус herpes simplex 2 типа (полового герпеса), а также ρ - и γ -герпесвирусы.

Обнаружена корреляция между частотой заболеваемости раком шейки матки и титром антител к возбудителю полового герпеса.

ρ -герпесвирусы (цитомегаловирусы) способны к длительной персистенции и рассматриваются как потенциальные онкогенные вирусы.

Онкогенность γ -герпесвирусов доказана. К ним относят В-лимфотропные вирусы (HBLV и вирус Эпштейна-Барра).

Вирус Эпштейна-Барра вызывает лимфому Беркета у народов Африки и назофарингеальный рак у жителей Юго-Восточной Азии. Эти заболевания характеризуются локальным опухолевым разрастанием лимфоидной ткани (глоточного кольца, лимфоузлов).

Человеческий В-лимфотропный вирус вызывает диссеминированную пролиферацию В-лимфоцитов, их трансформацию в плазмциты, активно продуцирующие иммуноглобулины (белки Бен-Джонса), но они не обладают специфичностью и поэтому не выполняют функцию антител. Напротив, на фоне гиперглобулинемии у больных развивается синдром вторичного иммунодефицита.

Семейство гепаднавирусов

Среди представителей семейства гепаднавирусов онкогенное действие принадлежит вирусу гепатита В. Он может вызывать развитие гепатокарциномы у больных, перенесших как острую, так и латентную форму гепатита В. Злокачественное перерождение гепатоцитов происходит при особом пути репродукции этого вируса.

Семейство Retroviridae

Онкогенные РНК-содержащие вирусы, относящиеся к семейству Retroviridae, роду онкорнавирусов, имеют размеры вирионов от 80 до 100 нм, однонитевую РНК, окруженную капсидной оболочкой, построенной из простых белков. Тип симметрии нуклеокапсида сложный. Имеют суперкапсидную оболочку, состоящую из глико- и липопротеидов и соответственно чувствительны к эфиру.

Главная биологическая особенность вирусов этого семейства – наличие уникального геномного белка-фермента РНК-зависимой ДНК-полимеразы, или обратной транскриптазы (ревертазы). Этот фермент обеспечивает уникальный синтез: на матрице РНК синтезируется ДНК-транскрипт. Он может встраиваться в геном клетки хозяина и вызывать их злокачественное перерождение. В геноме этих вирусов, помимо генов, кодирующих синтез геномных, капсидных и суперкапсидных белков, есть группа генов, получившая название «онкоген». При попадании в клеточный геном онкоген вызывает синтез новых регуляторных и поверхностных белков, что приводит к нарушению нормальных ассоциативных связей клетки, усиливает ее

пролиферацию и ведет к безудержному росту измененных клеток, т. е. к опухолевому росту. Считают, что эти гены имеют клеточное происхождение.

Различают несколько групп онкорнавирусов:

- 1) группа В – вирусы, вызывающие рак молочных желез у мышей;
- 2) группа С – вирусы, вызывающие лейкозы и саркомы у животных и птиц, в том числе саркому Рауса;
- 3) группа D – вирусы, выделенные из перевиваемых раковых клеток человека, опухолевых и нормальных клеток обезьян.

В последние годы к онкорнавирусам отнесены и возбудители Т-клеточных лейкозов человека (HTLV-1, HTLV-2), которые могут передаваться через кровь и от матери плоду. Чаще вызываемые ими опухолевые заболевания встречаются в южных странах.

Тема 32. Микробные формы с дефектной клеточной стенкой

1. Бактерии с нарушенной клеточной стенкой

При воздействии на растущую бактериальную культуру различных веществ образуются безоболочечные формы бактерий, лишенные клеточной стенки. К ним относятся:

- 1) протопласты;
- 2) сферопласты;
- 3) L-формы.

Протопласты – это микроорганизмы, полностью лишенные клеточной стенки и утратившие способность к размножению. Они образуются из грамотрицательных бактерий под действием лизоцима. Имеют неправильную форму.

Сферопласты – это микроорганизмы, частично сохранившие клеточную стенку. Имеют сферическую форму, неспособны к репродукции.

L-формы – это бактерии, полностью или частично утратившие клеточную стенку, но сохранившие способность к размножению. L-формы делятся на:

1) стабильные. Неспособны к реверсии в исходные формы бактерий; колонии их гладкие, мелкие, не агглютинируются к сывороткам исходных бактерий и не поглощаются соответствующими фагами;

2) нестабильные. При изменении условий способны к реверсии в исходные формы; колонии их крупные, способны агглютинироваться, лизируются соответствующими фагами.

L-формы длительно персистируют в организме и обуславливают латентные и хронические формы инфекций. Они представляют собой сферические образования разных размеров.

Вещества, которые способствуют переходу бактерий в L-формы, называются L-трансформирующими агентами.

Теории образования L-форм

1. Образование L-форм – результат спонтанных мутаций. В популяции образуется мутант, который лишен клеточной стенки. Эта клетка менее жизнеспособна, в норме она гибнет. Если на эту популяцию действует L-трансформирующий агент, то гибнут немутировавшие клетки, а лишенная клеточной стенки остается и дает популяцию таких же клеток.

2. L-трансформирующие агенты сами являются мутагенами.

3. L-трансформирующие агенты сами нарушают синтез клеточной стенки.

В процессе перехода бактерии в L-формы при потере клеточной стенки, с которой связано свойство эндотоксина, клинически отмечаются улучшение или выздоровление. При обычном бактериологическом исследовании они не растут. После отмены антибиотиков L-формы реверсируют в исходный вид с восстановлением вирулентности, что приводит к рецидиву заболевания, поэтому одной из характерных особенностей течения инфекционных заболеваний на современном этапе является их хроническое рецидивирующее течение.

L-формы играют основную роль в этиологии хронических заболеваний: туберкулезе, бруцеллезе, сифилисе, гонорее, септическом эндокардите и др.

Среди методов диагностики используют иммуноиндикацию – метод ДНК-зондов.

2. Микоплазмы

Семейство *Mycoplasmatocae*, род *Mycoplasma*, *Ureoplasma*.

Микоплазмы – это бактерии, биологической особенностью которых является отсутствие ригидной клеточной стенки. Ее функции выполняет цитоплазматическая мембрана. В культуре микоплазм выделяют:

- 1) зрелые клетки;
- 2) элементарные репродуктивные частицы; эти элементы могут находиться внутри зрелых клеток и вне них.

Для микоплазм характерен полиморфизм. Их морфология определяется условиями культивирования. В жидкой питательной среде могут быть круглыми, палочковидными, спиралевидными, гантелевидными. На плотных средах – круглые и дисковидные. Неподвижны, спор и капсул не образуют. Могут быть аэробами, облигатными или факультативными анаэробами. По отношению к окраске ближе к грамотрицательным бактериям.

Очень требовательны к питательным средам. Для культивирования используют среды с добавлением 30 %-ной сыворотки крупного рогатого скота. Колонии очень мелкие, с более плотным и темным центром и ажурной периферией.

Микоплазмы широко распространены во внешней среде. Они делятся на патогенные и условно-патогенные.

При попадании в организм микоплазмы взаимодействуют с мембранами клеток. При этом липидные компоненты мембран микоплазм диффундируют в мембрану клетки, а холестерин клетки макроорганизма поступает в мембрану микоплазм. Заканчивается этот процесс либо откреплением микоплазм от клетки, либо поглощением их вследствие фагоцитоза. В последнем случае микоплазмы размножаются внутриклеточно. Этому способствуют специальные ферментные системы микроорганизмов.

Патогенны для человека три вида: *M. pneumoniae*, *M. hominis* и *U. urealyticum*.

1. *M. pneumoniae* – возбудитель пневмонии. Источник инфекции – больной человек. Путь заражения воздушно-капельный.

Главный фактор патогенности – продукция гемолизина и цитотоксинов. Микоплазмы преодолевают мукозный слой и адсорбируются на мембране клеток мерцательного эпителия. Они способны изменять антигенные свойства клеток, способствующие развитию аутоиммунных процессов, которые играют большую роль в патогенезе инфекции.

Могут вызывать внелегочные формы инфекции:

- 1) гемолитические анемии, тромбоцитопении;
- 2) различные поражения кожи;
- 3) менингиты, менингоэнцефалиты, невриты;
- 4) гастроэнтерит, панкреатит;
- 5) полиартриты, миалгии;
- 6) перикардиты, миокардиты;
- 7) генерализованные формы инфекции.

2. *M. hominis* и *U. urealyticum*. Могут вызывать урогенитальный микоплазмоз. Источник инфекции – больной человек, путь передачи половой.

У женщин вызывают эндометрит, вагинит, сальпингооофарит, цервициты, у мужчин – простатит, орхиты, эпидидимиты.

По клинике обычно протекают вяло, иногда бессимптомно. Могут приводить к бесплодию, рождению нежизнеспособных детей.

Диагностика:

- 1) иммуноиндикация (РИФ);

2) серодиагностика (ИФА).

Этиотропная терапия:

1) макролиды;

2) тетрациклины;

3) фторхинолоны.

Специфической профилактики нет.

Микоплазменная инфекция очень часто протекает как ассоциированная инфекция с вирусами или бактериями. Микоплазменная инфекция является пусковым механизмом к развитию ассоциированной инфекции.

3. Хламидии

Семейство Chlamydiaceae. Включает в себя два рода:

- 1) род *Chlamidia*, включающий в себя виды *Ch. trachomatis*, *Ch. psittaci*;
- 2) род *Chlamidofila*, включающий в себя вид *Ch. pneumoniae*.

Хламидии – это прокариоты, облигатные внутриклеточные паразиты. Полностью зависят от клетки-хозяина, так как неспособны синтезировать АТФ. По своей организации напоминают грамотрицательные бактерии, неподвижны, спор и капсул не образуют. Могут существовать в двух формах:

1) элементарного тельца. Это форма, приспособленная к существованию вне клетки. Не размножается, овальной формы, мелкое;

2) ретикулярного (инициального) тельца. Ячеистое образование овальной или круглой формы, крупное, является репродуктивной формой.

Взаимодействие хламидий с клеткой происходит в несколько этапов.

I – адсорбция на поверхности соответствующих клеток;

II – инвазия и проникновение в клетку; при этом адсорбируется только элементарное тельце;

III – рост и превращение хламидий в ретикулярное тельце, которое является репродуктивной формой хламидий;

IV – бинарное деление и образование новых элементарных тел.

Помимо этого, существуют и другие типы взаимодействия. Попавшая в организм хламидия:

1) разрушается ферментами клетки;

2) подвергается L-формной трансформации и переходит в персистентные формы; в таком виде они устойчивы к действию антибиотиков, но сохраняют свои патогенные свойства и при определенных условиях могут активироваться.

Хламидии не размножаются на искусственных питательных средах. Для их культивирования используют культуры тканей.

Ch. trachomatis содержит серовары от А до L, вызывающие различные заболевания. Серовары А, В, С вызывают трахому, протекающую с поражением глаз, с контактно-бытовым путем передачи от больного человека. Серовары от D до K – возбудители урогенитальных хламидиозов, относятся к ИППП, возможно заражение новорожденных от матери. Серовар L – возбудитель лимфогранулематоза, поражается лимфатический аппарат мочевого тракта.

Ch. psittaci – возбудитель зооантропонозной инфекции, источником которой являются птицы, путь заражения воздушно-капельный. Поражаются клетки эпителия слизистой оболочки дыхательных путей и лимфатических узлов. Не имеет характерной клинической картины, наиболее часто заболевание протекает с клиникой пневмонии, реже – миокардитов, заболеваний почек, печени, у беременных – самопроизвольных аборт.

Ch. pneumoniae вызывает хламидийную пневмонию, с воздушно-капельным путем заражения, источник – больной человек; обладает тропизмом к эндотелию сосудов; размножаясь, попадает в кровяное русло, что способствует дессиминации возбудителя.

Хламидии могут вызывать генерализованные формы инфекции.

Диагностика:

- 1) микроскопия мазков, окрашенных по Романовскому-Гимзе;
- 2) иммуноиндикация (ИФА, реакция иммунофлюоресценции);
- 3) выращивание на культуре тканей;
- 4) цитологические и цитохимические методы.

Лечение:

- 1) макролиды;
- 2) тетрациклины.

Тема 33. Группа риккетсий

1. Характеристика группы

Риккетсии представляют собой самостоятельный класс, который делится на подклассы α_1 , α_2 , β и γ .

α_1 включает в себя семейство Rickettsiaceae, наиболее важными из которого являются два рода.

I. Род *Rickettsia*, виды делят на две группы:

1) группу тифов:

- а) *R. prowazekii* – возбудитель эпидемического (вшивого) сыпного тифа;
- б) *R. typhi* – возбудитель эндемического (крысино-блошиного) тифа;

2) группу клещевых риккетсиозов:

- а) *R. rickettsii* – возбудитель лихорадки скалистых гор;
- б) *R. conorii* – возбудитель геморрагической лихорадки;
- в) *R. sibirica* – возбудитель североазиатского риккетсиоза.

II. Род *Erlinia*, выделяют виды: *E. canis* и *E. sennetsu* (могут быть возбудителями инфекционного мононуклеоза).

α_2 включает в себя семейство Bartonellaceae, род Bartonella, подразделяемые на виды:

- 1) *B. quintana* – возбудитель пятидневной (траншейной) лихорадки;
- 2) *B. henselae* – возбудитель «болезни кошачьих царапин».

γ включает в себя род Coxiella, вид *C. burnetii* – возбудитель Ку-лихорадки.

Риккетсии – это бактерии, отличительной чертой которых является облигатный внутриклеточный паразитизм. По своему строению близки к грамотрицательным бактериям. Имеются собственные ферментные системы. Неподвижны, спор и капсул нет.

Для риккетсий характерен выраженный полиморфизм.

Выделяют четыре формы:

- 1) форму А – кокковые, овальные, расположенные одиночно или в виде гантелей;
- 2) форму В – палочки средней величины;
- 3) форму С – бациллярные риккетсии, крупные палочки;
- 4) форму D – нитевидные, могут давать ответвления.

Морфология зависит от стадии инфекционного процесса.

При острой форме в основном встречаются формы А и В, при хронической, вялотекущей – С и D.

Взаимодействие риккетсий с клеткой включает в себя несколько этапов.

- 1. Адсорбция на рецепторах соответствующих клеток.
- 2. После прикрепления мембрана делает инвагинацию, риккетсия погружается в клетку в составе вакуоли, стенки которой образованы мембраной клетки.

3. Далее возможны два варианта:

- а) одни виды риккетсий продолжают оставаться внутри вакуоли и там размножаются;
- б) другие лизируют мембрану и свободно лежат в цитоплазме.

4. Риккетсии интенсивно размножаются, мембрана разрушается, и они выходят из клетки.

Облигатный внутриклеточный паразитизм риккетсий реализуется на клеточном уровне. Поскольку риккетсии – внутриклеточные паразиты, то в питательных средах они не размножаются. Для их культивирования применяются те же методы, что и для культивирования вирусов:

- 1) заражение ткани;
- 2) заражение куриных эмбрионов;
- 3) в организме экспериментальных животных;
- 4) в организме эктопаразитов.

2. Риккетсиозы

К наиболее распространенным риккетсиозам относят эпидемический сыпной тиф. Возбудитель – *R. prowazekii*. Источник инфекции – больной человек. Переносчик – платяные и головные вши.

Это полиморфные микроорганизмы. Размножаясь в клетках хозяина, образуют микрокапсулу, аэробы. Культивируются в куриных эмбрионах.

Имеют два антигена:

1) группоспецифический (обладает иммуногенными свойствами и является протективным);

2) корпускулярный, видоспецифический (имеется только у данного вида).

Заболевание начинается после поступления возбудителя в кровь. Адгезия риккетсий происходит на эндотелиоцитах капилляров. В цитоплазме этих клеток происходит их размножение. После разрушения клеток новая генерация риккетсий выходит в кровь. Поражение капилляров приводит к образованию тромбов и гранулем. Наиболее опасная локализация поражения – ЦНС. На коже появляется сыпь. Помимо прямого действия, риккетсии выделяют эндотоксин, вызывающий парез капилляров.

После заболевания остается напряженный антимикробный иммунитет.

Диагностика:

1) серодиагностика – основной метод (РПГА, РСК с диагностикумом из *R. prowazekii*);

2) бактериологическое исследование; исследуемый материал – кровь; проводится только в лабораториях специального режима;

3) ПЦР-диагностика.

Этиотропная терапия: антибиотики – тетрациклины, фторхинолоны.

Специфическая профилактика: живая сыпнотифозная вакцина.

К наиболее распространенным риккетсиозам относят и эндемический (крысино-блошиный) тиф. Возбудитель – *R. typhi*. Источник инфекции – крысиные блохи, вши, гамазовые клещи. Пути заражения – трансмиссивный, воздушно-капельный.

Патогенез и клинические проявления заболевания сходны с эпидемическим сыпным тифом.

R. typhi имеют видоспецифический антиген, по которому их дифференцируют от других риккетсий.

Диагностика:

1) биологическая проба – заражение материалом от больных морских свинок;

2) серодиагностика – РСК, ИФ.

Нужно сказать и о Ку-лихорадке. Возбудитель – *S. burnetii*. Источник инфекции – домашний скот. Пути передачи – алиментарный, контактно-бытовой.

Это мелкие палочковидные или кокковидные образования, окрашивающиеся по Романовскому-Гимзе в ярко-розовый цвет. Они образуют L-формы. Культивируются в желточном мешке куриного эмбриона. Имеют два антигена: растворимый и корпускулярный. Устойчивы к факторам внешней среды.

После проникновения *S. burnetii* в организм возникает риккетсемия. Размножение микроорганизмов происходит в гистиоцитах и макрофагах, после разрушения которых отмечаются генерализация процесса и токсемия. В процессе инфекции развивается реакция гиперчувствительности замедленного типа, формируется напряженный иммунитет.

Заболевание характеризуется неясной клинической картиной.

Диагностика:

- 1) серологическое исследование (РСК, РПГА);
 - 2) кожно-аллергическая проба (как ретроспективный метод диагностики).
- Лечение:** антибиотики – тетрациклины, макролиды.
- Специфическая профилактика:** живая вакцина М-44.

Тема 34. Спирохеты

1. Трепонемы

Относятся к семейству Spirochetaceae, роду Treponema.

Для человека патогенна *T. pallidum* (бледная трепонема) – возбудитель сифилиса.

Это тонкие извитые бактерии, тело содержит от 5 до 15 завитков, на каждом конце по три жгутика. Плохо воспринимает красители из-за малого количества нуклеопротеидов в клетке. При длительном окрашивании по Романовскому-Гимзе приобретает слабо-розовый цвет.

При действии неблагоприятных факторов может переходить в L-формы, образовывать цисты, покрытые непроницаемой муциновой оболочкой. Они могут длительное время находиться в организме человека, не проявляя патогенности. При благоприятных условиях цисты вновь спирализуются, размножаются и восстанавливают свою патогенность.

Бледная трепонема очень требовательна к питательным средам, на обычных средах не размножается. Растет на средах, содержащих почечную или мозговую ткани, в строго анаэробных условиях. Культивирование трепонем в течение длительного времени приводит к потере их вирулентности и биохимических свойств.

Быстро погибают во внешней среде, чувствительны к высушиванию, изменению температуры, действию химических веществ.

Трепонемы биохимически неактивны, отличаются по антигенам.

Источником инфекции является больной человек. Путь заражения половой, реже – бытовой, через предметы обихода, трансплацентарный.

Трепонемы способны противостоять защитной реакции фагоцитов, активно внедряться в ткани за счет повреждающего действия эндотоксина.

Сифилис – хроническое заболевание. Различают три периода.

I. Первичный сифилис. Проявляется внедрением возбудителя в ткани и появлением на месте внедрения безболезненного плотного инфильтрата (твердого шанкра) и увеличенных лимфатических узлов (регионарного аденита). Возбудитель размножается и накапливается. Часть трепонем погибает, при этом выделяется эндотоксин, обладающий анальгезирующим действием, поэтому очаг поражения не болит. Наиболее часто встречается на половых органах.

II. Вторичный сифилис. Трепонемы проникают в кровь, возникает генерализация инфекции, которая сопровождается высыпаниями на коже и слизистых. Больной заразен для окружающих, так как возбудитель содержится в элементах сыпи.

III. Третичный сифилис. Связан с длительной персистенцией возбудителя в организме и развитием инфекционной аллергии (гиперчувствительности замедленного типа с преобладанием клеточных механизмов). В органах и тканях обнаруживаются инфекционные гранулемы (гуммы). Возможно поражение головного и спинного мозга (спинная сухотка), костей, сосудов, ЖКТ.

Перенесенное заболевание не оставляет невосприимчивости. После излечения возможно повторное заболевание при реинфекции.

Диагностика:

1) темнопольная иммерсионная микроскопия (по Романовскому-Гимзе) содержимого сифилитических язв;

2) серодиагностика (реакция Вассермана, ИФА, реакция иммунофлюоресценции).

Этиотропная терапия: используют антибиотики – пенициллин, цефалоспорины, препараты висмута.

Специфическая профилактика не разработана.

2. Боррелии

Семейство Spirochetaceae, род *Borelia*.

Это тонкие спиралевидные микроорганизмы, имеют от трех до восьми крупных неравномерных завитков и заостренные концы.

Боррелии – строгие анаэробы. Хорошо окрашиваются по Романовскому-Гимзе. Культивируют их на питательных средах, содержащих асцитическую жидкость или сыворотку и кусочки тканей. Хорошо размножаются в куриных эмбрионах.

В окружающей среде быстро погибают. Биохимически малоактивны, отличаются по антигенам.

Вызывают заболевания – боррелиозы. Большинство боррелиозов протекает по клинике возвратных тифов. Различают эпидемический и эндемический возвратный тиф.

Эпидемическим возвратным тифом болеют только люди. Возбудитель – *B. recurrentis*. Путь заражения трансмиссивный. Распространяется платяной вошью. Боррелии размножаются в гемолимфе насекомого. Человек заражается, втирая содержащую боррелии гемолимфу насекомого (при расчесывании укуса, раздавлении насекомого).

Эндемический возвратный тиф – зооантропонозная инфекция. Источник – мыши, возможно заражение трансмиссивным путем при укусе клещей. Возбудители – *B. duttonii*, *B. persica*, *B. hispanica*.

Возвратные тифы характеризуются острым началом болезни с выраженным лихорадочным синдромом. Попав в организм, боррелии внедряются в клетки лимфоидно-макрофагальной системы, где размножаются, а затем поступают в большом количестве в кровь. Под влиянием бактерицидных свойств крови они частично разрушаются, и при этом освобождается эндотоксин, повреждающий кровеносную и центральную нервную системы.

Токсикоз сопровождается лихорадкой. В селезенке и печени возникают очаги некроза. Вырабатываются антитела, которые связываются с боррелиями, образуя агрегаты. Эти агрегаты задерживаются в капиллярах внутренних органов, нарушается местное кровообращение, что приводит к развитию геморрагических инфарктов.

Перенесенное заболевание не оставляет прочного иммунитета. Образовавшиеся антитела сохраняются непродолжительное время.

Диагностика:

- 1) микроскопия крови;
- 2) серологическое исследование (РСК, реакция лизиса);
- 3) биологический метод (заражение лабораторных животных): к возбудителям эпидемического тифа чувствительны белые мыши, а к возбудителям эпидемического – морские свинки;

Лечение: используют антибиотики – пенициллины, тетрациклины.

Специфическая профилактика не проводится.

B. burgdorferi – вызывает болезнь Лайма. Переносчик – иксодовые клещи. Заболевание эндемическое. Особенность этого боррелиоза – в хроническом течении, заболевание отличается стабильностью (от 3–5-и дней до 3-х месяцев).

В течении заболевания различают стадии.

I стадия – локальная – клещевая мигрирующая эритема.

II стадия – диссеминация возбудителя в различные органы, может длиться месяцы и годы с поражением нервной и сердечнососудистой систем, появляются артралгии в крупных суставах.

Причина длительной персистенции возбудителя в организме – его антигенная мимикрия. Обнаруживаются антигены, общие с нервной тканью.

Диагностика: серодиагностика (ИФА).

Лечение: используют антибиотики – пенициллины, тетрациклины, цефалоспорины.

3. Лептоспиры

Семейство Leptospiraceae, род *Leptospira*. Единственный патогенный для человека вид – *L. interrogans*, возбудитель лептоспироза.

Это тонкие спиралевидные микроорганизмы с тесно прилегающими друг к другу 12–18 завитками. Концы изогнуты и утолщены. Имеют жгутики, по два на каждом конце. Чрезвычайно подвижны. Осуществляют быстрые поступательные вращательные движения вокруг продольной оси. На фиксированных препаратах видны вторичные завитки лептоспир.

Микроорганизмы плохо окрашиваются анилиновыми красителями, поэтому их изучают обычно в живом состоянии в темном поле.

Являются факультативными анаэробами. Для их культивирования применяют жидкие питательные среды, содержащие кроличью сыворотку. Размножаются медленно.

Биохимически, как правило, инертны.

Антигенное строение:

1) S-антиген – липополисахарид клеточной стенки, общий для всего рода;

2) Р-антиген, связан с поверхностными белками клеточной стенки, вариант специфический.

Лептоспиры охраняют жизнеспособность в воде и почве в течение 2–3-х недель. В пищевых продуктах (молоке, масле, хлебе) выживают не более нескольких дней.

Заражение человека происходит через воду, инфицированную лептоспирами, при уходе за больными животными. В организм проникают через слизистые оболочки и поврежденную кожу. На входных воротах воспалительной реакции нет. Распространяются по организму лимфатическим путем и по кровеносной системе, поражают паренхиматозные органы. Характерным является поражение печени. Наблюдается желтуха.

В первые дни болезни имеет место бактериемия, затем микроорганизмы концентрируются в почках, печени, селезенке, костном мозге, лимфатических путях. Лептоспиры не выделяют экзотоксин, но содержат токсическое вещество, которое при распаде клеток поражает паренхиматозные органы – развиваются жировое перерождение печени, очаговые кровоизлияния в селезенке, геморрагический нефрит. Размножение происходит в сосудистой стенке, ферменты агрессии поражают эндотелиоциты сосудов. Течение патологического процесса имеет волнообразный характер.

После перенесенного заболевания остается пожизненный иммунитет, но не исключается заражение другими серотипами лептоспир.

Диагностика:

1) темнопольная микроскопия мазка крови или мочи (не всегда удается);

2) бактериологическое исследование; материалы – кровь, моча; посев на жидкую питательную среду;

3) биологический метод – внутрибрюшинное заражение морских свинок, через 2–3 дня исследуют экссудат в брюшной полости на наличие лептоспир;

4) серологическое исследование (реакция агглютинации – лизиса живой эталонной культуры лептоспир, ИФА). Подтверждением серологического диагноза является нарастание титра антител при повторном исследовании крови, взятой через неделю.

Этиотропная терапия:

1) антибиотики;

2) антилептоспирозный γ -глобулин.

Специфическая профилактика: убитая лептоспирозная вакцина; проводится работающим в природных очагах.

Тема 35. Возбудители ОРВИ

1. Вирусы гриппа

Относятся к семейству ортомиксовирусов. Выделяют вирусы гриппа типов А, В и С.

Вирус гриппа имеет сферическую форму, диаметр – 80–120 нм. Нуклеокапсид спиральной симметрии, представляет собой рибонуклеопротеиновый тяж (белок NP), уложенный в виде двойной спирали, которая составляет сердцевину вириона. С ней связаны РНК-полимераза и эндонуклеазы. Сердцевина окружена мембраной, состоящей из белка М, который соединяет рибонуклеопротеиновый тяж с двойным липидным слоем внешней оболочки. Среди белков суперкапсидной оболочки большое значение имеют два:

1) нейраминидаза – рецепторный белок, обеспечивающий проникновение вируса в клетку;

2) гемагглютинин. Выполняет рецепторную функцию, обладает сродством с гликопротеидами рецепторов клеток слизистой оболочки дыхательного тракта.

Геном вируса представлен минус-нитевой фрагментированной молекулой РНК. Репликация ортомиксовирусов первично реализуется в цитоплазме инфицированной клетки. Синтез вирусной РНК осуществляется в ядре. Клетки хозяина обеспечивают вирус новыми РНК-транскриптами, 5'-концы которых используются для кэпирования 5'-окончаний вирусной матричной РНК.

Вирусы гриппа А, В и С отличаются друг от друга по типоспецифическому антигену, связанному с белками М и N P. Более узкую специфичность вируса типа А определяет гемагглютинин (Н-антиген). Отмечается высокая антигенная изменчивость в пределах рода.

Изменчивость Н-антигена определяет:

1) антигенный дрейф – изменения Н-антигена, вызванные точечными мутациями в гене, контролирующем его образование;

2) антигенный шифт – полная замена гена, в основе которой лежит рекомбинация между двумя генами.

Первоначально возбудитель реплицируется в эпителии верхних отделов дыхательных путей, вызывая гибель инфицированных клеток. Через поврежденные эпителиальные барьеры вирус проникает в кровоток. Вирусемия сопровождается множественными поражениями эндотелия капилляров с повышением их проницаемости. В тяжелых случаях наблюдают обширные геморрагии в легких, миокарде и различных паренхиматозных органах.

Основные симптомы включают в себя быстрое повышение температуры тела с сопутствующими миалгиями, насморком, кашлем, головными болями.

Возбудитель распространен повсеместно, увеличение заболеваемости наблюдают в холодные месяцы. Основной путь передачи возбудителя воздушно-капельный. Наиболее восприимчивы дети и лица преклонного возраста.

Лабораторная диагностика:

1) экспресс-диагностика – определение антигенов вируса в цитоплазме эпителия носа и носоглотки в мазках-отпечатках методом ИФА;

2) заражение культур клеток или куриных эмбрионов отделяемым носа, мокротой или смывами из носоглотки (получают в первые дни болезни);

3) серодиагностика (РСК, РТГА, реакция ингибирования активности фермента);

4) для пассивной иммунизации – противогриппозный иммуноглобулин человека;

5) для активной иммунизации – живые и инактивированные вакцины.

Лечение: производные амантадина (ремантадин).

2. Парагрипп. РС-вирусы

Вирус парагриппа и РС-вирус относятся к семейству Paramyxoviridae.

Это вирусы сферической формы со спиральным типом симметрии. Средний размер вириона – 100–800 нм. Имеют суперкапсидную оболочку с шиповидными отростками. Геном представлен линейной несегментированной молекулой РНК. РНК связана с мажорным (NP) белком.

Оболочка содержит два гликопротеида:

- 1) HN, обладающий гемагглютинирующей и нейраминидазной активностью;
- 2) F, ответственный за слияние и проявляющий гемолитическую и цитотоксическую активности;
- 3) М-белок, формирующий внутренний слой вирусной оболочки.

Репликация вирусов полностью реализуется в цитоплазме клеток хозяина. Вирус парагриппа человека относится к роду Paramyxovirus. Для вирусов характерно наличие собственной РНК-зависимой РНК-полимеразы (транскриптазы).

На основании различий антигенной структуры HN, F и NP-белков вирусов парагриппа человека выделяют четыре основных серотипа. Типы 1, 2 и 3 антигенно родственны и перекрестно реагируют с антигеном к вирусу эпидемического паротита. Вирусы 4-го типа не имеют выраженного антигенного родства.

Возбудитель репродуцируется в эпителии верхних отделов дыхательных путей, откуда проникает в кровоток, вызывая вирусемию.

Клинические проявления у взрослых чаще всего протекают в форме катаров верхних отделов дыхательных путей. У детей клиническая картина протекает тяжелее, часто с симптомами интоксикации. Наиболее тяжело заболевание протекает у детей раннего возраста.

Основной путь передачи вируса парагриппа воздушно-капельный. Источником инфекции является больной (или вирусоноситель).

Лабораторная диагностика:

- 1) экспресс-диагностика – выявление антигенов в клетках носовых ходов с помощью ИФА;
- 2) выделение возбудителя в монослоях культур почек эмбриона человека или обезьян;
- 3) серодиагностика (РСК, РН, РТГА с парными сыворотками больных людей).

Лечение: средства специфической лекарственной терапии отсутствуют.

Специфическая профилактика не применяется.

РС-вирус – основной возбудитель заболеваний нижних дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста. Относится к роду Pneumovirus.

Характеризуется низкой устойчивостью, вирионы склонны к самораспаду, в очищенном виде проявляют выраженный полиморфизм. Выделяют три малых типа РС-вируса, антигенные различия между которыми обуславливает специфический поверхностный антиген.

Возбудитель реплицируется в эпителии воздухоносных путей, вызывая гибель зараженных клеток, проявляет выраженные иммуносупрессивные свойства, что объясняет высокую частоту вторичных бактериальных инфекций.

РС-вирус вызывает ежегодные эпидемические инфекции дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста; заражение взрослых возможно, но течение инфекции у них легкое или бессимптомное. Основной путь передачи воздушно-капельный.

После выздоровления формируется нестойкий иммунитет.

Лабораторная диагностика:

- 1) экспресс-диагностика – определение антигенов вируса в носовом отделяемом с помощью ИФА;

2) специфические антигены выявляют в РСК и РН.
Этиотропная терапия не разработана.

3. Аденовирусы

Семейство Adenoviridae включает в себя два рода – Mastadenovirus (вирусы млекопитающих) и Aviadenovirus (вирусы птиц); в состав первого входит около 80 видов (сероваров), второго – 14.

В семейство объединены вирусы с голым капсидом (отсутствует внешняя оболочка), кубическим типом симметрии. Размер вириона – 60–90 нм. Геном представлен линейной молекулой двунитевой ДНК.

Зрелый вирус состоит из 252 капсомеров, включающих в себя:

1) гексоны, содержащие типоспецифические антигенные детерминанты, действующие при высвобождении гексонов в составе вириона, ответственные за проявление токсического эффекта;

2) пентоны, содержащие малые антигены вируса и реактивный растворимый антиген семейства, обуславливающие гемагглютинирующие свойства вирусов.

Антигенная структура:

1) поверхностные антигены структурных белков (видо- и типоспецифичные);

2) антигены гексонов (группоспецифичные);

3) комплементсвязывающий антиген (идентичный для различных серотипов).

Основные пути передачи – воздушно-капельный и контактный.

Симптоматика поражений обусловлена репродукцией возбудителя в чувствительных тканях. По типу поражений чувствительных клеток выделяют три типа инфекций:

1) продуктивную (литическую). Сопровождается гибелью клетки после выхода дочерней популяции;

2) персистирующую. Наблюдается при замедлении скорости репродукции, что дает возможность тканям восполнять потерю инфицированных клеток за счет нормального деления неинфицированных клеток;

3) трансформирующую. В культуре ткани происходит превращение клеток в опухолевые.

Основные клинические проявления аденовирусных инфекций.

1. Наиболее часто – ОРВИ, протекающие по типу гриппоподобных поражений. Пик заболеваемости приходится на холодное время года. Вспышки возможны в течение всего года.

2. Фарингоконъюнктивиты (фарингоконъюнктивальная лихорадка). Пик заболеваемости приходится на летние месяцы; основной источник инфекции – вода бассейнов и природных водоемов.

3. Эпидемический кератоконъюнктивит. Поражения обусловлены инфицированием роговицы при травмах либо проведении медицинских манипуляций. Возможны эрозии роговицы вплоть до потери зрения.

4. Инфекции нижних отделов дыхательных путей.

Лабораторная диагностика:

1) выделение возбудителя инокуляцией в культуры эпителиальных клеток человека; исследуемый материал – отделяемое носа, зева, конъюнктивы, фекалии;

2) выявление антигенов вирусов в клетках иммунофлюоресцентной микроскопией;

3) РСК, РТГА и РН цитопатического эффекта в культуре клеток.

Лечение: средства специфической лекарственной терапии отсутствуют.

Специфическая профилактика: живые вакцины, включающие в себя ослабленные вирусы доминирующих серотипов.

4. Риновирусы

Относятся к семейству Picornaviridae.

Вирионы имеют сферическую форму и кубический тип симметрии. Размер – 20–30 нм. Геном образован положительной молекулой РНК, которая не сегментирована. Величина молекулы невелика. Молекула РНК связана с одной молекулой белка. Капсидная оболочка состоит из 32 капсомеров и 3 крупных полипептидов. Суперкапсидной оболочки нет.

Репликация вируса осуществляется в цитоплазме. Сборка клеток хозяина, заполнение капсида также осуществляются в цитоплазме; высвобождение вируса сопровождается лизисом клетки.

Вирусы теряют свои инфекционные свойства в кислой среде. Хорошо сохраняются при низких температурах. Необходимая для репликации температура равна 33 °С, ее повышение выше 37 °С блокирует последнюю стадию размножения.

Риновирусы разделяют на две большие группы по способности к репродукции в клетках:

1) вирусы группы Н. Размножаются и вызывают цитопатические изменения в ограниченной группе диплоидных клеток, человеческого эмбриона и специальной линии (К) клеток HeLa;

2) вирусы группы М. Размножаются и вызывают цитопатические изменения в клетках почек обезьян, эмбриона человека и различных перевиваемых клеточных линиях человеческих клеток.

В оптимальных условиях культивирования проявляется цитопатическое действие.

Антигенная структура:

1) по структуре единственного типоспецифического антигена выделяют 113 иммунологически разнородных групп; группоспецифический антиген отсутствует;

2) у человека риновирусная инфекция вызывает выработку нейтрализующих антигенов и состояние невосприимчивости.

Основной путь передачи воздушно-капельный, резервуар – больной человек (выделяет возбудитель в течение 1–2-х суток до появления симптомов и 2–3-х суток после начала заболевания).

Риновирусы локализуются в эпителиальных клетках слизистой оболочки носа с обильными выделениями, а у детей – и бронхов, вызывая насморк, бронхиты, бронхопневмонии.

После перенесенного заболевания остается непродолжительный иммунитет, который эффективен только против гомологичного штамма. Он определяется секреторными иммуноглобулинами типа IgA.

Лабораторная диагностика:

1) выделение вирусов на культурах клеток, зараженных отделяемым носовых ходов;

2) экспресс-диагностика – иммунофлюоресцентный метод; позволяет обнаружить вирусный антиген в цитоплазме эпителиальных клеток слизистой оболочки.

Лечение: средства специфической противовирусной терапии отсутствуют, лечение симптоматическое.

Специфическая профилактика: иммунопрофилактику не проводят из-за большого числа серологических вариантов возбудителя.

5. Реовирусы. РС-вирусы

Реовирусы относятся к семейству Reoviridae.

Вирионы сферической формы, в диаметре – 60–80 нм. Капсид построен по икосаэдрическому типу симметрии. Двунитевая РНК состоит из десяти фрагментов. В составе внутреннего и наружного капсидов – восемь отдельных белков. Один из белков наружного капсида ответствен за связывание со специфическими клеточными рецепторами, с помощью другого вирус проникает в клетку хозяина.

Репликация вирусов происходит в цитоплазме клеток хозяина.

Реовирусы культивируются в различных культурах клеток. Цитопатическое действие появляется поздно и напоминает неспецифическую дегенерацию клеточного монослоя.

Различают три серотипа реовирусов. Они имеют общий комплементсвязывающий антиген и типоспецифические антигены (белок наружного капсида). Вирусы обладают гемагглютинирующей активностью.

Основной путь передачи воздушно-капельный.

Реовирусы первично репродуцируются в эпителиальных клетках слизистой оболочки рта, глотки, тонкой кишки, регионарных лимфатических узлов, откуда они попадают в лимфу и кровь. Вирусы способны проходить через плаценту и оказывать эмбриопатическое действие.

Лабораторная диагностика:

- 1) выделение вируса в культуре клеток и новорожденных мышей;
- 2) идентификация вируса – в реакции нейтрализации и РТГА;
- 3) серодиагностика (РТГА).

Специфическая профилактика и этиотропная терапия не разработаны.

РС-вирус

Относится к семейству Paramyxoviridae, роду Pneumovirus.

В семейство включены «одетые» вирусы со спиральной симметрией, геном которых образует линейная несегментированная молекула РНК, связанная с мажорным (NP) белком; средний размер вириона – 100–800 нм.

Оболочка содержит:

- 1) HN-гликопротеид. Обладает гемагглютинирующей и нейраминидазной активностью;
- 2) F-гликопротеид. Ответствен за слияние. Проявляет гемолитическую и цитотоксическую активности;
- 3) М-белок. Формирует внутренний слой вирусной оболочки.

Репликация вирусов полностью реализуется в цитоплазме клеток хозяина.

В зараженных клеточных культурах выделяют два антигена:

- 1) первый (А) устойчив к обработке эфиром, индуцирует синтез нейтрализующих и комплементсвязывающих антигенов;
- 2) второй (В) индуцирует синтез комплементсвязывающих антигенов.

РС-вирус – основной возбудитель заболеваний нижних дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста. Возбудитель реплицируется в эпителии воздухоносных путей, вызывая гибель зараженных клеток.

РС-вирус характеризуется низкой устойчивостью, вирионы склонны к самораспаду, в очищенном виде проявляют выраженный полиморфизм, принимая несколько форм.

После выздоровления формируется нестойкий иммунитет.

Основной путь передачи воздушно-капельный.

Лабораторная диагностика:

- 1) выделение РС-вируса на клеточных линиях человека;
- 2) экспресс-диагностика – определение антигена вируса в носовом отделяемом и клетках слизистой оболочки с помощью ИФА;
- 3) выделение специфических антигенов в РСК и РН.

Лечение: этиотропная терапия отсутствует. Лечение симптоматическое.

Специфической профилактики нет.

Тема 36. Возбудители вирусных воздушно-капельных инфекций

1. Вирусы кори и паротита

Вирус эпидемического паротита и вирус кори относятся к семейству Paramyxoviridae.

Вирионы имеют сферическую форму диаметром 150–200 нм. В центре вириона расположен нуклеокапсид со спиральным типом симметрии, окруженный внешней оболочкой с шиповидными отростками. Вирусная РНК представлена односпиральной минус-нитью. Нуклеокапсид покрыт матриксным белком, который состоит из двух липидных слоев и трех вирусных специфических белков.

Вирус эпидемического паротита относится к роду Paramyxovirus. Вирусная инфекция характеризуется преимущественным поражением околоушных слюнных желез и способностью вызывать эпидемические вспышки.

Антигенная структура:

- 1) внутренний NP-протеин;
- 2) поверхностные NH- и F-гликопротеины.

Первоначально возбудитель репродуцируется в эпителии носоглотки, затем проникает в кровотоки и в период вирусемии проникает в различные органы: околоушные железы, яички, яичники, поджелудочную, щитовидную железы, головной и другие органы. Также возможна первичная репродукция в эпителии околоушных желез.

Основной путь передачи воздушно-капельный.

Лабораторная диагностика: выделение вируса из спинно-мозговой жидкости, слюны и пунктатов желез и культивирование на куриных эмбрионах и культурах клеток фибробластов кур.

Средства **специфической лекарственной терапии** отсутствуют.

Специфическая профилактика:

- 1) живая и убитая вакцина;
- 2) специфический иммуноглобулин.

Вирус кори относится к роду Morbillivirus.

Антигенная структура:

- 1) гемагглютинин (H);
- 2) пептид F;
- 3) нуклеокапсидный белок (NP).

Основные пути передачи – воздушно-капельный, реже-контактный.

Первоначально вирус размножается в эпителии верхних отделов дыхательных путей и регионарных лимфатических узлах, а затем проникает в кровотоки. Вирусемия носит кратковременный характер. Возбудитель гематогенно разносится по всему организму, фиксируясь в ретикулоэндотелиальной системе. Активность иммунных механизмов, направленных на уничтожение инфицированных клеток, приводит к высвобождению вируса и развитию второй волны вирусемии. Тропность возбудителя к эпителиальным клеткам приводит к вторичному инфицированию конъюнктивы, слизистых оболочек дыхательных путей и полости рта. Циркуляция в кровотоке и формирующиеся защитные реакции обуславливают повреждение стенок сосудов, отек тканей и некротические изменения в них.

Лабораторная диагностика:

- 1) обнаружение многоядерных клеток и антигенов возбудителя (в реакции иммунофлюоресценции) в отделяемом носоглотки;
- 2) выделение вируса на первично-трипсинизированных культурах клеток почек обезьян или эмбриона человека;
- 3) выявление нарастания титров антигенов в период реконвалесценции.

Лечение: средства специфической терапии отсутствуют.

Специфическая профилактика:

- 1) противокоревой иммуноглобулин человека;
- 2) живая аттенуированная вакцина.

2. Вирус герпеса

Семейство Herpesviridae включает в себя подсемейства:

- 1) α -herpesviruses (I и II типов, герпес-зостер);
- 2) β -herpesviruses;
- 3) γ -herpesviruses.

Относятся к ДНК-овым вирусам. ДНК двунитевая, линейная. Геном состоит из двух фрагментов: длинного и короткого. Нить ДНК намотана на центральную белковую культуру. Капсидная оболочка построена из простых белков, имеет кубический тип симметрии. Имеется суперкапсидная оболочка (липидная мембрана со слоем гликопротеидов), неоднородная по строению, образует шиповидные отростки.

Герпесвирусы относительно нестабильны при комнатной температуре, термолабильны и быстро инактивируются растворителями и детергентами.

α -герпес I типа вызывает афтозный стоматит в раннем детском возрасте, лабиальный герпес, реже – герпетический кератит и энцефалит.

α -герпес II типа вызывает генитальный герпес, герпес новорожденных, является предрасполагающим фактором к развитию рака шейки матки.

Герпес-зостер является возбудителем опоясывающего лишая и ветряной оспы. Это типичная герпес-вирусная инфекция. Клинически проявляется появлением пузырьков на коже по ходу ветвей соответствующих нервов. Заболевание протекает тяжело, но быстро наступает выздоровление. После перенесенной инфекции остается пожизненный иммунитет. Однако возможны рецидивы болезни, связанные с персистенцией вируса в нервных ганглиях.

После перенесенного α -герпес вирусного заболевания вирус пожизненно персистирует в нервных ганглиях (чаще тройничного нерва). При снижении защитных сил организма происходит развитие вирусной инфекции.

β -герпес (цитомегаловирус) при размножении в клетках культуры вызывает цитопатические изменения. Имеет сродство с клетками слюнных желез и почек, вызывая в них образование крупных многоядерных включений. При развитии заболевания имеют место вирусемия, поражение внутренних органов, костного мозга, ЦНС, развитие иммунопатологических заболеваний.

γ -герпес вирус (вирус Эпштейна-Бара) вызывает инфекционный мононуклеоз. Может являться предрасполагающим фактором в развитии опухолей.

Диагностика:

1) α -герпес вирус:

- а) выявление характерных многоядерных гигантских клеток с тельцами включений в соскобах из области поражений;
- б) культивирование в куриных эмбрионах;
- в) биологическая проба;
- г) серологические исследования (РСК, ИФА);
- д) метод прямой иммунофлюоресценции с моноклональными антигенами;

2) β -герпес вирус:

- а) обнаружение крупных цитомегаловирусных клеток в моче и слюне;
- б) культивирование в культуре фибробластов эмбриона человека;
- в) серологическое исследование (РСК);
- г) иммунофлюоресценция;

3) γ -герпес вирус:

- а) выделение вируса в культуре фибробластов;
- б) микроскопия мазков осадка мочи, слюны для выявления типичных гигантских клеток;
- в) серологические методы (РСК, РПГА и РН).

Лечение:

- 1) противовирусные препараты (ацикловир);
- 2) интерферон.

3. Вирус краснухи

Относится к семейству *Togaviridae*, роду *Rubivirus*.

Это сферические оболочечные вирусы с икосаэдральным нуклеокапсидом, заключенным в липидную оболочку. Средняя величина рубивирусов – 60 нм. Поверхность вирусов покрыта гликопротеиновыми спиккулами, содержащими гемагглютинины.

Геном образует однонитевая молекула +РНК. РНК сохраняет инфекционность после выделения ее из вириона. Репликативный цикл реализуется в цитоплазме клеток, где выявляются эозинофильные включения. После адсорбции и депротеинизации вирусная РНК выполняет функцию матричной РНК (мРНК) для синтеза вирусных протеинов, образующихся путем протеолитического «нарезания» полипротеина.

Вирус краснухи имеет два антигена:

- 1) нуклеопротеид, связанный с капсидом;
- 2) белок суперкапсидной оболочки.

Вирус представлен одним серотипом, обладающим гемагглютинирующей, гемолитической и слабовыраженной нейраминидазной активностью.

У человека вирус вызывает краснуху – острое инфекционное заболевание, обычно наблюдаемое у детей.

Краснуха – высококонтагиозная, широко распространенная инфекция; источник – больной человек; основной путь передачи возбудителя воздушно-капельный. При выздоровлении формируется пожизненная невосприимчивость.

Патогенез типичной формы включает в себя развитие острых воспалительных реакций в верхних отделах дыхательных путей и циркуляцию возбудителя в кровотоке с последующим поражением различных органов, включая плаценту при беременности.

Характерный признак заболевания – пятнисто-папулезная сыпь бледно-розового цвета, наиболее обильная на разгибательных поверхностях конечностей, спине и ягодицах. Через 2–3 дня кожные элементы исчезают, не оставляя пигментации и шелушения. Взрослые переносят краснуху тяжелее: температура может достигать 39 °С, возможны сильные головные боли и миалгии, выраженные катары слизистой оболочки носа и конъюнктивы.

Наибольшую опасность представляет инфицирование плода во время беременности – при этом наблюдают формирование множественных пороков (катаракты, пороков сердца, микроцефалии и глухоты).

Вирус малоустойчив во внешней среде, погибает при воздействии физических и химических факторов.

Лабораторная диагностика:

- 1) выделение возбудителя в культурах клеток человеческого эмбриона;
- 2) серологическая диагностика (РСК, РТГА) методами ИФА и РИА, РН.

Лечение:

- 1) средства этиотропной терапии отсутствуют;
- 2) беременным, контактировавшим с больным, профилактически вводят специфический иммуноглобулин;

Специфическая профилактика: живая аттенуированная вакцина; иммунизацию женщин детородного возраста следует проводить лишь при отсутствии беременности.

Тема 37. Энтеровирусные инфекции

1. Вирус полиомиелита

Относится к семейству Picornaviridae, роду энтеровирусов.

Это относительно небольшие вирусы с икосаэдральной симметрией. Средний размер вирусных частиц – 22–30 нм. Устойчивы к действию жировых растворителей. Геном образует несегментированную молекулу +РНК. Экстрагированная РНК сохраняет инфекционность даже после удаления молекулы белка под действием протеаз.

Каждая вирусная частица состоит из капсида, построенного из 60 субъединиц и содержащего 4 полипептида одной молекулы VPg, соединенной с РНК.

Репликация осуществляется в цитоплазме; репродукционные процессы обычно занимают не более нескольких часов и устойчивы к действию ингибиторов синтеза клеточной РНК. Первая стадия (после депротенинизации) – синтез +РНК и вирусных белков, которые транслируются в единую полипептидную нить. Сборка клеток хозяина, заполнение капсида также осуществляются в цитоплазме. Выход вируса сопровождается лизисом клетки.

Вирусы кислотоустойчивы и относительно стабильны при низких значениях рН, что позволяет им выживать в кислой среде желудка, а отсутствие оболочки делает их резистентными к действию желчных кислот.

Антигенная структура полиовирусов стабильна, возможны лишь редкие серологические вариации.

Возбудители высококонтагиозны, особенно при наличии большого скопления людей и нарушениях элементарных санитарных правил и гигиены. Основной механизм передачи фекально-оральный.

Все полиовирусы вызывают полиомиелит – острую инфекцию с поражением нейронов продолговатого мозга и передних рогов спинного мозга.

Первичный очаг размножения локализован в эпителии рта, глотки, тонкой кишки, а также в лимфоидных тканях кольца Пирогова и пейеровых бляшках. Возможно вторичное проникновение вируса из эпителия слизистых оболочек в лимфоидные ткани и кровотоков (первичная вирусемия), а затем и в различные органы, исключая ЦНС. При наличии сывороточных антигенов дальнейшая диссеминация возбудителя прекращается (абортивная инфекция), в противном случае развивается вторичная вирусемия и возбудитель попадает в ЦНС. Нейроны передних рогов спинного мозга, продолговатого мозга и варолиевого моста несут рецепторы для полиовирусов.

Лабораторная диагностика:

1) выделение возбудителя в первичных культурах ткани или культурах клеток HeLa, Нер-2, СОЦ; индикацию возбудителя осуществляют по цитопатическому эффекту и его нейтрализации типовой антисывороткой;

2) серологические исследования включают в себя определение антигенов в сыворотке и спинно-мозговой жидкости; выявление высоких титров IgM указывает на наличие инфекции.

Лечение: средства специфической противовирусной терапии отсутствуют; проводят симптоматическое лечение и предупреждают развитие вторичных бактериальных инфекций.

Специфическая профилактика:

- 1) живая (аттенуированная) вакцина;
- 2) убитая вирусная вакцина.

2. ЕСНО-вирусы. Вирусы Коксаки

Относятся к семейству Picornaviridae, роду энтеровирусов.

Строение вириона такое же, как у вируса полиомиелита.

Вирусы ЕСНО выделены в особую группу кишечных вирусов вследствие полного отсутствия патогенного действия на лабораторных животных. Выделяют 34 серовара; разделение основано на свойствах специфического антигена вирусного капсида, нейтрализуемого типоспецифическими антигенами. 12 серотипов способны к гемагглютинации, некоторые серотипы спонтанно элюируют. Групповой специфический антиген отсутствует. Некоторые типоспецифические антигены обладают определенной перекрестной реактивностью.

Заражение ЕСНО-вирусами происходит фекально-оральным путем, реже ингаляционно. Как правило, возбудитель не диссеминирует из очага первичной инфекции; реже он распространяется гематогенно, а при тяжелых формах его можно выделить из пораженного органа.

ЕСНО-вирусы вызывают:

- 1) ОРВИ и лихорадку неясного генеза;
- 2) асептические менингиты (протекают относительно легко и не вызывают осложнений);
- 3) восходящие параличи и энцефалиты, напоминающие поражения, вызываемые полиовирусами;
- 4) лихорадочное состояние, сопровождающееся кореподобными высыпаниями.

После перенесенного заболевания формируется гуморальный типоспецифический иммунитет, продолжительность которого колеблется в разных пределах.

Лабораторная диагностика:

- 1) выделение возбудителя проводят заражением клеток почек обезьян материалом из спинно-мозговой жидкости и фекалий;
- 2) серодиагностика – обнаружение антигенов (в парных сыворотках, забираемых в начале и на 2–3-ю недели болезни); для выявления используют реакции РН, РСК и РТГА.

Лечение и профилактика: средства терапии и эффективной профилактики ЕСНО-вирусных инфекций отсутствуют; лечение поражений симптоматическое.

Вирусы Коксаки – типичные пикорнавирусы.

По биологическим свойствам выделяют:

- 1) вирусы группы А. Вызывают диффузный миозит с воспалением и очаговым некрозом поперечно-полосатых мышц;
- 2) вирусы группы В. Вызывают поражения ЦНС (очаговые дегенерации, параличи), некроз скелетной мускулатуры и иногда миокарда, воспалительные поражения селезенки и др.

Каждая группа включает в себя серовары: группа А – 24, группа В – 6. Разделение основано на свойствах типоспецифического антигена. Серовары не содержат группоспецифического антигена.

Некоторые вирусы Коксаки способны вызывать гемагглютинацию эритроцитов человека.

Основные механизмы передачи – фекально-оральный и контактный (через отделяемое носоглотки).

Инфекционный процесс, вызванный вирусами Коксаки, сопровождается синтезом типоспецифических антигенов, обнаруживаемых в сыворотке через неделю после начала заболевания.

Лабораторная диагностика:

- 1) заражение культуры клеток и мышат-сосунков; материал – смывы и мазки из носоглотки, содержимое кишечника;
- 2) гемагглютинирующие варианты выявляют с помощью РТГА, характеризующейся типоспецифичностью;

3) принадлежность к сероварам определяют в РСК или РН с типоспецифическими анти-сыворотками.

Этиотропная терапия отсутствует.

Специфической профилактики нет.

Тема 38. ВИЧ (вирус иммунодефицита человека)

1. Структура

ВИЧ относится к семейству ретровирусов.

Вирион имеет сферическую форму, диаметром 100–150 нм. Кубический тип симметрии. Наружная (суперкапсидная) оболочка вируса состоит из бимолекулярного слоя липидов, который имеет происхождение из клеточной мембраны клетки хозяина. Из нее выступают шипы двух типов:

- 1) gp 120 (обладает рецепторной функцией);
- 2) gp 41 (обладает якорной функцией).

В эту мембрану встроены рецепторные образования. Под наружной оболочкой располагается сердцевина вируса (кор), которая имеет форму усеченного конуса. Промежуток между наружной вирусной мембраной и сердцевиной вируса заполнен матриксным белком. Внутри сердцевины располагаются две одинаковые молекулы вирусной РНК, связанные с низкомолекулярными белками р 6 и р 7.

Каждая молекула РНК содержит девять генов ВИЧ:

- 1) три из них являются структурными;
- 2) три – регуляторными (не кодируют структурных компонентов вируса, но, попав в клетку, кодируют образование веществ, которые либо угнетают активность структурных генов, либо активируют);
- 3) три – дополнительными (эти гены содержат информацию, необходимую для продукции белков, которые управляют способностью вируса инфицировать клетку, реплицироваться и вызывать заболевание).

Выделяют три группы структурных генов:

- 1) gag (кодируют образование структурных белков сердцевины вируса);
- 2) pol (направляют синтез белков – вирусных ферментов);
- 3) env (кодируют синтез оболочечных белков gp 120 и gp 41).

Концы каждой молекулы РНК содержат дублированную последовательность РНК. Эти участки действуют как переключатели для управления процессом вирусной транскрипции, взаимодействуя с белками ВИЧ или белками клетки хозяина.

Кроме РНК, там же находятся вирусные ферменты:

- 1) обратная транскриптаза; осуществляет синтез вирусной ДНК с молекулы вирусной РНК;
- 2) протеаза; участвует в «нарезании» предшественников вирусных белков при созревании новой вирусной частицы;
- 3) эндонуклеаза (интеграза); производит встраивание вирусной ДНК в геном клетки хозяина, в результате чего образуется провирус.

Антигенными свойствами обладают:

- 1) белки сердцевины;
- 2) оболочечные гликопротеины. Характеризуются высоким уровнем антигенной изменчивости, который определяется высокой скоростью замен нуклеотидов.

Интенсивная антигенная изменчивость ВИЧ происходит в организме больных в ходе инфекции и у вирусоносителей. Она дает возможность вирусу «скрыться» от специфических антител и факторов клеточного иммунитета, что приводит к хронизации инфекции.

В обычных культурах клеток ВИЧ не культивируется. Для культивирования используется культура Т-лимфоцитов с хелперной функцией.

2. Патогенез и иммунологические нарушения

В организме вирусы взаимодействуют с CD-4 рецепторами, которые располагаются на поверхности иммунокомпетентных клеток – лимфоцитов, макрофагов. Взаимодействие вируса с клеткой-мишенью включает в себя 4 стадии:

- 1) адсорбцию к CD-4 рецепторам;
- 2) прокол клетки и эндоцитоз;
- 3) депротенинизацию с участием протеинкиназ клетки хозяина;
- 4) синтез ДНК на матрице РНК с участием обратной транскриптазы.

ДНК вируса включается в геном клетки, затем происходит синтез вирусных компонентов – белков, затем – самосборка вириона и его отпочкование, в ходе которого вирус приобретает суперкапсид.

Взаимодействие вируса с клеткой может быть различным:

- 1) вирус может персистировать в клетке, ничем себя не проявляя, у него может отсутствовать синтез нуклеиновых кислот и белков;
- 2) медленное размножение и отпочкование вируса и инфицирование новых клеток;
- 3) быстрое размножение вируса в клетке, гибель ее и выход вируса.

Инфекция начинается с внедрения вируса в организм человека. Патогенез ВИЧ-инфекции включает в себя пять основных периодов:

1) инкубационный период продолжается от инфицирования до появления антител и составляет от 7 до 90 дней. Вирус размножается экспоненциально. Никаких симптомов не наблюдается. Человек становится заразным через неделю;

2) стадия первичных проявлений характеризуется взрывообразным размножением вируса в различных клетках, содержащих CD-4 рецептор. В этот период начинается сероконверсия. Клинически эта стадия напоминает любую острую инфекцию: наблюдаются головная боль, лихорадка, утомляемость, может быть диарея, единственнымстораживающим симптомом является увеличение шейных и подмышечных лимфоузлов. Эта стадия продолжается 2–4 недели;

3) латентный период. В этот период вирус замедляет свою репликацию и переходит в состояние персистенции. Латентный период длится 5–10 лет. Единственным клиническим симптомом является лимфаденопатия – увеличение практически всех лимфоузлов. Уменьшается количество Т-хелперов по отношению к Т-супрессорам, исчезают реакции гиперчувствительности замедленного типа;

4) СПИД-ассоциированный комплекс (пре-СПИД). Вирус начинает интенсивно размножаться во всех тканях и органах, взрывообразно реплицироваться с повреждением клеток. Наиболее сильно повреждаются Т-хелперы, происходит полная их деструкция, что приводит к дерегуляции всей иммунной системы, резко снижается иммунитет (как гуморальный, так и клеточный);

5) собственно СПИД. Наблюдается полное отсутствие иммунного ответа. Длительность – примерно 1–2 года, непосредственной причиной смерти являются вторичные инфекции.

3. Эпидемиология. Диагностика. Лечение

Источниками вируса являются больные и вирусоносители.

Пути передачи вируса:

- 1) при половом контакте;
 - 2) парентеральное заражение кровью при гемотрансфузиях, медицинских манипуляциях, операциях;
 - 3) новорожденным через плаценту, в родовых путях, при грудном вскармливании.
- Возможно заражение в парикмахерских, при пользовании зубными щетками, нанесении татуировок.

ВИЧ присутствует у больного человека во всех клетках, где есть CD-4 рецепторы – это Т-хелперы, тканевые макрофаги, в клетках кишечника, слизистых и т. д. У инфицированного человека вирус выделяется со всеми биологическими жидкостями: максимальное количество его находится в крови и в семенной жидкости. Среднее количество вируса – в лимфе, ликворе, отделяемом влагалища. Еще меньше вируса в молоке кормящей матери, слюне, слезах, поте. Содержание вируса в них таково, что этого недостаточно, чтобы вызвать инфекцию.

Основные группы риска – наркоманы, пациенты с гемофилией, гомосексуалисты, проститутки.

ВИЧ характеризуется низкой устойчивостью к воздействию физических и химических факторов. Нагревание при 560 °С в течение 30 мин приводит к снижению инфекционного титра вируса в 100 раз, а более высокие температуры быстро и полностью инактивируют вирус. Чувствителен к действию детергентов и дезинфектантов. ВИЧ устойчив к высушиванию. Его инфекционность сохраняется в течение 4–6-и дней при комнатной температуре. Малочувствителен к действию УФ-излучения.

Лабораторная диагностика:

- 1) скрининг антител против ВИЧ с помощью иммуноферментного анализа (от начала второго периода и до смерти инфицированного). Если реакция положительна, ставится повторная с другой сывороткой и на более совершенной системе. Затем проводится иммуноблоттинг;
- 2) диагностикум ВИЧ-2 (при подозрении на ВИЧ-инфекцию и при отрицательных реакциях на ВИЧ-1);
- 3) заражение культур Т-хелперов. Вирус обнаруживают по цитопатическому действию, в серологических реакциях, по обратной транскриптазной активности;
- 4) гибридизационные тесты с использованием вирусоспецифических нуклеиновых зондов.

Лечение:

- 1) этиотропная терапия. Используют следующие препараты:

- а) азидотимизин (инактивирует обратную транскриптазу вируса);
- б) α -интерферон (удлиняет латентный период, подавляя репликацию);

- 2) иммуностимуляция: вводят интерлейкин-2, интерфероны и иммуноглобулины;
- 3) лечение опухолей, вторичных инфекций и инвазий.

Специфическая профилактика не разработана. Проводится испытание генно-инженерной вакцины, содержащей поверхностные гликопротеины вирусов.

Тема 39. Заболевания мочеполовых путей. Классические венерические заболевания

1. Инфекции, передаваемые половым путем, и их классификация

Инфекционные заболевания мочеполовой системы делят на:

1) неспецифические – гнойно-воспалительные заболевания, чаще эндогенные – вызываемые условно-патогенными грамотрицательными бактериями или гноеродными кокками, или заболевания, связанные с проявлениями дисбактериоза (например, вагинозы). Клинические проявления неспецифических поражений мочеполовой сферы тесно связаны с локализацией процесса и часто соответствуют клинике других гнойно-воспалительных заболеваний;

2) специфические заболевания – венерические болезни, общепринятое современное более широкое название которых – инфекции, передаваемые половым путем. Основным методом микробиологической диагностики неспецифических заболеваний мочеполовой сферы является бактериологическое исследование. Как правило, оно осуществляется по схемам, общепринятым для гнойно-воспалительных заболеваний, с использованием соответствующего характеру поражения и локализации процесса патологического материала (такого как гной, отделяемое уретры, моча).

Инфекции, передаваемые половым путем, особенно в последнее время являются не только медицинской, но и социальной проблемой, хотя и сопровождают человечество на протяжении всей его истории. Поэтому они стали непосредственным предметом изучения такой науки, как венерология, и определенных разделов урологии, акушерства и гинекологии, микробиологии, так как по своей природе прежде всего являются инфекционными болезнями.

Согласно данным ВОЗ в настоящее время существует целая группа возбудителей, передаваемых половым путем и вызывающих соответствующие заболевания.

Инфекции, передаваемые половым путем, представляют собой большую группу этиологически неоднородных заболеваний, возбудители которых относятся к различным группам микроорганизмов (бактерий, вирусов, простейших, грибов и эктопаразитов).

Инфекции, передаваемые половым путем, объединяют по эпидемиологическому признаку. Основной путь их передачи – половой. Все они являются антропонозными инфекциями.

Особенность этих болезней – их частая ассоциация друг с другом и с другими заболеваниями. С этим связаны многоочаговость поражений, тяжесть осложнений и трудность терапии.

В соответствии с клиническими проявлениями сифилис, мягкий шанкр и генитальный герпес объединяют в отдельную группу заболеваний, которые характеризуются изъязвлением в очагах поражения. Это преимущественно мочеполовой тракт, хотя он и не является единственным местом локализации процесса.

Инфекции, передаваемые половым путем, делятся на три группы.

I группа – классические венерические заболевания: сифилис, гонорея, мягкий шанкр (шанкроид), венерический лимфогранулематоз, венерическая гранулема паховая (донованоз).

II группа – инфекции, передающиеся половым путем, с преимущественным поражением мочеполовой системы: уrogenитальный хламидиоз, мочеполовой микоплазмоз, мочеполовой трихомониаз, генитальный герпес, папилломавирусные инфекции, контагиозный моллюск гениталий, уrogenитальный шигеллез, лобковый педикулез (фтириаз) и чесотка.

III группа – инфекции, передающиеся половым путем, с преимущественным поражением других органов: ВИЧ-инфекция, гепатит В, цитомегаловирусная инфекция, амебиаз, лямблиоз.

При изучении инфекционных заболеваний, передаваемых половым путем, при которых в основном поражается мочеполовая система, выявлено, что лобковый педикулез (фтириаз) и чесотка являются паразитарными инфекциями, вызываемыми членистоногими – лобковой вошью (*Phthirus pubis*) и чесоточным клещом (*Sarcoptes scabiei*) соответственно. Самым эффективным средством лечения паразитарных поражений считается местная терапия в виде назначения аппликации на пораженные области, включая волосистые части тела перметринового крема.

Амебиаз и лямблиоз вызываются простейшими и клинически проявляются в виде поражений со стороны желудочно-кишечного тракта.

2. Классические венерические заболевания

Сифилис

Возбудитель сифилиса – *Treponema pallidum* (бледная спирохета) из семейства Spirochaetaceae – открыта в 1905 г.

Свое название «бледная» трепонема получила из-за низкой способности к окраске. Кроме нее, существуют и другие патогенные трепонемы: *T. pertenue* – возбудитель фрамбезии, *T. carateum* – возбудитель пинты, *T. Bejel* – возбудитель беджеля. Вызываемые ими болезни характерны для регионов с жарким и влажным климатом.

Бледная трепонема – грамотрицательная подвижная извитая палочка, имеющая форму правильной спирали размером до 15 мкм, с 8–12 крутыми глубокими завитками, концы заострены. Кроме спиралевидной формы, встречаются и другие – в виде цист, гранул, L-форм.

Спирохеты плохо окрашиваются анилиновыми красителями, вследствие чего их обычно окрашивают не по Граму, а по методу Романовского-Гимза. В этом случае бледная трепонема окрашивается в характерный слабо-розовый цвет.

Бледная трепонема является облигатным анаэробом, с трудом растущим на специальных питательных средах. Для их культивирования используют сложные среды, содержащие почечную и мозговую ткань. Посевы культивируют в строго анаэробных условиях при температуре +35 °С.

Культивируемая на питательных средах трепонема – культуральная спирохета – отличается от патогенной меньшей вирулентностью, хотя их антигены имеют сходство, что используется при серодиагностике сифилиса.

Для бледной трепонемы характерны антигенные связи с другими трепонемами, а также липоидами тканей животных и человека. Из многих антигенов возбудителя наиболее изучены три: липополисахаридный кардиолипид, белковый и нуклеопротеиновый.

В окружающей среде бледная трепонема слабоустойчива, при температуре до 60 °С возбудитель быстро погибает. Чувствительна к высушиванию, свету, солям ртути, висмуту, мышьяку. Под действием пенициллина переходит в L-формы. На предметах домашнего обихода сохраняет заразительность до момента высыхания. Хорошо сохраняется в тканях трупа.

Сифилис является антропонозной инфекцией.

Источник инфекции – только больной человек. Заражение происходит в основном половым путем, реже – бытовым, через предметы домашнего обихода, загрязненные отделяемым от больного. Возможно заражение через поцелуи, молоко кормящей матери, а также не исключены случаи заражения при переливании крови от доноров, больных сифилисом. Бактерионосительства при сифилисе не бывает.

Возбудитель сифилиса проникает в организм через кожу или слизистую оболочку, распространяется по органам и тканям, вызывая их поражение. Для сифилиса характерно волнообразное течение. Помимо инкубационного периода (21–24 дня, но может быть до 90 дней), выделяют:

1) *первичный период* – начинается с появления на месте внедрения возбудителя (на слизистой наружных половых органов, анального отверстия, полости рта) типичного клинического признака первичного сифилиса – первичной сифиломы (твердого шанкра), которая представляет собой безболезненную плотную язву с ровными краями. Продолжительность этого периода составляет 45–50 дней. Он делится на: серонегативный (2–3 недели) и сменяющий его серопозитивный (в крови появляются антитела). В первичный период сифилиса больной опасен для окружающих;

2) *вторичный период* возникает при отсутствии лечения как результат генерализации инфекции. Он характеризуется полиморфными высыпаниями на коже и слизистых оболочках, называемыми сифилидами. Наиболее характерной является сыпь на коже в виде розеол – расширенных капилляров кожи. В элементах сыпи содержится большое количество возбудителя, поэтому больной опасен для окружающих.

Продолжительность этого периода сифилиса составляет 3–4 года;

3) *третичный период* – наступает в результате отсутствия лечения. Он характеризуется образованием специфических грубых инфильтративных поражений – сифилитических гумм на коже, слизистых оболочках, в паренхиматозных органах, костях.

В этот период больной малозаразен для окружающих, а серологические реакции могут быть отрицательными.

Через 9–10 лет при дальнейшем развитии процесса при отсутствии лечения возможно поражение центральной нервной системы (нейросифилис), заканчивающееся спинной сухоткой и прогрессирующим параличом.

При внутриутробном заражении плода развивается врожденный сифилис.

Врожденного иммунитета к сифилису не существует. При сифилисе развивается нестерильный иммунитет, но после излечения иммунитет не сохраняется, поэтому всегда имеется вероятность повторного заболевания.

Микробиологическая диагностика сифилиса в зависимости от периода заболевания проводится бактериоскопическим и серологическим методами.

При первичном и вторичном сифилисе исследуют материал из отделяемого первичной сифиломы, розеол, пунктата лимфатических узлов. Используют микроскопию неокрашенных мазков в темном поле и мазков, окрашенных по Романовскому-Гимза.

Серодиагностика становится возможной на 3–4-й неделях заболевания и оказывается основным методом при диагностике сифилиса. Антитела выявляют в осадочных тестах (на основе реакции преципитации), модифицированной реакции связывания комплемента (реакция Вассермана) и непрямых реакциях с мечеными антиглобулины и новыми сыворотками.

В настоящее время в серодиагностике сифилиса широко используются иммунолюминесцентные и иммуноферментные методики, для реализации которых предложен ряд коммерческих тест-систем.

Наиболее эффективными антимикробными средствами являются антибиотики пенициллинового ряда. Кроме них, применяют препараты висмута, йода и др.

Специфической профилактики сифилиса не существует. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению правил гигиены, а также проведению комплекса санитарно-гигиенических мероприятий общественного характера. Они включают в себя учет больных сифилисом, госпитализацию всех больных заразными формами, привлечение к обследованию всех членов семьи заболевшего, систематическое обследование групп риска и др.

Гонорея

Гонорея – инфекционное венерическое заболевание, вызываемое *N. gonorrhoeae* семейства *Neisseriaceae*. Возбудитель гонореи был открыт в 1879 г. А. Нейссером.

Гонококк – грамотрицательный диплококк, имеющий бобовидную форму. Подвижность отсутствует, спор нет, капсул нет. В гнойном отделяемом гонококки расположены внутри лейкоцитов (незавершенный фагоцитоз).

Гонококк является аэробом, который выращивается на питательных средах, содержащих сыворотку, кровь или асцитическую жидкость. Оптимальный рост отмечается при температуре 37 °С и повышенной концентрации углекислого газа. Гонококк обладает сахаролитической активностью.

Антигенная структура гонококка до сих пор изучена мало. Известно, что фактором патогенности является токсическая субстанция клеточной стенки – липополисахарид.

Гонококк отличается высокой чувствительностью к высушиванию, дезинфицирующим средствам, температуре, а также проявляет высокую чувствительность к бензилпенициллину, эритромицину, тетрациклину, бисептолу и др.

Гонококк является абсолютным паразитом человека. Единственным источником инфекции является больной человек. Основной путь передачи – половой, при бленнорее заражение происходит через инфицированные родовые пути. Возможно и бытовое заражение через инфицированные предметы домашнего обихода.

Гонорея характеризуется гнойным воспалением слизистых оболочек органов мочеполовой системы. Гонококки, попадая в организм, прикрепляются к эпителию мочеполовых путей и слизистых оболочек половых путей, а затем проникают внутрь клеток. Размножаются на слизистых оболочках, после гибели выделяют эндотоксин, вызывают воспалительный процесс с обильной миграцией лейкоцитов.

Инкубационный период заболевания продолжается в течение 2–4 дней. Заболевание проявляется истечением гноя из мочеиспускательного канала, сопровождающегося болями при мочеиспускании.

Иммунитета, предохраняющего от повторного заражения, нет.

Микробиологическая диагностика гонореи основана на таких методах, как:

1) *бактериоскопический метод*. Материалом служат отделяемое слизистой уретры и прямой кишки, сок простаты у мужчин; отделяемое уретры, шейки матки, прямой кишки – у женщин. Мазки окрашивают по Граму или метиленовым синим и микроскопируют.

При обнаружении типичных по морфологии, внутриклеточно расположенных диплококков выдается положительный ответ;

2) *бактериологический метод*. Материалом для исследования служат выделения из уретры, сок простаты, мазки из влагалища или шейки матки. Сразу после забора засевают на асцитагар, среду Бейли или специальные среды для гонококков. Выделение чистой культуры и ее идентификацию проводят по обычной схеме;

3) *серологический метод*. Материалом служит сыворотка крови обследуемого, в которой в РСК (реакция Борде-Жангу) или другими методами ищут антитела к гонококку;

4) *метод иммуноиндикации* – проводится с помощью РСК, методов прямой или непрямой иммунофлюоресценции, иммуноферментного анализа. В отделяемом больных гонореей или в осадке мочи выявляют гонококковый антиген;

5) *молекулярно-генетические исследования*. Для обнаружения в патологическом материале или биоптатах пораженных тканей нуклеотидных последовательностей ДНК гонококков используют полимерную цепную реакцию (ПЦР) с соответствующими праймерами.

Лечение гонореи основано на применении антибиотиков и химиопрепаратов. В случае хронического течения гонореи вводят убитую гонококковую вакцину с целью иммунотерапии.

Специфическая профилактика гонореи отсутствует. Неспецифическим основным профилактическим средством является презерватив, предохраняющий половых партнеров от заражения. Борьба с распространением заболевания сводится к выявлению и лечению лиц, являющихся источником инфекции. Кроме того, законом предусматривается наказание за уклонение от лечения и заведомое заражение других лиц.

Шанкроид (мягкий шанкр)

Возбудитель мягкого шанкра относится к виду *H. ducreyi* роду *Haemophilus* семейству Pasteurellaceae. Был открыт в 1887 г. и подробно описан в 1892 г.

Бактерии мягкого шанкра – гемофилы – представляют собой короткие, тонкие грамотрицательные палочки с несколько закругленными концами и перетяжкой в середине, располагающиеся одиночно или в виде цепочек, параллельными рядами. Их длина составляет 1,5–2 мкм, а ширина – 0,5 мкм. Спор не образуют, капсул и жгутиков не имеют.

Возбудитель мягкого шанкра является факультативным анаэробом. Биологической особенностью *Haemophilus ducreyi*, как и остальных гемофилов, является потребность в факторах роста, присутствующих в крови, поэтому для их культивирования применяют специальные среды, содержащие кровь. На плотных питательных средах образуются мелкие сероватые колонии, а в бульоне с 20 %-ной кровью – взвешенные и оседающие на дно и стенки пробирки зерна. От других представителей рода гемофилов *Haemophilus ducreyi* дифференцируется по биохимическим свойствам.

Бактерии мягкого шанкра не обладают протеолитическими свойствами, ферментируют с образованием кислоты глюкозу, лактозу, сахарозу и маннит.

Растворимый токсин не продуцируют. Патологические изменения обусловлены действием эндотоксина.

Антигенная структура и классификация не разработаны.

Бактерии мягкого шанкра чувствительны к различным факторам внешней среды, в течение 15 мин погибают при температуре 55 °С, погибают при действии слабых растворов дезинфицирующих веществ.

Мягкий шанкр является типичной венерической болезнью, передающейся половым путем. Источником болезни является больной с острой или хронической формой.

Микроб размножается в коже или слизистых оболочках половых органов. На месте внедрения возбудителя развивается воспаление с последующим образованием болезненной язвы с гнойным отделяемым, подрытыми краями, мягкой консистенции. С проникновением возбудителя в соседние участки образуются множественные язвы, поражаются лимфатические сосуды, развиваются лимфаденоиты и лимфадениты. При отсутствии язв микроб может находиться в слизистой оболочке влагалища, шейки матки и уретры.

Перенесенное заболевание иммунитета не оставляет, хотя и вызывает в организме образование комплементсвязывающих антител и сопровождается развитием аллергии.

Для **микробиологической диагностики** шанкроида используются такие методы, как:

1) *бактериоскопический метод*. Материалом для исследования служит отделяемое язвы, из которого готовят мазок, окрашивают его по методу Романовского-Гимза или метиленовым синим. При микроскопии в препаратах видны ряды цепочек мелких палочек, расположенных в виде стаи рыб между лейкоцитами;

2) *бактериологический метод*. Материалом для исследования служит отделяемое язвы, которое сразу после забора засевают на специальные питательные среды. Для подавления роста сопутствующей микрофлоры в них добавляют ванкомицин. Посевы инкубируют в атмосфере, содержащей 5 % CO₂, и учитывают через 48 ч. Идентификацию культур проводят по обычной схеме;

3) *метод иммуноиндикации*. Для выявления антигенов возбудителя используют тест-системы для иммуноферментного анализа;

4) *молекулярно-генетические методы*. Для обнаружения в отделяемом язвы нуклеотидных последовательностей ДНК-возбудителя используют полимеразную цепную реакцию.

Венерическая лимфогранулема

Венерическая лимфогранулема – заболевание половых органов и регионарных лимфатических узлов. Возбудитель – вид *Chlamydia trachomatis*, род *Chlamydia* семейства

Chlamydiaceae, серовары L₁, L₂, L₃, т. е. возбудитель венерической лимфогранулемы отличается от других хламидий лишь антигенными свойствами.

Источником инфекции является больной человек. Заражение происходит преимущественно половым путем, хотя встречаются случаи заражения и через предметы обихода. Заболевание распространено в странах с жарким и влажным климатом, отличается высокой контагиозностью.

Входными воротами для возбудителя являются слизистые оболочки половых органов. Инкубационный период может длиться до 30 дней. Первичное поражение, как правило, представляет собой язву на половых органах, а спустя 1–2 недели развивается паховый лимфаденит, сопровождаемый общими симптомами; лимфоузлы при этом спаиваются между собой и расплавляются, у женщин и гомосексуалистов часто поражаются параректальные лимфоузлы. При развитии венерической лимфогранулемы наиболее частым осложнением считается развитие проктита и парапроктита.

В качестве **лечения** назначают тетрациклины, пенициллин и сульфаниламидные препараты.

После перенесения заболевания вырабатывается стойкий иммунитет.

Для **микробиологической диагностики** венерической лимфогранулемы используются все общепринятые стандартные методы, применяемые для диагностики хламидиозов.

Гранулема венерическая паховая (донованоз)

Возбудитель донованоза *Calymmatobacterium granulomatis* пока еще мало изучен, его систематическое положение неясно.

Это полиморфные грамтрицательные палочки с закругленными концами, располагающиеся одиночно или скоплениями. Образуют капсулу, неподвижны, факультативные анаэробы, паразитируют внутри макрофагов.

Высокотребовательны к питательным средам. Растут на средах с яичным желтком при температуре 37 °С, но культивирование редко бывает успешным. Размножаются в желточном мешке развивающихся куриных эмбрионов.

Донованоз эндемичен для Новой Гвинеи, Индии, стран Центральной и Южной Африки. В Европе это заболевание встречается редко.

Основным методом микробиологической диагностики донованоза является микроскопический. Из материала, взятого из очага пораженной ткани, готовят мазки, которые окрашивают по методу Романовского-Гимза. При микроскопии обнаруживают бактерии, окрашенные в голубой цвет, и внутриклеточные включения (тельца Донована), окрашенные в синий или черный цвет.

Тема 40. Заболевания мочеполовых путей. Инфекции, передаваемые половым путем, с преимущественным поражением половых органов

1. Урогенитальный хламидиоз

Возбудитель урогенитального хламидиоза – вид *Chlamydia trachomatis*, сероваров от D до K, род *Chlamydia* семейства *Chlamydiaceae*.

Урогенитальный хламидиоз является самой распространенной из инфекций, передающихся половым путем, в половине случаев являясь основной причиной негонеомикробных уретритов у мужчин и цервицитов – у женщин.

Урогенитальный хламидиоз – антропонозная инфекция, источником которой являются больные люди (чаще – женщины) с малосимптомным течением болезни. Механизм заражения – контактный. Передача инфекции происходит при половом контакте, но возможен и контактно-бытовой путь. Хламидии могут инфицировать плод во время беременности больной матери.

Хламидии проникают через слизистые оболочки урогенитального тракта, а также через конъюнктиву. Инфицированность хламидиями не равнозначна заболеванию. Достаточно часто оно протекает бессимптомно, не сопровождается специфической клинической симптоматикой или не отличается от клинических проявлений аналогичных форм патологии, вызываемой другими патогенными микроорганизмами; при этом моноинфекции регистрируются только у 20 % пациентов.

Проявления хламидийной инфекции весьма разнообразны и зависят в первую очередь от локализации возбудителя. Возбудители вызывают воспаление уретры, шейки матки, придатков, предстательной железы, конъюнктивы.

В связи с отсутствием общепринятой клинической классификации урогенитального хламидиоза предлагается различать его свежую (острую) и хроническую формы (по аналогии с классификацией гонореи), а далее указывать топический диагноз.

Длительность инкубационного периода составляет 1–2 недели. Появляются выделения, зуд, гиперемия слизистых оболочек. У 30 % больных через несколько недель может наступать спонтанное клиническое (но не этиологическое) выздоровление, что, соответственно, при определенных условиях ведет к рецидивам или к осложнениям инфекции.

После выздоровления иммунитет не формируется.

Для **микробиологической диагностики** хламидийных инфекций используют:

1) *микроскопический метод*. В мазках из исследуемого материала, окрашенных по методу Романовского-Гимза, в клетках обнаруживают элементарные тельца хламидий розового цвета и ретикулярные тельца голубого или синего цвета. Ядра клеток при этом методе окраски имеют вишневый оттенок.

Этот метод позволяет обнаруживать хламидий примерно у 1/4 носителей инфекции и используется только как ориентировочный;

2) *культуральный* (выделение возбудителя) является наиболее специфичным и информативным эталонным методом диагностики («золотой стандарт»). В нашей стране он практически не применяется в силу высокой стоимости и трудоемкости его использования;

3) *метод серодиагностики*. Используются реакция непрямой иммунофлюоресценции, ИФА. Серодиагностика дает большой процент ложноположительных результатов, обусловленных перенесенной в прошлом хламидийной инфекцией, поэтому она используется только как

метод обследования больших групп населения для отбора лиц с положительной реакцией, подлежащих более детальному обследованию;

4) *метод иммуноиндикации*. С помощью иммуноферментного анализа и метода прямой иммунофлюоресценции в материале от больных можно обнаружить антигены хламидий. При этом следует учитывать, что иммуноферментный анализ указывает на степень иммунной защищенности макроорганизма и на состояние первичной хламидийной инфекции или ее рецидива, но он не дает возможность исключить ложноположительные реакции. Реакция прямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител против основного белка наружной мембраны хламидий трахоматис в настоящее время является основным методом диагностики урогенитального хламидиоза, так как позволяет выявлять хламидий непосредственно в исследуемом материале;

5) *молекулярно-генетические исследования*. С помощью высокочувствительных и специфичных методов (ПЦР и ДНК-зондирования) можно обнаружить в исследуемом материале нуклеотидные последовательности ДНК хламидий, но не самих возбудителей.

Материал для исследования определяется клиническими проявлениями инфекции. Это могут быть соскобы эпителия цервикального канала шейки матки, уретры, отделяемое глаз новорожденных или больных конъюнктивитом, сок простаты и др.

Основным недостатком методов иммуноиндикации и генной диагностики, наиболее широко используемых для диагностики хламидийной инфекции, являются ложноположительные результаты из-за невозможности отличить возбудителя от нежизнеспособных хламидий.

Лечение урогенитального хламидиоза основано на назначении антибиотиков широкого спектра действия. Критериями излеченности урогенитального хламидиоза являются отсутствие клинических симптомов заболевания и отрицательные результаты лабораторного обследования. При этом до и после лечения лабораторное обследование целесообразно проводить в одной и той же лаборатории, используя одни и те же диагностические тесты (с учетом метода диагностики). Культуральное исследование, проведенное ранее 10–14 дней, может дать ложноотрицательный результат в связи с небольшим количеством хламидий в исследуемом образце. Прямой иммунофлюоресцентный тест, выполненный ранее 3–4 недель, может дать ложноположительный результат из-за возможного сохранения нежизнеспособных микроорганизмов. Обнаружение хламидий в указанные сроки контроля требует назначения повторного курса антихламидийной химиотерапии препаратами из других групп.

Специфическая профилактика данного заболевания не разработана. Для предупреждения этого заболевания существуют лишь неспецифические методы профилактики.

2. Мочеполовой микоплазмоз и уреоплазмоз

Возбудители – вид *Mycoplasma hominis* и вид *Ureaplasma urealyticum* родам *Mycoplasma* и *Ureaplasma* семейства *Mycoplasmataceae*.

Для **микробиологической диагностики** микоплазменной инфекции применяются:

1) *бактериологическое исследование* – наиболее значимый («золотой стандарт») метод лабораторной диагностики мочеполового микоплазмоза и уреоплазмоза. Материалом для исследования у женщин являются мазки или соскобы из уретры, со стенок влагалища, цервикального канала, больших вестибулярных желез; у мужчин – отделяемое уретры, первая порция мочи, секрет предстательной железы. У новорожденных, инфицированных при рождении, материал для исследования соответствует нозологической форме неонатальной инфекции (такой как менингиты, респираторные инфекции, септицемия и т. д.). Посев проводится на специальные питательные среды с добавлением холестерина и большого количества факторов (для компенсации их низкой синтетической активности). При оценке результатов учитывается свойство микоплазм вызывать патологический процесс только тогда, когда они начинают размножаться в больших количествах, поэтому требуется не только идентификация, но и титрование возбудителя;

2) *серодиагностика* (РСК, РПГА, ИФА) – используется при массовых обследованиях групп риска, а также для подтверждения клинического диагноза;

3) *иммуноиндикация* – проводится с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), реакции иммунофлюоресценции (РИФ) и др. В патологическом материале и крови обнаруживают антигены микоплазм и уреоплазм;

4) *молекулярно-генетические методы* – позволяют обнаруживать нуклеотидные последовательности ДНК микоплазм и уреоплазм в соскобах из уретры, со стенок влагалища, цервикального канала и другом патологическом материале.

3. Трихомониаз

Возбудитель заболевания – *Trichomonas vaginalis* (влагалищная трихомонада).

Возбудитель относится к классу жгутиковых, типу простейших, является одноклеточным, достаточно сложно организованным паразитом.

Его тело состоит из оболочки, протопласта, блефаропласта, аксостилия, фибрилл, четырех жгутиков, расположенных на переднем конце клетки, причем один жгутик соединен с клеткой ундулирующей мембраной. Имеет грушевидную форму, длину 8–45 мкм, толщину 2–14 мкм. В расширенной передней части трихомонад располагается удлиненное ядро с ядрышком и глыбками хроматина. В цитоплазме находятся пищеварительные вакуоли. Тело трихомонад, включая жгутики, покрыто трехслойной мембраной, сформированной из перипласта. Размножаются трихомонады путем продольного деления.

В естественных условиях возбудитель трихомониаза обитает только в мочеполовом тракте человека (влагалище у женщин, предстательной железе и семенных пузырьках – у мужчин).

Вне организма трихомонады быстро теряют жизнеспособность. Их культивируют в анаэробных условиях на специальных средах и в развивающихся куриных эмбрионах. На жидких питательных средах влагалищные трихомонады возникают в виде плотного беловатого осадка.

Трихомоноз является антропонозной инфекционной болезнью, передающейся преимущественно половым путем, редко через предметы личной гигиены. Источником инфекции и резервуаром возбудителя являются больные люди и носители трихомонад.

У мужчин трихомоноз протекает в виде уретритов в острой, подострой и хронической формах.

В процессе развития инфекционного заболевания у женщин из микрофлоры влагалища исчезают молочнокислые бактерии, но сохраняются, а впоследствии и размножаются стафилококки, стрептококки, *E. coli*, некоторые анаэробы, влагалищные вибрионы, спирохеты, и др. У больных со смешанной инфекцией внутри фагосом трихомонад обнаруживаются гонококки, окруженные мембранами, в результате чего патологический процесс протекает гораздо тяжелее.

В мочеполовых органах трихомонады вызывают развитие воспаления. Выделяемая ими гиалуронидаза разрушает ткани, что способствует проникновению в межклеточные пространства как самих возбудителей, так и токсических продуктов их обмена, а также сопутствующей бактериальной флоры.

При трихомониазе нередко бессимптомное носительство.

Для лечения применяют метронидазол, тинидазол, осарсол, аминарсон, фуразолидон и др.

Профилактика является такой же, как и при венерических заболеваниях.

Для **микробиологической диагностики** трихомониаза применяют:

1) *микроскопический метод исследования* – является основным методом диагностики трихомониаза. При микроскопии нативных неокрашенных препаратов из отделяемого или соскобов из различных отделов мочеполовых путей влагалищные трихомонады видны как клетки грушевидной или овальной формы, размерами чуть больше лейкоцитов, с характерными толчкообразными движениями. При фазово-контрастной микроскопии хорошо видны их жгутики. В препаратах, окрашенных метиленовым синим или по методу Грамма, трихомонады имеют овальную, округлую или грушевидную форму с хорошо выраженными контурами, компактным ядром и нежной ячеистой цитоплазмой.

Использование в диагностике трихомониаза люминесцентной микроскопии основывается на аутолюминесценции трихомонад в ультрафиолетовых лучах. При незначительной соб-

ственной люминесценции материала можно использовать предварительную обработку материала люминофорами (акридиновым оранжевым);

2) *культуральные методы*. Исследуемыми материалами являются отделяемое влагалища, уретры, секрет простаты или сперма, засеваемые на специальные питательные среды. Впоследствии материалом заражают клетки культуры ткани или развивающиеся куриные эмбрионы. Посевы культивируют в анаэробных или микроаэрофильных условиях;

3) *методы серодиагностики* широкого применения не нашли, так как диагностическая ценность обнаружения антител к трихомонадам в сыворотке крови и секретах невелика;

4) *методы иммуноиндикации* – выявление растворимых антигенов трихомонад с помощью латексных или эритроцитарных антительных диагностикумов.

4. Генитальный герпес

Возбудителем этого заболевания является ДНК-содержащий вирус Herpes simplex, второго серовара (ВГ₁Г₂), семейства Herpesviridae, подсемейства α -герпесвирусов.

Основным клиническим проявлением являются герпетические высыпания в виде пузырьков или мелких изъязвлений на слизистых оболочках половых органов. Первичный эпизод генитальных поражений отличается более тяжелым и продолжительным характером, наиболее клинически выражен, может сопровождаться лихорадкой и паховым лимфаденитом.

Отличительной особенностью генитального герпеса является рецидивирующее течение, при рецидивах общие проявления наблюдаются редко.

Для **микробиологической диагностики** этой герпетической инфекции используются:

1) *вирусологическое исследование* – в основном при бессимптомном и хроническом рецидивирующем течении инфекции. Материал для исследования забирают из очагов поражения и после соответствующей обработки заражают им развивающиеся куриные эмбрионы или культуру тканей. О размножении вируса судят по образованию «бляшек» на хорионалантоисной оболочке эмбрионов или по цитопатическому действию вируса в культуре ткани. Идентифицируют вирус в реакции вируснейтрализации с соответствующими иммунными сыворотками;

2) *цитоморфологические исследования*. Материалом для исследования являются мазки отпечатки из очагов поражения, окрашенные по методу Романовского-Гимза. В клетках наблюдается типичный для вируса герпеса метаморфоз клеток и ядер – размер клеток увеличивается, в них обнаруживаются ядерные базофильные включения. Электронно-микроскопическое исследование позволяет обнаружить характерные по морфологии вирионы вируса герпеса;

3) *серодиагностика*, методы иммуноиндикации и молекулярно-генетические методы (ПЦР). В РПГА, ИФА, РСК, реакции вируснейтрализации (РВН) обнаруживают антитела к вирусу герпеса 2-го типа или его антигены.

Ценность этих методов, в том числе ПЦР, относительна, так как более 90 % взрослого населения инфицированы вирусом герпеса.

5. Остроконечные кондиломы (папиллома)

Возбудитель этого заболевания – ДНК-содержащий вирус – папилломавирус человека, относящийся к семейству паповавирусы, пока еще изучен мало.

Установлено, что некоторые серотипы вируса – 6 и 11 – вызывают доброкачественные разрастания ткани – бородавки, хотя возможно их злокачественное перерождение. Другие серотипы – 5, 8, 31, 33, 35, 38 – вызывают образование злокачественных опухолей гениталий – генитальную дисплазию, рак, а персистирующие вирусы серотипов 16, 18 часто обнаруживаются при раке шейки матки.

Эти вирусы не культивируются в лабораторных условиях, поэтому основные методы микробиологической диагностики – обнаружение вирусов в опухолевых клетках с помощью молекулярно-генетических методов – ПЦР и ДНК-зондирования.

Этиотропной терапии этого заболевания не разработано, поэтому лечение направлено на торможение и удаление тканевых разрастаний (применяются криотерапия, обработка 80–90 %-ной трихлоруксусной кислотой, подофиллотоксином (ТМ-кондилином)).

6. Контагиозный моллюск

Возбудитель этого заболевания – ДНК-содержащий вирус *Molluscovirus hominis*, относящийся к семейству поксвирусов (*Poxviridae*).

Основные клинические признаки: появление на коже телесного цвета, белых, полупрозрачных, желтых или красных узелков, располагающихся в низу живота, на лобке, внутренних поверхностях бедер, гениталиях. Поверхность их гладкая, в центре имеется углубление, из которого при надавливании выделяется масса беловатого цвета, состоящая из эпидермальных ороговевших клеток, жира и так называемых моллюсковых телец.

Возможно слияние элементов с образованием гигантских моллюсков размером 2–3 см.

Для **микробиологической диагностики** этого заболевания используются микроскопия окрашенных по методу Романовского-Гимза мазков из содержимого узелков, в которых обнаруживаются внутриклеточные базофильные включения, называемые «тельца моллюсков» или «тельца Гендерсона-Патерсона», и метод непрямой иммунофлюоресценции, позволяющий обнаружить антитела в сыворотке.

Тема 41. Вирусные зоонозные инфекции

1. Вирус бешенства

Относится к семейству Rhabdoviridae, роду Lyssavirus.

Рабдовирусы отличаются пулевидной формой, наличием оболочки, спиральной симметрией; геном образован РНК. Средние размеры вириона – 180×75 нм; один конец закруглен, другой плоский; поверхность выпуклая с шарообразными структурами. Сердцевина вириона симметрично закручена внутри оболочки по продольной оси частицы.

Вирусная оболочка состоит из двойного липидного слоя, включающего в себя внешние поверхностные гликопротеиновые структуры. Мембрану образуют поверхностный гликопротеин (G) и два негликозилированных белка (M₁ и M₂). Нуклеокапсид дополняют многочисленные копии протеина сердцевин (NP) и несколько копий вирусной транскриптазы; последнюю образуют большой (L) и малый (NS) протеины.

Репликативный цикл реализуется в цитоплазме клетки. Выход вирионов из клетки осуществляется путем почкования.

Антигенная структура:

- 1) нуклеопротеид – группоспецифический антигеном;
- 2) гликопротеид внешней оболочки – типоспецифический антиген, ответственный за инфекционную и гемагглютинирующую активность вируса.

Бешенство – острая инфекция ЦНС, сопровождающаяся дегенерацией нейронов головного и спинного мозга. Летальность для человека при отсутствии своевременного лечения составляет 100 %.

Вирус проникает в организм человека через повреждения кожных покровов, как правило, при укусах больных животных. Репликация вируса осуществляется в мышечной и соединительной тканях, где он персистирует в течение недель или месяцев. Вирус мигрирует по аксонам периферических нервов в базальные ганглии и ЦНС, где размножается в клетках, в результате чего появляются цитоплазматические тельца Бабеша-Негри, содержащие вирусные нуклеокапсиды. Далее вирус мигрирует обратно по центробежным нейронам в различные ткани (включая слюнные железы).

Время продвижения вируса по нервным стволам соответствует инкубационному периоду заболевания. Его длительность может быть различной: минимальной (10–14 дней) при укусе в голову и лицо и более продолжительной (месяц и более) при укусах в конечности.

Резервуаром вируса в природе являются различные теплокровные животные. Человек является тупиковым звеном в циркуляции вируса, передача возбудителя от человека к человеку не наблюдается.

Диагностика:

- 1) внутримозговое заражение лабораторных мышей;
- 2) культивирование в культуре клеток почек хомяков.

Лечение:

- 1) антибиотики широкого спектра действия;
- 2) специфический антирабический иммуноглобулин;
- 3) лошадиная антирабическая сыворотка;
- 4) антирабическая вакцина.

Специфическая профилактика: антирабическая вакцина.

2. Флавивирусы

Семейство включает в себя около 50 вирусов.

Это сферические оболочечные вирусы с икосаэдральным нуклеокапсидом, заключенным в липидную оболочку. Средняя величина – 37–50 нм.

Геном образует однонитевая молекула +РНК. РНК сохраняет инфекционность после выделения ее из вириона. При репликации образуется однородная мРНК. Полный геном флавивирусов транслируется в единственный полипротеин, впоследствии нарезаемый протеолитическими ферментами. После созревания дочерние популяции отпочковываются от клеточной или внутриклеточных мембран, служащих местом сборки.

Антигенная структура:

1) структурные белки (V); ответственны за гемагглютинацию, видовую специфичность и групповые антигенные связи;

2) неструктурный растворимый антиген.

Флавивирусы культивируют в куриных эмбрионах и культурах тканей.

Первичная репродукция вируса происходит в макрофагах и гистиоцитах, далее – в регионарных лимфоузлах. Затем вирусы попадают в кровь, заносятся во внутренние органы, нервные клетки головного мозга, где происходит их репродукция.

После заболевания остается гуморальный типоспецифический иммунитет.

Семейство флавивирусов включает в себя различных представителей, вызывающих соответствующие заболевания:

1) вирус желтой лихорадки. Резервуар инфекции – обезьяны, переносчик – комары. Встречается в странах Южной Африки. Вирус проникает в кровоток, а затем в регионарные лимфатические узлы, где и размножается. Дочерние популяции вторично проникают в кровь и гематогенно диссеминируют в печень, селезенку, костный мозг и другие органы. Инфицирование клеток приводит к развитию воспалительных и некротических поражений;

2) вирус лихорадки Денге. Резервуаром инфекции являются больные люди и обезьяны, переносчиком – комары. С укусом переносчика вирус проникает в кровоток, реплицируется в регионарных лимфатических узлах и эндотелии капилляров, затем дочерние популяции вторично проникают в кровь, что сопровождается явлениями капилляротоксикоза;

3) вирус японского энцефалита. Резервуар возбудителя – дикие птицы, грызуны, крупный рогатый скот, лошади и свиньи; человек – тупиковый хозяин (при эпидемиях возможна трансмиссивная передача от человека человеку). Переносчики – комары рода Кулекс. После укуса вирус проникает в кровоток, а оттуда – в ЦНС, лимфоциты и паренхиматозные органы. Выход дочерних популяций сопровождается гибелью клеток;

4) вирус клещевого энцефалита. Резервуар и переносчик вируса – иксодовые клещи. Дополнительный резервуар – различные животные и птицы. После укусов человека инфицированными клещами возбудитель распространяется гематогенным и лимфогенным путями, проникая в ЦНС. Вирус поражает двигательные нейроны передних рогов шейного отдела спинного мозга, мозжечок и мягкую оболочку головного мозга.

Лабораторная диагностика:

1) выделение вируса заражением мышат-сосунков последующей идентификации в РТГА и РСК с наборами иммунных сывороток;

2) окончательная идентификация в реакции нейтрализации.

Лечение: средства этиотропной терапии отсутствуют.

Для **специфической профилактики** клещевого энцефалита применяют инактивированную вакцину. При укусе клеща вводят специфический иммуноглобулин.

Тема 42. Возбудители вирусных гепатитов

1. Вирус гепатита А

Вирус гепатита А относится к семейству пикорнавирусов, роду энтеровирусов.

Вирус гепатита А по морфологии сходен с другими представителями рода энтеровирусов. Геном образует однонитевая молекула +РНК; он содержит три основных белка. Не имеет суперкапсидной оболочки.

Антигенная структура: имеет один вирусспецифический антиген белковой природы.

Вирус обладает пониженной способностью к репродукции в культурах клеток. Репродукция вируса не сопровождается цитопатическим действием.

Вирус устойчив к действию физических и химических факторов.

Основной механизм передачи вируса гепатита А – фекально-оральный. Больной выделяет возбудитель в течение 2–3-й недель до начала желтушной стадии и 8–10 суток после ее окончания. Вирус патогенен только для человека.

Вирус гепатита А попадает в организм человека с водой или пищей, репродуцируется в эпителии слизистой оболочки тонкой кишки и регионарных лимфоидных тканях. Затем возбудитель попадает в кровотоки с развитием кратковременной вирусемии. Максимальные титры вируса в крови выявляют в конце инкубационного и в преджелтушном периодах. В это время возбудитель выделяется с фекалиями. Основная мишень для цитопатогенного действия – гепатоциты. Репродукция вируса в их цитоплазме приводит к нарушению внутриклеточных метаболических процессов и гибели клеток. Цитопатический эффект усиливают иммунные механизмы, в частности НК-клетки, синтез которого индуцируется вирусом.

Поражение гепатоцитов сопровождается развитием желтухи и повышением уровня трансаминаз. Далее возбудитель с желчью попадает в просвет кишечника и выделяется с фекалиями, в которых отмечается высокая концентрация вируса.

Вирус гепатита А вызывает развитие острого высококонтагиозного заболевания, которое может протекать субклинически или давать типичные клинические формы.

После перенесения клинически выраженной или бессимптомной инфекции формируется пожизненный гуморальный иммунитет.

Лабораторная диагностика:

- 1) определение содержания желчных пигментов и аминотрансфераз в сыворотке;
- 2) культивирование на лейкоцитарных или органных культурах;
- 3) ИФА и метод твердофазного РИА – для выявления антител (IgM), которые появляются в сыворотке крови уже в конце инкубационного периода и сохраняются в течение 2–3-х месяцев после выздоровления. С середины желтушного периода вырабатываются IgG, которые сохраняются пожизненно;
- 4) молекулярно-генетические методы – обнаружение РНК-вируса в ПЦР.

Лечение: средства специфической противовирусной терапии отсутствуют, лечение симптоматическое.

Специфическая профилактика: убитая вакцина на основе штамма CR₃₂₆.

2. Вирус гепатита В

Относится к семейству *Hepadnaviridae*. Это икосаэдральные, оболочечные ДНК-содержащие вирусы, вызывающие гепатиты у различных животных и человека. Геном образует неполная (с разрывом одной цепи) кольцевая двунитевая молекула ДНК. В состав нуклеокапсида входят праймерный белок и ДНК полимеразы, ассоциированная с ДНК. Для эффективной репликации необходим синтез вирусиндуцированной обратной транскриптазы, так как вирусная ДНК образуется на матрице РНК; в динамике процесса вирусная ДНК интегрирует в ДНК клетки.

Синтез ДНК и сборка вируса осуществляются в цитоплазме инфицированной клетки. Зрелые популяции выделяются отпочковыванием от клеточной мембраны.

Антигенная структура:

1) HBsAg (включает в себя два полипептидных фрагмента):

а) полипептид $preS_1$ обладает выраженными иммуногенными свойствами; полученный методом генной инженерии полипептид может использоваться для приготовления вакцинных препаратов;

б) полипептид $preS_2$ (полиглобулиновый рецептор, обуславливающий адсорбцию на гепатоцитах; способен взаимодействовать с сывороточным альбумином, в результате чего последний превращается в полиальбумин);

2) HBeAg (является нуклеопротеином, представлен единственным антигенным типом; его обнаруживают только в сердцевине вируса);

3) HBeAg (отщепляется от HBeAg вследствие прохождения его через мембрану гепатоцитов).

Заражение происходит при инъекциях инфицированной крови или препаратов крови; через загрязненные медицинские инструменты, половым путем и интранатально, возможно внутриутробное инфицирование.

Место первичной репликации вируса неизвестно; размножение в гепатоцитах наблюдают только через две недели после инфицирования. При этом репликативный цикл не сопровождается гибелью гепатоцитов. Во второй половине инкубационного периода вирус выделяют из крови, спермы, мочи, фекалий и секрета носоглотки. Патологический процесс начинается после распознавания вирусиндуцированных антигенов на мембранах гепатоцитов иммунокомпетентными клетками, т. е. он обусловлен иммунными механизмами.

Клинические проявления варьируются от бессимптомной и безжелтушной форм до тяжелой дегенерации печени. Течение гепатита В более тяжелое, с постепенным началом, длительным инфекционным циклом, более высоким уровнем летальности, чем при гепатите А. Возможна хронизация процесса.

Лабораторная диагностика:

1) выявление вирусных антигенов иммунофлюоресцентным методом; материал – фекалии, кровь и биопсийный материал печени;

2) серологические исследования включают в себя определение антигенов и антител с помощью реагентов – HBsAg, HBeAg; антигенов к HBsAg, HBeAg, HBeAg и IgM к HBeAg;

3) определение ДНК-полимеразы.

Лечение: средства специфической лекарственной терапии отсутствуют, лечение в основном симптоматическое.

Специфическая профилактика:

1) пассивная иммунизация – вводят специфический иммуноглобулин (HBIG);

2) активная иммунизация (рекомбинантные вакцины, полученные методом генной инженерии).

Иммунизация показана всем группам риска, включая новорожденных.

3. Другие возбудители вирусных гепатитов

Вирус гепатита С – РНК-содержащий вирус. Таксономическое положение его в настоящее время точно не определено; он близок к семейству флавивирусов.

Представляет собой сферическую частицу, состоящую из нуклеокапсида, окруженного белково-липидной оболочкой. Размер вириона – 80 нм. РНК имеет зоны, кодирующие синтез структурных и неструктурных белков вируса. Синтез структурных белков кодируют С и Е зоны РНК, а синтез неструктурных белков вируса кодируют NS-1, NS-2, NS-3, NS-4 и NS-5 зоны РНК.

Вирус гепатита С характеризуется антигенной изменчивостью, имеются семь основных вариантов вируса.

Источником инфекции являются больные острым и хроническим гепатитом С и вирусоносители. Вирус передается парентеральным путем, половым путем и от матери плоду (при перинатальном и постнатальном инфицировании).

Характерны преобладание безжелтушных форм и частый переход в хроническую форму заболевания. Вирус является одним из факторов развития первичной гепатоцеллюлярной карциномы.

Лабораторная диагностика:

- 1) определение РНК-вируса с помощью ПЦР;
- 2) определение антител к вирусу в ИФА.

Вирус гепатита D не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов животных. Это сферическая частица со средним диаметром 36 нм. Геном представлен однонитевой, циклической молекулой РНК, которая образует палочковидную неразветвленную структуру. В РНК закодирован вирусспецифический полипептид – HDAg (собственный антиген нуклеокапсида). Наружная оболочка образует поверхностный антиген.

Репликация РНК вируса гепатита D происходит в ядре зараженного гепатоцита.

Источники инфекции – больной человек и вирусоноситель. Путь передачи парентеральный. Вирус гепатита D не может участвовать в развитии гепатитной инфекции без одновременной репликации вируса гепатита В. Этот факт определяет две возможные формы их взаимодействия:

- 1) одновременного инфицирования вирусным гепатитом В и D (конверсии);
- 2) инфицирования носителя вируса гепатита D вирусом гепатита В (суперинфекции).

При суперинфекции происходит быстрое поражение паренхимы печени с массивным некрозом.

Диагностика: обнаружение антител к вирусу в ИФА.

Вирус гепатита E относится к семейству Калициновирусов. Это РНК-овый вирус сферической формы, размером 20–30 нм. Пути передачи – водный, пищевой, возможен контактный. Источник инфекции – больной острой или хронической формой. По клинической картине близок к гепатиту А.

Диагностика: обнаружение антител в ИФА.

Тема 43. Патогенные простейшие

1. Плазмодии малярии

Относятся к роду *Plasmodium*. Паразитами человека являются четыре вида: *P. vivax* – возбудитель трехдневной малярии, *P. malariae* – возбудитель четырехдневной малярии, *P. falciparum* – возбудитель тропической малярии, *P. ovale* – возбудитель малярии-овале.

Морфология и физиология.

Различают две фазы развития малярийных плазмодиев.

1. Фаза полового размножения. Происходит в организме окончательного хозяина – комара рода *Anopheles*. Завершается образованием большого количества спорозоитов – длинных тонких одноядерных клеток, которые концентрируются в слюнных железах. При укусе комара спорозоиты попадают в кровь позвоночного хозяина.

2. Фаза бесполого размножения – шизогония. Осуществляется в организме промежуточного хозяина – человека. Протекает в две стадии:

а) экзоэритроцитарной шизогонии. Спорозоиты с током крови заносятся в печень, инвазируют ее клетки, в которых трансформируются в тканевые трофозоиты, а затем в тканевые шизонты. В результате деления тканевых шизонтов образуются тканевые мерозоиты, которые выходят в кровь;

б) эритроцитарной шизогонии. Мерозоиты внедряются в эритроциты. После разрушения эритроцитов мерозоиты выходят в кровяное русло. Часть паразитов подвергается фагоцитозу, другая – заражает новые эритроциты, и цикл повторяется.

Патогенез заболевания: выход в кровь эритроцитарных мерозоитов, малярийного пигмента, продуктов метаболизма паразитов и структурных компонентов эритроцитов приводит к развитию лихорадочной реакции. Она характеризуется цикличностью, соответствующей цикличности эритроцитарной шизогонии.

Чужеродные белки плазмодиев вызывают анафилактическую реакцию. При этом происходят:

- 1) повышение проницаемости капилляров;
- 2) гиперплазия ретикулоэндотелиальных элементов селезенки;
- 3) угнетение гемопоэза;
- 4) появление аллергических симптомов (бронхита, бронхиальной астмы).

В крови накапливаются Ig M и Ig G.

Характерна смена антигенов плазмодиев в процессе инфекции.

Отмечена низкая восприимчивость к тропической малярии у лиц с аномальным S-гемоглобином, поскольку эритроциты, содержащие такой гемоглобин, непригодны для развития этого паразита.

Для малярии свойственна сезонность. Распространенность связана с наличием специфических переносчиков – комаров рода *Anopheles*.

Диагностика:

- 1) микроскопия мазков крови больного, окрашенных методом Романовского-Гимза;
- 2) серодиагностика – реакции иммунофлюоресценции, пассивной гемагглютинации, иммуноферментный анализ.

Этиотропная терапия: шизоцидным действием обладают хлорохин, амодиахин; гамонтоцидным действием – пириметамин, прогуанил, хиноцид, пиримахин.

2. Токсоплазмы

Возбудителем токсоплазмоза является единственный вид – *Toxoplasma gondii*.

Морфология и физиология.

Размножение со сменой хозяев. Основной хозяин – кошка (в ее кишечнике образуются ооцисты), промежуточные хозяева – птицы, млекопитающие, человек. Путь заражения – алиментарный (при употреблении термически плохо обработанного мяса зараженных животных).

Стадии жизненного цикла.

I – эндозоиты (трофозоиты) и цистозоиты – вне- и внутриклеточные стадии, во время которых паразит находится в разных органах и тканях промежуточных хозяев (включая человека) и размножается бесполом путем;

II – мерозоиты – внутри- и внеклеточные формы, паразитирующие в эпителиальных клетках кишечника основного хозяина – кошки; размножаются посредством шизогонии;

III – микро- и макрогаметы – половые стадии развития, образующиеся в основном в хозяине-кошке; при слиянии мужских и женских гамет (соответственно микро- и макрогамет) возникает зигота, которая затем превращается в покоящуюся стадию – ооцисту; ооцисты выводятся во внешнюю среду с фекалиями кошки;

IV – спорозоиты – инвазивная стадия, образующаяся в результате спорогонии внутри ооцисты вне организма основного хозяина.

Эндозоиты – клетки размером 4–7 на 1,5–2 мкм, имеющие форму полумесяца со слабо структурированной цитоплазмой. В задней стенке клетки расположено ядро. Цистозоиты токсоплазм локализуются в цистах, что обеспечивает паразиту возможность длительной персистенции в организме промежуточного хозяина. Цисты располагаются внутриклеточно в головном мозге, поперечно-полосатой мускулатуре и других органах промежуточного хозяина.

Эндооцисты быстро гибнут во внешней среде, сохраняются непродолжительное время в трупах и экскрементах носителей. Цисты более устойчивы.

Патогенез: токсоплазмы обладают цитопатическим действием. Они способны проникать в ядро клетки и паразитировать в нем.

Токсоплазмы поражают клетки соединительной, эпителиальной, нервной и мышечной тканей. Продуцируют токсин, который участвует в формировании микроочагов некроза. При размножении эндозоитов возникает воспалительный процесс.

Различают:

1) врожденный токсоплазмоз (от матери плоду) – поражаются ЦНС, глаза;

2) приобретенный токсоплазмоз – различные клинические формы.

В крови – Ig M и Ig G. Характерно формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Диагностика.

1) серологические методы: РСК, РПГА, непрямой флюоресценции, иммуноферментного анализа;

2) выделение на лабораторных животных.

Лечение: шизоцидным действием обладают хлорохин, амодиахин, гамонтоцидным – пириметамин, прогуанил, хиноцид, примахин.

3. Лямблии

Относятся к роду *Lamblia*, включающему в себя более 100 видов. Специфичным паразитом человека является вид *L. intestinalis*, обитающий в верхних отделах тонкого кишечника.

Морфология и физиология. Длина паразита – 15 мкм, ширина – 7–8 мкм. Форма клетки грушевидная, заостренная к заднему концу. В передней части имеется присасывательный диск, при помощи которого лямблии плотно прикрепляются к эпителиальным клеткам тонкой кишки.

В нижних отделах кишечника вегетативные стадии лямблии могут переходить в стадию цисты.

Лямблии культивируются на питательных средах, содержащих экстракты дрожжеподобных грибов.

Патогенез. Умеренная инвазия тонкого кишечника обычно не вызывает болезненных ощущений. Более выраженное заражение этими паразитами может приводить к тяжелым кишечным расстройствам. Проникая через желчный проток из двенадцатиперстной кишки в желчный пузырь, лямблии могут явиться причиной хронического холецистита. Патологические явления обычно проявляются при массивном заражении лямблиями лиц с ослабленной сопротивляемостью организма. У детей они наблюдаются чаще, чем у взрослых.

Диагностика. Микроскопическое исследование нативных и обработанных раствором люголя препаратов, приготовленных из испражнений и дуоденального содержимого.

Лечение: применяют акрихин и аминохинол.

4. Трихомонады

Относятся к роду *Trichomonas* Davane. Для человека патогенны три вида: *T. hominis* – обитает в кишечном тракте, *T. tenax* – паразит полости рта, *T. vaginalis* – паразит урогенитального тракта.

Морфология и физиология. Клетки имеют грушевидную форму, длина – 7–20 мкм. На переднем конце расположены четыре жгутика. Через всю цитоплазму, от области базальных зерен до конца клетки, проходит опорная нить – аксостиль. Ядро сферической формы расположено в передней части клетки. У основания имеется щелевидное углубление, через которое происходит захват пищи посредством фагоцитоза; возможно осмотическое питание. В цитоплазме иногда видны пищевые вакуоли, содержащие бактерии.

Размножение – продольным делением.

Трихомонады подвижны, быстро перемещаются при помощи жгутиков и ундулирующей мембраны. Стадия цисты отсутствует.

Трихомонады хорошо растут на питательных средах в присутствии бактерий, которыми питаются.

Патогенез. *T. vaginalis* вызывает у женщин воспалительный процесс во влагалище, шейке матки, уретре, у мужчин – уретрит, поражение предстательной железы. Нередко наблюдается бессимптомное носительство паразита. Передается половым путем.

T. hominis обитает в толстой кишке. При массивном заражении у ослабленных больных и детей ухудшается течение предшествующих заболеваний толстой кишки.

Патогенность *T. tenax* полностью не доказана.

Во внешней среде паразиты быстро погибают.

Диагностика:

- 1) микроскопическое исследование мазков из влагалища, шейки матки, уретры;
- 2) ИФА.

Лечение: препаратом выбора является метронидазол.

Тема 44. Патогенные грибы

1. Общая характеристика грибов

Микология – это наука о грибах.

Грибы принадлежат к царству *Mycota*. Они имеют черты как растительных, так и животных клеток.

Признаки растительных клеток:

- 1) наличие клеточной стенки;
- 2) неподвижность;
- 3) неограниченный апикальный рост;
- 4) способность к активному синтезу витаминов.

Признаки животных клеток:

- 1) наличие хитина в клеточной стенке;
- 2) структура цитохромов;
- 3) гетеротрофный тип питания;
- 4) способность запасать гликоген и синтезировать мочевины.

По типу дыхания в окружающей среде грибы аэробы, их тканевые формы – факультативные анаэробы.

Грибы – эукариоты. Их клетки содержат оформленное ядро, имеющее ядерную мембрану и ядрышки, характеризующиеся гетерогенностью строения. Набор хромосом может быть как диплоидным, так и гаплоидным.

У грибов различают бесполое и половое размножение. Последнее присуще только высшим грибам.

При бесполом размножении возможны процессы почкования и спорообразования. Дочерние клетки, образующиеся при почковании дрожжей, называют бластоспорами, среди которых различают экзо- и эндоспоры. Экзоспоры (конидии) образуются на терминальных нитевидных отростках гиф-конидиеносцев. Эндоспоры образуются внутри гриба.

У высших многоклеточных грибов различают мужские и женские гифы (F^+ и F^-). Наряду с бесполом размножением для них характерно половое размножение. В этом случае процесс спорообразования идет после слияния мужской и женской гифы.

В лабораторных условиях чистые культуры грибов получают при выделении из исследуемого материала методами механического разобщения и культивирования на искусственных питательных средах. Грибы обладают выраженной сахаролитической активностью, их выращивают на средах, содержащих углеводы: среде Сабуро, сусло-агаре, морковном агаре и др. Видимый рост на твердых питательных средах наблюдается на 3–5-й день. Для роста грибам необходимы соли фосфора и серы.

Грибы биохимически активны. Они образуют целлюлазы, ксиланазы, α -амилазы, β -1,6-глюкан и др. Многие грибы расщепляют пектины, способны разлагать кератин.

Антигены грибов разделяют на две группы: белковые и полисахаридные. Первые – сильные иммуногены и ответственны за развитие гуморального иммунного ответа с образованием иммуноглобулинов классов G и M. Белковые антигены и антитела к ним можно выявить в реакции агглютинации, связывания комплемента.

Вторая группа антигенов обуславливает клеточный иммунный ответ и развитие гиперчувствительности замедленного типа. Сенсбилизация организма грибами и проявления микозов всегда сопровождается состоянием инфекционной аллергии, что позволяет использовать

в диагностике этих заболеваний внутрикожные аллергические пробы с соответствующими аллергенами.

Заболевания грибковой этиологии у человека обозначают термином «микозы». По локализации и распространенности поражений микозы делят на:

- 1) поверхностные, или кератомикозы (поражаются эпидермис кожи и ее дериваты);
- 2) дерматомикозы (поражаются дерма кожи и волосяные луковицы, ногтевые ростковые зоны);
- 3) глубокие микозы (поражаются внутренние органы).

2. Возбудители кератомикозов. Дерматомикозы

Для **кератомикозов** (поверхностных микозов) характерно поражение эпидермиса кожи и ее дериватов (ногтей, волос). Путь заражения контактный. Это сапронозные инфекции.

Наиболее распространенные поверхностные микозы:

- 1) разноцветный лишай (малясерия);
- 2) черный лишай (кладоспориоз);
- 3) белая и черная пьедра.

Возбудителем разноцветного лишая являются грибы рода *Pityrosporum*, вида *P. furfur*. Поражают роговой слой эпидермиса, где обнаруживаются в виде гроздей круглых толстостенных почкующихся клеток и коротких изогнутых гиф. Отмечаются шелушение и пигментация пораженных мест.

Возбудителем черного лишая является гриб рода *Cladosporium*, вида *C. werneckii*. Для него характерны септированный мицелий, обладающий коричневым пигментом, и бесполое размножение почкованием. Поражается роговой слой подошв и ладоней, на которых появляются светло-коричневые или черные пятна.

Возбудитель белой пьедры – плесневый гриб из рода *Trichosporum*, вида *T. cutaneum*. Локализуется в чешуйках эпидермиса в волосистой части головы. При микроскопии обнаруживают ветвящиеся гифы гриба с артросторами. Мицелий несептированный.

Возбудитель черной пьедры – гриб из класса аскомицетов, рода *Piedraia*, вида *P. hortai*. Чаще встречается в странах с тропическим климатом. Характеризуется поражением волос головы. Возбудитель имеет септированный мицелий с асками, содержащими половые споры гриба.

Дерматомикозы характеризуются поражением более глубоких слоев кожи – дермы, волосяных луковиц и ногтевых ростковых зон, а следовательно, волос и ногтей полностью.

Возбудителями дерматомикозов являются грибы из родов:

- 1) *Trichophyton*;
- 2) *Microsporum*;
- 3) *Epidermophyton*.

Наиболее многочисленны из дерматомикозов трихофитии. Возбудитель – грибы рода *Trichophyton*. Имеют септированный мицелий с артро-, хламидоспорами, макро- и микроконидиями, хорошо растут на среде Сабуро.

T. mentagrophytes чаще вызывают онихии, интертригинозную, сквамозную и дисгидротическую формы поражения дермы. На среде Сабуро дают мучнистые колонии, в мазках на терминальных гифах обнаруживают микроконидии.

T. tonsulans является возбудителем стригущего лишая, проявляющегося выпадением волос. Это результат поражения мицелием гриба волосяных луковиц. В препаратах из пораженных волос видны макроконидии гриба.

T. concentricum – возбудитель черепичного микоза, который проявляется появлением на больших поверхностях тела концентрических красных пятен. Имеет окрашенный ветвящийся септированный мицелий. На среде Сабуро образует кожистые колонии с губчатой поверхностью.

T. shonleini – возбудитель фавуса. Заболевание характеризуется рубцово-атрофическими изменениями дермы. Волосы приобретают мышьяный запах, становятся как пакля, а затем выпадают.

Микроспории вызывают грибы рода *Microsporum*, вида *M. audouinii*. Поражают волосяную луковицу. Характерен септированный мицелий с макроконидиями, образуют хламидоспоры. При росте на среде Сабуро образуют колонии желтого цвета.

Грибы рода *Epidermophyton* являются возбудителями эпидермофитии (паховой, интертригинозной, ногтевой и др.). Они обладают септированным мицелием с булавовидными колониями, на среде Сабуро дают зеленовато-желтые колонии с белым наростом.

3. Условно-патогенные грибы

Кандидоз – один из самых распространенных микозов. Возбудитель – различные виды грибов рода Кандида. Они входят в состав нормальной микрофлоры организма человека. Род включает в себя 81 вид. Наиболее часто заболевание вызывает *C. albicans*. Обычно возникает как вторичная эндогенная инфекция.

Различают поверхностные и глубокие кандидозы.

К поверхностным относят:

- 1) молочницу;
- 2) онихии, паранихии;
- 3) вульвовагиниты;
- 4) интертригинозный и контактный дерматиты.

Глубокие (висцеральные) кандидозы характеризуются поражением самых разнообразных внутренних органов: легких, печени, почек, сердца. Висцеральный кандидоз может присоединяться к бактериальной инфекции и протекать как микст-инфекция. Генерализованная форма кандидоза характеризуется развитием сепсиса.

Грибы рода Кандида – типичные дрожжевые грибы, представляют собой крупные овальные клетки, при росте на питательных средах могут образовывать псевдомицелий. Размножаются почкованием с образованием дочерних клеток-блестоспор. Могут образовывать хламидоспоры. Виды кандид отличаются по культурально-биохимическим свойствам. Вид *C. albicans* на среде Сабуро дает белые гладкие колонии, с ровным краем, сметанообразной консистенции, *C. tropicalis* – серые круглые с зубчатым краем,растающие в среду колонии, *C. krusei* – плоские, не растающие в питательную среду колонии с шероховатой поверхностью.

К факторам вирулентности относят ферменты агрессии (фосфолипазы) и кандидотоксин.

Аспергиллезы – группа заболеваний, вызываемых условно-патогенными грибами рода *Aspergillus*. Для возбудителя характерен септированный мицелий с конидиоспорами. Виды этих родов различают по культуральным свойствам. При росте на среде Сабуро *A. fumigatus* дают зеленые колонии, *A. flavus* – желтые, *A. niger* – от белых до черных, *A. nidulans* – от белых до желто-зеленых.

Аспергиллезы чаще возникают как вторичные инфекции. Нередко входными воротами являются раны, травмы. Возможно заражение воздушно-капельным путем. Наряду с субкутанными возможны и висцеральные поражения (легких). При прорастании мицелия в ткани органа и особенно сосуды могут возникать эмболии.

Наиболее часто возбудителем аспергиллезов легочной локализации является вид *A. fumigatus*. Вид *A. flavus* является продуцентом мощного экзотоксина с энтеротоксическим действием и при алиментарном заражении может вызывать пищевые токсикоинфекции и пищевые токсикозы.

Заболевания человека могут вызывать и другие условно-патогенные грибы родов: *Cladosporium*, *Fonseceaea*, *Trichosporon*, *Fusarium*, *Mucor*.

4. Возбудители глубоких микозов

Возбудители глубоких микозов – диморфные грибы. Способны существовать в двух формах: мицелиарной в окружающей среде и дрожжеподобной в тканях макроорганизма. Тканевые формы не заразны, споры мицелиарных форм высокозаразны.

Наиболее распространенные глубокие микозы:

- 1) гистоплазмоз;
- 2) южноамериканский бластомикоз;
- 3) североамериканский бластомикоз;
- 4) криптококкоз;
- 5) кокцидиоидоз.

Путь заражения воздушно-капельный. Это эндемические заболевания тропических стран, сапронозная инфекция. Характеризуются поражением легких, центральной нервной системы, тяжелым течением.

Возбудитель гистоплазмоза – гриб рода *Histoplasma*, вида *H. incapsulata*. Для него характерен ветвящийся септированный мицелий с микроконидиями. На питательных средах при температуре 22 °С мицелиарные формы растут в виде белых ватообразных колоний. Дрожжевые формы гриба дают колонии кремоватого цвета, спаянные со средой, при температуре 37 °С. Переносчиками гистоплазмоза могут быть птицы, летучие мыши.

Возбудителем криптококкоза является дрожжеподобный гриб из рода *Cryptococcus*, вида *C. neoformans*. По морфологии это крупные овальные клетки с плотной оболочкой. Не образуют псевдомицелия. При росте на среде Сабуро белые колонии дают тягучую консистенцию. Растут при температуре 37 °С. Характерный продукт метаболизма этих грибов – этиловый спирт, который накапливается в пораженных тканях.

Североамериканский бластомикоз вызывается грибами рода *Blastomyces*, вида *B. dermatidis*. Это многоядерные грибы с двухконтурной оболочкой. Дрожжевые формы образуют сливообразные беловато-желтые колонии при температуре 37 °С. Мицелиарные формы размножаются при температуре 22 °С и дают полиморфные колонии, плотно срастающиеся с питательной средой.

Возбудитель южноамериканского бластомикоза – грибы рода *Blastomyces*, вида *B. brasiliensis*. Они имеют двухконтурную оболочку с почками в виде короны. На питательных средах дают белые колонии, которые затем приобретают коричневый цвет.

Возбудитель кокцидиоидоза относится к роду *Coccidioides*, виду *C. immitis*. При росте на питательных средах при температуре 22 °С образует ватообразные колонии с воздушным и субстратным мицелием. Мицелий содержит артро- и хламидоспоры. В тканях организма клетки гриба превращаются в сферулы – клетки округлой формы с толстыми оболочками и эндоспорами.

Хромомикозы вызывают грибы рода *Fonsecea*, вида *F. compacta*, *F. dermatidis* и др. Входными воротами инфекции служит раневая поверхность. В пораженных тканях грибы обнаруживаются в виде темно-коричневых толстостенных округлых клеток, делящихся с образованием перегородок, иногда лежащих гроздевидными скоплениями. В поверхностных слоях гноя – ветвистые гифы коричневого цвета. На среде Сабуро вырастают колонии: для *F. compacta* – зеленые, плотно спаянные с питательной средой, для *F. dermatidis* – зелено-коричневые с перегородками по периферии.

5. Методы диагностики и лечение микозов

В диагностике микозов используют микроскопическое исследование. Материал – соскобы с пораженной кожи, препараты пораженных волос и ногтей.

Грибы выявляются при:

- 1) иммерсионной микроскопии;
- 2) световым микроскопом в мазках, окрашенных по Грамму (как грамположительные);
- 3) темнопольной микроскопии неокрашенных препаратов;
- 4) люминесцентной микроскопии, если грибок обладает спонтанной флюоресценцией в УФ-лучах.

Основным методом является микологическое исследование. Его цель – выявление чистой культуры гриба и ее идентификация. Недостаток – длительность исследования, так как первичный рост грибов происходит на 23–25-е сутки.

Метод ускоренной диагностики – иммуноиндикация.

Реакции с мечеными сыворотками (флюорохромами, ферментами, радиоизотопами), РСК, РПГА, реакция коагутинации со стандартными антителами препаратами позволяют выявлять антигены грибов в исследуемом материале без выделения чистой культуры. Исследуемый материал зависит от клинической формы микоза.

Диагноз, основанный только на результатах иммуноиндикации или только аллергического метода (по результатам внутрикожных аллергических проб) носит ориентировочный характер, так как могут встречаться носительство грибов и бытовая сенсibilизация их антигенами.

Те же реакции иммунитета, но со стандартными антигенами, а также диагностическая реакция агглютинации с диагностикумами из грибов используются как серологическое исследование для выявления антител в сыворотках больного. Диагностическим критерием выявления инфекционных антител является обнаружение нарастания их титра при постановке реакций с разведением парных сывороток больного, взятых в разные сроки болезни.

При обнаружении при микроскопическом исследовании или выделении при микологическом исследовании условно-патогенных грибов в материале важны критерии диагностической значимости. К ним относят:

1) обнаружение и выделение грибов из стерильного в норме материала (крови, ликвора, ушной серы);

2) количественные показатели: при микроскопии – обнаружение клеток возбудителя в каждом поле зрения под большим увеличением микроскопа свидетельствуют об активном размножении гриба и развитии заболевания; при микологическом исследовании – выделение гриба из разведений мокроты, мочи, фекалий 10^{-3} указывает на обсемененность выше нормы и свидетельствует о поражении соответствующего органа;

3) наличие антител в сыворотке больного к выделенному возбудителю.

В этиотропной терапии микозов используют химиотерапевтические препараты, обладающие противогрибковой активностью.

Это препараты нескольких групп:

- 1) нистатин и его аналоги;
- 2) коназолы;
- 3) клотримазолы;
- 4) гризеофульвин и его производные;
- 5) препараты ундециленовой кислоты;
- 6) тербинафин;
- 7) амфотерицин и его производные.

Тема 45. Основные методы и принципы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний

1. Методы микробиологической диагностики и общие требования к патологическому материалу

Основной задачей микробиологической диагностики инфекционных заболеваний является установление их этиологической природы с применением различных методов, которые делят на классические, традиционные культуральные методы, целями которых являются выделение возбудителя и его идентификация; некультуральные методы, с помощью которых можно обнаружить возбудитель или какие-либо его компоненты непосредственно в клиническом материале без выделения чистой культуры.

Методы микробиологической диагностики следующие.

1. *Микроскопический* (бактериоскопический, вирусоскопический) – обнаружение микроорганизмов в мазках из исследуемого материала и их первичная морфологическая идентификация.

2. *Бактериологический* (вирусологический, микологический) – выделение из исследуемого материала чистой культуры и ее идентификация, включая изучение антигенных свойств выделенной чистой культуры (иммуноидентификация).

2.1. Биологический (биопробный) – выделение чистой культуры путем заражения экспериментальных животных:

3. *Иммунологический* (иммунодиагностика) – использование реакций иммунитета:

а) серодиагностика – обнаружение в сыворотке обследуемого антител и нарастания их титра;

б) иммуноиндикация – обнаружение в исследуемом материале антигенов микроорганизмов.

4. *Молекулярно-генетический* – обнаружение в исследуемом материале нуклеотидных последовательностей (фрагментов ДНК, РНК) микроорганизмов.

5. *Аллергический* – выявление состояния инфекционной аллергии (инфицированности).

Для реализации каждого из этих методов в лаборатории необходимо иметь соответствующее оборудование и расходные материалы.

Результат микробиологической диагностики в значительной степени зависит от правильности выбора, забора и транспортировки патологического материала. Для этого необходимо соблюдать общие требования.

1. Выбор исследуемого материала определяется клиническими особенностями заболевания. Материалом могут быть субстраты или биологические жидкости, в которых на данной стадии болезни наиболее вероятно присутствие возбудителей.

2. Материал должен быть взят по возможности непосредственно из очага поражения.

3. Материал забирают в достаточном количестве, обеспечивающем необходимый объем исследования.

4. Материал для микробиологической диагностики берут по возможности до начала лечения противомикробными препаратами.

5. Материал забирают, используя только стерильные инструменты, и помещают в стерильную же посуду, с соблюдением правил асептики, с целью предупреждения загрязнения посторонней микрофлорой.

6. Собранный материал доставляют в лабораторию и исследуют в максимально сжатые сроки. По необходимости сохраняют в максимально обеспечивающих жизнеспособность возбудителей условиях. Для этой цели, если хранение и транспортировка длится более 24 ч, или в тех случаях, когда микроорганизмы не стабильны вне организма, для сохранения их жизнеспособности используют поддерживающие (транспортные) среды. Оптимальным является первичный посев на месте забора материала.

Микроскопический метод

Микроскопический (бактериоскопический, вирусоскопический, микоскопический) метод исследования является одним из простейших и доступных некультуральных методов микробиологической диагностики.

Обнаружение типичных по морфологии микроорганизмов при ряде бактериальных, грибковых, протозойных инфекциях имеет большое диагностическое значение.

Обнаружение при первичной микроскопии в нативных неокрашенных препаратах из биологических субстратов, которые в норме стерильны, бактерий или других микроорганизмов порой играет решающую роль при постановке предварительного диагноза, назначении и проведении адекватной терапии, для более корректного лечения заболевания.

Микроскопическое исследование основано на обнаружении микроорганизмов в исследуемом материале при световой или электронной микроскопии. При этом можно получить информацию о форме, величине, расположении микроорганизмов, наличии спор, капсул, включений и др.

Для приготовления препаратов для микроскопии из исследуемого материала готовят нативные и (или) фиксированные мазки.

В диагностике инфекционных заболеваний достаточно широко используются методы дифференциальной окраски по Романовскому-Гимза, специальные методы для окраски капсул (Гинса), спор (Клейна, Ожешко), волютина (Нейссера), кислотоустойчивых бактерий (Циля-Нильсена) и др.

Бактериологическое исследование

Классическое бактериологическое исследование является основным культуральным методом клинической медицинской бактериологии («золотой стандарт») и составляет один из основных видов работы бактериологической лаборатории. Его целями являются выделение из исследуемого материала чистой культуры или культур возбудителя или возбудителей и ее или их идентификация.

Бактериологическое исследование проходит в несколько этапов.

1. *Первичная микроскопия* исследуемого материала (необязательный этап) дает ориентировочное представление о наличии в исследуемом материале микроорганизмов, а также позволяет провести их первичную идентификацию по морфологическим и тинкториальным свойствам.

2. *Первичный посев* для выделения чистой культуры проводится с применением таких методов, как:

- 1) механическое разобщение на поверхности плотной питательной среды;
- 2) использование элективных питательных сред;

3) создание условий, благоприятных для развития только одного вида / рода бактерий (среды обогащения).

После инкубации первичного посева в термостате на твердой питательной среде формируются колонии бактерий, для изучения которых отбирают отдельные изолированные однотипные колонии, обводят их со стороны дна чашки карандашом по стеклу, проставляют порядковый номер, просматривают и описывают, определяя: макроскопически – форму, цвет, величину, прозрачность, высоту, качество поверхности, цвет; микроскопически – характер края, структуру. При наличии достаточно большого числа однотипных изолированных колоний проводится изучение гаксономически важных свойств культуры: наличие спор, капсул, подвижности, оксидазы (тип дыхания).

3. *Накопление чистой культуры* осуществляется на скошенном агаре, особенности роста на котором характеризуют культуральные и морфологические свойства бактерий.

4. *Изучение комплекса биологических свойств* выделенной культуры с целью ее идентификации проводится на основании совокупности морфологических (включая подвижность), тинкториальных, культуральных свойств, типа дыхания.

Для определения рода и вида накопленная чистая культура подвергается биохимической и серологической идентификации.

Биохимическая идентификация проводится путем посева на среды, которые могут содержать углевод или спирт, аминокислоту, полисахарид, белок.

Серологическая идентификация выделенной культуры (изучение ее антигенного строения) проводится в реакции агглютинации по идентификации с помощью соответствующих агглютинирующих сывороток, выбор которых определяется результатами биохимической идентификации.

У выделенной и идентифицированной до вида чистой культуры изучают дополнительные признаки и проводят ее внутривидовую дифференцировку, которая позволяет выявлять эпидемиологические связи между штаммами бактерий одного вида.

Результаты бактериологического исследования в обязательном порядке документируются в виде протокола бактериологического исследования, являющегося отчетным документом. Заключение выдается в виде стандартного ответа: «При бактериологическом исследовании... выделена культура...».

Культуральные методы дают возможность получить культуру возбудителя в чистом виде, а также позволяют оценить истинную роль условно-патогенных бактерий в инфекционном процессе.

Недостатком бактериологического исследования является его недостаточная продолжительность. Минимальный срок – от 36–48 ч для быстро растущих бактерий, а для медленно растущих – от 3–4 дней до недели и даже месяцев.

Даже из заведомо инфицированного материала не всегда удастся выделить возбудителя, что связано с его низкой концентрацией во взятом для посева материале, с трудностями культивирования отдельных групп микроорганизмов, с возможностью перехода бактерий в так называемое некультивируемое состояние, образованием L-форм и др.

Иммунодиагностика

Иммунодиагностика – это использование реакций иммунитета для диагностики инфекционных и неинфекционных болезней.

Реакции иммунитета – это реакции между антигеном и антителом, характеризующиеся специфичностью.

Положительные или отрицательные результаты могут быть зарегистрированы визуально или с помощью приборных методов. Исходя из этого по известному результату и одному из компонентов реакции иммунитета всегда можно определить второй, неизвестный компонент.

Реакции иммунитета, в которых по известному результату и известному антигену определяют природу неизвестных антител, составляют суть метода серологической диагностики.

Иммуноиндикация – метод диагностики, целью которого является обнаружение в исследуемом материале микробных или иных антигенов. Этот тип реакций можно представить в виде следующего равенства: $xAG + AT = \text{результат}$.

Стандартным диагностическим препаратом, т. е. известным компонентом реакций, содержащим антитела, при реализации этого метода являются иммунные (полученные на специализированных производствах путем иммунизации животных соответствующим антигеном) сыворотки (агглютинирующие, преципитирующие и т. п.).

Известные антитела для этой группы реакций могут быть адсорбированы на тех или иных носителях (эритроцитах, частицах латекса, клетках стафилококков), а стандартные диагностические препараты называются, соответственно, эритроцитарными (латексными, коаггулинирующими) антительными диагностикумами.

Для целей иммуноиндикации широко применяются реакции иммунитета с мечеными компонентами (методы иммунолюминесцентного, радиоиммунного, иммуноферментного анализа и ряд других иммунологических методик).

Серодиагностика – метод, целью которого является обнаружение в сыворотке (копро-фильтратах, слюне) обследуемого неизвестных антител. Этот тип реакций можно представить в виде следующего равенства: $AG + xAT = \text{результат}$.

Антитела в сыворотке обследуемого могут иметь различное происхождение.

При инфекционных заболеваниях в связи с размножением возбудителей нарастает антигенное раздражение, в ответ на которое с 5–7-го дня болезни в сыворотке появляются антитела, и их титр нарастает. Эти инфекционные антитела представлены иммуноглобулинами класса М. Анамнестические и поствакцинальные антитела – иммуноглобулины класса G, и их титр не нарастает по мере развития заболевания.

Серологический метод диагностики может быть использован с конца первой, начала второй недели заболевания.

Наращение титра антител устанавливается при исследовании парных сывороток, взятых от одного больного в разные сроки болезни с интервалом 5–7 дней.

Для обнаружения антител в реакцию вводят известный антиген – взвесь убитых микроорганизмов (бактерий, грибов, вирусов, риккетсий) или их компоненты, которые могут быть адсорбированы на тех или иных (эритроциты, частицы латекса) носителях. Такие стандартные антигенные диагностические препараты называются «диагностикумы» (соответственно, бактериальные, грибковые, вирусные, риккетсиозные), или эритроцитарные, латексные.

Реакция иммунитета начинается с взаимодействия антигена с антителом и называется иммунологической фазой реакции, отличающейся специфичностью, скрытостью, прохождением в первые минуты реакции, выделением тепла. В ходе этой фазы образуется комплекс «антиген – антитело», существование которого зависит от природы антигена, характера реакции и ряда других условий.

При прямых осадочных реакциях комплексы «антиген – антитело», образовавшиеся в первой фазе, укрупняются и выпадают в осадок – это вторая, физико-химическая, фаза таких реакций. Она неспецифична, но зато видима. Для ее реализации необходим электролит (физиологический раствор). РН реакции должна быть близкой к нейтральному значению. При увеличении или понижении рН, повышении концентрации электролита и температуры происходит диссоциация образовавшегося комплекса «антиген – антитело».

Для выявления комплексов «антиген – антитело» в многокомпонентные, сложные реакции иммунитета вводят индикаторные системы или их известный компонент (обычно антитела), помеченный различными метками, которые позволяют обнаружить образовавшийся в первой фазе реакции комплекс «антиген – антитело».

Реакции иммунитета характеризуются специфичностью, т. е. способностью антигена (антитела) вступать в реакцию только с соответствующим антителом (антигеном), и чувствительностью, т. е. минимальным количеством антигенов или антител, которое выявляет данная реакция.

Исходя из принципа специфичности результат реакции будет положительным, если антиген и антитело, участвующие в ней, соответствуют друг другу. Иначе результат будет отрицательным.

Реакции иммунитета, лежащие в основе иммунодиагностики, бывают:

- 1) простыми (прямыми, двухкомпонентными, осадочными) – реакции агглютинации и ее модификации (пассивной гемагглютинации, латекс-агглютинации) и преципитации;
- 2) сложными (непрямыми, многокомпонентными) – РСК, ИФА, РИФ, РИА, реакции потребления (нейтрализации) антигенов, антител и др.

Для иммунодиагностики (серодиагностики и иммуноиндикации) используют следующие реакции.

1. *Реакции агглютинации* – склеивание и осаждение корпускулярного антигена (целых бактериальных клеток, эритроцитов, лейкоцитов и т. д.) под действием антител в присутствии электролита.

Модификации постановки реакции агглютинации:

- 1) объемная агглютинация в пробирках (классическая);
- 2) агглютинации на предметном стекле.

Существуют модификации самой реакции агглютинации, характеризующиеся более высокой чувствительностью и легкой регистрацией. К ним относят:

- 1) реакцию непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА / РПГА), в которой один из компонентов (антиген или антитело) адсорбирован на эритроцитах, склеивающихся и выпадающих в осадок при образовании комплекса «антиген-антитело»;
- 2) латекс-агглютинации, где в качестве сорбента используют частицы латекса;
- 3) ко-агглютинации, где в качестве сорбента используют клетки золотистых стафилококков, антиглобулиновый тест (реакция Кумбса).

Реакция агглютинации используется для серодиагностики и иммуноидентификации, а ее модификации (латекс-агглютинация, ко-агглютинация) – для иммуноиндикации.

Реакция агглютинации является единственной из реакций иммунитета, которая используется для серологической идентификации бактерий для изучения антигенных свойств бактерий и применяется как заключительный этап бактериологического исследования, а также для определения видовой принадлежности бактерий или для определения серогрупп и сероваров.

Антиглобулиновый тест (реакция Кумбса) разработан и используется только для выявления неполных антител. При этой реакции при взаимодействии корпускулярного антигена с неполными антителами видимая агглютинация или гемагглютинация произойдет только после добавления антиглобулиновой сыворотки.

2. *Реакция преципитации* – осаждение антигена из раствора под действием антител в присутствии электролита. Реакция преципитации аналогична реакции агглютинации. Основным различием между ними является то, что в реакции агглютинации участвует корпускулярный антиген, а в реакции преципитации – растворимый.

Реакция преципитации чаще всего используется для иммуноиндикации, или для определения токсигенности дифтерийных бактерий, или при определении содержания в сыворотке крови иммуноглобулинов различных классов.

Разновидностью реакции преципитации является реакция флоккуляции – появление опалесценции или хлопьевидной массы при реакции токсин-антитоксин или анатоксин-анти-токсин и применяется для определения активности (титрования) различных токсинов, анатоксинов или анитоксических сывороток.

3. *Реакция иммунного лизиса* – растворение комплекса клеточного антигена и антител под действием комплемента. Это реакции бактериолизиса, иммунного гемолиза. Последняя используется как индикаторная и реакция связывания комплемента.

4. *Реакция связывания комплемента (РСК)* – сложная, многокомпонентная непрямая реакция иммунитета, в состав которой входят две системы:

1) исследуемая – состоит из антигена и антитела (один из них неизвестен), в которую вносится также и комплемент;

2) индикаторная (гемолитическая) – состоит из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к ним, т. е. заведомо подходящую друг другу пару «антиген – антитело», которая в случае воздействия комплемента приводит к образованию гемолизированных эритроцитов.

Если в исследуемой системе антиген и антитело соответствуют друг другу, то они образуют комплекс, и этот комплекс связывает комплемент. Тогда в индикаторной системе изменений не произойдет, и негемолизированные эритроциты просто осядут на дно пробирки.

Если же в исследуемой системе антиген и антитело не соответствуют друг другу, то комплекс «антиген – антитело» не образуется и комплемент остается свободным. Тогда он связывается комплексом «антиген – антитело» индикаторной системы, обуславливая гемолиз эритроцитов.

РСК не имеет ограничений по природе антигенов и широко используется как для серодиагностики бактериальных, вирусных и грибковых инфекций, так и для индикации их антигенов.

5. *Реакция токсиннейтрализации* – используется для определения типа токсина различных возбудителей и титрования анитоксических сывороток.

6. *Реакции с участием помеченных антигенов или антител:*

1) радиоиммунный анализ (РИА) – основан на использовании помеченных антител. Образующийся комплекс «антиген – антитело» содержит радиоактивную метку и легко обнаруживается с радиометров. При этом можно измерить не только наличие радиоактивности, но и ее интенсивность;

2) реакция иммунофлюоресценции – основана на том, что антитела иммунной сыворотки метят флюорохромами:

а) прямая – образовавшийся комплекс «антиген – антитело» обнаруживается по наличию этой светящейся метки при люминесцентной микроскопии;

б) непрямая – свечение комплексу «антиген – антитело» придает помеченная флюорохромом антиглобулиновая сыворотка, вступающая во взаимодействие с антителами иммунной сыворотки;

3) твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) – основана на том, что ее компонент метят ферментом (пероксидаза хрена), который при положительном результате реакции включается в комплекс «антиген – антитело». При добавлении к такому комплексу соответствующего субстрата происходит реакция фермент-субстрат, что легко регистрируется по изменению окраски;

4) иммуноблоттинг – определение антигенов или антител с помощью известных сывороток или антигенов, при котором искомый компонент выделяется с помощью электрофореза в

полиакриламидном геле и переносится на специальную подложку (блот-пятно), а затем выявляется на ней с помощью иммуноферментного анализа;

5) реакции потребления – сложные многокомпонентные реакции антигена (РПАГ):

- а) реакция потребления иммунитета, используется в трех вариантах;
- б) реакция потребления антитела (РПАТ);
- в) реакция потребления комплемента (РПК).

Почти все указанные выше реакции иммунитета – как простые (реакция агглютинации и ее разновидности), так и сложные (РСК и др.) – используют для серодиагностики. При этом диагностические варианты реакций с мечеными компонентами имеют свои особенности – помеченной флюорохромами, радиоизотопом или ферментом будет антиглобулиновая сыворотка (сыворотка, содержащая антитела к γ -глобулинам человека).

Молекулярно-генетические методы диагностики

Целью использования молекулярно-генетических методов диагностики является обнаружение в исследуемом материале нуклеотидных последовательностей (фрагментов ДНК / РНК) микроорганизмов. Для их реализации применяются следующие методы.

1. *Метод ДНК-гибридизации* (ДНК-зондирование) – основан на способности денатурированной одноцепочечной ДНК возбудителя достраивать гомологичную цепь в бесклеточной системе. В качестве материала для этой второй нити используют ДНК-зонды – лабораторно приготовленные фрагменты молекулы ДНК, гомологичные фрагментам ДНК искомого возбудителя и помеченные либо радиоактивным изотопом, либо ферментом.

Для регистрации включения ДНК зонда в ДНК бактерий, содержащихся в исследуемом материале, используется учет радиоактивности или к пробе добавляют субстрат, соответствующий использованному в зонде ферменту. Положительная реакция субстрат-фермент проявляется изменением окраски субстрата, что свидетельствует о соответствии ДНК зонда ДНК возбудителя, находящейся в исследуемом материале.

2. *Полимеразная цепная реакция* (ПЦР) – метод направленной амплификации (воспроизведения) ДНК, позволяющий найти в исследуемом клиническом материале небольшие участки (ДНК) любого организма и многократно размножить их. Для реализации ПЦР используют набор праймеров – фрагментов ДНК, являющихся маркером данного возбудителя. При добавлении такого праймера к пробе исследуемого материала, содержащей денатурированную одноцепочечную ДНК, происходит их соединение с комплементарным участком ДНК.

Образовавшийся двунитевой стартовый участок ДНК воспроизводится (амплифицируется) с помощью фермента полимеразы, входящего в набор для ПЦР.

Вновь синтезированные двунитевые фрагменты ДНК служат матрицей для синтеза новых нитей в следующем цикле амплификации и так далее, что и представляет собой цепную реакцию. В течение 2–3 ч происходит 30–40 циклов амплификации, в результате чего образуется достаточно большое число соответствующих копий ДНК, достаточное для визуального учета.

Преимущества этих методов диагностики состоят в их высокой специфичности и чувствительности. Они позволяют обнаруживать в исследуемом материале единичные клетки возбудителя или нуклеиновую кислоту вирусов.

Недостатком этих методов является гипердиагностика, поскольку при их использовании нельзя определить, принадлежит ли выявленный фрагмент ДНК живому микроорганизму.

Аллергический метод диагностики (аллергические диагностические пробы)

При многих инфекционных заболеваниях развивается состояние повышенной чувствительности к повторному введению возбудителя или продуктов его жизнедеятельности. Такое состояние называется инфекционной аллергией, отличающейся от других видов аллергий тем, что она обусловлена аллергенами микробной природы, а также сохраняется и поддерживается лишь при наличии соответствующих микробных агентов в организме.

Инфекционная аллергия развивается при туберкулезе, бруцеллезе, туляремии, сибирской язве, сапе, сифилисе, токсоплазмозе, микозах.

Для выявления инфекционной аллергии применяют аллергические диагностические пробы. При их постановке строго внутрикожно вводят соответствующий аллерген. При положительной реакции развиваются гиперемия и инфильтрат, что указывает на наличие инфекционной аллергии.

Аллергические диагностические пробы используют для диагностики туберкулеза (реакция Манту), бруцеллеза (проба Бюрне), туляремии (проба с тулярином), сибирской язвы (проба с антраксином), токсоплазмоза (проба с токсоплазмином), мягкого шанкра (реакция Дюкрея), проказы (реакция Мицуды). Последняя позволяет дифференцировать туберкулоидную форму проказы от лепроматозной.

При туберкулезе истинное диагностическое значение при определении природы заболевания имеет только переход от отрицательной кожной пробы к положительной, который происходит в течение болезни. Кроме того, увеличение выраженности ее проявления при повторном исследовании служит основанием для более детального обследования на инфицированность данным возбудителем.

При приеме кортикостероидных гормонов, иммунодепрессантов, саркоидозе, болезни Ходжкина и других опухолях учет результатов постановки аллергических проб затруднен, потому что в этих случаях наблюдается явление, называемое «анергия», т. е. значительное снижение общей кожной реактивности.

При появлении сыпи у детей, когда ребенок переносит корь, ветряную оспу, может также наблюдаться состояние анергии, и при постановке в этот период пробы Манту, например, туберкулиноположительный ребенок может стать временно туберкулиноотрицательным, т. е. врач получает ложноотрицательный результат.

Таким образом, аллергические диагностические пробы выявляют состояние инфекционной аллергии и свидетельствуют об инфицированности человека, в связи с чем они и используются наиболее широко именно в скрининг-обследовании широких слоев населения.

В настоящее время используются следующие аллергические диагностические пробы:

- 1) проба Манту с туберкулином при туберкулезе (положительна – более 10 мм);
- 2) проба Бюрне с бруцеллином – появляется к концу 1-го месяца заболевания;
- 3) проба с антраксином при сибирской язве – появляется с первых дней болезни;
- 4) проба с тулярином при туляремии – появляется с 3–5-го дня после инфицирования;
- 5) положительная реакция Дюкрея при мягком шанкре – появляется с 8-го дня заболевания.

Тема 46. Санитарно-микробиологические исследования

1. Методы санитарно-бактериологических исследований воды

Забор воды открытых водоемов на бактериологическое исследование производят с определенной глубины с помощью батометров.

Забор водопроводной воды осуществляют следующим образом: водопроводный кран обжигают с помощью спиртовки, сливают первые порции воды, а затем наполняют стерильный флакон объемом 500 мл, плотно закрывают и доставляют в бактериологическую лабораторию.

Общее микробное число воды (ОМЧ) воды подсчитывают по результатам прямого высева 1 мл водопроводной воды на мясопептонный агар или по 1 мл из серийных десятикратных разведений при анализе воды открытых водоемов.

Для определения количества санитарно-показательных микроорганизмов в воде используют определенные методы.

1. *Метод мембранных фильтров.* Определенные объемы воды фильтруют через мембранные фильтры, помещенные на дифференциально-диагностическую среду Эндо. После культивирования в течение 18–24 ч при 37 °С подсчитывают количество выросших на фильтре красных (ферментирующих лактозу) колоний.

2. *Бродильный метод.* Определенные объемы воды засевают в полужидкую среду Эйкмана с глюкозой и индикатором. Это позволяет определить «бродильный титр» – наименьший объем воды, содержащий газообразующие бактерии. После этого их идентифицируют и определяют среди них количество кишечных палочек.

Основными критериями при оценке санитарного состояния воды являются:

- 1) общее количество бактерий семейства Enterobacteriaceae (ОКБ);
- 2) количество термотолерантных кишечных бактерий (ТКБ);
- 3) наиболее вероятное число бактерий (ПВЧ), определяемое по таблицам.

2. Исследование почвы

Одним из основных критериев при оценке санитарного состояния почвы является определение количества бактерий группы кишечной палочки (БГКП). Для этого берут 2 навески почвы по 10 г (окончательный пересчет на 1 г сухой почвы). Одна навеска высушивается в сушильном шкафу до тех пор, пока масса не перестанет уменьшаться (до абсолютно сухой пробы почвы). Вторая навеска разводится водой или физиологическим раствором 1:10 и 1:100. По 0,1 мл взвеси засеивается шпателем на висмут-сульфит агар, среду Эндо, Плоскирева. Проводится подсчет выросших колоний каждого вида отдельно, и им дают полную характеристику.

3. Исследование воздуха

Для оценки ОМЧ воздуха и содержания в нем санитарно-показательных микроорганизмов проводят санитарно-бактериологическое исследование воздуха. Посев воздуха можно произвести двумя методами:

1) седиментационным (Коха) – основан на оседании под действием силы тяжести определенного количества бактерий на определенную площадь питательной среды при определенной температуре и за определенное время;

2) аспирационным – основан на использовании специальных аппаратов для принудительной аспирации определенного объема воздуха над поверхностью чашки Петри с питательной средой (МПА), куда и оседают содержащиеся в нем бактерии при аспирации.

При учете роста обоими методами подсчитывают число колоний на чашке, считая, что 1 колония является потомством 1 клетки. Перерасчет на 1 м³ воздуха для определения общего микробного числа проводится по формуле Омелянского: в течение 5 мин на площадь питательной среды 100 см² оседает столько бактерий, сколько содержится в 10 л (0,01 м³) воздуха.

При обнаружении в воздухе санитарно-показательных микроорганизмов (стрептококков и стафилококков) дают их подробную характеристику.

4. Исследование объектов медицинского назначения

Делаются смывы с определенной площади объектов медицинского назначения (инструментов, предметов ухода за больными, жесткого и мягкого инвентаря) или берется определенный объем лекарственных растворов и засеваются путем прямого посева те или иные среды (в том числе и элективные среды для стафилококков, сальмонелл, псевдомонад) с последующим выделением и идентификацией возбудителей.

Степень обсемененности исследуемого объекта определяется путем подсчета общего количества микроорганизмов, выросших на питательной среде из определенного количества исследуемого материала, взятого на посев.

При обнаружении на инструментах, предметах ухода за больными, больничном инвентаре, в лекарственных препаратах стафилококков, стрептококков, грамотрицательных бактерий их идентифицируют до вида, при необходимости проводят и внутривидовую дифференцировку. Результаты анализируют в связи с эпидемиологической ситуацией в данном лечебно-профилактическом учреждении.

Проведение санитарно-микробиологических исследований в лечебно-профилактических учреждениях регламентировано соответствующими инструктивными документами. Их выполнение и результаты подлежат строгому учету и контролю.

5. Объекты санитарно-микробиологических исследований в лечебно-профилактических учреждениях

Воздух

Определяется ОМЧ воздуха тех или иных помещений и наличие в нем санитарно-показательных микроорганизмов (*S. aureus*). Допустимые уровни микробной загрязненности воздуха в ЛПУ регламентируются Приказами МЗ РФ № 215 и № 345.

По эпидемиологическим показаниям производится посев воздуха с целью выделения возбудителей внутрибольничных инфекций. Методы санитарно-микробиологического исследования воздуха, утвержденные нормативными документами Минздрава РФ, – седиментационный (осаждения) и аспирационный (посев определенного объема воздуха с помощью приборов).

Предметы медицинского назначения, лекарственные растворы

Проведение и результаты обследований (методы, периодичность, степень обсемененности) регламентированы нормативными документами Минздрава РФ в зависимости от профиля лечебного учреждения и величины нагрузки. Микробиологический контроль стерильного материала проводится лечебно-профилактическими учреждениями 1 раз в месяц, центрами государственного санитарно-эпидемиологического надзора или дезинфекционными станциями – 1 раз в квартал.

Персонал родильных домов, хирургических стационаров

Обследование на условно-патогенную и патогенную микрофлору осуществляется по эпидемиологическим показаниям.

С санитарно-эпидемиологическим режимом работы лечебно-профилактического учреждения и микробиологической лаборатории тесно связано понятие «стерилизация», которое обеспечивает гибель в стерилизуемых изделиях вегетативных и споровых форм патогенных и непатогенных микроорганизмов.

Стерилизация проводится паровым, воздушным и химическим способами с применением растворов стерилизующих средств и газов. Выбор того или иного метода стерилизации зависит от особенностей стерилизуемого изделия.

Паровой метод стерилизации – водяной насыщенный пар, появляющийся в результате действия парового стерилизатора (автоклав).

Воздушный метод стерилизации – сухой горячий воздух, появляющийся в результате действия воздушного стерилизатора (сушильный шкаф).

В бактериологической лаборатории стерилизации подлежат питательные среды, используемые растворы, посуда, инструменты и иной рабочий материал.

Автоклавирование используется для обеззараживания заразного материала.

Стерилизации растворами подвергают изделия из металлов, полимерных материалов, резины, в том числе с частями из коррозионно-стойких металлов.

Для стерилизации растворами используют:

- 1) перекись водорода (6 %-ный раствор) – не менее 18 °С – 360 мин;
- 2) дезоксон-1 (1 %-ный раствор) – не менее 18 °С – 45 мин;

3) глутаровый альдегид (2,5 %-ный раствор pH 7,0–8,5) – не менее 20 °С – 360 мин.

Срок хранения простерилизованного изделия под стерильной, выложенной стерильной простыней – 3 суток.

Для газового метода стерилизации используют:

1) окись этилена;

2) смеси окиси этилена и бромистого метила в весовом соотношении 1:2,5 соответственно;

3) пары 40 %-ного раствора формальдегида в этиловом спирте.

Для обработки различных объектов внешней среды и предметов медицинского назначения могут использоваться дезинфицирующие средства, обладающие противомикробным свойством, применяемые в хирургии, акушерстве и гинекологии, оперативной стоматологии.

Газовую стерилизацию осуществляют в портативных аппаратах (микроанаэроостате МИ объемом 2,7 и 3,2 дм³ (л), скороварке «Минутка» трех размеров: максимальная вместимость до уплотнительной прокладки, дм³: 8,0; 6,0; 4,5; общий объем, дм³, соответственно 8,5; 6,5; 5,0).

Также для стерилизации различных объектов могут использоваться следующие методы.

1. *Физические методы:*

а) прокаливание (горелка);

б) радиация – ультрафиолетовое облучение и иные виды облучения.

Применяют при производстве разовых пластмассовых изделий (шприцов, чашек Петри, систем для переливания).

2. *Механические методы стерилизации* (фильтрование через различные бактериальные фильтры) используются в различных биотехнологических производствах и при получении стерильных медицинских лечебных препаратов.

Контроль качества стерилизации осуществляется постоянно, в соответствии с нормативными документами (формами учета и контроля проведения стерилизации).

Принципы контроля за эффективностью стерилизации:

1) использование температурных индикаторов;

2) проведение бактериологического (вирусологического) исследования материала, прошедшего стерилизацию.

Работа стерилизационных установок (автоклавов, сушильных шкафов) и эффективность стерилизации подлежат строгому контролю.

Тема 47. Изучение нормальной микрофлоры тела и выявление дисбактериозов

1. Дисбактериоз толстого кишечника

Для проведения анализа материалом служат фекалии. При проведении анализа используют стерильные, предварительно взвешенные, чисто вымытые флаконы, не содержащие следов химических реактивов.

После повторного взвешивания флакона определяют содержащуюся в нем навеску фекалий (в граммах). Добавляя во флакон небольшими порциями соответствующее количество буферного раствора с тиогликолевой кислотой, готовят исходное разведение фекалий 1:10. Использование для разведения физиологического раствора возможно, однако снижает процент высеваемости анаэробных микроорганизмов.

После тщательного перемешивания из пробирки с исходным разведением фекалий готовят ряд десятикратных разведений исследуемого материала в физиологическом растворе.

Из пробирок с разведениями делают мерный высев (по 0,1 мл) на соответствующие питательные среды для выделения определенных родов и видов микроорганизмов:

- 1) посев по Шукевичу – протей;
- 2) желточно-солевой агар (ЖСА). Среда Сабуро – стафилококки, грибы рода *Candida*;
- 3) молочно-ингибирующая среда Калина – энтерококки;
- 4) среда Эндо, кровяной агар – эшерихии;
- 5) МРС-2, Бликфельдта – лактобактерии;
- 6) среда Блаурока – бифидобактерии.

Критерии дисбактериоза у взрослых:

- 1) снижение содержания бифидобактерий – менее 10^8 КОЕ/г фекалий;
- 2) снижение содержания лактобактерий – менее 10^8 КОЕ/г;
- 3) увеличение содержания кишечных палочек – более $3,5 \times 10^8$ КОЕ/г или снижение содержания эшерихий – менее $2,5 \times 10^8$ КОЕ/г;
- 4) появление кишечных палочек со слабой ферментативной активностью (по лактозе), дающих на среде Эндо розовые, а не красные с металлическим блеском колонии, в количестве более 10 % от общего числа;
- 5) появление лактозоотрицательных или гемолитических кишечных палочек;
- 6) обнаружение энтерококков в количестве более 10^6 КОЕ/г;
- 7) обнаружение грибов рода *Candida* в количестве более 10^3 КОЕ/г;
- 8) обнаружение клостридий в количестве более 10^3 КОЕ/г;
- 9) обнаружение золотистого стафилококка в количестве более 10^4 КОЕ/г;
- 10) обнаружение представителей рода протей в количестве более 10^3 КОЕ/г;
- 11) обнаружение условно-патогенных грамотрицательных бактерий (представителей родов *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*) в количестве более 10^3 КОЕ/г.

В зависимости от характера выявленных изменений в структуре биоценоза толстого кишечника, наличия или отсутствия тех или иных представителей нормальной микрофлоры кишечника различают разные степени дисбактериоза.

Дисбактериоз 1-й степени: преобладание анаэробной микрофлоры над аэробной сохраняется, количество бифидобактерий составляет 10^7 — 10^8 , лактобактерий – 10^7 — 10^8 , присут-

ствуют оба вида, выделяются 1–2 вида условно-патогенных микробов – до 1 % от общего числа микроорганизмов.

Дисбактериоз 2-й степени: незначительное преобладание аэробной микрофлоры или соотношение аэробной и анаэробной микрофлоры равны, присутствует один из родов анаэробов (бифидобактерий или лактобактерий), количество лактобактерий – 10^8 — 10^{10} , выделяется ассоциация условно-патогенных микробов или один из них в количестве 1–2 % от общего числа микроорганизмов.

Дисбактериоз 3-й степени: соотношение аэробной и анаэробной микрофлоры резко нарушено, отмечается преобладание аэробной флоры, отсутствуют оба рода анаэробов или их рост резко угнетен, выделяются ассоциация условно-патогенных микроорганизмов или один из них до 2–5 % и более от общего числа микроорганизмов.

Использование ряда косвенных тестов позволяет быстро получить достаточно объективную информацию о составе анаэробной микрофлоры по характеру летучих метаболитов. Подобное исследование проводится с использованием газожидкостной ионной хроматографии.

Существует метод обнаружения анаэробов в биологическом субстрате по собственной флюоресценции, основанный на отличительном свойстве анаэробных бактерий от аэробных, состоящем в наличии большей способности к аутофлюоресценции. Регистрируется собственная флюоресценция объекта, возбужденная излучением лазера в определенном спектральном диапазоне.

Флюоресценция заметно снижается при 1-й и 2-й степени дисбактериоза и резко уменьшается при 3-й степени.

2. Дисбактериоз влагалища

Для выявления дисбактериоза (дисбиоза) влагалища могут быть использованы как бактериоскопическое (готовят мазки из отделяемого влагалища, окрашивают их по Граму и микроскопируют), так и бактериологическое исследования.

Критерии оценки состояния микробиоценоза влагалища следующие.

1. *Нормоценоз*. Типичное состояние нормального биоценоза влагалища. Для микроскопической картины характерны доминирование лактобактерий, отсутствие грамотрицательной микрофлоры, спор, мицелия, лейкоцитов, наличие единичных эпителиальных клеток.

2. *Промежуточное*. Часто наблюдается у здоровых женщин. Для микроскопической картины характерны умеренное или сниженное количество лактобактерий, наличие грамположительных кокков, грамотрицательных палочек, единичных лейкоцитов, моноцитов, макрофагов, эпителиальных клеток.

3. *Дисбиоз*. Бактериальный вагиноз. Для микроскопической картины характерны незначительное количество или полное отсутствие лактобактерий, обильная полиморфная грамотрицательная и грамположительная палочковидная и кокковая микрофлора; наличие «ключевых клеток», количество лейкоцитов варьируемо, отсутствие или незавершенность фагоцитоза.

4. *Вагинит*. Неспецифический вагинит. Для микроскопической картины характерны большое количество лейкоцитов, макрофагов, эпителиальных клеток, выраженный фагоцитоз (часто незавершенный).

При обнаружении гонококков, трихомонад, мицелия, псевдогрибов, спор появляются гонорея, трихомониаз, микотический вагинит соответственно.

Бактериологическое исследование при выявлении дисбактериоза влагалища

Взятие материала для бактериологического исследования проводится с соблюдением правил асептики ватным тампоном, который затем помещают в пробирку с 1 мл физиологического раствора.

Из исходной взвеси готовят ряд последовательных разведений в физиологическом растворе и по 0,1 мл засевают на кровяной, сахарный, шоколадный агар, среду Эндо, Сабуро, Блаурока, МРС-2.

Посевы инкубируют 24 ч при температуре 37 °С, после чего учитывают результат.

Степень обсемененности выражают количеством колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл.

Критерии дисбактериоза влагалища:

1) отсутствие в посевах лактобактерий или снижение их количества до уровня менее 10^3 КОЕ/мл в цервикальном канале и менее 10^5 КОЕ/мл во влагалище;

2) увеличение количества коринеформных бактерий более 10^4 КОЕ/мл, что особенно значимо на фоне резкого уменьшения лактобацилл;

3) обнаружение условно-патогенных микроорганизмов, грибов рода *Candida*, стафилококков, стрептококков, псевдомонад, бактериоидов, гарднерелл в количестве 10^4 КОЕ/мл в цервикальном канале и более 10^4 КОЕ/мл – во влагалище.

Бактериальный вагиноз

В качестве клинического проявления дисбактериоза влагалища при замещении его нормальной микрофлоры, в которой преобладают лактобактерии, анаэробными и факультативно анаэробными микроорганизмами и их комбинацией – *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mobiluncus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* – развивается заболевание бактериальный вагиноз (ранее называвшийся «неспецифический вагинит», «коринебактериальный вагинит», «гарднереллезный вагинит» или «гарднереллез», «анаэробный вагиноз»).

Бактериальный вагиноз не представляет прямой угрозы здоровью женщины, но часто приводит к развитию осложнений в виде послеродового и послеабортного эндометрита, сальпингоофорита, преждевременных родов. В связи с этим под термином «гарднереллез» бактериальный вагиноз включен в перечень инфекционных болезней, подлежащих статистическому учету.

Основными клиническими проявлениями бактериального вагиноза являются гомогенные кремообразные выделения, адгезированные на слизистой влагалища, имеющие неприятный запах. Воспалительная реакция слизистой влагалища не характерна, но не исключает этот диагноз, так как выявляется у трети больных.

Лабораторная диагностика осуществляется бактериоскопическим методом (окраской по Граму) с количественным определением «ключевых» клеток – зрелых эпителиальных клеток (поверхностный слой влагалищного эпителия), на которые по всей поверхности плотно и в большом количестве налипают мелкие грамвариабельные палочки – *Gardnerella vaginalis*. Эти микроорганизмы по своим свойствам выявляются в 50 % случаев без признаков бактериального вагиноза, поэтому проведение бактериологического исследования и выделение чистой культуры *Gardnerella vaginalis* признаны нецелесообразными.

Диагноз бактериального вагиноза является обоснованным при наличии хотя бы 3 из 4 следующих признаков, таких как:

- 1) наличие гомогенных кремообразных выделений, адгезированных на слизистой влагалища, имеющих неприятный запах;
- 2) выявление более 20 % «ключевых» клеток;
- 3) рН влагалищного отделяемого более 4,5;
- 4) положительный аминотест.

Рекомендуемые схемы лечения бактериального вагиноза (кроме коррекции дисбактериоза влагалища): метронидазол 500 мг перорально 2 раза в сутки – 7 дней, далацин Ц 300 мг перорально 2 раза в сутки – 7 дней, с учетом того, что эти препараты противопоказаны в первом триместре беременности (в этом случае они назначаются интравагинально в виде мазей).

Первое контрольное клиничко-лабораторное обследование проводят через 10–12 дней после завершения терапии.

3. Дисбактериоз кожи

Выявление дисбактериоза кожи проводится бактериологическим методом.

Забор материала проводят с помощью стерильных бумажных дисков, изготовленных из фильтровальной бумаги № 3, диаметром 0,6 см, площадью 0,28 см² и предварительно закрепленных на стальные поршни. Диски увлажняют физиологическим раствором и прикладывают к поверхности изучаемого биотока кожи. После минутной экспозиции стальные поршни с дисками помещают в пробирки с 0,5 мл стерильного физиологического раствора и по 0,1 мл высевают на кровяной агар, среду Эндо, среду Клауберга, среду Сабуро, тщательно рассеивают шпателем по поверхности среды, инкубируют при температуре 37 °С. Подсчитывают число выросших колоний и определяют общее количество бактерий N (КОЕ) на 1 см² по формуле:

$$N = 5 n / s,$$

где n – число колоний, s – площадь диска.

Из однотипных колоний готовят мазки, окрашивают по Грамму, пересевают для накопления и идентифицируют до рода и вида.

Критерии дисбактериоза кожи:

- 1) значительное увеличение численности фоновых для данного биотопа видов или вариантов;
- 2) резкое увеличение численности популяций несвойственных для данного биотопа видов или вариантов;
- 3) появление в биотопе большого количества атипичных штаммов фоновых видов.

4. Изучение микрофлоры полости рта

Забор материала для исследования на нормальную микрофлору полости рта проводят натошак или через 3–4 ч после еды.

Перед взятием пробы необходимо тщательно прополоскать рот. Поверхность десен и зубов тщательно обтирают стерильным ватным тампоном. Материал забирают тонким ватным тампоном или турундами на корневых иглах. С инструмента материал для исследования снимают стерильным ватным шариком и помещают его в 0,5 %-ный сахарный и 0,06 %-ный тиогликолевый (для анаэробов) бульон. Через 24 ч инкубации при температуре 37 °С готовят ряд десятикратных разведений и делают мерный высев (по 0,1 мл) на соответствующие питательные среды, с последующим подсчетом числа выросших колоний.

Из однотипных колоний готовят мазки, окрашивают по Грамму. Выделенные культуры пересевают для накопления и идентифицируют до рода и вида по общепринятой методике.

5. Изучение микрофлоры верхних дыхательных путей

Отделяемое из носа берут стерильным ватным тампоном. Для этого его вводят в глубину носовых ходов.

Материал из носоглотки берут стерильным ватным заднеглоточным тампоном.

Тампоны помещают в пробирки с 1 мл физиологического раствора, готовят ряд десятикратных разведений в физиологическом растворе, из которых производят мерный высеv (по 0,1 мл) на соответствующие питательные среды.

Изучение микрофлоры верхних дыхательных путей можно проводить и методом отпечатков.

Тема 48. Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций

1. Микробиологическая диагностика бактериальных острых кишечных инфекций

Основными острыми кишечным инфекциями являются: эшерихиозы, дизентерия, сальмонеллезы, в том числе брюшной тиф и паратифы, а также пищевые токсикоинфекции несальмонеллезной природы.

По частоте встречаемости возбудителей острых кишечных инфекций выделяют следующие уровни приоритетности.

1. Патогены высокого уровня приоритетности: *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella*, *Vibrio cholerae* серогруппа 01, нехолерные вибрионы, *Aeromonas*, *Plesiomonas*.

2. Патогены среднего уровня приоритетности: не относящиеся к возбудителю брюшного тифа сальмонеллы, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium difficile*.

3. Патогены низкого уровня приоритетности: энтеропатогенные, энтеротоксигенные, энтероинвазивные и энтерогеморрагические *Escherichia coli*.

Для микробиологической диагностики острых кишечных инфекций используются:

1) бактериологический метод – основной метод при большинстве инфекций;

2) серодиагностика – чаще ретроспективно (при дизентерии, пищевых токсикоинфекциях, эшерихиозах), но могут использоваться для серодиагностики тифопаратифозного заболевания, иерсиниозов – реакции агглютинации (РПГА, латекс-агглютинации);

3) иммуноиндикация – для ориентировочной экспресс-диагностики (чаще для диагностики эшерихиозов, сальмонеллезов, дизентерии) – реакция иммунофлюоресценции, РПГА с антительным шигеллезным диагностикумом, реакция ко-агглютинации с реагентом на сальмонеллы группы В.

Бактериологическое исследование

Материалом служат фекалии, реже – рвотные массы, промывные воды желудка (по клиническим показаниям – желчь, кровь, моча). В целях эпидемиологического анализа это могут быть пробы воды (при холере), остатки пищевых продуктов (при пищевых токсикоинфекциях).

Перед исследованием фекалий необходимо:

1) провести окрашивание мазков фекалий метиленовым синим для выявления лейкоцитов, свидетельствующих о поражении слизистой кишечника;

2) провести микроскопический анализ нативного мазка фекалий на яйца глистов, так как гельминтозы могут протекать с клиникой острых кишечных инфекций, и микроскопический анализ на простейшие (амебы, лямблии, криптоспоридии);

3) для исключения псевдомембранозного колита, вызванного токсинами *Clostridium difficile*, по возможности произвести сигмоскопию;

Проба, аккуратно отобранная с помощью ректального тампона и содержащая небольшое количество материала, должна быть помещена в соответствующую транспортную среду вместе со слизью и частицами эпителия.

Со взятым материалом следует начать работу как можно быстрее после доставки его в лабораторию (не позже чем через 2 ч после взятия), образцы исследуемого материала следует хранить при температуре 4 °С. Безотлагательный посев особенно информативен в отношении шигелл и кампилобактеров.

Особенности проведения первого этапа бактериологического исследования при подозрении на острую кишечную инфекцию:

1) первичная бактериоскопия мазков из фекалий не проводится, поскольку в норме в них содержится большое количество различных микроорганизмов со сходными морфолого-тинкториальными свойствами;

2) учитывая полиэтиологичность острых кишечных инфекций, для выделения чистой культуры посев проводится (из разведений фекалий в физиологическом растворе) на дифференциально-диагностические среды или в среды обогашения, при этом образец в первую очередь исследуется на наличие патогенных бактерий.

На втором этапе бактериологического исследования для накопления и дальнейшей биохимической и серологической идентификации в первую очередь отбираются выросшие на дифференциально-диагностических средах лактозонегативные колонии грамотрицательных палочек. При их отсутствии среди лактозоположительных колоний грамотрицательных палочек отбор потенциальных возбудителей проводят по результатам реакции агглютинации по идентификации с комплексными поливалентными эшерихиозными сыворотками, содержащими в своем составе антитела к антигенам различных серогрупп патогенных кишечных палочек – возбудителей эшерихиозов.

Для накопления отобранную чистую культуру пересевают на скошенный мясопептонный агар.

Накопленную чистую культуру возбудителя идентифицируют до рода и вида путем определения подвижности, капсулообразования, постановки теста на оксидазу, по биохимическим свойствам с использованием или рутинных тестов, или набора соответствующих сред. В дальнейшем, особенно для сальмонелл, шигелл и патогенных кишечных палочек, с использованием соответствующих видоспецифических и вариантспецифических агглютинирующих сывороток проводят серологическую идентификацию для внутривидовой дифференцировки до серовара.

Особенность бактериологического исследования при диагностике брюшного тифа и паратифов состоит в том, что выбор материала для исследования диктуется фазой течения заболевания:

1) в начале болезни и в дальнейшем на высоте лихорадки для выделения гемокультуры используется кровь;

2) со 2–3-й недели и в период реконвалесценции материалом для исследования (в частности, для выделения миелокультуры) служат в основном пунктат костного мозга, для выделения копрокультуры – фекалии, для выделения уринокультуры – моча, в период разгара болезни для выделения розеолокультуры берут соскоб с розеол.

Выделение чистой культуры сальмонелл – возбудителей тифопаратифозного заболевания – проводится путем посева на дифференциально-диагностические среды, а дальнейший ход бактериологического исследования (накопление выделенной культуры, определение ее морфологических и тинкториальных свойств, биохимическая и серологическая идентификация выделенной чистой культуры возбудителя до рода и вида) – по общепринятой методике, без особенностей.

Для бактериологической диагностики иерсиниоза первичный посев проводится на специальные среды с последующим холодовым обогашением.

Для выделения *Campylobacter* первичный посев проводится на специальные для них питательные среды с добавлением антибиотиков с целью подавления сопутствующей микрофлоры. Посевы инкубируют в анаэробе.

Для бактериологической диагностики холеры материал от больного засевают на селективную питательную среду.

При диагностике заболеваний, вызываемых *C. difficile*, в фекалиях больных обнаруживают экзотоксин или применяют молекулярно-генетические методы.

При пищевых токсикоинфекциях первичный посев материала проводится для выделения возможно большего круга возможных возбудителей на ряд сред.

2. Микробиологическая диагностика гнойно-воспалительных заболеваний

Гнойно-воспалительные заболевания поражают практически любые ткани, органы и системы организма человека.

Большинство гнойно-воспалительных заболеваний полиэтиологичны, поэтому их возбудители могут относиться к различным группам микроорганизмов. Это:

- 1) гноеродные кокки (стафилококк, стрептококк, менингококк, гонококк);
- 2) грамотрицательные бактерии (энтеробактерии, псевдомонады и другие неферментирующие бактерии);
- 3) анаэробы, в том числе и неклостридиальные.

Во многих случаях в ходе проведения микробиологической диагностики возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний, являющихся условно-патогенными бактериями, надо дифференцировать от сапрофитных или условно-патогенных представителей этих же семейств или родов микроорганизмов, входящих в состав нормальной микрофлоры человека.

Виды исследуемого материала и методы микробиологической диагностики различных форм гнойно-воспалительных заболеваний определяются их клиническим проявлением.

Материал для микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний забирают стерильным шприцем, пинцетом или ватным тампоном, по возможности из более глубоких отделов, так как верхние могут содержать сапрофитную флору. При снятии повязки рекомендуется очистить поверхность от мази, отмерших тканей и лишь затем отбирать материал.

В ряде случаев материал из очага инфекции может быть получен только при оперативном лечении. Взятый материал помещают в стерильную посуду, предохраняют от высыхания и в течение 1–2 ч доставляют в лабораторию.

Проведение исследования. Проводят микроскопию мазков раневого отделяемого: с очищенной раневой поверхности готовят мазки-отпечатки, фиксируют (не на огне), окрашивают по Романовскому-Гимза и микроскопируют, отмечая морфологию и количество микроорганизмов.

Посев раневого отделяемого непосредственно с тампона производят на кровяной агар, в сахарный бульон и среду для анаэробов (тиогликолевый бульон).

Из жидких проб исследуемого материала готовят десятикратные разведения в физиологическом растворе и из каждого разведения делают высев по 0,1 мл на кровяной агар, Эндо, ЖСА.

Кусочки тканей взвешивают, измельчают в стерильной ступке с питательным бульоном, затем делают десятикратные разведения в физиологическом растворе и по 0,1 мл из каждого разведения засевают на плотные питательные среды.

Посевы инкубируют аэробно и анаэробно при температуре 37 °С, просматривая ежедневно.

При появлении роста в жидких питательных средах готовят мазки, окрашивают по Грамму, микроскопируют, делают высев на соответствующие плотные питательные среды для выделения чистой культуры.

При появлении роста на плотной питательной среде подсчитывают число выросших колоний и пересчитывают на 1 мл исходного материала (1 г ткани). Выделенную с плотной питательной среды чистую культуру идентифицируют по общепринятой методике, определяют чувствительность к антибиотикам.

Оценка результатов. Отрицательный результат исследования выдают через 7 суток при отсутствии роста на всех питательных средах.

Критерии количественной оценки микробного роста при прямом штриховом посеве тампоном раневого отделяемого на плотную питательную среду (1/2 чашки Петри).

I – очень скудный рост – рост только в жидких средах, на плотной питательной среде рост отсутствует.

II – небольшое количество – на плотной среде рост до 10 колоний.

III – умеренное количество – на плотной среде рост от 11 до 100 колоний.

IV – большое количество – рост на плотной среде более 100 колоний.

Рост I–II степеней чаще всего свидетельствует о контаминации, III–IV степеней – об этиологической роли данного микроорганизма.

Уровень обсемененности тканей в ране, равный 10^5 КОЕ/г, является критическим. Его превышение свидетельствует о большой вероятности развития гнойной инфекции и возможности генерализации инфекционного процесса.

В тех случаях, когда патологический материал берется из закрытых полостей или из глубины гнойных ран, выделенные микроорганизмы являются возбудителями данного инфекционного процесса.

Интерпретация результатов микробиологического исследования при хронических воспалительных процессах, когда выявляют ассоциации бактерий, осложняется. В этом случае ведущее значение в течении раневого процесса следует отдавать видам, количественно преобладающим в данном микробиоценозе.

Бактериоскопический метод микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний как самостоятельный используется при острой гонорее, менингите. При этом при острой форме гонореи основной целью обнаружения в исследуемом материале являются внутрилейкоцитарно расположенные диплококки, а при менингите по результатам первичной микроскопии дается только предварительное заключение.

Бактериологическое исследование является основным методом микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний и включает первичную микроскопию как обязательный этап. Для выделения чистой культуры пневмококков из исследуемого материала следует сначала ввести его внутрибрюшинно белым мышам, а уже после развития пневмококковой инфекции секционный материал пересеять на кровяной или сахарный агар и проводить бактериологическое исследование. При гонорее бактериологическое исследование проводят только при отрицательных результатах бактериоскопического исследования, чаще – при дальнейшем развитии процесса, на более поздних, хронических, стадиях, когда отделяемого становится меньше. Для увеличения количества отделяемого применяют метод перевода хронической гонореи в острую с помощью убитой гонококковой вакцины, пирогенала или пива («провокацию»).

Далее приведена схема бактериологического исследования при гнойно-воспалительных заболеваниях.

Материал для исследования:

- 1) гной – первичная микроскопия обязательна;
- 2) спинно-мозговая жидкость – первичная микроскопия обязательна;
- 3) мокрота – первичная микроскопия проводится только из разведений в физиологическом растворе 1:4–1:5;
- 4) моча – первичная микроскопия не проводится;
- 5) мазок из зева – первичная микроскопия не проводится;
- 6) кровь – первичная микроскопия не проводится, непосредственно у постели больного проводится посев крови в сахарный бульон (1:10).

Исходя из полиэтиологичности гнойно-воспалительных заболеваний, с учетом результатов первичной микроскопии гноя, спинно-мозговой жидкости, посевов крови в сахарный бульон исследуемый материал засевают на соответствующие среды для выделения чистой куль-

туры возбудителя. При этом первичный высев из мокроты делают не из разведений, а из исходной взвеси бактерий.

Из мочи высев делают на кровяной агар и среду Эндо, а мазок из зева – на кровяной агар.

На 2-й день исследования проводят учет роста колоний на питательных средах, определяют морфологические, тинкториальные и культуральные свойства возбудителя, осуществляют посевы на скошенный агар для накопления выделенных чистых культур. Колонии с кровяного агара, по результатам микроскопии возможно содержащие стрептококк, для накопления пересевают в сахарный бульон.

На 3-й день исследования проводят посев на среду Пешкова для определения подвижности, постановку биохимических тестов для родовой и видовой идентификации накопленной чистой культуры, определение оксидазной активности и чувствительности к антибиотикам методом стандартных дисков.

Для стрептококков на этом этапе исследования возможна идентификация по морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам с определением их принадлежности к серогруппе в реакции преципитации.

На 4-й день исследования осуществляют учет биохимических тестов и окончательную идентификацию культур по биохимическим свойствам, а также проводится внутривидовая дифференцировка, учет результатов определения чувствительности выделенной культуры бактерий к антибиотикам.

В ходе бактериологического исследования конкретный штамм стафилококков обычно считают патогенным, если он образует коагулазу, ферментирует маннит, разжижает желатин или гемолизует эритроциты. Помимо видовой идентификации возбудителя, определяют продукцию выделенным штаммом факторов вирулентности.

Если в результате бактериологического исследования патологического материала выделена культура условно-патогенных микроорганизмов, то для определения ее роли в качестве возбудителя данного заболевания необходимо пользоваться критериями этиологической значимости.

3. Микробиологическая диагностика при неклостридиальной раневой анаэробной инфекции

Важнейшим этапом, предопределяющим успешный результат бактериологического исследования гноя при неклостридиальной анаэробной инфекции, являются взятие материала и его доставка в лабораторию.

Материал забирается при пункции закрытых гнойных очагов, из глубины свищевых ходов, глубины ран и помещается в стерильные транспортные флаконы, в которых создается бескислородная среда.

Бактериологическое исследование проводится поэтапно.

1. В лаборатории исследуемый материал без промедления микроскопируют и для выделения чистой культуры засевают на гемагар и другие специальные среды для анаэробов, которые помещают в анаэроустат.

Параллельно производится посев исследуемого материала на кровяной агар, среду Эндо и желточно-солевой агар для выявления представителей аэробных (факультативно-анаэробных) возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний.

Предварительная идентификация неклостридиальных (неспорообразующих) анаэробов проводится по результатам первичной бактериоскопии:

- а) грамположительные кокки – пептококки и пептострептококки;
- б) грамотрицательные кокки – вейлонеллы;
- в) грамположительные палочки – бифидобактерии, лактобактерии, пропионобактерии;
- г) грамотрицательные палочки – бактероиды, фузобактерии.

2. Проводят учет роста колоний на питательных средах, определение морфологических и тинкториальных свойств выделяемых чистых культур, их пересев для накопления на скошенном агаре или специальных средах.

3. Проводится определение биохимических свойств всех выделенных культур.

4. Проводится окончательная идентификация выделенной культуры возбудителя по совокупности морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств по общепринятой методике.

4. Сепсис

Сепсис – патологическое состояние, обусловленное непрерывным или периодическим поступлением в кровь микроорганизмов из очага гнойного воспаления. Характеризуется несоответствием тяжелых общих расстройств местным изменениям и часто образованием новых очагов гнойного воспаления в различных органах и тканях. Очаговая инфекция обычно предшествует и (или) сопутствует септическим осложнениям. Удаление пиогенного очага не спасает больного, т. е. развитие сепсиса продолжается.

Сепсис бывает острым и хроническим и является синдромом системного воспалительного ответа.

Септицемия – форма сепсиса, при которой возбудитель сразу из входных ворот попадает в кровь (кровеносная и лимфатическая системы являются единственным местом его обитания и размножения в макроорганизме). Наличие патогенных микроорганизмов в крови не сопровождается образованием метастатических очагов гнойного воспаления, клинически проявляется как результат воздействия на макроорганизм токсинов возбудителя, находящихся в крови: интоксикацией, проявляющейся сильным ознобом, лихорадкой, токсикозом и гипотензией.

Септикопиемия – форма сепсиса, при которой наряду с явлениями интоксикации организма происходит образование абсцессов в различных тканях и органах, сочетающееся с присутствием и размножением в кровеносной и лимфатической системах.

Токсико-септический шок является высшей формой проявления бактериемии и сепсиса. Возбудителями могут являться бактерии (95 % случаев), грибы и простейшие.

Существует определенная взаимосвязь между локализацией первичного очага гнойно-воспалительного заболевания и характером микрофлоры, инициировавшей развитие сепсиса.

С клиническим понятием «сепсис» тесно связано такое микробиологическое понятие, как «бактериемия», – это наличие бактерий в системном кровотоке, при этом бактерии в крови только циркулируют (играют транспортную роль), но не размножаются (кровь для возбудителей бактериемии не является питательной средой). Бактериемия является одним из возможных, но не обязательных проявлений сепсиса.

Бактериемия бывает:

- 1) первичной, когда очаг инфекционного воспаления отсутствует;
- 2) вторичной, когда имеется очаг инфицированного воспаления.

Обнаружение микроорганизмов в кровотоке у лиц без клинико-лабораторных подтверждений синдрома системного воспалительного ответа (сепсиса) расценивается как транзиторная бактериемия.

По частоте встречаемости микроорганизмы, выделяемые при бактериемии, можно разделить на:

- 1) патогены высокого уровня приоритетности – стафилококки (*S. aureus*, *S. epidermidis*), стрептококки (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, зеленящие стрептококки), *N. meningitidis*, сальмонеллы (в том числе *S. typhi*) и другие энтеробактерии (*Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*);
- 2) патогены среднего уровня приоритетности – *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *B. fragilis*;
- 3) патогены низкого уровня приоритетности – *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Brucella*, *Acinetobacter*;
- 4) другие неферментирующие микроорганизмы (кроме *P. aeruginosa*).

Вероятность сочетания сепсиса и бактериемии зависит от особенностей состояния больного и от характера возбудителя.

При наличии соответствующих клинических признаков сепсиса отсутствие бактериемии не исключает диагноз сепсиса. В этом случае проведение повторного бактериологического исследования крови является обязательным.

Взятие крови на исследование. Кровь для посева берут в начале озноба при подъеме температуры или на пике температурной реакции (до назначения антибиотиков). Рекомендуется брать 2 или 3 пробы крови с интервалом примерно в 1 ч (или меньше, если лечение нельзя откладывать).

Кровь берут из вены и непосредственно у постели больного засевают в жидкую питательную среду или помещают в стерильную посуду, содержащую вещества, препятствующие ее свертыванию.

Материал быстро доставляют в лабораторию, где и производят посев.

Хранить кровь в холодильнике можно не более 1–2 ч во избежание лизиса бактерий.

Проведение исследования. Среда для первичного посева должна обеспечить наилучшие условия роста всех видов клинически значимых бактерий.

Соотношение крови и питательного бульона 1:10.

Посевы инкубируют в термостате в течение 10 дней и ежедневно просматривают.

Красный осадок эритроцитов на дне флакона, покрытый прозрачным бледно-желтым бульоном, свидетельствует об отсутствии роста.

Показатели наличия микробного роста:

- 1) помутнение либо всей среды, либо ее верхней части;
- 2) хлопьевидный осадок на поверхности слоя эритроцитов;
- 3) белые крупинки на поверхности или внутри осадка эритроцитов;
- 4) пленка на поверхности;
- 5) гемолиз эритроцитов;
- 6) коагуляция бульона.

При наличии микробного роста готовят мазок, окрашивают его по Грамму и микроскопируют. По результатам микроскопии делают высевы на жидкие и полужидкие среды для культивирования анаэробов.

Выросшие на чашках колонии накапливают, идентифицируют чистую культуру и определяют ее чувствительность к антибиотикам.

Оценка результатов микробиологического исследования крови зависит от вида выделенных микроорганизмов и массивности роста.

Если через 10 дней после посева крови роста микробов на питательных средах не обнаружено, анализ можно считать отрицательным.

Выделение патогенных видов свидетельствует об их этиологической роли в заболевании.

В том случае, когда из крови выделены условно-патогенные микроорганизмы, следует учитывать идентичность гемокультуры с культурами, выделенными из другого материала от этого больного.

Для дифференцирования истинной этиологической роли микроорганизмов необходимо учитывать следующие факторы:

- 1) обнаружение одного и того же микроорганизма в посевах двух и более проб крови;
- 2) быстрый рост микроорганизма (в течение 24–48 ч);
- 3) проявление одинаковых биологических свойств и профилей чувствительности к антибиотикам у разных изолятов, полученных из одной пробы крови.

Повторное выделение из крови нескольких больных одних и тех же «нетрадиционных» микроорганизмов говорит о возможности внутрибольничной инфекции.

Лечение всех форм и клинических проявлений сепсиса включает:

- 1) эмпирическую антибиотикотерапию;
- 2) коррекцию иммунных нарушений;
- 3) заместительную терапию иммуноглобулинами.

При этом возникает необходимость в проведении оперативной санации гнойно-воспалительного очага.

5. Методы диагностики пневмоний

Для микробиологической диагностики пневмоний могут быть использованы методы иммуноиндикации, серодиагностики, однако наиболее значимым остается культуральный метод.

При бактериальных пневмониях бактериологическое исследование проводится с обязательной количественной оценкой результатов, что особенно важно при выделении условно-патогенных бактерий.

Материалами для исследования при пневмонии служат: мокрота, полученная при глубоко откашливании; плевральная жидкость (плевральный экссудат); пунктат инфильтрата или абсцесса легких, ткань легкого, полученная при пункции и биопсии легкого, кровь. Посев бронхиальных смывов считается менее информативным.

У больных с тяжелой пневмонией иногда приходится прибегать к инвазивным методам взятия материала – транстрахеальной аспирации, трансторакальной или трансbronхиальной биопсии легкого.

Микробиологическое исследование необходимо проводить в первые 4 дня от начала заболевания и до назначения антибиотиков. Кровь исследуют 2–3-кратно не позднее 3–4 дней от начала заболевания. Тяжелое течение пневмонии или ее предполагаемая «госпитальная» этиология являются абсолютными показаниями для посева крови по общепринятым методам с целью получения гемокультуры аэробных и анаэробных возбудителей.

Повторные микробиологические исследования показаны:

- 1) при неэффективности антибактериальной терапии;
- 2) при затяжном течении пневмонии при появлении рентгенологических, клинических и лабораторных данных, указывающих на возникновение суперинфекции;
- 3) при выделении нетипичных условно-патогенных бактерий в диагностических титрах.

Комплексное микробиологическое обследование больных при пневмониях начинается с исследования мокроты.

При отсутствии мокроты или плохом ее отделении бронхиальный секрет аспирируют через назотрахеальный зонд или проводят ингаляцию аэрозолем теплого физиологического раствора.

Для ориентировочного суждения о характере и количестве микрофлоры в мокроте из нее готовят мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют.

Мазки для бактериоскопии готовят (без разведения!) из гнойных комочков мокроты или из материала, более всего приближенного к ней.

При подозрении на туберкулез проводят микроскопию мазков мокроты, окрашенных по Цилю-Нильсену, или исследование методом прямой люминесценции, выявляя микобактерии туберкулеза.

При наличии в мазке менее 25 лейкоцитов и более 10 эпителиальных клеток в поле зрения дальнейшее исследование нецелесообразно – проба отражает содержимое ротовой полости.

В соответствии с общепринятыми рекомендациями от бактериологического исследования образцов мокроты необходимо отказаться, если в мазке содержится менее 10 полиморфно-ядерных нейтрофилов на одной эпителиальной клетке.

Свежесобранная мокрота может быть использована для постановки «реакции набухания капсулы» с поливалентной сывороткой для выявления пневмококков.

Результаты срочного микроскопического исследования окрашенного по Грамму мазка гнойной мокроты могут послужить основой для предварительного заключения.

Выявление в мазке значительного количества грамположительных или грамотрицательных микроорганизмов с типичной морфологией может служить ориентиром для назначения эмпирической терапии.

Перед дальнейшим бактериологическим исследованием мокроту гомогенизируют, разводят стерильным бульоном, 2 %-ной пептонной водой или физиологическим раствором в соотношении 1:10 и готовят последовательные десятикратные разведения.

Для выделения чистой культуры возбудителя из разведений мокроты производят мерный высев на соответствующие твердые питательные среды, ориентируясь на результаты первичной бактериоскопии.

При бактериологическом исследовании культивирование в анаэробных условиях не рекомендуется, поскольку примесь микрофлоры из глотки может привести к неправильному результату.

При подозрении на туберкулез или микроплазменную инфекцию по результатам первичной микроскопии делают посевы на соответствующие среды.

Посевы инкубируют при 37 °С в течение 18–24 ч. Выросшие чистые культуры возбудителей идентифицируют и определяют чувствительность к антибактериальным препаратам.

Оценка результатов. Исходя из того, что возбудитель находится в мокроте в значительно большем количестве, чем контаминанты, диагностическую ценность имеет наличие потенциального возбудителя в посевах из разведений мокроты 10^5 и более.

Рост микроорганизмов в меньших разведениях следует расценивать как контаминацию мокроты микрофлорой верхних дыхательных путей.

При диагностике атипичных, хламидийной, микоплазменной и легионеллезной пневмоний широко используют иммунологические методы, направленные на обнаружение антигенов или специфических антител в крови и жидкости, а также молекулярно-генетические методы.

Средствами выбора в лечении пневмоний являются антибиотики и фторхинолоны, и только культуральные методы диагностики позволяют провести их обоснованный выбор.