

Медицинская микробиология

Библиография Медицинская микробиология [Электронный ресурс] : учебное пособие / Поздеев О.К. Под ред. В.И. Покровского - 4-е изд., испр. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. - <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970415306.html>

Авторы Поздеев О.К. / Под ред. В.И. Покровского

Издательство ГЭОТАР-Медиа

Год издания 2010

Прототип Электронное издание на основе: Медицинская микробиология: учебное пособие. Поздеев О.К. / Под ред. В.И. Покровского. 4-е изд., испр. 2010. - 768 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-1530-6.

Оглавление

ГЛАВА 1. ВВОДНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ	7
ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ.....	8
ПЕРИОД ЭМПИРИЧЕСКОГО ПОЗНАНИЯ	8
ОТКРЫТИЕ МИРА МИКРОБОВ	10
«ЗОЛОТАЯ ПОРА» МИКРОБИОЛОГИИ.....	12
СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ МИКРОБИОЛОГИИ	17
ГЛАВА 2. ТИПЫ МИКРООРГАНИЗМОВ	18
ПРИОНЫ	18
ВИРУСЫ	19
ГЛАВА 3. СИСТЕМАТИКА И НОМЕНКЛАТУРА	26
ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ ВИРУСОВ.....	28
ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ БАКТЕРИЙ.....	29
ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ ГРИБОВ	33
ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ ПРОСТЕЙШИХ.....	34
ГЛАВА 4. ОБЩАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ	35
АНАТОМИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ.....	35
ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ.....	41
ГЕНЕТИКА БАКТЕРИЙ	64
ГЛАВА 5. ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ	74
ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА	74
РЕПРОДУКЦИЯ ВИРУСОВ	76
ГЛАВА 6. ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	92
РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МИКРОБОВ В ПРИРОДЕ.....	92
ГЛАВА 7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ.....	113
Этапы развития биотехнологии.....	113
Генная инженерия и биобезопасность	115
Генная диагностика и генная терапия.....	119
Векторы.....	120
Перспективы генной терапии.....	121
ГЛАВА 8. УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ.....	122
ПАТОГЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	122
ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ.....	124
ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС.....	128
ГЛАВА 9. ХИМИОТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ.....	138

Краткая историческая справка	138
ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ.....	149
ПРОТИВОПРОТОЗОЙНЫЕ ПРЕПАРАТЫ	149
ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ.....	154
ГЛАВА 10. УЧЕНИЕ ОБ ИММУНИТЕТЕ.....	164
ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ИММУНОЛОГИИ	164
ВИДЫ НЕВОСПРИИМЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.....	169
ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ОТ ИНФЕКЦИОННЫХ АГЕНТОВ.....	171
ОРГАНИЗАЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ.....	179
ИММУННАЯ ПАМЯТЬ.....	194
ИММУННЫЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА.....	209
ГЛАВА 11. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	218
ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ	218
ПРИНЦИПЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	221
МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ	223
ГЛАВА 12. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КОККИ	244
СТАФИЛОКОККИ	244
СТРЕПТОКОККИ	250
ГЛАВА 13. ФАКУЛЬТАТИВНО АНАЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ.....	259
ВОЗБУДИТЕЛЬ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ	260
ГЛАВА 14. ФАКУЛЬТАТИВНО АНАЭРОБНЫЕ СПОРОНЕОБРАЗУЮЩИЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ.....	264
БАКТЕРИИ ПРАВИЛЬНОЙ ФОРМЫ.....	264
БАКТЕРИИ НЕПРАВИЛЬНОЙ ФОРМЫ.....	269
ГЛАВА 15. АНАЭРОБНЫЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ.....	275
СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ РОДА <i>CLOSTRIDIUM</i>	275
ГЛАВА 16. АЭРОБНЫЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КОККИ И КОККОБАКТЕРИИ	290
НЕЙССЕРИИ	290
<i>NEISSERIA MENINGITIDIS</i> (МЕНИНГОКОКК)	295
РОД <i>MORAXELLA</i>	298
РОД <i>ACINETOBACTER</i>	298
РОД <i>KINGELLA</i>	299
ГЛАВА 17. АЭРОБНЫЕ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ	299
РОД <i>PSEUDOMONAS</i>	300

ГЛАВА 18. ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТИРУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ	306
БАКТЕРИИ СЕМЕЙСТВА <i>ENTEROBACTERIACEAE</i>	306
ЭШЕРИХИИ	308
ИЕРСИНИИ.....	319
ГЛАВА 19. МИКРОАЭРОФИЛЬНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ	340
КАМПИЛОБАКТЕРИИ	340
ХЕЛИКОБАКТЕРЫ	342
ГЛАВА 20. ПРИХОТЛИВЫЕ АЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ И КОККОБАКТЕРИИ.....	344
ФРАНЦИСЕЛЛЫ	344
БОРДЕТЕЛЛЫ	348
ЛЕГИОНЕЛЛЫ.....	351
ГЛАВА 21. АНАЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ	353
БАКТЕРОИДЫ	353
ПОРФИРОМОНАДЫ	354
ПРЕВОТЕЛЛЫ.....	355
РОД <i>FUSOBACTERIUM</i>	355
ГЛАВА 22. МИКОБАКТЕРИИ.....	356
АТИПИЧНЫЕ МИКОБАКТЕРИИ.....	362
ГЛАВА 23. ХЛАМИДИИ И РИККЕТСИИ	363
ХЛАМИДИИ.....	364
ВОЗБУДИТЕЛЬ ОРНИТОЗА (<i>C. PSITTACI</i>).....	365
ИНФЕКЦИИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ РЕККЕСИЯМИ РОДА <i>COXIELLA</i>	373
ИНФЕКЦИИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ РИККЕТСИЯМИ РОДА <i>ROCHALIMAEA</i>	374
ГЛАВА 24. МИКОПЛАЗМЫ.....	375
ГЛАВА 25. СПИРОХЕТЫ	379
ТРЕПОНЕМЫ.....	379
ГЛАВА 26. ВОЗБУДИТЕЛИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ	389
РИНОВИРУСЫ.....	401
ГЛАВА 27. ВОЗБУДИТЕЛИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ.....	402
ЭНТЕРОВИРУСЫ	402
ЕСНО-вирусы.....	404
РОТАВИРУСЫ.....	405
ГЛАВА 28. ВОЗБУДИТЕЛИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ	407
ВИРУС ГЕПАТИТА А.....	407

ВИРУС ГЕПАТИТА В.....	408
ВИРУС ГЕПАТИТА D (ГЕПАТИТ ДЕЛЬТА)	411
ВИРУС ГЕПАТИТА С.....	412
ВИРУС ГЕПАТИТА Е.....	413
ВИРУС ГЕПАТИТА G	413
ГЛАВА 29. ГЕРПЕСВИРУСЫ.....	414
ВИРУС герпеса типа 4 (ВИРУС <i>эпштейна-барр</i>).....	417
ВИРУС герпеса типа 5 (ВИРУС цитомегалии).....	419
ГЛАВА 30. ВИРУС ОСПЫ ЧЕЛОВЕКА И ДРУГИЕ ПОКСВИРУСЫ.....	420
ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ	420
ПРОЧИЕ ПОКСВИРУСЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ПОРАЖЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА Вирус осповакцины	422
ГЛАВА 31. ВОЗБУДИТЕЛИ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ.....	423
ТОГАВИРУСЫ	424
ФЛАВИВИРУСЫ	425
АРЕНАВИРУСЫ.....	429
ФИЛОВИРУСЫ	431
РЕОВИРУСЫ.....	432
ГЛАВА 32. ВОЗБУДИТЕЛЬ БЕШЕНСТВА	433
ГЛАВА 33. ВИРУС ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА	435
ГЛАВА 34. ОСНОВЫ ВИРУСНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА	439
ГЕНЕТИКА КАНЦЕРОГЕНЕЗА	440
КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОТООНКОГЕНОВ	440
МЕХАНИЗМЫ ОНКОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВИРУСОВ	441
ОНКОГЕННЫЕ ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ	444
ОНКОГЕННЫЕ РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ ЧЕЛОВЕКА.....	446
ГЛАВА 35. ВОЗБУДИТЕЛИ МЕДЛЕННЫХ ИНФЕКЦИЙ	448
ГЛАВА 36. ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОЗОВ ЧЕЛОВЕКА	451
ПОВЕРХНОСТНЫЕ МИКОЗЫ	451
ПОДКОЖНЫЕ МИКОЗЫ.....	455
ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ МИКОЗЫ	464
ГЛАВА 37. ВОЗБУДИТЕЛИ ПРОТОЗОЙНЫХ ИНФЕКЦИЙ.....	471
СПОРОВИКИ	471
САРКОДОВЫЕ.....	476
ЖГУТИКОНОСЦЫ.....	479
ИНФУЗОРИИ.....	487

ГЛАВА 38. ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ.....	488
ГЛАВА 39. КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.....	491
ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ.....	491
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ.....	493
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦНС.....	507
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОВ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ.....	510
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ИНФЕКЦИИ.....	515
ГЛАВА 40. САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.....	518
ПРИНЦИПЫ ПРОВЕДЕНИЯ.....	519
САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ.....	519
ИССЛЕДОВАНИЙ.....	519
МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	519
ГЛАВА 41. ИТОГОВЫЙ ЭКЗАМЕН.....	543
ВОПРОСЫ.....	543
ГЛАВА 42. ПРИЛОЖЕНИЯ.....	578
СОКРАЩЕНИЯ В ТЕКСТЕ.....	578

ГЛАВА 1. ВВОДНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ

Предмет обсуждения этой книги - организмы, не различимые невооружённым глазом (т.е. менее 0,1 мм)- микроорганизмы, в просторечии известные как микробы. К ним относят организмы растительной (бактерии, грибы, водоросли) и животной (простейшие) природы, а также вирусы и прионы. Все они составляют микромир - грандиозную по численности и видовому составу совокупность невидимых существ, обитающих на нашей планете. Повсеместная распространённость и суммарная мощность метаболического потенциала микроорганизмов определяет их важнейшую роль в круговороте веществ и поддержании динамического равновесия в биосфере Земли. Микроорганизмы заселили Землю задолго до появления высших растений и животных (около 3-4 млрд лет назад) и в настоящее время представляют самую многочисленную и разнообразную группу существ. От их деятельности во многом зависит жизнь макромира (растений, членистоногих, птиц, животных). В значительной мере микроорганизмы участвуют в круговороте газов, химических веществ и энергии. Трудно переоценить влияние микроорганизмов на структуру и плодородие почв. Большинство микробов отличает удивительная экологическая пластичность, они - единственные формы жизни, способные заселять любые, сколько-нибудь пригодные для обитания субстраты. Именно благодаря микроорганизмам поверхность Земли не выглядит свалкой останков павших животных и погибших растений. Кроме того, они колонизируют макроорганизмы и, выступая как эндоэкологические агенты, способствуют некоторым процессам их жизнедеятельности.

Довольно значительная группа микробов (около 5000 видов) обитает в организмах других существ, включая человека. Самый древний след их «деятельности» - поражение позвонков динозавров, живших в мезозойскую эру. Человек, если считать таковым прямоходящего *Pithecantropus erectus*, столкнулся с патогенными микроорганизмами 1-2 млн лет назад. Более благоприятные условия для эволюции патогенных для человека микроорганизмов развились в мустьерский период (40-100 тыс. лет назад), когда неандертальцы стали обитать в общих жилищах и вести совместный быт.

Как, пожалуй, никакие другие существа, микроорганизмы испытывают постоянное давление окружающей среды, вследствие чего постоянно эволюционируют. В свою очередь, изменчивость патогенных микроорганизмов - основная движущая сила для развития и совершенствования систем защиты животных и человека. Более того, микроорганизмы до недавнего времени служили важнейшим фактором естественного отбора в человеческой популяции. На протяжении многих веков человечество использует микроорганизмы в хлебопечении, виноделии, при выделке кож, при изготовлении сыров и кисломолочных продуктов. На фоне этого не представляется парадоксальным применение более 2400 лет назад древнеегипетскими жрецами содержащих тетрациклин экстрактов белой зерновой плесени. Разумеется, в настоящее время число известных видов микроорганизмов значительно увеличилось, соответственно расширился и спектр их хозяйственного и технологического применения.

Микробы изучает специальная наука - микробиология [от греч. *mikros* - мелкий, *bios* - жизнь, *logos* - учение]. В сущности, микробиология - отрасль биологии, а именно биологии организмов, не превышающих по размерам 0,1 мм. Подобно многим разделам биологии, например энтомологии, микробиология не осталась только отраслью биологии, но сложилась как отдельная область знаний, что связано, в первую очередь, со значением микроорганизмов в обмене веществ в природе. Подразделение «менее 0,1 мм - микробиология, более - биология» условно, так как практически все основные законы физиологии микробов сходны с таковыми у прочих живых организмов. В свою очередь, сами микробы настолько разнообразны, что разделение по размерам часто лишено всякого смысла, так как само понятие «микроорганизм» не имеет таксономического значения, как, например, термины «позвоночные» или «покрытосеменные» (каждый из этих терминов определяет некую биологическую группу, члены которой обладают множеством общих

структурных и функциональных особенностей). В противоположность этому, микроорганизмы входят в различные таксономические группы, некоторые из которых (например, водоросли) включают гораздо более крупные организмы.

За время своего развития микробиология не только много почерпнула из смежных наук (например, иммунологии, биохимии, биофизики и генетики), но и сама дала мощный импульс для их дальнейшего развития. Микробиология изучает морфологию, физиологию, генетику, систематику, экологию и взаимоотношения микроорганизмов с другими существами. Поскольку микроорганизмы очень многообразны, то более детальным их изучением занимаются специальные её направления: вирусология, бактериология, микология, протозоология и др. Обилие фактического материала, накопленного за относительно короткий период научного развития микробиологии (со второй половины XIX в.), способствовало разделению микробиологии на ряд специализированных направлений: медицинское, ветеринарное, техническое, космическое и т.д.

Медицинская микробиология изучает микроорганизмы, патогенные и условно-патогенные для человека, их экологию и распространённость, методы их выделения и идентификации, а также вопросы эпидемиологии, специфической терапии и профилактики вызываемых ими заболеваний.

Актуальной проблемой медицинской микробиологии до настоящего времени остаётся исследование всего комплекса взаимодействий внутри экосистемы «макроорганизм-микроорганизм», будь это микроб-комменсал или микроб-патоген.

В истории медицины нередко случалось, что какая-либо из дисциплин становилась ведущей для всего комплекса медицинских знаний. Конец XIX и начало XX в. ознаменовались такого рода гегемонией медицинской микробиологии. Одновременно с её бурным развитием формировалась иммунология (сначала как раздел, изучающий механизмы специфической защиты организма от патогенных микроорганизмов) и, несколько позднее, санитарная микробиология. Последняя изучает санитарно-микробиологическое состояние окружающей среды, её влияние на здоровье человека и разрабатывает мероприятия, предупреждающие неблагоприятные воздействия болезнетворных микробов. На современном этапе к особым разделам медицинской микробиологии относят клиническую микробиологию (её объекты - условно-патогенные микроорганизмы, вызывающие поражения человека) и фармацевтическую микробиологию, изучающую микробы, вызывающие порчу лекарственного сырья, обсеменяющие лекарственные средства (ЛС), а также технологию получения различных лекарственных и диагностических препаратов из микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности.

Медицинская микробиология развилась в результате изучения инфекционных болезней, и история становления её как области медицины будет непонятной без рассмотрения эволюции воззрений на возникновение инфекционных болезней.

ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ПЕРИОД ЭМПИРИЧЕСКОГО ПОЗНАНИЯ

Древний мир

С патогенными микроорганизмами человечество столкнулось на заре своего развития и, как нередко случалось в его истории, впало в наивный анимизм, объясняя появление заразных (или «прилипчивых») болезней карами богов. Вероятно, самым первым правильным понятием о способах заражения явилось представление древних евреев о контактной передаче проказы («...если человек обнаружит пятна, пустулы или язвы на теле, то он должен обратиться к первосвященнику... Если первосвященник заметит, что на седьмой день они не исчезнут, но и не будут увеличиваться, то этого человека следует изолировать ещё на семь дней... » [Левит, 13:1-3,5]).

Многолетние наблюдения за заразными болезнями позволили сделать важные открытия, и уже древние источники указывают на роль соблюдения гигиенических правил в их профилактике. Например, древнеиндийская книга Аюрведа прямо указывает, что чуму разносят крысы, а малярию - комары. У древних евреев третьей и четвертой «казнями египетскими» (Исход VIII, Ветхий Завет) являлись «тучи вшей, блох и мух», разносящие различные болезни. Собственно, одно из имён дьявола - Вельзевул (Баал-Зебуб) на семитском языке означает «повелитель мух». Настоящий образец организованной борьбы с инфекционными болезнями являет медицинский кодекс, включённый в свод законов вавилонского царя Хаммурапи. Так, ассирийцы знали, как предохраняться от многих воздушно-капельных, кишечных и природно-очаговых болезней. Древние индусы и китайцы, а затем греки и римляне в борьбе с инфекциями широко практиковали гигиенические мероприятия, изолировали заразных больных и даже проводили профилактику натуральной оспы путём вариоляции. Более того, в античных городах существовали специальные службы, контролирующие соблюдение гигиенических норм при строительстве зданий, а расход воды на одного человека в древнем Риме был в 10 раз больше норм, принятых в настоящее время в Европе.

Важным этапом в совершенствовании знаний о возникновении инфекций стал расцвет античной медицины с её натурфилософской идеологией, основанной на познании окружающей природы и отбросившей всё сверхъестественное. Яркими выразителями новых веяний стали Гиппократ, полагавший, что во время эпидемий воздух содержит особые болезнетворные испарения - «миазмы», и Тит Лукреций Кар, считавший, что у каждой инфекции есть особые «семена». Спартанский военачальник и философ Фукидид предполагал наличие некоего «животного контагия» - *contagium animatum* [от лат. *contagio* - дотрагиваюсь], передающего инфекционные болезни. Им же было сформулировано положение о невосприимчивости к повторному заболеванию: «... кто сам переболел и выздоровел, ... никогда не заболел второй раз, а если и заболел, то никогда смертельно». Другим сторонником теории о «живом возбудителе» был древнеримский поэт и философ Марк Теренций Варрон, веривший в существование приносящих эпидемии «мельчайших животных» (*animalcula quaedam minuta*). В эту эпоху были сделаны существенные и, что особенно важно, достаточно точные наблюдения за клинической картиной и эпидемиологией многих инфекционных болезней. Классическим примером служит описание моровой язвы Антонины, занесённой в Рим легионерами из Сирии в 166 г. Точность наблюдений автора (Клавдий Галён, к слову, ярый противник теории «животного контагия») позволила позднее установить, что причиной эпидемии явились сразу три болезни - дизентерия, брюшной тиф и оспа.

Средневековье

Волна мистицизма, затопившая Европу в начале Средневековья, задушила почти всё, что было ценного в медицинских концепциях греков и римлян. Доктрина *contagium animatum* была забыта, а вместо неё горячо воспринята церковная концепция «божьей кары». Да и вообще всё естественное и закономерное заменило «чудесное» - химия превратилась в алхимию, астрономия в астрологию. Лучом света во тьме всеобщего мракобесия оставалась арабская медицина, распространившаяся сначала в Испании, а затем и в других странах. Её островками в то время были медицинские школы Александрии, Кордовы, Самарканда, Исфагана, Дамаска. Огромный вклад в понимание многих вопросов эпидемиологии, профилактики и лечения инфекционных болезней внесли Абу-Бекр Мухаммед бен-Закария (Разёс), Абу-Али аль-Хусейн Алта-ибн Сина (Авиценна), Исаак бен Солей-ман, Абу Амрам Муса ибн Маймун (Маймонид).

Ренессанс

Первое серьёзное потрясение схоластических воззрений на природу инфекционных болезней возникло в период Возрождения. Бурное развитие мореплавания и торговли привело к тому, что за сравнительно короткий период Европа перенесла ряд страшных пандемий. При их

приближении население действовало согласно известной тогда пословице-совету - «*cito, longe, tardo*» (беги немедленно, будь в отсутствии подальше, возвращайся попозже). Этому совету последовали и герои «Декамерона» Боккаччо, сбежавшие из зачумлённой Флоренции и поселившиеся в загородном доме. В 1374 г. в Модене были построены специальные дома, где 40 дней проживали люди, приехавшие из зачумлённых мест; чуть позже в Венеции появился указ об изоляции подозрительных на чуму людей, товаров и кораблей на 40 дней (*quaranta giorni*), откуда и произошёл термин «карантин». Наблюдения, сделанные во время эпидемии чумы (1347-1350), позволили установить *возможность передачи инфекции непосредственно от больного*, что поколебало основы миазматической теории. Уже появились предтечи материалистической концепции в понимании развития инфекций. В частности, в 1553 г. Алессандро Бенедетти указал на наличие «материального заразного яда», Петрус Форёстус ввёл в медицинскую практику термин «вирус» (имея в виду тот же яд). Ещё дальше пошёл Парацельс, широко применявший термин «вирус» для обозначения «невидимых семян, приносящих болезнь». Именно он внёс в экспериментальные исследования основополагающий принцип *experimentum ad ratio* (опыт перед рассуждением), отметающий все бездоказательные догмы. Наиболее чётко на природу инфекционных болезней указал итальянский врач Джироламо Фракастбро, заметивший, что они сходны с брожением, то есть передаются от одного другому посредством «живого болезнетворного начала» - *contagium vivum*. Именно Фракастбро (1546) ясно определил материальность болезнетворного начала и ввёл в медицину термин «инфекция», благодаря чему эпидемические болезни стали рассматривать как инфекционные, а не как конституциональные. С этого времени в медицинском мире началась ожесточённая борьба между сторонниками миазматической теории и учения о контагии. Эта борьба продолжалась до подтверждения гениальной догадки Фра-кастбро *ad oculos* (буквально: собственными глазами) - открытия микроорганизмов.

ОТКРЫТИЕ МИРА МИКРОБОВ

Первые микроскопы

Открытие *невидимого мира* стало возможным после изобретения увеличивающего оптического устройства (Г. Галилей). Этот «Колумб неба», построивший также первый в мире микроскоп (1610), считал «микроскопическую трубу» всего лишь средством развлечения, что помешало ему стать первооткрывателем нового мира. Во многом это объясняется и тем, что микроскоп Галилея был всего лишь зрительной трубой с силой увеличения обычной лупы, так как он не знал о роли фокусного расстояния для получения изображения. Первенство в изобретении настоящего устройства для изучения микроскопических объектов отдают голландским учёным (Ханс и Захариас Янсен), хотя впервые мир невидимых существ наблюдал учёный иезуит Афанасий Кйрхер, обнаруживший мельчайших «червячков» в гниющем мясе, молоке, уксусе и т.д. Он даже сообщил об их наличии в крови больных чумой. Разумеется, пользуясь микроскопом Янсенов с 32-кратным увеличением, Кйрхер не мог видеть бактерии, но его открытие укрепило ряды сторонников теории *pathologiae animatae* (развития болезней, вызываемых некими существами). Первым, кому бесспорно удалось проникнуть в мир микробов, был Антоний ван Лёвенгук, использовавший микроскопы с 160-кратным увеличением. Необычность микромира настолько потрясла этого преуспевающего торговца сукном из Дельфта, что всю оставшуюся жизнь он посвятил изучению этого мира. Именно ему человечество обязано открытием «анималькулей» [от лат. *animalcula*, зверушка], число которых существенно возросло после исследований Роберта Хука, Луи Жаблб, Кристиана Ланга и др. Впрочем, очень немногие из них считали, что эти «мельчайшие невинные создания Господни» могут быть причиной заболевания и смерти человека, так как в то время болезни рассматривали как следствие изменений «животной силы» или «брожения соков» организма. Более того, сам Лёвенгук не считал «анималькулей» возбудителями болезней у человека, и в XVI-XVIII вв. продолжала господствовать «миазматическая теория» самопроизвольного зарождения болезней. Во многом этому способствовало отсутствие методов выделения отдельных представителей микромира, что было

так необходимо для установления связи с инфекциями и что так дискредитировало концепцию живого контагия.

Вопрос о самопроизвольном зарождении

Открытие микробов дало почву и для размышлений по поводу их происхождения. Некоторые исследователи считали, что микроорганизмы спонтанно зарождаются из неживой материи; другие (в том числе и Лёвенгук) полагали, что они образуются из «семян» или «зародышей», постоянно присутствующих в воздухе. И всё же большинство учёных, хотя и зная о происхождении животных от себе подобных, слепо верили, что черви самозарождаются в гниющем мясе, а глисты - в кишечнике. Доктрина о спонтанном зарождении (*generatio spontanea*), или абиогенезе, принималась безоговорочно с античных времён вплоть до эпохи Возрождения. Первые аргументы, противоречащие этим воззрениям, были получены Франческо Рёди, опровергнувшим мнение о самозарождении червей в гниющем мясе. Достоинством упоминания имя российского естествоиспытателя середины XVIII в. Даниила Туп-тало, указывавшего и учившего, что самозарождение происходит без участия каких-либо высших сил, то есть в результате естественных причин. В 1769 г. университетский профессор из Па-вии, аббат Спалланцани доказал, что микробы также происходят от себе подобных, и установил их роль в порче различных продуктов. Это открытие о длительной сохранности различных скоропортящихся продуктов после удаления микроорганизмов нашло интересное практическое применение. В начале XIX в., задолго до окончательного решения вопроса о самозарождении, Франсуа Аппёр (1810) установил, что продукты можно сохранять, поместив их в герметичные сосуды с последующим прогревом, а метод «аппертизации» стал первым широко применяемым способом консервирования пищевых продуктов. Многие российские учёные поддержали теорию *contagium vivum*. Особо следует выделить исследование М.М. Тереховского «Об анималькулях», показавшее роль различных физических и химических воздействий на микроорганизмы и подходы к термическому обеззараживанию различных объектов. Другим выдающимся сторонником этой теории был Д.С. Самойлович, внёсший большой практический вклад в борьбу с чумой и даже предпринявший попытку создания противочумной вакцины. Он *предположил возможность искусственного создания невосприимчивости к инфекционному агенту*. В определённой степени Д.С. Самойловича можно считать предтечей Эдварда Джённера, осуществившего профилактику натуральной оспы вакцинацией - искусственной прививкой возбудителя коровьей оспы. Окончательную точку в дискуссиях защитников теорий «болезнетворных миазмов» и «живого возбудителя» поставили открытия, сделанные в первой половине XIX в. и убедительно доказавшие патогенную роль микроорганизмов в опытах по самозаражению и моделированию заболеваний у животных.

Морфология и систематика микроорганизмов

Долгое время изучение микробов носило описательный характер, следствием чего естественно встал вопрос об их систематике. Великий шведский натуралист Карл Линней не делал серьёзных попыток систематизирования микроорганизмов и в XII издании своей *Systema naturae* (систематика природы) поместил известных тогда «анималькулей» в класс *Chaos infusorium* (инфузорный хаос), объединяющий живые организмы, недоступные в то время систематизации. Тем не менее, он поддерживал идею прямой связи «зверушек» с инфекционными болезнями, о чём свидетельствуют данные им различным видам названия; например, *Febrium exanthematicarum contagium* («заразительная сыпная лихорадка») или *Siphilitidis virus humidum* («жидкий сифилитический яд»). Первой научной классификацией явилась *Animalcula infusoria* («зверушки» распространённые) [от лат. *infusus*, влитый, распространённый] К. Мюллера, выделявшая роды *Monas* и *Vibrio*, но относящая бактерии к инфузориям. Лишь после усовершенствования микроскопов (1820-1870) были предприняты попытки более точных классификаций микробов (Эренбёрг, Дюжардён, Кон, Нэгели), окончательно установившими принадлежность бактерий к царству растений. Во многом этому способствовали исследования

Л.С. Ценкбвского, доказавшего близость бактерий к растительным клеткам. В 1857 г. Карл Нэгели объединил микроорганизмы в особую группу грибов-дробянок (*Schizomycetes*), и это название сохранилось за бактериями до настоящего времени. Изучение морфологии бактерий привело к появлению двух направлений в микробиологии: мономорфизм и полиморфизм. Мономорфисты, возглавляемые Фердинандом Коном, считали, что бактерии (как и другие организмы) сохраняют постоянство формы и специфические признаки. Полиморфисты во главе с Карлом Нэгели указывали, что форма бактерий и их свойства могут меняться в зависимости от условий окружающей среды. Некоторые из полиморфистов вообще отвергали существование возбудителей инфекционных болезней, объясняя появление последних изменениями условий окружающей среды. К концу XIX в. микробиологи стали понимать, что достоверную информацию о морфологии и физиологии микроорганизмов можно получить, лишь оперируя их чистыми культурами. К тому времени уже были разработаны методы стерилизации инструментов сухим жаром и проведением через пламя (*фламбирование*). Для защиты от обсеменения сред в сосудах стали использовать ватные пробки, а также признали необходимость стерилизации всех предметов, контактировавших с исследуемым материалом. Пионером в разработке методов получения чистых культур считают А. Брёфельда, предложившего метод выделения отдельных грибковых клеток и культивирования грибов в желатине. Метод, однако, оказался непригодным для работы с бактериальными клетками, имеющими значительно меньшие размеры.

Становление научного изучения роли микроорганизмов

Уже Афанасий Кйрхер полагал, что гниение органических веществ связано с жизнедеятельностью мельчайших «червячков». Двести лет спустя Теодор Шванн и Каньяр Латур (1837) доказали, что существующие в пиве «шарики» Лёвенгука - живые клетки растительного происхождения, вызывающие брожение. Большинство врачей того времени также рассматривали болезни как «брожение соков организма», а великий Роберт Бойль ещё в XVII в. заметил, что «природу заразных болезней поймёт тот, кто познает природу брожения». Соответственно возник вопрос: если брожение пива вызывает микроб, не могут ли ему подобные вызывать брожение в организме человека? В том же году Альфред Доннэ обнаружил во влагалищном отделяемом *Trichomonas vaginalis*, а в 1839 г. Иоханн Шёнляйн выделил возбудителя фавуса. Определённо и ясно связь между инфекциями и возбудителями доказал Якоб Хёнле, сформулировавший обобщённые критерии, подтверждающие причинную связь между микроорганизмом и болезнью: *«Материя контагия не только органической, но и организованной природы, а именно, она представляет собой индивидуальное существо, которое по отношению к больному играет роль паразитического организма. Отношения к этому следующие: способность ассимилировать другие вещества и размножаться, что является особенностью живых существ; действие в минимальных количествах, как и у возбудителей брожений, вследствие их способности к размножению; точное, типичное протекание миазматически-контагиозных болезней. Эту обладающую индивидуальной жизнью материю, этот contagium animatum можно представить себе в виде микроскопических животных».*

«ЗОЛОТАЯ ПОРА» МИКРОБИОЛОГИИ

Середина XIX в. явилась поворотным этапом в развитии микробиологии. Она обогатилась новыми данными из физики, химии и биологии, что привело к стремительному прорыву в исследованиях микромира. Середина XIX и начало XX вв. проходят под знаком борьбы с инфекционными заболеваниями, а институты, созданные для Луи Пастёра в Париже и для Роберта Коха в Берлине, стали мировыми центрами изучения микроорганизмов и инфекционных болезней.

Луи Пастер

Всю жизнь Пастёр искал ответы на самые актуальные вопросы химии, микробиологии, эпидемиологии и патологии. Его собственное отношение к научному поиску характеризуют его же

слова: «Ничто не удаётся без предвзятых идей. Нужно лишь быть настолько благоразумным, чтобы верить только тем выводам из них, которые подтверждаются опытом. Предвзятые идеи, подчинённые контролю опыта, являются огнём, оживляющим наблюдательные науки». Заслуги Пастёра хронологизированы на мемориальной доске у входа в его первую лабораторию в *Ecole normal* (Высшая Школа, Париж): «1857 г. - брожение, 1860 г. - самопроизвольное зарождение; 1865 г.- болезни вина и пива; 1868 г.- болезни шелковичных червей; 1881 г. - зараза и вакцина; 1885 г. - предохранение от бешенства». Не лишено иронии и поучительно то обстоятельство, что в начале работ по брожению (винокурная фабрика, Лилль, 1857) Пастёр считал, что «дрожжи образуются из атмосферного воздуха». В течение последующих 20 лет Пастёр доказал, что *каждый тип брожения, сопровождающийся образованием различных основных конечных продуктов, вызывают микроорганизмы конкретного типа*. Изучая маслянокислое брожение, Пастёр обнаружил, что некоторые микроорганизмы могут жить только при отсутствии кислорода, хотя ранее этот газ считали абсолютно необходимым для поддержания любой формы жизни. На основании этих опытов в практику вошли термины «аэробный» и «анаэробный» для обозначения жизни в присутствии или отсутствии кислорода. Пастёр всегда стремился применить на практике результаты своих исследований - будь то порча вина и пива или болезнь шелковичных червей. В течение 1860-1864 гг. Пастёр разбил все аргументы оппонентов и доказал, что самостоятельного зарождения в современных условиях не существует. Совершенствуя технику стерилизации, он ввёл в практику нагревание до 120 °С в паровом котле, получившем название «автоклав». Разрабатывая методы сохранения вкусовых качеств вина и пива, Пастёр предложил нагревать их до 60-70 °С, убивая этим вегетативные клетки микроорганизмов. Ныне метод известен как пастеризация. К середине XIX в. появились сообщения о находках неких «телец» в крови животных, больных сибирской язвой (Фридрих Поллэндер, Фридрих Брауэлл и Казимир Давён). Естественно, что учёного не могли не заинтересовать вопросы инфекционной патологии человека, побудившие его сделать смелое заключение, что *«между болезнью и наличием микроорганизмов существует тесная связь»*. Выдающаяся заслуга Пастёра - создание и воспитание блестящей когорты учеников-коллег, работавших в области медицинской микробиологии: Эдгар Шамберлан, Эмиль Ру, Эдмон Нокар, Жюль Жубёр, Луи Тюйё, Виктор Бабеш, И.И. Мёчников и многие другие. В 1879 г., работая с возбудителем куриной холеры, Пастёр установил, что в определённых условиях культивирования патогенные микробы теряют вирулентность и, будучи введёнными здоровым птицам, предохраняют их от заражения. Из этого факта развилась теория аттенуации [от лат. *adtenuo, attenuatus*, ослабление]. Так появилась первая искусственная (в отличие от *дженнеровской прививки*) вакцина. В память о Джённере он назвал ослабленные (аттенуированные) бактерии *вакцинами*, а сами предохранительные прививки - *вакцинацией*. Не зная о работах Коха, Пастёр применил принципы аттенуации в отношении возбудителя сибирской язвы и создал эффективное средство вакцинопрофилактики. Затем интересы Пастёра сфокусировались на другой актуальной проблеме - изучении бешенства. После ряда неудач он установил, что болезнь передаёт невидимый инфекционный агент, способный вызывать заболевание у здоровых лабораторных животных после субдурального заражения. При перевивании возбудителя на кроликах Пастёр установил, что инкубационный период бешенства всё время сокращался и доходил до известного предела (7 сут), за которым останавливался. Такой агент, постоянно дающий самый короткий период инкубации, получил название фиксированный вирус (*virus fixe*). При этом возбудитель приобрёл выраженный тропизм к нервным тканям и, введённый внутримышечно или подкожно, «не имел силы» передвигаться по нервным стволам в головной мозг, то есть не вызывал развития бешенства, и его можно было использовать для вакцинации. Однако использование живых вакцин всегда создавало риск развития самого заболевания, поэтому много времени Пастёр потратил на поиск способов аттенуации возбудителя бешенства. Наконец, он нашёл, что если высушивать спинной мозг кролика, заражённого фиксированным вирусом, в банках с гидроксидом калия, то возбудитель постепенно теряет свою вирулентность и делается безвредным при подкожном или даже субдуральном введении. Так была создана антирабическая вакцина [от лат. *anti-*, против + *rabies*, бешенство]. Все последующие работы Пастёра и его коллег

были посвящены изучению сложных и тонких проблем патогенеза, механизмов выздоровления и выработки невосприимчивости при инфекционных заболеваниях. Эти исследования охватили большинство бактериальных инфекций и стали классикой инфекционной патологии и иммунологии. «Пастеровскую школу» прошли известные отечественные бактериологи - Н.Ф. Гамалёя, А.М. Безрёдка, М.В. Вейнберг, Г.Н. Габричевский, Н.Н. Клодн-йцкий, И.Г. Савченко, В.И. Исаев, Л.А. Тарасевич, В.А. Хавкин, П.В. Циклинская и многие другие.

Роберт Кох

Свою деятельность в качестве бактериолога Роберт Кох начал с изучения сибирской язвы, эпизоотия которой разразилась в прусском городке Вольштайне, где он работал уездным врачом. Кох помещал кусочки селезёнки заражённых мышей в висячую каплю жидкости передней камеры бычьего глаза и наблюдал рост возбудителя, спорообразование и прорастание спор. Сообщение «Этиология сибирской язвы», направленное 27 мая 1876 г. известному бактериологу и автору одной из классификаций бактерий Фердинанду Кону, произвело фурор и, несмотря на негативную позицию столпов немецкой медицины того времени (Рудольф Вирхов и Макс Петтенкофер), было признано мировым открытием. Поучительно сопоставить подходы Пастёра и Коха к решению научных проблем. Многочисленные критики и сам Кох обвиняли Пастёра в «счастливой случайности» его открытий (на что тот отвечал, что «*счастье улыбается только подготовленным умам*»). Если Пастёр нередко заменял отсутствие фактических данных высочайшей интуицией (например, при изучении брожения), то Роберт Кох педантично добивался получения всех необходимых фактов микробного происхождения инфекционных болезней. Во многом не согласный с Пастёром, он понимал, что открытие возбудителя сибирской язвы может быть подвергнуто сомнению, так как по условиям его опытов нельзя было заключить о получении действительно чистой культуры микробов. Существовавший в то время метод разведений микробных культур был трудоёмок и ненадёжен. Большие перспективы открывали наблюдения И.Шрётера о способности бактерий образовывать отдельные скопления - *колонии* на картофеле, клейстере или яичном белке. Первоначально Кох остановился на картофельных пластинках, но они имели недостатки: подвижные бактерии свободно перемещались по влажной поверхности; используемый субстрат был непрозрачным, что затрудняло изучение колоний; кроме того, не все бактерии были способны расти на картофеле. Позднее Кох стал использовать желатину, засевая её небольшим количеством бактерий, быстро и без нажима разнося его по поверхности платиновой петлёй, то есть проводя *посев штрихом*. Вскоре он отметил, что бактерии можно не рассеивать штрихом по поверхности затвердевшей желатины, а смешивать их с расплавленной и охлаждённой желатиной. После застывания желатины бактерии оказывались иммобилизованными в её толще и давали начало росту отдельных колоний (*глубинный посев*). Однако многие бактерии гидролизуют желатину, разжижая субстрат, поэтому желатину пришлось заменить свернувшейся сывороткой крови, а потом агаром. Затем бактерии из отдельных колоний Кох переносил в пробирки с желатиной, застывшей под наклоном, получая *чистые косяковые культуры*. Возможности метода выделения чистых культур на твёрдых питательных средах позволяли чётко установить этиологическую роль того или иного возбудителя и изучать его свойства, что было невозможно сделать на бульонных культурах. Поэтому все бактериологические находки, сделанные до этого, нуждались в подтверждении с выделением и исследованием чистых культур возбудителей. В дальнейшем, основываясь на опыте выделения чистых культур возбудителей, Кох разработал основные теоретические и практические принципы проведения дезинфекции. Не менее важным вкладом Коха и его коллег в практическую бактериологию стала разработка селективных питательных сред, продиктованная стремлением создать в пробирке среду, наиболее сходную с условиями пребывания патогена в тканях хозяина. В качестве основных ингредиентов были использованы *мясные настои и экстракты*, и в практику прочно вошли *питательные бульоны и агары*. Именно разработка новых, ранее неизвестных методов выделения и культивирования бактерий привела к открытию возбудителей холеры, туберкулёза и многих других патогенных микроорганизмов. В немалой степени им

способствовали усовершенствованию техники микроскопии: ахроматические объективы Амйчи, иммерсионные системы Харнака и Аббе, микровинт Шевальё и др. Сам Кох также внёс серьёзные новшества в технику микроскопирования, предложив окрашивать микроорганизмы анилиновыми красителями и разработав методы микрофотографии. Исследования специфических возбудителей позволили ему экспериментально подтвердить критерии, которые за 36 лет до этого сформулировал Яков Хёнле. В настоящее время они известны как постулаты Коха.

1. Микроорганизм обнаруживают в каждом случае конкретного предполагаемого заболевания.

2. Микроорганизм не выделяют при других болезнях как случайный и непатогенный паразит.

3. После изоляции из организма больного и выделения чистой культуры патогенный микроорганизм должен вызвать аналогичное заболевание у восприимчивого животного.

В настоящее время эта триада во многом утратила своё значение, так как мало применима по отношению к вирусным инфекциям и риккетсиозам, возбудителей которых трудно выделить из организма больного. Кроме того, постулаты Коха не обязательны в отношении некоторых болезней (например, брюшного тифа, гонореи, малярии и др.). Коха по праву считают основателем немецкой школы бактериологов (Георг Гаффки, Фридрих Лёффлер, Эмиль Бёринг, Шибасабура Китазато и др.), внёсшей огромный вклад в борьбу с инфекционными болезнями.

Асептика и антисептика

В Англии «микробную теорию» развития болезней Пастёра горячо поддержал Джозеф Лйстер, главный хирург клиники «*Royal Infirmary*» в Эдинбурге. Ознакомившись с работами по брожению, он был поражён сходством изменений бродящих органических субстратов с загниванием ран, что явно указывало на присутствие в них микроорганизмов. Для профилактики послеоперационных инфекций Лйстер ввёл в больницы жёсткие меры поддержания чистоты. В качестве дезинфицирующего и антисептического средства он предложил концентрированный раствор карболовой кислоты (50 г/ л). Им обрабатывали инструменты, мыли руки хирурги, во время операции его разбрызгивало над раной специальное устройство. Как и всё новое, «карболовое море» получило много противников и сторонников. Ничего не зная о работах Пастёра, за 5-6 лет до Лйстера карболку в хирургической практике применил Жан Лямёр, а хлорсодержащие растворы - И.В. Буяльс-кий, Н.И. Пирогов и др. Несмотря на обнадеживающие результаты, Пастёр оставался недовольным результатами антисептических мероприятий. Считая, что лучше воспрепятствовать заражению ран, он рекомендовал заменить антисептику, как *метод лечения ран*, асептикой - *методом предупреждения инфицирования ран*. Несмотря на очевидные преимущества, первая асептическая операция была проведена лишь через 15 лет в парижской клинике профессора Дельбё. Более интенсивно во Франции асептика внедрялась для профилактики «родильной горячки». Пастёр был глубоко уверен, что «врачи и акушерки передают возбудителей горячки от больных женщин к здоровым». Обнаруженный им в выделениях больных рожениц микроб имел вид бус и был назван стрептококком. Эффективность асептики в хирургических клиниках и родильных домах позволила Пастёру с коллегами сделать в Медицинской Академии сообщение «Теория о возбудителях и её применение в медицине и хирургии», получившее широкую известность.

Открытие вирусов

Изучая бешенство, Пастёр не мог обнаружить его возбудителя, но предположил наличие мелкого агента, проходящего через фильтр Шамберлана. Он предложил Н.Ф. Гамалею проверить и подтвердить это предположение на возбудителе чумы крупного рогатого скота, но Гамалею ограничился лишь констатацией факта, что заболевание вызывает мелкий фильтрующийся агент.

Подлинным открывателем мира вирусов стал Д.И. Ивановский, открывший возбудителя вирусной болезни растений (табачной мозаики). Лишь немногие учёные (И.И. Мечников, Н.Ф. Гамалея и др.) оценили важность открытия, и потребовалось шесть лет (до открытия Фридрихом Лёффлером и Паулем Фрошем возбудителя ящура и повторного выделения возбудителя табачной мозаики Мартином Бейеринком) для всеобщего принятия концепции Д.И. Ивановского о фильтрующихся ультрамелких инфекционных частицах. Затем подобные агенты стали обнаруживать при различных инфекциях. Были открыты фильтрующиеся бактерии: L-формы и микоплазмы. Однако из-за практически полного отсутствия адекватных методов исследования, дальнейшее изучение фильтрующихся агентов быстро зашло в тупик, а сами вирусы вообще представлялись некими гипотетическими агентами.

Развитие микробиологии в первой половине XX в.

К началу XX столетия был накоплен значительный объём научных данных, открывающий новые горизонты в изучении микромира. Усовершенствования уже известных бактериологических методов исследования позволили выделить новые патогенные бактерии: бледную спирохету, лептоспиры, боррелии, риккетсии, хламидии и др. Тем не менее, этот период характеризует *отсутствие адекватных методов изучения новых патогенов*, существенно тормозящее развитие микробиологии. С другой стороны, эти обстоятельства побудили «охотников за микробами» к поиску новых патогенов, и этот период можно рассматривать как время интенсивного изучения паразитических простейших. Ещё более бурно развивались теоретические и прикладные аспекты иммунологии: были выявлены гуморальные факторы и клеточные факторы резистентности организма, разработаны многие диагностические реакции (Вассерманна, Видаля, Вейля-Феликса и др.), Альберт Кальмётт и Камиль Герён предложили вакцину для профилактики туберкулёза, Гастон Рамон создал дифтерийный и столбнячный анатоксины. Широкое использование лечебных сывороток породило проблему анафилактики и иммунопатологических реакций вообще. Совершенствование знаний о структуре и функциях систем защиты организма способствовало появлению ряда теорий иммунитета, дополняющих или отвергающих фагоцитарную теорию И.И. Мечникова - изменённых антигенов (Аг) (Х. Бюхнер), боковых цепей (П. Эрлих), отпечатков (Н.Ф. Гамалея), матриц (Ф. Брэйль и Ф. Горовиц), местного иммунитета (А.М. Безредка) и др. Важной вехой этого периода явились *становление и первые сенсационные успехи химиотерапии инфекционных болезней*. Её основные принципы заложили Д.Л. Романовский и Пауль Эрлих. Позднее были синтезированы аналоги хинина, Герхард Домагк получил первые сульфаниламиды, исследования Д.Вудса р-аминобензойной кислоты положили начало новому подходу к химиотерапии - синтезу аналогов известных и необходимых метаболитов. Эпохальным событием стало открытие способности грибов рода *Penicillium* выделять антибактериальные вещества (А.Флёминг, 1928) и последующее получение (совместно с Х.У.Флори и Э.Б.Чейном) чистого пенициллина в 1941 г., что открыло эру антибиотикотерапии.

Вклад отечественных учёных в развитие микробиологии

Отечественным учёным принадлежит немало крупных достижений и открытий, вошедших в мировую сокровищницу микробиологии и стяжавших им прочную славу за пределами отечества. Одним из первых был известный ботаник Л.С. Ценковский, отнёсший бактерии к растениям и разработавший отечественную вакцину против сибирской язвы. В середине 50-х годов XIX в. он начал читать лекции о бактериях в Петербургском университете. Профессор ботаники Казанского университета Н.В. Сорокин в 1882-1886 гг. опубликовал четырёхтомное издание «Растительные паразиты человека и животных как причина заразных болезней», включавшее описание всех известных в то время бактерий. Большой вклад в становление отечественной микробиологии внёс Л.Л. Гейденрэйх, автор руководства «Методы исследования низших организмов» (1885), внедривший в практику автоклав и закрытые чашки взамен желатиновых пластинок Коха. Как нередко бывает, их называли чашками Пётри, хотя последний предложил их лишь через 2 года.

Основы химиотерапии и методы двойной окраски простейших эозином с метиле-новым синим разработал Д.Л. Романовский. Трудно в нескольких строках оценить вклад И.И. Мёчникова, отмеченный высшей наградой учёного - Нобелевской премией за 1906 г. Под его руководством велась подготовка студентов по микробиологии в Новороссийском (Одесском) университете. Его современник и ученик В.К. Высокович доказал, что попавшие в кровь бактерии депонируются в селезёнке, печени и костном мозге. Это открытие заложило основы учения о макрофагально-моноцитарной системе. Классические работы С.Н. Виноградского позволили создать представление о роли микробов в кругообороте веществ. Ему принадлежит установление роли микроорганизмов в фиксации азота, разработка метода накопительных культур, открытие автотрофии бактерий, использующих минеральные вещества в качестве источника энергии. Его ученик В.Л. Омелянский получил широкую известность своими трудами по почвенной микробиологии и учебнику «Основы микробиологии» (1909). Большой вклад в медицинскую микробиологию внесли исследования чумы и холеры Д.К. Заболотным. Именно им была создана *первая в России кафедра микробиологии* при Петербургском женском медицинском институте (1898). В 90-х годах XIX в. в Киевском университете был организован факультативный курс по бактериологии, который читали В.В. Подвысоцкий и А.Д. Павловский. Отечественная практическая медицина быстро получила большой ассортимент диагностических и лечебных сывороток, выпускаемых Харьковским (основан В.И. Недригайло-вым, Г.Л. Острияниным и др.) и Московским (основан Г.Н. Габ-ричёвским) микробиологическими институтами. В Одессе аналогичное производство было организовано крупным бактериологом и гигиенистом П.Н. Диатроптовым. В период гражданской войны и ликвидации разрухи бактериологи встали на передние рубежи отечественной медицины. Л.А. Тарасёвич организовал Государственный институт по контролю бактериальных препаратов. По инициативе Е.И. Марциновского был организован Институт тропической медицины. Н.Ф. Гамалёя, З.В. Ермольева, Г.М. Фишер и другие внесли значительный вклад в изучение бактериофагов и возможности их применения на практике. Во второй половине XX в. отечественные учёные добились крупных успехов в изучении природы патогенных вирусов. М.А. Морозов и Е.И. Турёвич разработали оригинальные методы окраски телец включений различных вирусов. Исследования Е.Н. Павловского, Л.А. Зильбера, А.К. Шубладзе, В.Д. Соловьёва, М.П. Чумакова и др. стали краеугольным камнем в формировании учения о природно-очаговых и, в первую очередь, вирусных инфекций. В Московском государственном университете впервые в нашей стране ещё в 1926 г. В.Н. Шапошников начал читать курс «Техническая микробиология». Среди многих славных имён отечественных микробиологов должны быть упомянуты П.В. Циклйнская, Ф.А. Лёш, О.О. Мочутковский, Г.Н. Минх, П.Ф. Боровский, И.Г. Савченко, А.А. Смородинцев, В.Д. Тимаков, Н.А. Красильников, Е.Н. Мишустин, П.Н. Кашкин, З.В. Ермольева, В.М. Жданов, М.П. Чумаков, С.В. Прозоровский и многие-многие другие, но о них речь пойдёт дальше.

СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ МИКРОБИОЛОГИИ

На рубеже середины столетия выход естественных наук на молекулярный уровень стимулировал дальнейшее развитие микробиологии, вирусологии и иммунологии. Создание электронного микроскопа сделало видимым мир вирусов и макромолекулярных соединений. Генетика бактерий пролила свет на когда-то запутанные проблемы их изменчивости, произвела революцию в генетике в целом, «вскормила» целую область биохимии, что привело к рождению молекулярной биологии. Именно на бактериях О. Эвери, К. Маклэод и М. МакКарти доказали роль дезоксирибо-нуклеиновой кислоты (ДНК) в передаче наследственных признаков. Расшифровка основных принципов кодирования генетической информации в ДНК бактерий, а также универсальность генетического кода бактерий и вирусов позволили установить общие молекулярно-генетические закономерности, свойственные высшим организмам. Пол Берг в 1972 г. получил *in vitro* рекомбинантную ДНК, состоящую из фрагментов разных молекул вирусной и бактериальной ДНК. Кроме того, он расшифровал геном кишечной палочки, что сделало возможными искусственное конструирование генов и пересадку отдельных генов из одних клеток

в другие. К настоящему времени методы генной инженерии используют в производстве широкого спектра биологически активных веществ (БАВ). Исследования в области молекулярной вирусологии показали способность вирусной ДНК встраиваться в геном чувствительной клетки, а также позволили идентифицировать различные вирусы на уровне их молекулярной структуры. Одновременно произошла существенная переоценка классических понятий иммунологии: возникли представления о структуре и функциях иммунной системы, объединившие концепции инфекционной и неинфекционной иммунологии. Были установлены основные популяции иммунокомпетентных клеток и их функции, выяснены закономерности развития аутоиммунных реакций и иммунной толерантности. В медицинскую практику прочно вошли понятия об иммунодефицитах и реакциях гиперчувствительности. 80-е годы завершились окончательным доказательством правоты клонально-селекционной теории генетического контроля иммунных реакций, предложенных Ф.М. Бернёттом (1957). Арсенал способов диагностики инфекционных заболеваний пополнили принципиально новые методы: иммуноферментный и радиоиммунный анализы (РИА), гибридизация нуклеиновых кислот, полимеразная цепная реакция (ПЦР) и др. Расшифровка молекулярной организации многих возбудителей инфекционных болезней, получение реком-бинантных штаммов различных патогенов, а также совершенствование методов генной инженерии позволили создать вакцины нового поколения, некоторые из которых полностью синтетические. Набор средств лечения инфекционных болезней пополнили интерферон (ИФН), интерлейкины (ИЛ), факторы роста и иммуномодуляторы. В начале XXI в. микробиология по-прежнему составляет одно из основных направлений медицины, открывая новые горизонты для различных её дисциплин. Действительно, в настоящее время отмечают «реставрацию старых патогенов» (например, возбудителей туберкулёза и сифилиса), а также практически ежегодно открывают новые виды. Спектр новых возбудителей широк и включает вирусы [например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), ханта- и астровирусы], бактерии (например, *Legionella*, *Bartonella henselae*), различные простейшие (например, *Cryptosporidium parvum*). За последние десять лет были открыты вирусы гепатита Е (1988) и С (1989), вирус венесуэльской геморрагической лихорадки (1991), новый возбудитель холеры серовара О139 (1992), вирус бразильской геморрагической лихорадки (1994), вирус герпеса типа 8, ассоциированный с саркомой Капоши (1995). Открыты новые возбудители - прионы («инфекционные белки»). Как некое стремление к монокаузализму в патологии следует рассматривать сообщения об открытиях возбудителей инфаркта миокарда, различных гепатитов и панкреатитов, болезни Уйппла (хотя многие из них ещё нуждаются в подтверждении).

ГЛАВА 2. ТИПЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Все микроорганизмы подразделяют на три группы: высшие про-тисты (водоросли, грибы, простейшие); низшие протисты (эубак-терии, археобактерии, риккетсии и сине-зелёные водоросли) и неклеточные формы (прионы, вироиды и вирусы). Лишь ничтожная их часть в процессе эволюции приспособилась к паразитизму в организмах животных и человека. Микроорганизмы, способные вызывать инфекционные заболевания у человека, разделяют на пять основных типов: прионы, вирусы, бактерии, грибы и простейшие.

ПРИОНЫ

Прионы [от англ. *proteinaceous infectious (particle)*, белковоподобная инфекционная (частица)] - белковые инфекционные агенты, приводящие к развитию летальных неврологических заболеваний (губчатых энцефалопатий). Прионовые белки выделены как инфекционное начало скрепи у овец, спонгиозной энцефалопатии крупного рогатого скота («коровье бешенство»), а у человека - куру, болезни Крейтцфельда-Якоба, синдрома Гёрстманна-Штрёйсслера-Шайнке-ра, амиотрофического лейкоспонгиоза и др. Прионы передаются ино-куляционно или алиментарным путём не только между особями одного биологического вида, но и между животными разных

видов, в том числе между животным и человеком. Нормальный прионовый белок - трансмембранный гликопротеин *PrP* - кодируется одноимённым геном, функция этого связывающего медь гликопротеина неизвестна, его экспрессия нормально происходит в различных типах клеток. После трансляции матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) полипептид *PrP^C* подвергается α-спирализации, связывается с мембранами клеток и выполняет свои функции. Мутантные формы белка называют скрепиизоформными белками *PrP^{Sc}* (так как они впервые были выделены из нервных тканей овец, погибших от скрепи) *PrP^S* вместо α-спиралей образуют структуры, устойчивые к воздействию детергентов и протеаз и формирующие амилоидоподобные нерастворимые отложения. Таким образом, патогенез прионовых болезней связан не с подавлением функций *PrP^C*, а с изменением характера укладки полипептидной цепи, то есть изменением конформации белка, и накоплением *PrP^{Sc}*. В результате формируются конгломераты в виде палочек или лент размером 25-550x11 нм. Эти прионовые формы белков устойчивы к кипячению, ультрафиолетовому (УФ) облучению, действию 70% этанола и формальдегида и сохраняются в тканях, фиксированных 10% формалином. Попадая в здоровый организм человека или животного, патологические конформеры способствуют постепенному отложению амилоидоподобных структур, в состав которых входят и нормальные белки *PrP^C* (более подробно см. главу 35).

ВИРУСЫ

Вирусы [от лат. *virus*, яд] - наименьшие по размерам агенты, имеющие геном, окружённый белковой оболочкой. Вирусы не воспроизводятся самостоятельно, они - облигатные внутриклеточные паразиты, репродуцирующиеся только в живых клетках. Все вирусы существуют в двух формах. В настоящее время известны вирусы бактерий (бактериофаги), грибов, растений и животных. Внеклеточная форма - вирион - включает в себя все составные элементы (кап-сид, нуклеиновую кислоту, структурные белки, ферменты и др.). Внутриклеточная форма - вирус - может быть представлена лишь одной молекулой нуклеиновой кислоты, так как, попадая в клетку, вирион распадается на составные элементы.

Морфология и размеры вирусов

Несмотря на внутриклеточный паразитизм, среди вирусов имеются крупные виды, соизмеримые по размерам с микоплазмами и хламидиями. Например, вирус натуральной оспы достигает 400 нм и вполне сравним с риккетсиями (300-500 нм) и хламидиями (300-400 нм). По морфологии выделяют вирус палочковидные (например, возбудитель лихорадки Эбола), пулевидные (вирус бешенства), сферические (герпесвирусы), овальные (вирус оспы), а также бактериофаги, имеющие сложную форму (рис. 2-1). При всём разнообразии конфигураций, размеров и функциональных характеристик вирусам присущи некоторые общие признаки. В общем виде зрелая *вирусная частица (вирион) состоит из нуклеиновой кислоты, белков и липидов, либо в его состав входят только нуклеиновые кислоты и белки.*

Нуклеиновые кислоты

Вирусы содержат только один тип нуклеиновой кислоты, ДНК или РНК, но не оба типа одновременно. Например, вирусы оспы, простого герпеса, Эпштейна-Барр - ДНК-содержащие, а тогавирусы, пикорнавирусы - РНК-содержащие. Геном вирусной частицы гаплоидный. Наиболее простой вирусный геном кодирует 3-4 белка, наиболее сложный - более 50 полипептидов. Нуклеиновые кислоты представлены однонитевыми молекулами РНК (исключая реовирусы, у которых геном образован двумя нитями РНК) или двухнитевыми молекулами ДНК (исключая парвовирусы, у которых геном образован одной нитью ДНК). У вируса гепатита В нити двухнитевой молекулы ДНК неодинаковы по длине.

Вирусные ДНК образуют циркулярные, ковалентно сцепленные суперспирализованные (например, у паповавирусов) или линейные двухнитевые структуры (например, у герпес- и

аденовирусов). Их молекулярная масса в 10-100 раз меньше массы бактериальных ДНК. Транскрипция вирусной ДНК (синтез мРНК) осуществляется в ядре заражённой вирусом клетки. В вирусной ДНК на концах молекулы имеются прямые или инвертированные (развёрнутые на 180°) повторяющиеся нуклеотидные последовательности. Их наличие обеспечивает способность молекулы ДНК замыкаться в кольцо. Эти последовательности, присутствующие в одно- и двухнитевых молекулах ДНК, - своеобразные маркёры вирусной ДНК.

Вирусные РНК представлены одноили двухнитевыми молекулами. Однонитевые молекулы могут быть сегментированными - от двух сегментов у аренавирусов до 11 - у ротавирусов. Наличие сегментов ведёт к увеличению кодирующей ёмкости генома. Вирусные РНК подразделяют на следующие группы: плюс-нити РНК (+РНК), минус-нити РНК (-РНК). У различных вирусов геном могут образовывать нити +РНК либо -РНК, а также двойные нити, одна из которых -РНК, другая (комплементарная ей) - +РНК.

Плюс-нити РНК представлены одиночными цепочками, имеющими характерные окончания («шапочки») для распознавания рибосом. К этой группе относят РНК, способные непосредственно транслировать генетическую информацию на рибосомах заражённой вирусом клетки, то есть выполнять функции мРНК. Плюс-нити выполняют следующие функции: служат мРНК для синтеза структурных белков, матрицей для репликации РНК, упаковываются в капсид с образованием дочерней популяции.

Минус-нити РНК не способны транслировать генетическую информацию непосредственно на рибосомах, то есть они не могут функционировать как мРНК. Однако такие РНК служат матрицей для синтеза мРНК.

Инфекционность нуклеиновых кислот. Многие вирусные нуклеиновые кислоты инфекционны сами по себе, так как содержат всю генетическую информацию, необходимую для синтеза новых вирусных частиц. Эта информация реализуется после проникновения вириона в чувствительную клетку. Инфекционные свойства проявляют нуклеиновые кислоты большинства +РНК- и ДНК-содержащих вирусов. Двухнитевые РНК и большинство -РНК не проявляют инфекционных свойств.

Капсид

Генетический материал вирусов «упакован» в специальный симметричный «футляр» - капсид [от лат. *capsa*, футляр]. Капсид представлен белковой оболочкой, состоящей из повторяющихся субъединиц. Основные функции капсида - защита вирусного генома от внешних воздействий, обеспечение адсорбции вириона к клетке, проникновение его в клетку путём взаимодействия с клеточными рецепторами. Капсид образуют одинаковые по строению субъединицы - капсомеры, организованные в один или два слоя по двум типам симметрии - *кубическому* или *спиральному*. Симметричность капсида связана с тем, что для упаковки генома требуется большое количество капсомеров, а компактное их соединение возможно лишь при условии симметричного расположения субъединиц. Формирование капсида напоминает процесс кристаллизации и протекает по принципу самосборки. Число капсомеров строго специфично для каждого вида и зависит от размеров и морфологии вирионов. Капсомеры (морфологические единицы вирусов) образуют молекулы белка - протомеры (структурные единицы). Протомеры могут быть мономерными (содержать один полипептид) либо полимерными (включать несколько полипептидов).

Нуклеокапсид

Комплекс капсида и вирусного генома называют нуклеокапсидом. Он повторяет симметрию капсида, то есть обладает спиральной либо кубической симметрией соответственно (рис. 2-2). Спиральная симметрия. В нуклеокапсиде взаимодействие нуклеиновой кислоты и белка

осуществляется по одной оси вращения. Каждый вирус со спиральной симметрией обладает характерной длиной, шириной и периодичностью нуклеокапсида. Нуклеокапсиды большинства патогенных для человека вирусов имеют спиральную симметрию (например, коронавирусы, рабдовирусы, пара- и ортомиксовирусы, буньявирусы и аренавирусы). К этой группе относят и вирус табачной мозаики. *Организация по принципу спиральной симметрии придаёт вирусам палочковидную форму.* При спиральной симметрии белковый чехол лучше защищает наследственную информацию, но требует большого количества белка, так как покрытие состоит из сравнительно крупных блоков. Кубическая симметрия. У подобных вирусов нуклеиновая кислота окружена капсомерами, образующими фигуру *икосаэдра* - многогранника с 12 вершинами, 20 треугольными гранями и 30 углами. К вирусам с подобной структурой относят аденовирусы, реовирусы, иридовирусы, герпесвирусы и пикорнавирусы. *Организация по принципу кубической симметрии придаёт вирусам сферическую форму.* Принцип кубической симметрии - самый экономичный для формирования замкнутого капсида, так как для его организации используются сравнительно небольшие белковые блоки, образующие большое внутреннее пространство, в которое свободно укладывается нуклеиновая кислота.

Двойная симметрия. Некоторые бактериофаги (вирусы бактерий) имеют двойную симметрию: головка организована по принципу кубической симметрии, отросток - по принципу спиральной симметрии.

Отсутствие постоянной симметрии. Для вирусов больших размеров (например, для поксвирусов) характерно отсутствие постоянной симметрии.

В состав нуклеокапсидов также входят внутренние белки, обеспечивающие правильную упаковку генома, а также выполняют структурную и ферментативную функции. Вирусные ферменты разделяют на вирионные и вирус-индуцированные. Первые входят в состав вирионов и участвуют в транскрипции и репликации (например, обратная транскриптаза), вторые закодированы в вирусном геноме (например, РНК-полимераза орто- и парамиксовирусов или ДНК-полимераза герпесвирусов). Вирионные ферменты также подразделяют на две функциональные группы: ферменты первой группы обеспечивают проникновение вирусных нуклеиновых кислот в клетку и выход дочерних популяций; ферменты второй группы участвуют в процессах репликации и транскрипции вирусного генома. В капсидах могут присутствовать ферменты обеих групп.

Суперкапсид

«Одетые» вирусы. Некоторые вирусы могут содержать поверх капсида особую оболочку - суперкапсид, организованный двойным слоем липидов и специфичными вирусными белками, наиболее часто образующими выросты-шипы, пронизывающие липидный бислой. Такие вирусы называют «одетыми». Образование суперкапсида происходит на поздних этапах репродуктивного цикла, обычно при отпочковывании дочерних популяций.

Липиды. Основная функция липидов - стабилизация структуры вирусов. Деградация или потеря липидов приводит к потере инфекционных свойств, так как такие вирусные частицы теряют стабильность своего состава и, соответственно, способность к заражению клеток. Состав липидов обычно зависит от характера «почкования» вирусной частицы. Например, у вируса гриппа состав липидного бислоя аналогичен таковому в клеточных мембранах. Герпес-вирусы почкуются через ядерную мембрану, поэтому набор липидов суперкапсида отражает состав липидов ядерной мембраны.

Гликопротеины входят в состав поверхностных структур суперкапсида (например, «шипов»). Сахара, входящие в состав гликопротеинов, обычно происходят из клетки-хозяина. Поверхностные белки «голых» вирусов обеспечивают взаимодействие вирусов с клеточными рецепторами и последующее проникновение в клетку путём эндоцитоза. Большинство «одетых»

вирусов имеют поверхностные специальные F-белки [от лат. *fusio*, слияние], обеспечивающие слияние вирусных суперкапсидов и клеточных мембран. Поверхностные белки - важный компонент, облегчающий проникновение вирусов в чувствительные клетки. Их характерное свойство - способность связываться с рецепторами на поверхности эритроцитов и агглютинировать их. *Способность к гемагглютинации широко используют для определения количества вирусов.*

«Голые» вирусы. Вирусы, не имеющие суперкапсида, называют «голыми». Как правило, они резистентны к действию эфира и более устойчивы к денатурации.

М-белки

Негликозилированные матричные белки (М-белки) формируют структурный слой на внутренней поверхности суперкапсида и способствуют взаимодействию его с белками нуклеокапсида, что важно на заключительных этапах самосборки вирионов (см. главу 5).

Репродукция вирусов

Вирусы не способны к самостоятельному размножению. Синтез вирусных белков и воспроизведение копий вирусного генома - необходимые условия для появления дочерней популяции - обеспечивают биосинтетические процессы клетки-хозяина. При этом белковые макромолекулы и нуклеиновые кислоты образуются отдельно, после чего происходит сборка дочерних популяций. Другими словами, для вирусов характерен дизъюнктивный (разобщённый) тип репродукции, осуществляемый при взаимодействии вируса с инфицируемой клеткой. Реализация репродуктивного цикла в существенной степени зависит от типа инфицирования клетки и характера взаимодействия вируса с чувствительной (могущей быть инфицированной) клеткой.

Характер взаимодействия «вирус-клетка»

Известны следующие типы взаимодействий «вирус-клетка»: продуктивный (образуется дочерняя популяция), интегративный (вирогения), абортивный (дочерняя популяция не образуется) и интерференция вирусов (инфицирование чувствительной клетки разными вирусами).

Продуктивное взаимодействие «вирус-клетка» чаще носит литический характер, то есть заканчивается гибелью и лизисом инфицированной клетки, что происходит после полной сборки дочерней популяции. Гибель клетки вызывают следующие факторы: раннее подавление синтеза клеточных белков, накопление токсических и повреждающих клетку вирусных компонентов, повреждение лизосом и высвобождение их ферментов в цитоплазму.

Интегративное взаимодействие, или вирогения, не приводит к гибели клетки. Нуклеиновая кислота вируса встраивается в геном клетки-хозяина и в последующем функционирует как его составная часть. Наиболее яркие примеры подобного взаимодействия - лизогения бактерий и вирусная трансформация клеток.

Абортивное взаимодействие не приводит к появлению дочерней популяции и происходит при взаимодействии вируса с покоящейся клеткой (стадия клеточного цикла G₀) либо при инфицировании клетки вирусом с изменёнными (дефектными) свойствами. Следует различать *дефектные вирусы* и *дефектные вирионы*. Первые существуют как самостоятельные виды и функционально неполноценны, так как для их репликации необходимо присутствие аденовирусов). Вторые составляют дефектную группу, формирующуюся при образовании больших дочерних популяций (например, могут образовываться пустые капсиды

либо безоболочечные нуклео-капсиды). Особая форма дефектных вирионов - псевдовирионы, включившие в капсид нуклеиновую кислоту клетки-хозяина.

Интерференция вирусов происходит при инфицировании клетки двумя вирусами. Различают гомологичную (при инфицировании клетки родственными вирусами) и гетерологичную (если интерферируют неродственные виды) интерференцию. Это явление возникает не при всякой комбинации возбудителей, иногда два разных вируса могут репродуцироваться одновременно (например, вирусы кори и полиомиелита). Интерференция реализуется либо за счёт индукции одним вирусом клеточных ингибиторов (например, ИФН), подавляющих репродукцию другого, либо за счёт повреждения рецепторного аппарата или метаболизма клетки первым вирусом, что исключает возможность репродукции второго.

Типы инфицирования клеток

По характеру взаимодействия генома вируса с геномом клетки выделяют автономное (геном вируса не интегрирован в геном клетки) и интеграционное (геном вируса интегрирован в геном клетки) инфицирование. Особую форму составляют латентное и персистирующее инфицирование.

Латентное инфицирование. ДНК некоторых вирусов (герпесвирусы, ретровирусы) может находиться в клетке вне хромосом, либо вирусная ДНК интегрируется в ядерный геном, но вирусоспецифические синтезы не происходят. Такая вирусная ДНК образует латентный про-вирус, реплицирующийся вместе с хромосомой. Подобные состояния вирусной ДНК нестабильны, возможны периодические реактивации с переходом в продуктивное взаимодействие «вирус-клетка», либо клетка трансформируется, давая начало злокачественному росту.

Персистирующее инфицирование. Некоторые РНК-вирусы могут вызывать персистирующие инфекции, проявляющиеся образованием дочерних популяций возбудителя после завершения острой фазы болезни. При этом происходит постепенное выделение вирусных частиц, но инфицированная клетка не лизируется. Нередко дочерние популяции вирионов дефектны (часто наблюдают у лиц с иммунодефицитами). Иногда такие хронические поражения протекают без клинических проявлений. В частности, вирус гепатита В способен вызывать персистирующее поражение гепатоцитов с развитием хронического гепатита; в дальнейшем возможна малигнизация клеток.

Репродуктивный цикл вирусов

Изображённые на рис. 2-3 этапы репродукции (от адсорбции вирионов до высвобождения дочерней популяции) происходят при продуктивном взаимодействии вируса с клеткой.

Адсорбция. Первая стадия репродуктивного цикла - адсорбция вириона на поверхности инфицируемой клетки. *Адсорбция происходит путём взаимодействия вириона со специфическими клеточными рецепторами.* За распознавание рецепторов ответственны белки, входящие в состав капсида либо суперкапсида. Таким образом, понятие «тропизм вирусов» объясняется специфическим взаимодействием вирусных белков с поверхностными рецепторами инфицируемой клетки. Например, полиовирус проникает в клетки центральной нервной системы (ЦНС) и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и размножается в них, так как у человека и приматов только эти клетки имеют рецепторы к белкам полиовирусов.

• Процесс адсорбции не зависит от температуры (то есть не требует энергетических затрат) и протекает в две фазы: фаза ионного притяжения обусловлена неспецифическим взаимодействием, фаза прикрепления происходит благодаря структурной гомологии либо комплементарности взаимодействующих молекул.

• Количество инфекционных вирусных частиц, адсорбированных на клетке, определяет термин «множественность заражения» (инфицирования). Обычно животная клетка содержит около 50 000 рецепторов, и её заражение носит множественный характер, то есть на клетке может сорбироваться большое количество вирионов. Тем не менее, *инфицированная вирусом клетка обычно толерантна к повторному заражению гомологичным вирусом*. Проникновение и «раздевание». «Голые» вирусы проникают в клетку путём эндоцитоза - погружения участка клеточной мембраны в месте их адсорбции. Иначе этот процесс известен как *виропексис* [вирус + греч. *p?xis*, прикрепление]. «Одетые» вирусы проникают в клетку путём слияния суперкапсида с клеточной мембраной при участии специфических F-белков (белков слияния). Кислые значения рН способствуют слиянию вирусной оболочки и клеточной мембраны. При проникновении «голых» вирусов в клетку образуются вакуоли (эндосомы). После проникновения «одетых» вирусов в цитоплазму происходит частичная депротенинизация вирионов и модификация их нуклеопротеида (*раздевание*). Модифицированные частицы теряют инфекционные свойства, в ряде случаев изменяются чувствительность к РНКазе, нейтрализующему действию антител (АТ) и другие признаки, специфичные для отдельных групп вирусов.

Теневая фаза. После депротенинизации вирусы невозможно выделить из культуры клеток. Этот этап репродукции известен как теневая фаза, или фаза эклипса [от англ. *eclipse*, затмение]. Она включает репликацию нуклеиновых кислот вируса и синтез вирусных белков. Теневая фаза не происходит при температуре 0-4 °С (исключая вирус гриппа). Различия в энергетических потребностях для теневой фазы разных групп вирусов указывают на возможное участие в этом процессе различных клеточных реакций. Теневая фаза заканчивается после образования составных компонентов вируса, необходимых для сборки дочерних популяций.

Образование дочерних вирусных частиц в заражённой клетке подразумевает необходимость трёх процессов:

- 1) экспрессия генетического материала в виде его транскрипции и последующей трансляции, что приводит к появлению вирусных белков;
- 2) синтез генетического материала вируса (репликация);
- 3) сборка из генетического материала и вирусных белков дочерних популяций.

Следует помнить, что генетическим материалом вирионов может быть либо ДНК, либо РНК (подробнее см. раздел главы 2 «Нуклеиновые кислоты»). Транскрипция

+РНК-содержащие вирусы. Функции мРНК выполняет геном (+РНК), поэтому у таких вирусов для синтеза вирусных белков (трансляция) нет необходимости в процессе транскрипции. Другими словами, у +РНК-содержащих вирусов *транскрипция отсутствует*. - РНК-содержащие вирусы и вирусы, имеющие две нити РНК. Функции мРНК выполняют транскрипты, комплементарные -РНК вириона. Поэтому у таких вирусов транскрипция существует как самостоятельный этап репродуктивного цикла. Для образования транскриптов в составе вирионов имеется собственная РНК-полимераза (транскриптаза). ДНК-вирусы. Транскрипция - самостоятельный этап репродуктивного цикла, так как геном ДНК-вирусов должен транскрибироваться для образования мРНК. Вирусы, репродуцирующиеся в ядре (например, герпес- и аденовирусы) для этой цели используют клеточную ДНК-зависимую РНК-полимеразу (транскриптазу). Вирусы, репродуцирующиеся в цитоплазме (например, поксвирусы) лишены такой способности и содержат (как и вирусы с -РНК) собственную транскриптазу. Трансляция. Термином «трансляция» называют механизмы, при помощи которых последовательность нуклеотидных оснований мРНК переводится в специфическую последовательность аминокислот в синтезируемом полипептиде. Этому процессу предшествует связывание мРНК с рибосомами. При этом (связывание мРНК и инициация трансляции) происходит «дискриминация» клеточных мРНК, и синтетические процессы на рибосомах

переходят под вирусный контроль. Вирусные геномы кодируют синтезы двух классов белков: *структурные* белки входят в состав дочерних популяций, а *неструктурные* белки обслуживают процессы репродукции, но не входят в состав дочерних популяций (ингибиторы синтеза клеточных РНК и белков, протеазы и др.).

РНК-содержащие вирусы. Поскольку вирусный геном кодирует несколько белков, то возможно два варианта трансляции: 1) каждый полипептид синтезируется отдельно от других (тога- и ретровирусы); 2) сначала образуется большой полипептид-предшественник, который в дальнейшем «нарезается» на отдельные полипептиды (пара- и ортомиксовирусы, а также рабдо-, арена- и буньявирусы). Некоторые вирусы используют оба этих механизма. Полипептиды, образующиеся при обоих вариантах трансляции, могут подвергаться посттрансляционной модификации (гликозилирование, фосфорилирование или сульфатирование).

ДНК-содержащие вирусы. В трансляционных процессах доминирует трансляция отдельных мРНК, кодирующих индивидуальные полипептиды. В отдельных случаях (например, у аденовирусов) не менее трёх белков образуются путём нарезания общего полипептида-предшественника.

Репликация. В зависимости от типа генетического материала (ДНК или РНК), образование дочерних копий геномов протекает по-разному. У ДНК-геномных вирусов репликация вирусных ДНК принципиально сходна с репликацией клеточных ДНК. Репликацию РНК-геномных вирусов осуществляют вирусные РНК-зависимые РНК-полимеразы (репликазы). Исключение составляют ретровирусы, их *+РНК служит матрицей для синтеза ДНК*. Синтез ДНК на матрице РНК осуществляет *вирусная РНК-зависимая ДНК-полимераза* (обратная транскриптаза), необходимая для переписывания информации с РНК на ДНК. Синтезируемая вирусная ДНК интегрируется в клеточный геном в форме ДНК-провируса.

Однонитевые РНК. Репликация протекает в два этапа: первый включает образование матрицы, комплементарной геному; второй - образование копий РНК с этой матрицы. При репликации *+РНК-вирусов* количество копий *-РНК* (на матрице родительской нити *+РНК*) строго контролируется, а количество копий *+РНК* (с матрицы синтезированной нити *-РНК*) не контролируется.

Двухнитевые РНК. В качестве матрицы для синтеза *+РНК* вирусные репликазы используют минус-нить РНК и наоборот. Часть молекул *-РНК* соединяется с *+РНК* и образует двухнитевую молекулу РНК, а другая часть молекул *-РНК* функционирует как матрица для синтеза мРНК.

Сборка. У просто устроенных вирусов, состоящих из нуклеиновой кислоты и нескольких белков, сборка состоит из упорядоченного взаимодействия этих молекул. У сложно устроенных вирусов сборка дочерних популяций протекает многоступенчато. Взаимодействие нуклеиновых кислот с внутренними и оболочечными белками приводит к образованию нуклеокапсидов, или сердцевин. В процессе образования «одетых» вирусов полные нуклеокапсиды упорядоченно выстраиваются с внутренней стороны клеточной мембраны под участками, модифицированными оболочечными вирусными белками (М-белками). При нарушениях процесса самосборки могут образовываться пустые капсиды либо комплексы нуклеиновых кислот с внутренними белками.

Высвобождение дочерних вирионов - конечная стадия репродуктивного цикла. Вирусы, лишённые суперкапсида, и поксвирусы обычно высвобождаются быстро; выход дочерних популяций сопровождается разрушением цитоплазматической мембраны (ЦПМ) и лизисом клетки. Вирусы, содержащие суперкапсид, высвобождаются медленнее. Модифицированные участки мембраны с заключёнными в них вирионами выпячиваются наружу и затем отпочковываются. Принцип высвобождения дочерних популяций почкованием во многом сходен с процессами, направленными на отторжение непригодного для клетки материала или обновление

клеточных мембран. При высвобождении почкованием изменённая клетка иногда может сохранять жизнеспособность.

Бактерии

Бактерии [от греч. *bacterion*, уменьш. от *baktron*, трость, посох] - представители царства *Procariotae*, включающего бактерии и сине-зелёные водоросли. Бактерии крупнее вирусов, большинство из них можно изучать светоптической микроскопией. Прокариотическая клетка меньше эукариотической, ДНК в ней не окружена ядерной мембраной, а органеллы типа митохондрий и хлоропластов отсутствуют. Клетки бактерий окружены особо организованной клеточной стенкой, имеют ограниченное число отделов (компарментов) либо вообще лишены их (рис. 2-4). Они также имеют различия в синтезе ДНК, белков и продуктов клеточной стенки (табл. 2-1). Все известные бактерии разделяют на архебактерии (то есть древние бактерии) и эубактерии (к которым относят большинство современных видов).

ГЛАВА 3. СИСТЕМАТИКА И НОМЕНКЛАТУРА

Систематика живых организмов - одна из наиболее сложных задач биологии. Систематика концентрирует все основные достижения науки - чем они более конкретны, тем более точна классификация. *Любая классификация живых организмов призвана показать степень сходства и предполагаемой эволюционной взаимосвязи* (при этом более высокие категории - ёмкие и широкие, а более низкие - конкретны и ограничены). Отличительные признаки в строении растений и животных, служившие до середины XIX в. основой систематики живых существ, видны с первого взгляда. В первую очередь, эти различия вытекают из способов питания. Животные поглощают органические вещества, перевариваемые и всасываемые в пищеварительном тракте. В упрощённом виде развитие животного мира должно обеспечивать создание всасывающих внутренних поверхностей, кои у всех и существуют - от кишечнополостных до млекопитающих. Растения имеют принципиально иное строение, обусловленное в первую очередь иным типом питания. Минеральные вещества они всасывают из почвы корневой системой, а органические - образуют сами в процессе фотосинтеза. Принципы классификации изучает особый раздел систематики - таксономия [от греч. *taxis*, расположение, порядок, + *nomos*, закон]. Все существующие классификации форм жизни весьма разнородны, ни одна из них не является полной, всеобъемлющей и принятой повсеместно. Чёткие границы мира растений и мира животных рухнули после открытия микроорганизмов. Для этого - третьего - царства живых существ Эрнста Хёккель (1866) предложил собирательное название протисты [от греч. *protistos*, первейший]. Всех их отличает более простое, чем у животных и растений, строение клетки. Высшие протисты (грибы, водоросли и простейшие) - эукариоты [от греч. *eu-*, хороший, добротный + *karyon*, ядро] - имеют морфологически обособленное ядро и митотически делятся, чем весьма напоминают растительные и животные клетки. Более просто организованную группу составляют прокариоты [от греч. *pro-*, предшествующий + *karyon*, ядро] - бактерии и сине-зелёные водоросли, чьи клетки не имеют мембраны вокруг вещества ядра. Позднее представителей микромира дополнили неклеточные формы жизни - вирусы, плазмиды, вириды и др.

Принципы классификации микроорганизмов

Базовая категория любой биологической классификации, отражающая определённую стадию эволюции отдельной популяции организмов - вид - совокупность особей с одинаковым фенотипом, дающих плодовитое потомство и обитающих в определённом ареале. Для правильного понимания значения этого термина в классификации микроорганизмов необходимо знать различия видообразования между бактериями и высшими растениями и животными с обязательным половым размножением. Для видов последних характерно наличие популяций с относительно однородным набором генов, образовавшимся в результате перекрёстного

скрещивания. Если отдельные части популяции изолировать друг от друга (например, географически), то вполне возможна их дивергентная эволюция. По прошествии определённого времени на географическую изоляцию накладывается физиологическая изоляция, приводящая к развитию отдельных частей популяции по собственному пути и образованию нового вида. В отличие от высших растений и животных, большая часть микроорганизмов не способна размножаться половым путём. Иными словами, у них отсутствуют механизмы, способные приводить к «прерывистому» видообразованию. В результате заполнения различных экологических ниш могут развиваться дивергентные эволюционные формы, но разница между ними обусловлена лишь различиями между экологическими нишами. Таким образом, определение понятия вид, как его применяют для организмов с половым размножением, нельзя полностью применять в отношении микроорганизмов. В связи с этим понятие вид для них трактуется произвольно.

Систематика микроорганизмов

Естественная (филогенетическая) систематика микроорганизмов имеет конечной целью объединение родственных форм, связанных общностью происхождения, и установление иерархического соподчинения отдельных групп. До настоящего времени отсутствуют единые принципы и подходы к объединению (или разделению) их в различные таксономические единицы, хотя для них пытаются использовать *сходство геномов как общепринятый критерий*. Очень многие микроорганизмы имеют одинаковые морфологические признаки, но различаются по строению геномов, родственные связи между ними часто бывают неясными, а эволюция многих просто неизвестна. Более того, краеугольное для каждой классификации понятие «вид» для бактерий до сих пор не имеет чёткого определения, а в ряде случаев истинное родство между бактериями может оказаться спорным, поскольку оно лишь отражает общность происхождения от одного далёкого предка. Такой упрощённый критерий, как размер, применявшийся на заре микробиологии, в настоящее время абсолютно неприемлем. Кроме того, микроорганизмы значительно различаются по своей архитектуре, системам биосинтезов, организации генетического аппарата. Их разделяют на группы для демонстрации степени сходства и предполагаемой эволюционной взаимосвязи. *Базовый признак, используемый для классификации микроорганизмов - тип клеточной организации.*

Искусственная (ключевая) систематика микроорганизмов. Более скромные задачи у искусственной систематики, объединяющей организмы в группы на основе сходства их *важнейших свойств*. Эту последнюю характеристику применяют для определения и идентификации микроорганизмов. С позиций медицинской микробиологии микроорганизмы обычно подразделяют в соответствии с влиянием, которое они оказывают на организм человека на *патогенные, условно-патогенные и непатогенные*. Несмотря на очевидную важность этого утилитарного подхода, их систематика всё же основана на принципах, общих для всех форм жизни. Для облегчения диагностики и принятия решений, касающихся лечения и прогноза заболевания, предложены *идентификационные ключи*. Сгруппированные в таком ключе микроорганизмы не всегда находятся в филогенетическом родстве, но перечисляются вместе, поскольку обладают несколькими, легко выявляемыми сходными свойствами. Разработаны разнообразные доступные и быстрые тесты, позволяющие, как минимум в общих чертах, идентифицировать выделенные от пациента микроорганизмы. В отношении бактерий наибольшее распространение нашли предложенные американским бактериологом Дэвид Бёрджи подходы к систематизации, учитывающие один или несколько наиболее характерных признаков. «Определитель бактерий Бёрджи» - характерный пример искусственной систематики. Согласно его принципам, *легко выявляемые свойства являются основой для объединения бактерий в большие группы.*

Принципы таксономии и номенклатуры микроорганизмов

Образование и применение научных названий микроорганизмов регламентируют «Международный кодекс номенклатуры бактерий», «Международный кодекс ботанической номенклатуры» (грибы), «Международный кодекс зоологической номенклатуры» (простейшие) и решения Международного комитета по таксономии вирусов. Все изменения научных названий микроорганизмов возможны лишь решениями соответствующих Международных конгрессов и Постоянных комитетов по номенклатуре.

Категории таксономической иерархии

Для микроорганизмов приняты следующие категории (таксоны) таксономической иерархии (по восходящей): Вид (*Species*) - Род (*Genus*) - Триба, или колено (*Tribus*) - Семейство (*Familia*) - Порядок (*Ordo*) - Класс (*Classis*) - Отдел (*Divisio*) - Царство (*Regnum*). При необходимости вводят категории (по восходящей): Подтриба, или подколono (*Subtribus*) - Подсемейство (*Subfamilia*) - Подпорядок (*Subordo*) - Подкласс (*Subclassis*) - Подотдел (*Subdivisio*).

Названия таксонов у микроорганизмов

Род и выше. Названия таксонов, имеющих ранг рода и выше, униномиальны (унитарны), то есть обозначаются одним словом, например *Herpesviridae* (семейство герпесвирусов).

Вид. Названия видов биномиальны (бинарны), то есть обозначаются двумя словами - названием рода и вида. Например, *Escherichia coli* (кишечная палочка). Второе слово бинарного названия вида, взятое отдельно, не имеет статуса в номенклатуре и не может быть использовано для научного обозначения микроорганизма. Исключением выступают вирусы, видовые названия которых не бинарны, т.е. включают только видовое название (например, вирус бешенства).

Инфравидовые таксоны. Систематика бактерий включает также внутривидовые таксоны, названия которых не подчиняются правилам «Международного кодекса номенклатуры бактерий».

Подвид. Названия подвидов тринoминальны (тринарны); для их обозначения применяют слово подвид (*subspecies*) после видового названия, например *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae* (палочка озены, где *ozaenae* - название подвида).

Вариант. Разнообразные механизмы изменчивости бактерий приводят к определённой нестабильности признаков, совокупность которых определяет тот или иной вид. Поэтому в систематике бактерий широко применяют понятие «вариант». Различают морфологические, биологические, биохимические, серологические и многие другие варианты. В медицинской бактериологии обычно выделяют серологические варианты (серовары), варианты, устойчивые к антибиотикам (резистенсвары), бактериофагам (фаговары), а также варианты, различающиеся по биохимическим (хемовары), биологическим или культуральным признакам (биовары). Например, *Vibrio cholerae* биовар *Eltor* (холерный вибрион Эль-Тор) или *Escherichia coli* серовар O157:H7 (представитель группы энтерогеморрагических кишечных палочек).

Штамм и клон. В микробиологии также применяют специализированные термины - «штамм» и «клон». Штаммом [от нем. *stammen*, происходить] называют культуру микроорганизмов, выделенную из определённого конкретного источника (какого-либо организма или объекта окружающей среды). Клоном [от греч. *klon*, отводок] называют культуру микроорганизмов, полученную из одной материнской клетки. Например, вирус гриппа А (H3N2) штамм Ленинград 34/72.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ ВИРУСОВ

Вирусы отнесены к царству *Vira*. В основу их классификации положен тип нуклеиновой кислоты, образующей геном. Соответственно выделяют рибовирусы (РНК-вирусы) и дезоксирибовирусы (ДНК-вирусы). Для вирусов предложены следующие таксономические категории (по восходящей): Вид (*Species*) - Род (*Genus*) -Подсемейство (*Subfamilia*) - Семейство (*Familia*). Но категории подсемейств и родов разработаны не для всех вирусов. Видовые названия вирусов обычно связывают с вызываемыми ими заболеваниями (например, вирус бешенства) либо по названию места, где они были впервые выделены (например, вирусы Коксаки, вирус Эбола). Если семейство включает большое количество видов, то видовые названия дают в соответствии с антигенной структурой и разделяют их на типы (например, аденовирус 32 типа или вирус герпеса 1 типа). Реже используют фамилии учёных, впервые их выделивших (например, вирус Эпштейна-Барр или вирус саркомы Рауса). Иногда используют устаревшие названия групп вирусов, отражающих их уникальные эпидемиологические характеристики (например, арбовирусы). Классификационные признаки патогенных для человека вирусов приведены в табл. 3-1.

К вирусам отнесены вириды [от *virus* и греч. *eidos*, сходство] - мелкие кольцевые однонитевые суперспирализованные молекулы РНК (аналогичную организацию имеет геном вируса гепатита D). Поскольку у виридов нет белковой оболочки, они не проявляют выраженных иммуногенных свойств, и поэтому их нельзя идентифицировать серологическими методами. Вириды вызывают заболевания у растений. В качестве безымянного таксона в царство *Vira* также включены и прионы.

Основные критерии таксономической классификации вирусов

При систематизировании вирусов выделяют следующие основные критерии: сходство нуклеиновых кислот, размеры, наличие или отсутствие суперкапсида, тип симметрии нуклеокапсида, характеристика нуклеиновых кислот (молекулярная масса, тип кислоты (ДНК или РНК), полярность [плюс или минус], количество нитей в молекуле либо наличие сегментов, наличие ферментов), чувствительность к химическим агентам (особенно к эфиру), антигенная структура и иммуногенность, тропизм к тканям и клеткам, способность образовывать тельца включений. Дополнительный критерий - симптоматология поражений: способность вызывать генерализованные поражения либо инфекции с первичным поражением определённых органов (нейроинфекции, респираторные инфекции и др.).

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ БАКТЕРИЙ

Для идентификации и систематизации бактерий применены критерии, отражающие особенности их физиологии, морфологии, антигенных и других свойств.

Морфологические и тинкториальные свойства

Наиболее общие критерии для важных с медицинской точки зрения бактерий: величина, форма, агрегация (образование нитей, тетрад, пакетов), наличие капсулы, эндоспор, жгутиков, пигментов и способность окрашиваться красителями (то есть тинкториальные свойства). Наиболее распространена окраска по Граму - простое по технике выполнения окрашивание, основанное на способности воспринимать и удерживать внутри клетки красящий комплекс генцианового фиолетового с йодом либо терять его после обработки этанолом. Грамположительные бактерии хорошо удерживают комплекс генцианового фиолетового с йодом и устойчивы к обесцвечиванию спиртом. После обработки фуксином они окрашиваются в фиолетово-пурпурный цвет. Грамотрицательные бактерии обесцвечиваются спиртом, то есть теряют комплекс генцианового фиолетового с йодом, и хорошо поглощают фуксин. В мазках они окрашиваются в малиново-красный цвет

Кислотоустойчивые бактерии. Клеточная стенка некоторых бактерий содержит большое количество липидов и восков, делающих их устойчивыми к последующему после окрашивания

обесцвечиванию кислотами, щелочами или этанолом (например, виды *Mycobacterium* или *Nocardia*). Подобные бактерии называют кислотоустойчивыми, их трудно окрашивать по Граму (хотя кислотоустойчивые бактерии рассматривают как грамположительные). Для их окраски применяют метод Цйля-Нильсена.

Окрашивание по Граму или Цйлю-Нильсену имеет диагностическую ценность в отношении бактерий, обладающих прочной клеточной стенкой. Они неприемлемы для окраски микоплазм (нет клеточной стенки) или спирохет (клеточная стенка тонкая и легко разрушается при окрашивании). Для изучения последних применяют различные методы нанесения на их поверхность контрастных субстратов (например, серебрение).

Подвижность

Важным дифференцирующим признаком является подвижность. В соответствии со способом передвижения выделяют скользящие бактерии, перемещающиеся за счёт волнообразных сокращений тела, и плавающие бактерии, движение которых обеспечивают жгутики или реснички.

Способность к спорообразованию

Для классификации некоторых бактерий учитывают их способность к спорообразованию, размеры спор и их расположение в клетке.

Физиологическая активность

Физиологическая активность является не менее важным отличительным признаком. Бактерии разделяют по способу питания, по типу получения энергии (дыхание, брожение, фотосинтез), по отношению к рН с указанием пределов устойчивости и оптимума роста и т.д. Наиболее важным критерием считают отношение к кислороду.

Аэробные бактерии используют молекулярный O_2 в качестве конечного акцептора электронов в процессе дыхания (см. главу 4). Большинство бактерий обладают связанной с мембраной цитохром-С-оксидазой, играющей ведущую роль в электронотранспортной цепи. Для выявления фермента применяют оксидазный тест, основанный на способности бесцветного вещества $^{\wedge}$ диметил-р-фенилендиамина приобретать при восстановлении малиновый цвет.

Анаэробные бактерии не утилизируют молекулярный O_2 в качестве конечного акцептора электронов. Подобные бактерии получают энергию либо в процессе брожения, где конечными акцепторами электронов служат органические соединения, либо при анаэробном дыхании, используя отличный от кислорода акцептор электронов (например, NO^- , SO_4^{2-} или Fe^{3+}).

Факультативные бактерии могут получать энергию либо в процессе дыхания, либо при брожении в зависимости от наличия или отсутствия кислорода в окружающей среде.

Биохимические свойства

Для дифференцировки бактерий изучают их способность ферментировать углеводы, образовывать различные продукты (сероводород, индол) или гидролизовать белки.

Антигенные свойства

Антигенные свойства различных бактерий специфичны и связаны с особенностями строения клеточных структур, распознаваемых специальными антисыворотками как антигенные детерминанты. Типирование бактерий по антигенной структуре проводят в реакции агглютинации (РА), смешивая каплю антисыворотки с каплей бактериальной суспензии. При положительной реакции появляются отдельные агрегированные комочки в исходно однородной бактериальной суспензии. Выделяют следующие типы Аг:

- родоспецифичные, выявляемые у всех представителей конкретного рода, включая отдельные штаммы;
- видоспецифичные, выявляемые у отдельных видов и штаммов микроорганизмов;
- сероваро- (штаммо-) специфичные, выявляемые у представителей различных подгрупп (штаммов) внутри конкретного вида.

Чувствительность к бактериофагам

Поскольку вирусы бактерий взаимодействуют только с чувствительными бактериями, то в ряде случаев для дифференцировки бактерий применяют их чувствительность к бактериофагам.

Химический состав

Важный классификационный признак - суммарный химический состав бактериальных клеток. Обычно определяют содержание и состав сахаров, липидов и аминокислот в клеточных стенках.

Генетическое родство

Для филогенетической классификации бактерий лучший и наиболее информативный показатель - генетическое родство. При систематизации бактерий на основании генетического родства учитывают ряд показателей.

- Способность обмениваться генетической информацией (например, в процессе трансформации или конъюгации), возможной только между организмами одного рода или вида.
- Состав оснований ДНК (отношение гуанин-цитозин : аденин-тимин).
- Сходство нуклеиновых кислот, выявляемое методом гибридизации.
- «Золотой стандарт» в определении степени родства среди бактерий - установление сходства в последовательности нуклеиновых кислот. Однако в результате обмена генетической информацией генотип бактерий может существенно изменяться, поэтому подобный подход к систематике оказывается на практике неудобным.

Принципы систематизации бактерий в определителе Берджи

Определитель Бёрджи систематизирует все известные бактерии по нашедшим в практической бактериологии наибольшее распространение принципам идентификации бактерий, основанным на различиях в строении клеточной стенки и отношении к окраске по Граму. *Определитель выделяет четыре основных категории бактерий - Gracillicutes* [от лат. *gracilis*, изящный, тонкий, + *cutis*, кожа] - виды с тонкой клеточной стенкой, окрашивающиеся грамотрицательно; *Firmicutes* [от лат. *firmus*, крепкий, + *cutis*, кожа] - бактерии с толстой клеточной стенкой, окрашивающиеся грамположительно; *Tenericutes* [от лат. *tener*, нежный, + *cutis*, кожа] - бактерии, лишённые клеточной стенки (микоплазмы и прочие представители класса *Mollicutes*) и *Mendosicutes* [от лат. *mendosus*, неправильный, + *cutis*, кожа] - архебактерии (метан- и сульфатредуцирующие, галофильные, термофильные и архебактерии, лишённые клеточной стенки). Описание бактерий даётся по группам (секциям), в состав которых включены семейства, роды и виды; в некоторых случаях в состав групп входят классы и порядки. Патогенные для человека бактерии входят в небольшое число групп.

Группа 1. Спирохеты. Включает свободноживущие и паразитические виды; для человека патогенны представители родов *Treponema*, *Borrelia* и *Leptospira*.

Группа 2. Аэробные и микроаэрофильные подвижные извитые и изогнутые грамотрицательные бактерии. Патогенные для человека виды входят в роды *Campylobacter*, *Helicobacter* и *Spirillum*.

Группа 3. Неподвижные (редко подвижные) грамотрицательные бактерии. Не содержит патогенные виды.

Группа 4. Грамотрицательные аэробные и микроаэрофильные палочки и кокки. Патогенные для человека виды включены в состав семейств *Legionellaceae*, *Neisseriaceae* и *Pseudomonadaceae*; в группу входят также патогенные и условно-патогенные бактерии родов *Acinetobacter*, *Afipia*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Brucella*, *Flavobacterium*, *Francisella*, *Kingella* и *Moraxella*.

Группа 5. Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки. Группа образована тремя семействами - *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* и *Pasteurellaceae*, каждое из которых включает патогенные виды, а также патогенные и условно-патогенные бактерии родов *Calymmatobacterium*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Gardnerella* и *Streptobacillus*.
Группа 6. Грамотрицательные анаэробные прямые, изогнутые и спиральные бактерии. Патогенные и условно-патогенные виды входят в состав родов *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* и *Prevotella*.

Группа 7. Бактерии, осуществляющие диссимиляционное восстановление сульфата или серы.

Не включает патогенные виды. Группа 8. Анаэробные грамотрицательные кокки. Включает условно-патогенные бактерии рода

Veillonella.

Группа 9. Риккетсии и хламидии. Три семейства - *Rickettsiaceae*, *Bartonellaceae* и *Chlamydiaceae*, каждое из которых содержит патогенные для человека виды. Группы 10 и 11 включают аноксигенные и оксигенные фототрофные бактерии, не патогенные для человека.

Группа 12. Аэробные хемолитотрофные бактерии и родственные организмы. Объединяет серо-, железо- и марганецокисляющие и нитрифицирующие бактерии, не вызывающие поражения у человека.

Группы 13 и 14 включают почкующиеся и/или обладающие выростами бактерии и бактерии, образующие футляры. Представлены свободноживущими видами, не патогенными для человека.

Группы 15 и 16 объединяют скользящие бактерии, не образующие плодовые тела и образующие их. Группы не включают виды, патогенные для человека.

Группа 17. Грамположительные кокки. Включает условно-патогенные виды родов *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus* и *Streptococcus*.

Группа 18. Спорообразующие грамположительные палочки и кокки. Включает патогенные и условно-патогенные палочки родов *Clostridium* и *Bacillus*.

Группа 19. Споронеобразующие грамположительные палочки правильной формы. Включает условно-патогенные виды родов *Erysipelothrix* и *Listeria*.

Группа 20. Споронеобразующие грамположительные палочки неправильной формы. В состав группы входят патогенные и условно-патогенные виды родов *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Gardnerella*, *Mobiluncus* и др.

Группа 21. Микобактерии. Включает единственный род *Mycobacterium*, объединяющий патогенные и условно-патогенные виды.

Группы 22-29. Актиномицеты. Среди многочисленных видов лишь нокардиоформные актино мицеты (группа 22) родов *Gordona*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Tsukamurella*, *Jonesia*, *Oerskovia* и *Terrabacter* способны вызывать поражения у человека.

Группа 30. Микоплазмы. Патогенны для человека виды, включённые в состав родов *Acholeplasma*, *Mycoplasma* и *Ureaplasma*.

Остальные группы - метаногенные бактерии (31), сульфатредуцирующие бактерии (32), экстремально галофильные аэробные архебактерии (33), архебактерии, лишённые клеточной стенки (34), экстремальные термофилы и гипертермофилы, метаболизирующие серу (35)- не содержат патогенные для человека виды.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ ГРИБОВ

Грибы отнесены к царству *Fungi* (*Mycota*), подразделяемому на отделы *Mухomycota* (грибы-слизевики) и *Eumycota* (истинные грибы). Истинные грибы, гифы которых не имеют перегородок, известны как низшие грибы. К ним относят классы *Chytridiomycetes*, *Hyphochytridiomycetes*, *Oomycetes*, *Zygomycetes*. Представители классов *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* и *Deuteromycetes* - высшие грибы, т.к. их гифы имеют перегородки-септы. К ним относят подавляющее большинство видов, вызывающих заболевания у человека.

Зигомицеты [от греч. *zygon*, сочленение, + *mykes*, гриб] представлены быстрорастущими видами, обычно обитающими в почве. При культивировании *in vitro* образуют обильный сероватый или белый воздушный мицелий. Их гифы не имеют перегородок либо септированы частично. Размножаются половым и бесполом путём (см. рис. 2-10, 2-11). Бесполое размножение реализуется через образование спорангиофоров со спорангиями. Половое размножение приводит к образованию зигот - зигоспор. Поражения человека носят выраженный оппортунистический характер. Их возбудителями могут быть представители родов *Absidia*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Entomophthora*, *Conidiobolus* и *Basidiobolus*.

Аскомицеты [от греч. *askos*, сумка, + *mykes*, гриб] получили своё название из-за наличия основного органа плодоношения - сумки, содержащей 4 или 8 гаплоидных половых аскоспор. Гифы имеют выраженные перегородки. Размножаются половым (через образование аскоспор) и бесполом (через формирование конидий) путём. К аскомицетам относят и дрожжи - одноклеточные грибы, утратившие способность образовывать мицелий. Возбудителям микозов человека выступают *Pseudoallescheria boydii* и представителей родов *Geotrichum*, *Microsporium* и *Trichophyton*.

Базидиомицеты [от греч. *basidon*, маленькая основа, + *mykes*, гриб] имеют характерный орган спороношения - базидий. Последний состоит из вздутой терминальной клетки, расположенной на тонком стебле. На базидии путём мейотического деления развиваются, отшнуровываясь от него, базидиоспоры. Единственным патогеном для человека видом выступает *Filobasidiella neoformans* (половая форма *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*).

Дейтеромицеты [от греч. *deuteros*, вторичный, + *mykes*, гриб] не образуют настоящую филогенетическую группу, а выступают в качестве таксономической «свалки», куда помещают виды, у которых половая (совершенная) стадия размножения отсутствует либо не выявлена. Их классификация основана на формах спороношения или других внешних признаках и служит

только практическим целям. Для них установленным считают лишь бесполое размножение, поэтому дейтеромицеты также известны как несовершенные грибы (*Fungi imperfecti*). По морфологическим признакам большинство дейтеромицетов сходно с аскомицетами. Большая часть возбудителей микозов человека входит в группу несовершенных грибов.

Кодекс названий грибов

Кодекс названий грибов содержит положения, предусматривающие присвоение отдельных наименований совершенной (половой, или сумчатой) и несовершенной (бесполой, или конидиальной) стадиям. У многих грибов известны бесполое стадии (анамбрфы) стадии и неизвестны половые стадии (телеомбрфы). Поэтому кодекс разрешает давать различным стадиям (если таковые есть) различные названия. Например, половые формы дрожжевого гриба *Cryptococcus neoformans* сероваров А и D систематизируют как *Filobasidella neoformans* var. *neoformans* либо как *C. neoformans* var. *neoformans*. Телеоморфы сероваров В и С - как *Filobasidella neoformans* var. *bacillispora* либо как *C. neoformans* var. *gatti*.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМАТИКИ ПРОСТЕЙШИХ

Простейшие включены в царство *Animalia*, подцарство *Protozoa*, разделённое на 7 типов. Виды, патогенные для человека, входят в состав трёх типов - *Sarcomastigophora*, *Apicomplexa* и *Ciliophora*. Всего насчитывают около 30 000 видов простейших, среди которых около 7000 видов патогенны для различных растений, животных и человека.

Тип *Sarcomastigophora* [от греч. *sarx*, плоть, + *mastix*, бич, + *phoros*, носить] включает подтипы *Sarcodina* и *Mastigophora*.

Подтип *Sarcodina* [от греч. *sarkodes*, мясистый] включает живущих свободно простейших - амёб, передвигающихся за счёт образования выростов цитоплазмы - ложноножек-псевдоподий. Размножаются делением, способны образовывать цисты. Включает патогенные виды, поражающие кишечник (*Entamoeba histolytica*) и органы ЦНС (*Naegleria fowleri* и виды *Acanthamoeba*).

Подтип *Mastigophora* [от греч. *mastix*, бич + *phoros*, носить]. Характерная особенность - наличие одного или нескольких жгутиков. Принципиальное отличие жгутиков простейших от жгутиков бактерий заключается в наличии кинетопласта - особой органеллы, расположенной у основания жгутика и вырабатывающей энергию для его движения. У некоторых видов движение обеспечивает ундулирующая мембрана - тонкая гребнеобразная перепонка, продольно соединяющая жгутик с телом простейшего. В организме человека обитают многочисленные представители жгутиковых, но патогенные виды входят в состав лишь четырёх родов - *Trichomonas*, *Giardia*, *Leishmania* и *Trypanosoma*.

Тип *Ciliophora* [от лат. *cilium*, ресница] включает так называемые ресничные инфузории, имеющие реснички, с помощью которых они передвигаются. Размножаются путём деления, но также способны к конъюгации. В неблагоприятных условиях образуют цисты. Среди всех видов, обитающих в кишечнике человека, безусловно патогенное значение имеет лишь *Balantidium coli* - самый крупный представитель паразитических простейших человека.

Тип *Apicomplexa* [от лат. *apex*, *apicis*, конец, вершина, + *complexus*, сотканный вместе]. Тип составляют только паразитические виды, колонизирующие организмы позвоночных и беспозвоночных животных. Для них характерны как исключительно половой путь развития, так и чередование полового и бесполого поколений, обычно связанное с переменой хозяев. Своим названием обязаны способности образовывать скопления клеток, защищённые общей плотной оболочкой. Нередко эти клетки условно называют спорами (отсюда название класса споровики - *Sporozoa*). Помимо споровиков, тип включает подклассы *Coccidia* и *Piroplasma*.

ГЛАВА 4. ОБЩАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

В этой главе рассмотрены морфология и химический состав бактерий (раздел «Анатомия бактериальной клетки»), а также их физиология (включая энергетический метаболизм) и генетика.

АНАТОМИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Один из основных признаков прокариотической клетки - *отсутствие внутреннего разделения, обеспечиваемого элементарными мембранами*. По сути, единственная мембранная система прокариотической клетки - ЦПМ, входящая в состав клеточной оболочки, часто сложно устроенная и проникающая поперечными складками глубоко в цитоплазму. В составе любой стабильной бактериальной клетки выделяют *условные компартменты* поверхностные структуры, клеточную оболочку и цитоплазму.

Поверхностные структуры

Основные поверхностные структуры бактериальной клетки - капсула, жгутики и микроворсинки. Их наличие - относительно стабильный признак, используемый для идентификации бактерий.

Капсула

Клеточную оболочку многих бактерий окружает слой аморфного, сильно обводнённого вещества. Этот «покров» выполняет важные функции: делает оболочку клетки (состоящей из клеточной стенки и ЦПМ) более плотной и прочной, предохраняет бактерии от воздействия бактерицидных факторов, обеспечивает адгезию на различных субстратах, может содержать запасы питательных веществ.

Организация капсул. Основную роль в организации капсул бактерий играет ЦПМ. Выделяют *микрочапсулы* (выявляемые только при электронной микроскопии в виде слоя мукополисахаридных микрофибрилл) и *макрочапсулы* (обнаруживают при световой микроскопии). У некоторых бактерий полимеры клеточной оболочки, выделяемые наружу, свободно располагаются вокруг неё, образуя *слизистый слой*. Капсулированные бактерии могут превращаться в бескапсульные варианты и, поскольку первые образуют мукоидные или гладкие (S), а бескапсульные - шероховатые (R) колонии, это явление известно как S- и R-диссоциация. Капсула и слизистый слой не препятствуют поступлению и выходу различных веществ из бактериальной клетки, а также плохо удерживают красители.

Окраска капсул. Для облегчения микроскопирования капсулы можно сделать видимыми, проведя негативную окраску мазка по Бурри-Гйнсу или Хиссу либо с помощью реакции набухания по Нойфельду (см. ниже).

Состав капсул. В состав большинства бактериальных капсул входят *сложные полисахариды*. Капсулы также могут содержать *соединения азота* (например, у пневмококков капсула состоит из полисахаридов, глюкозамина и глюкуроновой кислоты), но могут и не содержать азот (например, капсулы лейконостоков состоят из декстрана, левулана, фруктозана и других полимеризованных моносахаров). Капсулы некоторых болезнетворных бактерий (например, *Bacillus anthracis*) формируют *полисахариды и полипептиды*, образованных мономерами D-глутаминовой кислоты. Поскольку D-аминокислоты устойчивы к воздействию протеаз, такая капсула лучше защищает бактерию от ферментативных воздействий фагоцитов.

Антигенные свойства. Капсульные Ag (K-Ag) многих патогенных бактерий проявляют выраженные иммуногенные свойства (например, вакцины против пневмококковых и менингококковых инфекций готовят из материала капсуга). Связывание АТ с капсулой изменяет её

светопреломляющие характеристики, вызывая кажущееся набухание капсулы, видимое при соответствующих условиях освещения под микроскопом и известное как *реакция Ндйфельда*.

Жгутики

По характеру движения подвижные бактерии разделяют на плавающие и скользящие (ползающие). Орган движения плавающих бактерий - жгутики; подвижность скользящих бактерий обеспечивают волнообразные сокращения тела. *Расположение жгутиков - характерный признак, имеющий таксономическое значение*. Варианты расположения жгутиков приведены на рис. 4-1. У некоторых бактерий жгутики расположены по всей поверхности клеточной стенки (например, у бактерий рода *Proteus*), такие бактерии известны как перитрихи [от греч. *peri-*, вокруг, + *trichos*, волос]. Некоторые бактерии снабжены только одним толстым жгутиком (например, представители рода *Vibrio*), они известны как монотрихи. Политрихи - бактерии, имеющие одиночный по виду жгутик, образованный пучком из 2-50 жгутиков. Полярные жгутики прикреплены к одному или обоим концам бактерии. Монополярно-политрихальное расположение жгутиков имеют лопотрихи [от греч. *lophos*, пучок, + *trichos*, волос], к ним, например, относят представителей рода *Pseudomonas*. Биполярно-политрихальное жгутикова-ние имеют амфитрихи [от греч. *amphi-*, двухсторонний, + *trichos*, волос] (например, бактерии рода *Spirillum*).

Жгутик - спирально изогнутая полая нить, образованная субъединицами флагеллина. У разных бактерий толщина жгутиков варьирует от 12 до 18 нм, что составляет не более 1/10 диаметра жгутиков водорослей и простейших. Жгутики также различают по длине и диаметру витка. Место прикрепления жгутика к бактериальной клетке имеет сложное строение и состоит из *базальной структуры* и так называемого «крюка» (рис. 4-2). У грамположительных бактерий в состав базальной структуры входит одна пара, а у грамотрицательных бактерий две пары колец. Кольца играют роль «приводного диска» и «подшипника». Вся конструкция выполняет функцию хемомеханического преобразователя (*флагелли-новый мотор*). У спирохет за движение ответственна особая органелла - *осевая нить*, состоящая из двух рядов бактериальных жгутиков, расположенных продольно внутри клетки.

Бактериальные жгутики совершают поступательные и вращательные движения, проталкивая бактерии через среду подобно корабельному винту. Они также могут изменять направление вращения и тянуть клетку подобно пропеллеру. Скорость обратного движения в четыре раза меньше скорости поступательного движения. Некоторые перитрихи могут перемещаться по поверхности агара, то есть *плавающие бактерии способны к передвижению по поверхности твёрдых сред*. В частности, *Proteus vulgaris* распространяется по поверхности агара, образуя тонкий налёт (напоминающий таковой при выдохе на холодное стекло), а неподвижные штаммы протея лишены такой способности. Это явление получило название «феномен роения», а наблюдение за ним легло в основу некоторых понятий бактериальной серодиагностики. Так, *жгутиковые Ag называют H-Ag* [от нем. *Hauch*, выдох, налёт], а *Ag клеточной поверхности - O-Ag* [от нем. *ohne Hauch*, без налёта].

Способность бактерий к целенаправленному движению генетически обусловлена. Например, у *Escherichia coli* в регуляцию этого процесса вовлечено 3% генома (приблизительно 50 генов). Эти гены кодируют белки, образующие локомоторный аппарат, а также белки и ферменты, участвующие в преобразовании сигналов.

Для жгутикового аппарата характерна периодическая изменчивость. Во многом этот процесс носит адаптивный характер и наиболее выражен у патогенных микроорганизмов. В частности, некоторые бактерии выработали систему варибельности антигенных характеристик жгутиков, позволяющую им на какое-то время избегать направленных эффектов защитных иммунных механизмов.

Лабораторная диагностика. Подвижность бактерий определяют микроскопией препаратов в «раздавленной» или «висячей» капле. Способность к движению можно определять также после внесения культуры бактерий уколом в столбик полужидкого агара (подвижные виды растут по всей толще среды, неподвижные - по уколу) или посевом бактерий в водный конденсат скошенного столбика агара (подвижные виды переплывают из конденсата на поверхность среды и колонизируют её), либо определяют способность бактерий давать «феномен роения».

Микроворсинки

Помимо жгутиков, поверхность многих бактерий покрыта цитоплазматическими выростами - микроворсинками. Обычно это волоски (числом от 10 до нескольких тысяч) толщиной 325 нм и длиной до 12 мкм. Микроворсинки встречаются как у подвижных, так и у неподвижных бактерий. Эти выросты способствуют увеличению площади поверхности бактериальной клетки, что даёт ей дополнительные преимущества в утилизации питательных веществ из окружающей среды. Известны специализированные микроворсинки - фимбрии и пили. Фимбрии [от лат. *fimbria*, бахрома]. Многие грамотрицательные бактерии имеют длинные и тонкие микроворсинки, пронизывающие клеточную стенку. Образующие их белки формируют спиралевидную нить. Основная функция фимбрий - *прикрепление бактерий к субстратам* (например, к поверхности слизистых оболочек), что делает их важным фактором колонизации и патогенности. F-пили [от англ. *fertility*, плодовитость, + лат. *pilus*, волосок], или «секс-пили», - жёсткие цилиндрические образования, участвующие в конъюгации бактерий. Пили впервые обнаружены у *Escherichia coli* K12, то есть у штаммов, содержащих F-фактор (см. раздел «Плазми-ды»). Обычно клетка снабжена 1-2 пилями, имеющими вид полых белковых трубочек длиной

0,5-10 мкм; нередко они имеют шаровидное утолщение на конце. Большинство F-пилей образует специфический белок - пилин. Образование пилей кодируют плазмиды. Их идентифицируют с помощью донорспецифических бактериофагов, адсорбирующихся на пилях и лизи-рующих клетки.

Клеточная оболочка

У большинства бактерий клеточная оболочка состоит из клеточной стенки и находящейся под ней ЦПМ. С долей условности клеточную оболочку можно назвать «живой кожей» бактерий в противоположность «мёртвому веществу» капсулы. Клеточную оболочку можно сравнить с тонкой и эластичной, но в то же время прочной крышкой футбольного мяча. Как мячу придаёт упругость хорошо накачанная футбольная камера, так и клеточной стенке бактерий дополнительную упругость придаёт внутреннее (тургорное) давление цитоплазмы, способное достигать у грамположительных бактерий 30 атм. Некоторые бактерии в качестве наружного слоя клеточной стенки дополнительно имеют внешнюю мембрану-гликокаликс. Гликокаликс [от греч. *glykys*, сладкий, + *Icalyx*, раковина] образован переплетением полисахаридных волокон (декстраны и леваны). Его не обнаруживают при выращивании на искусственных питательных средах. Основная функция гликокаликса - адгезия к различным субстратам. Например, благодаря гликокаликсу *Streptococcus mutans* способен прочно прикрепляться к зубной эмали.

Клеточная стенка

Основные функции клеточной стенки следующие.

- Клеточная стенка защищает бактерии от внешних воздействий, придаёт им характерную форму, поддерживает постоянство внутренней среды и участвует в делении.
- Через клеточную стенку бактерий осуществляется транспорт питательных веществ и выделение метаболитов.

- На поверхности клеточной стенки располагаются рецепторы для бактериофагов, бактериоцинов и различных химических веществ.

- Структура и состав элементов клеточной стенки определяет антигенную характеристику бактерий (по структуре O- и Vi-Ag).

- Клеточная стенка способна по-разному воспринимать красители; на этом основаны тинкториальные свойства бактерий.

- Нарушение синтеза компонентов клеточной стенки приводит к гибели бактерии или образованию L-форм.

Пептидогликан. Опорный каркас клеточной стенки бактерий - пептидогликан (муреин) - гетерополимер, состоящий из повторяющихся дисахаридных групп, соединённых поперечными и боковыми цепочками (рис.4-3). «Остов» молекулы пептидогликана - дисахарид. Его образуют N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамовая кислота, соединённые через р-гликозидные связи. К молекуле N-ацетилмурамовой кислоты присоединяются олигопептиды, образующие боковые цепочки.

Связывание фрагментов пептидогликана заключается в образовании пептидной связи между терминальным остатком аминокислотного мостика (D-аланином) с предпоследним остатком примыкающего аминокислотного мостика (L-лизином или диаминопимелиновой кислотой в зависимости от вида бактерии). Боковые мостики образуют четыре аминокислоты, поперечные (вертикально связывающие слои пептидогликана) - пять аминокислот. В состав боковых мостиков также входят уникальные аминокислоты, присутствующие только у прокариот, например, диаминопимелиновая кислота (у большинства грамотрицательных бактерий) и D-изомеры глутаминовой кислоты и аланина. Эти соединения - «ахиллесова пята» бактерий, так как препараты, ингибирующие синтез компонентов клеточной стенки, обычно безвредны для растений и животных.

Пептидогликан лабилен к действию различных агентов. В частности, лизоцим гидролизует пептидогликан, расщепляя гликозидные связи между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой, то есть лизоцим действует как N-ацетилмурамидаза. Пептидазы расщепляют межпептидные связи, амидазы - связи между N-ацетилмурамовой кислотой и боковым пептидом (L-аланином). Лизостафин разрушает поперечные мостики пептидогликанов стафилококков. р-Лактамные антибиотики нарушают связывание боковых мостиков.

Гетерополимерные пептидогликановые цепочки, соединённые пептидными связями, образуют гигантскую мешковидную макромолекулу («муреиновый мешок»), покрывающую всё тело

Рис. 4-3. Структура пептидогликана (муреина) *Escherichia coli*. Гетерополимерные цепочки, состоящие из чередующихся остатков N-ацетилглюкозамина (N-АцГлю) и N-ацетилмурамовой кислоты (N-АцМур), связаны между собой аминокислотными мостиками. Слева - детальное строение фрагмента пептидогликана. Справа - схематическое изображение структуры однослойного муреинового мешка.

Бактерии. На поверхности «муреинового мешка» и в его толще располагаются различные вещества, характер и содержание которых лежит в основе деления бактерий на *грамположительные* и *грамотрицательные* (рис.4-4).

Грамотрицательные бактерии. Грамотрицательные бактерии имеют сравнительно тонкую клеточную стенку. В ней выделяют два слоя - *пластичный* и *ригидный*. Последний образован одним, редко двумя слоями пептидогликана, содержание которого составляет не более 20% сухой массы клеточной стенки. На пептидогликановом каркасе расположены фосфолипиды,

липополисахарилы (ЛПС) и белки, образующие пластичный слой. Толщина пластичного слоя значительно превышает размеры моно слоя пептидогликана. Его компоненты расположены мозаично и могут образовывать дополнительную внешнюю мембрану либо переходить в капсулу.

О-специфичная боковая цепь

Повторяющееся звено, несущее антигенные свойства

Рис. 4-5. Строение ЛПС клеточной стенки грамотрицательных бактерий.

• *Фосфолипиды пластичного слоя* прикреплены к пептидогликану липопротеинами, пересекающими периплазматическое пространство. Обработка детергентами (например, додецилсульфатом натрия) приводит к нарушению этих связей. Основное отличие внешнего фосфолипидного слоя от внутреннего ригидного - высокое содержание ЛПС.

• *ЛПС* состоят из липидной части (липид А), базисной части молекулы полисахарида (сердцевина) и боковых полисахаридных цепей (рис. 4-5). Иммуногенные свойства проявляют боковые полисахаридные цепи и сердцевина. *Боковые полисахаридные цепи отвечают за антигенную специфичность молекулы ЛПС и называются О-Аг. Липидная часть термоустойчива и отвечает за биологические эффекты ЛПС.* Структура ЛПС имеет большое диагностическое значение, поскольку разные виды или серовары патогенных грамотрицательных бактерий отличаются друг от друга составом боковых цепей ЛПС внешней мембраны.

• *Белки*, входящие в состав пластичного слоя, подразделяют (в зависимости от выполняемых функций) на *основные* (мажорные) и *второстепенные* (минорные). К мажорным белкам относят порины, образующие трансмембранные каналы, вовлечённые в транспорт ионов и гидрофильных соединений из внешней среды в периплазму. Минорные белки также могут участвовать в транспорте веществ через пластичный слой (путём облегчённой диффузии или активного транспорта молекул). Некоторые белки играют роль рецепторов для вирусов бактерий и бактериоцинов, а также для донорских пилей при конъюгации.

Внешняя мембрана не пропускает молекулы с большой молекулярной массой, что можно рассматривать как фактор неспецифической устойчивости бактерий к некоторым антимикробным препаратам.

Грамположительные бактерии. Грамположительные бактерии имеют сравнительно просто организованную, но мощную клеточную стенку. Она состоит преимущественно из множества слоёв пептидогликана, составляющего до 90% её сухой массы (см. рис. 4-4), часто включающих вместо диаминопимелиновой кислоты лизин и уникальные водорастворимые полимеры тейхоевых кислот, состоящих из 8-50 остатков глицерина или рибита, связанных между собой фосфодиэфирными связями. Тейхоевые кислоты [от греч. *teichos*, стенка] могут составлять до 50% сухого веса клеточной стенки. Известно два типа кислот - рибиттейхоевые (состоят из остатков рибитфосфата и 10-50 остатков спирта) и глицеринтейхоевые (состоят из остатков глицерофосфата и 20 остатков спирта). *Клеточная стенка каждого вида содержит только один тип тейхоевых кислот* (за исключением вида *Streptomyces*). *Тейхоевые кислоты - основные поверхностные Аг многих бактерий.* У большей части грамположительных бактерий также имеются периплазматические тейхоевые кислоты, располагающиеся между клеточной стенкой и ЦПМ. Периплазматические кислоты, выявляемые горячей кислотной экстракцией, являются *группоспецифичными Аг.*

Клеточная стенка грамположительных бактерий не содержит ЛПС, но может включать различные белки. Содержание последних весьма вариабельно. Для некоторых бактерий (например, стрептококков группы А) белки служат серовароспецифичными Аг.

Аутолизины. Клеточные стенки бактерий содержат аутолизины - ферменты, растворяющие пептидогликановый слой. Их активность необходима для процессов роста клеточной стенки, деления клеток, споруляции и достижения состояния компетентности при трансформации (см. ниже).

Удаление клеточной стенки, защищающей прилежащую ЦПМ, приводит к лизису бактерии либо к образованию протопластов или сферопластов (из грамположительных или грамотрицательных бактерий соответственно). Бактерии, лишённые клеточной стенки, лишь в изотонической среде способны поглощать O_2 и выделять CO_2 , а также размножаться. Сферопласты более устойчивы к изменениям осмотического давления и длительно сохраняются в неизотонической среде.

Цитоплазматическая мембрана

ЦПМ играет важную роль в обмене веществ бактерий, играя роль осмотического барьера, контролирующего поступление и выход различных веществ из клетки. Иными словами, ЦПМ - физический, осмотический и метаболический барьер между внутренним содержимым бактериальной клетки и внешней средой.

Состав. Как и многие биологические мембраны, ЦПМ состоит из двух слоёв липидов и встроенных в липидную мембрану белковых молекул. В состав ЦПМ бактерий входят белки (20-75%), липиды (25-40%), углеводы и РНК (последние два компонента присутствуют в незначительных количествах). Компоненты ЦПМ составляют около 10% сухого веса бактериальной клетки. Белки ЦПМ подразделяют на *структурные* и *функциональные*. Первые образуют различные структуры ЦПМ, вторые представлены ферментами, участвующими в синтетических реакциях на поверхности мембраны и в окислительно-восстановительных процессах, а также некоторыми специализированными энзимами (например, пермеазы). Липиды, входящие в состав ЦПМ, представлены насыщенными или мононенасыщенными жирными кислотами, но не стеринами, как у эукариотических клеток.

Транспортные системы. Для ЦПМ характерна выраженная избирательная проницаемость. В ней располагаются системы *активного переноса* и *субстратспецифичных пермеаз*. Некоторые белковые молекулы, «вкрапленные» в фосфолипидный бислой, играют роль «пор», через которые движется регулируемый поток веществ. У аэробных бактерий и анаэробов, способных к так называемому «анаэробному дыханию», в ЦПМ встроена *система электронного транспорта*, обеспечивающая её энергетические потребности. Самые крупные молекулы, способные проходить через ЦПМ, - фрагменты ДНК.

Мезосомы. ЦПМ образует специфические инвагинаты - мезосомы, имеющие вид закрученных в спираль или клубок трубчатых образований. Мезосомы образуют поперечные перегородки между делящимися клетками; к ним обычно прикрепляется бактериальная хромосома.

Периплазматическое пространство. У некоторых бактерий между ЦПМ и клеточной стенкой располагается периплазматическое пространство - полость шириной около 10 нм. В периплазматическом пространстве имеются перемычки, соединяющие ЦПМ и пептидогликановый слой. Снаружи в периплазматическое пространство открываются поры клеточной стенки, изнутри в это пространство выходят некоторые клеточные ферменты (рибонуклеазы, фосфатазы, пенициллиназа и др.).

Цитоплазма

Цитоплазма бактерий представляет собой коллоидный матрикс, служащий для реализации жизненно важных функций. Цитоплазма большинства бактерий содержит ДНК, рибосомы и

запасные гранулы; остальное пространство занимает коллоидная фаза. Её основные составляющие - растворимые ферменты и растворимые РНК (мРНК и тРНК). Разнообразные оргanelлы, характерные для эукариотической клетки, у бактерий отсутствуют, а их функции выполняет бактериальная ЦПМ, отделяющая цитоплазму от клеточной стенки. У подавляющего числа бактерий цитоплазма относительно неподвижна, но у видов *Streptococcus*, *Proteus*, *Clostridium* имеются специальные трубочки - рапидосомы, аналогичные микротрубочкам простейших.

Бактериальный геном. В бактериальной клетке нет ядерной мембраны, ДНК сконцентрирована в цитоплазме в виде клубка. Поскольку в эукариотических клетках ДНК обычно находится в ядре, то по аналогии ДНК бактерий называли нуклебидом [от лат. *nucleus*, ядро + греч. *eidōs*, сходство]. Её также называют генофором, или бактериальной хромосомой. Генофор бактерий представлен двойной спиральной, кольцевой, ковалентно замкнутой суперспирализованной молекулой ДНК. Она составляет 2-3% сухой массы клетки (более 10% по объёму). Генофор не содержит гистонов. Объём генетической информации, кодируемой в генофоре, различается в зависимости от вида бактерии (например, геном *Escherichia coli* кодирует примерно 4000 различных полипептидов). У бактерий может присутствовать дополнительная ДНК в виде включений. Эти включения, или плазмиды, несут ряд различных генов, кодирующих дополнительные свойства бактерий, но информация, содержащаяся в плаزمиде, не является абсолютно необходимой для бактериальной клетки.

Бактериальные рибосомы

Бактериальные рибосомы - сложные глобулярные образования, состоящие из различных молекул РНК и связанных с ними белков. Всё образование функционирует как локус синтеза полипептидов. В зависимости от интенсивности роста бактериальная клетка может содержать от 5000 до 50 000 рибосом. Диаметр бактериальных рибосом около 16-20 нм. Скорость их осаждения при ультрацентрифугировании составляет 70 S (единиц Сведберга), тогда как у эукариотических клеток - 80 S. Рибосомы бактерий состоят из двух субъединиц с коэффициентом седиментации 50 S и 30 S (у эукариот 40 S и 60 S). Объединение субъединиц происходит перед началом трансляции. Рибосомы прокариот и эукариот имеют сходную молекулярную структуру и механизмы функционирования, но различаются, помимо размеров, по составу белков и белковых факторов. Эти различия делают рибосомы эукариот практически резистентными к действию антибиотиков, блокирующих синтез белка у бактерий. Запасные гранулы

Запасные гранулы содержат временный избыток метаболитов; наличие и количество гранул изменяется в зависимости от вида бактерий и их метаболической активности. В виде гранул могут запасаться полисахариды (крахмал, гликоген, гранулёза), жиры (триглицериды, сходные с жирами высших животных, запасаются у дрожжей рода *Candida*) воска - у микобактерий и нокардий; полимеры в-оксимасляной кислоты (например, в клетках *Bacillus megaterium*), полифосфаты (волютин) у *Spirillum volutans* и *Corynebacterium diphtheriae*, сера (у бактерий, окисляющих сульфиды), кристаллизованные белки (например, токсичный для насекомых протоксин у *Bacillus thuringiensis*).

ФИЗИОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ

Жизнь бактерий, как и других живых существ, в упрощённом виде сводится к таким последовательным событиям: *собственное воспроизведение - обеспечение жизненных функций - воспроизведение потомства*. Нормальная реализация этого круговорота жизни для любого вида бактерий возможна лишь при развитии адекватных ответных реакций на любые воздействия окружающей среды, что во многом обеспечивается генетической информацией организма. Жизнь бактерий, равно как и всех живых существ, характеризуется ростом и размножением, то есть увеличением живой массы отдельной особи и популяции в целом за счёт ассимиляции веществ, находящихся вне клетки. В данном аспекте нет никакой существенной разницы между питанием

паразитической бактерии или автотрофной бактерии, использующей, подобно высшим растениям, углекислоту и минеральные вещества. Во всех случаях процесс питания сводится к усвоению экзогенных субстратов и превращению их (через каскад сложных реакций) в вещества, необходимые для нормальной жизнедеятельности бактерий.

Питание бактерий

Пищей принято называть любое вещество, попав в организм, служит источником энергии или пластическим материалом для синтеза молекул, используемых для нужд организма. Большинство животных, включая человека, способно заглатывать и переваривать плотные частички пищи в основном за счёт их гидролиза. Подобный тип питания известен как голозойный, а организмы - голозои [от греч. *holes*, полноценный, + *zoikos*, относящийся к животным]. Бактерии не способны захватывать твердофазные объекты, поэтому утилизируют питательные вещества в виде относительно простых молекул из водных растворов. Подобный тип питания, присущий также всем растениям, известен как голофитный, то есть бактерии - голофиты [от греч. *holos*, полноценный, + *phytikos*, относящийся к растениям]. Тем не менее, многие бактерии способны утилизировать твёрдую пищу с помощью так называемого внешнего питания, реализуемого вне клеток, то есть *бактериям также присущ и голозойный тип питания*. Для этого они имеют мощный ферментативный потенциал, хотя иногда секретизируемые ферменты могут полностью инактивироваться в результате разведения, под действием конвекционных токов и других факторов. Контакт пищеварительных ферментов с экзогенным субстратом приводит к образованию низкомолекулярных продуктов, проникающих через клеточную стенку в цитоплазму. Начиная с этого момента, процессы их усвоения (метаболизма) в растительных и животных клетках протекают удивительно сходно.

Клетки всех живых существ, от самых примитивных форм до высокоразвитых животных и растений, не только состоят из одних и тех же веществ, но и используют одни и те же механизмы для получения энергии и для роста. По сравнению с этим фундаментальным биохимическим единством существующие различия и отклонения кажутся незначительными.

Вода

Вода составляет около 80% массы бактерий. Рост и развитие бактерий облигатно зависят от наличия воды, так как все химические реакции, протекающие в живых организмах, реализуются в водной среде. Для нормального роста и развития микроорганизмов необходимо присутствие воды в окружающей среде. Для бактерий содержание воды в субстрате должно быть более 20%. Вода должна находиться в доступной форме: в жидкой фазе в интервале температур от 2 °С до 60 °С; этот интервал известен как *биокинетическая зона*. Хотя в химическом отношении вода весьма устойчива, продукты её ионизации - ионы H^+ и OH^- оказывают очень большое влияние на свойства практически всех компонентов клетки (белков, нуклеиновых кислот, липидов и т.д.). Так, каталитическая активность ферментов в значительной мере зависит от концентрации ионов H^+ и OH^- .

Усваиваемые соединения

Основные соединения, усваиваемые бактериальной клеткой - *углеводы, аминокислоты, органические кислоты, жирные кислоты, минеральные вещества, витамины и др.* Бактериям совершенно безразличны источники питательных веществ; образно говоря, они «лишены вкуса и не страдают несварением желудка». Более того, бактерии иногда утилизируют вещества, не пригодные для животных клеток (например, карболовую кислоту, парафин, мыло и др.). Подобно прочим формам жизни, бактерии нуждаются в одних и тех же макроэлементах - C, H, O, N, P, S, K, Ca, Mg, Fe. Микроэлементы (следовые элементы) - Mn, Mo, Zn, Cu, Co, Ni, Va, B, Cl, Na, Se, Si, Wo - не нужны каждому организму, но бактериям они необходимы для синтеза коферментов либо поддержания специфического типа метаболизма. Например, для оптимального роста некоторые

бактерии нуждаются в высоких концентрациях Na^+ ; их называют галофилами [от греч. *hals*, соль]. Помимо источников углерода, энергии и элементов минерального питания, многие микроорганизмы нуждаются в некоторых дополнительных веществах, называемых факторами роста. Количественная потребность в питательных элементах и их содержание у различных бактерий варьируют, но принципиально химический состав бактериальной клетки сходен с другими живыми клетками (исключением является отсутствие у бактерий стеролов).

Пути поступления веществ в бактериальную клетку

Для того, чтобы питательные вещества могли подвергнуться соответствующим превращениям в клетке, они прежде всего должны в неё проникнуть. Но большинство бактерий обитает в условиях, мало пригодных для поддержания строгих соотношений воды, неорганических и органических веществ, без которых их жизнь просто невозможна. Клеточная стенка бактерий не является существенным барьером для небольших молекул и ионов, но задерживает макромолекулы. Истинный барьер, обеспечивающий избирательное поступление веществ в клетку, - ЦПМ. Она проницаема для одних веществ и не проницаема для других. Потоки веществ движутся в обоих направлениях (внутри и наружу). Эти перемещения обеспечивают разнообразныетранспортные системы, необходимые для выполнения двух важнейших задач.

1. Обеспечение адекватных концентраций веществ, участвующих в основных биохимических реакциях, в том числе и обеспечение, при необходимости, их быстрого поступления внутрь клетки, невзирая на концентрацию этих веществ в окружающей среде.

2. Поддержание осмотического давления, оптимального для протекания биохимических реакций. Поступление различных веществ внутрь бактериальной клетки реализуют три механизма: пассивный перенос, активный перенос и транспорт, обусловленный фосфорилированием (рис. 4-6).

Пассивный перенос

Многие вещества способны неспецифически проникать в бактериальную клетку за счёт различия их концентраций по обе стороны ЦПМ. При этом они поступают в клетку только до выравнивания градиента концентрации с внешним раствором. Такое поступление веществ происходит пассивно, без прямых энергетических затрат. Существует два вида пассивной диффузии: простая и облегчённая.

Простая диффузия. Проникновение веществ носит неспецифический характер и целиком зависит от размеров молекул и их липофильности. Скорость подобного переноса незначительна.

Облегчённая диффузия. Механизм транспорта носит аналогичный характер, но *проникновение облегчают «помощники» - специфические мембранные белки-пермеазы*, способствующие прохождению различных молекул через ЦПМ. Транспорт сопровождается образованием комплекса «вещество-пермеаза». После преодоления ЦПМ комплекс диссоциирует, а пермеаза используется для последующего «проведения» других молекул. Подобный тип транспорта реализуется по градиенту концентрации и характерен для эукариот при поглощении сахаров. У прокариот единственный пример облегчённой диффузии - проникновение глицерина в клетки бактерий кишечной группы. При этом концентрация проникшего глицерина практически равна его концентрации в окружающей среде. В последующем (в результате реакций фосфорилирования) глицерин трансформируется в глицерин-3-фосфат. Активный перенос

Концентрация некоторых веществ в бактериальной клетке может в сотни раз превышать их содержание в окружающей среде. Транспорт таких веществ в клетку происходит против градиента

концентрации перемещаемого вещества, требует затрат энергии и реализуется при помощи специфических переносчиков. Например, в случае активного транспорта, как и при облегчённой диффузии, перемещение конкретного вещества через ЦПМ осуществляет специфическая для такого вещества пермеаза.

Активный транспорт сопровождается увеличением свободной энергии, которая составляет $5,71 \lg C_2/C_1$ кДж/моль, где C_2 и C_1 - соответственно более высокая и более низкая концентрации. Это обстоятельство делает процесс активного транспорта энергозависимым. У бактерий подобный тип поступления веществ доминирует, с его помощью транспортируются многие сахара, белки и другие вещества. Нередко у грамотрицательных бактерий в активном переносе участвуют специальные белки, отличные от пермеаз, но действующие в ассоциации с ними. Эти белки локализованы в периплазматическом пространстве. После проникновения вещества в клетку комплекс «субстрат - белок периплазмы - пермеаза» диссоциирует и для попавшего в клетку вещества вероятность выхода наружу резко снижается.

Примером активного транспорта служит концентрирование лактозы в клетках кишечной палочки. Эта система известна как р-галактозидпермеазная система. Энергия используется для снижения сродства пермеазы к лактозе на внутренней стороне ЦПМ по сравнению с её сродством к тому же субстрату на внешней. В результате скорость выхода вещества наружу становится меньше, чем скорость его поступления внутрь клетки, и концентрация лактозы в клетке возрастает. Если заблокировать образование энергии, то р-галактозидпермеазная система теряет способность осуществлять активный транспорт и переключается на облегчённую диффузию, обнаруживая одинаковое сродство к р-галактозидам по обе стороны мембраны.

Транспорт, обусловленный фосфорилированием

Транспорт, обусловленный фосфорилированием - энергозависимый процесс, используемый при утилизации углеводов. Основной механизм транспорта связан с фосфорилированием субстрата, что делает невозможным его выход из клетки. Первоначально происходит фосфорилирование мембранного фермента (так называемый фермент 2, или Φ_2) в цитоплазме за счёт фосфоенолпирувата. Фосфорилированный фермент связывает углевод (например, глюкозу или маннозу) на поверхности ЦПМ и транспортирует его в цитоплазму. Затем комплекс диссоциирует с высвобождением углевода, связанного с фосфатной группой. За счёт фосфорилирования углевод аккумулируется в клетке и не способен выходить из неё. Данный тип транспорта не рассматривают как активный, поскольку концентрация неизменённого питательного вещества внутри клетки может быть одинаковой с его внеклеточным содержанием. Но в целом этот процесс напоминает активный транспорт против градиента концентрации вещества, так как концентрация химически изменённого питательного соединения внутри клетки может значительно превышать концентрацию неизменённого соединения в среде.

Выделение веществ из бактериальной клетки

Бактерии секретируют широкий спектр БАВ - ферменты, токсины, антибиотики и др. Некоторые соединения секретируются в окружающую среду непосредственно через ЦПМ, другие (обычно белки) первоначально попадают в периплазматическую полость в виде предшественников. Предшественник содержит сигнальный пептид, с помощью которого молекула белка проходит во внешнюю среду. На поверхности ЦПМ сигнальная пептидаза отщепляет сигнальный пептид, и этим завершает превращение внутриклеточного предшественника в зрелый секретируемый белок. Процессы выделения в среду определённых соединений из бактериальной клетки нельзя рассматривать как выброс «шлаков»: это скорее механизмы адаптации микроорганизмов к условиям внешней среды, которые требуют конкурентной борьбы либо использования особых полимерных субстратов. В первом случае продукция антибиотиков даёт преимущество штамму-продуценту по сравнению с другими микроорганизмами, во втором -

секреция гидролаз позволяет утилизировать труднодоступный субстрат, что обеспечивает их продуцентам успех в борьбе за источники питания в данной экологической нише

Роль ферментов в жизнедеятельности бактерий

Все питательные вещества и любые элементы, подвергающиеся взаимодействиям и превращениям с участием бактерий, вступают в реакции при участии ферментов. *Ферменты* [от лат. *fermentum*, закваска], или *энзимы* [от греч. *enzyme*, дрожжи или закваска], - *специфичные и эффективные белковые катализаторы*, присутствующие во всех живых клетках. *За каждое превращение одного соединения в другое ответственен особый фермент.*

- Ферменты снижают энергию активации, обеспечивая протекание таких химических реакций, которые без них могли бы проходить только при высокой температуре, избыточном давлении и при других нефизиологических условиях, неприемлемых для живой клетки.

- Ферменты увеличивают скорость реакции примерно на 10 порядков, что сокращает полупериод какой-либо реакции с 300 лет до одной секунды.

- Ферменты «узнают» субстрат по пространственному расположению его молекулы и распределению зарядов в ней. За связывание с субстратом отвечает определённый участок молекулы ферментативного белка - его каталитический центр. При этом образуется промежуточный фермент-субстратный комплекс, который затем распадается с образованием продукта реакции и свободного фермента.

- Регуляторные (аллостерические) ферменты воспринимают различные метаболические сигналы и в соответствии с ними изменяют свою каталитическую активность.

- Эффекторные ферменты. Известно шесть основных классов ферментов, катализирующих следующие реакции: оксидоредуктазы - перенос электронов; трансферазы - перенос различных химических групп; гидролазы - перенос функциональных групп на молекулу воды; лиазы - присоединение групп по двойным связям и обратные реакции; изомеразы - перенос групп внутри молекулы с образованием изомерных форм; лигазы - образование связей C-C, C-S, C-O, C-N за счёт реакций конденсации, сопряжённых с распадом аденозинтрифосфата (АТФ).

- Бактерии способны синтезировать все ферменты, необходимые для утилизации широкого спектра питательных субстратов. Определённый субстрат в среде вызывает синтез ферментов, обеспечивающих его катаболизм. В этом случае говорят об индукции *катаболических* ферментов индуцирующим субстратом (индуцибельные ферменты). Образование *анаболических* ферментов в процессах биосинтеза регулируется путём репрессии конечным продуктом (репрессибельные ферменты). Если в среде имеются одновременно два субстрата, то бактерия использует субстрат, обеспечивающий более быстрый рост. Синтез ферментов для расщепления второго субстрата репрессируется; такой вариант известен как *катаболитная репрессия*. Ферменты, синтезируемые вне зависимости от условий среды, - конститутивные ферменты

- *Определение ферментативной активности бактерий играет огромную роль в их идентификации.* Например, все аэробы или факультативные анаэробы обладают супероксид дисмутазой и каталазой - ферментами, защищающими клетку от токсичных продуктов кислородного метаболизма. Практически все облигатные анаэробы не синтезируют эти ферменты. Только одна группа аэробных бактерий - молочнокислые бактерии каталазонегативны, но аккумулируют пероксидазу - фермент, катализирующий окисление органических соединений под действием H_2O_2 (восстанавливается до воды). Наличие аргинин дигидролазы - диагностический признак, позволяющий различить сапрофитические виды *Pseudomonas* от фито-патогенных. Среди пяти основных групп семейства *Enterobacteriaceae* только две - *Escherichiae* и *Erwiniae* - не

синтезируют уреазу. Часто вирулентность штамма связана с повышенной активностью ферментов, ответственных за синтез токсинов.

• *Получение микробных ферментов* - важнейшая отрасль промышленной микробиологии. Например, для улучшения пищеварения применяют готовые препараты ферментов - амилазы, целлюлазы, протеазы, липазы, облегчающих соответственно гидролиз крахмала, целлюлозы, белка и липидов. При изготовлении сладостей для предупреждения кристаллизации сахарозы применяют инвертазу дрожжей, для осветления фруктовых соков - пектиназу. Коллагеназа клостридий и стрептокиназа стрептококков, гидролизующие белки, способствуют заживлению ран и ожогов. Литические ферменты бактерий, секретлируемые в окружающую среду, действуют на клеточные стенки патогенных микроорганизмов и служат эффективным средством в борьбе с последними, даже если они обладают множественной устойчивостью к антибиотикам. В качестве инструментария в биоорганической химии, геной инженерии и генотерапии используют выделенные из бактерий рибонуклеазы, дезоксирибонуклеазы, полимеразы, ДНК-лигазы и прочие ферменты, направленно модифицирующие нуклеиновые кислоты.

Питательные субстраты бактерий

Кислород, водород, углерод и азот - основные элементы, своего рода «кирпичики» (органогены), составляющие органические вещества. По типу питания растительные и животные организмы различаются, их рассматривают соответственно как автотрофы и гетеротрофы. Автотрофы способны синтезировать все необходимые органические соединения из углекислоты, гетеротрофы нуждаются в органических источниках углерода. Для микроорганизмов данная классификация недостаточна, поскольку многообразие способов их питания можно отразить лишь с учётом источников энергии, углерода и донора водорода. Поэтому понятия «автотрофность» и «гетеротрофность» в отношении бактерий применяют, имея в виду *происхождение клеточного углерода* как источника энергии.

Углерод

Наиболее доступные источники углерода для бактерий - углеводы и аминокислоты, что учитывают при изготовлении питательных сред.

Автотрофия. Пищевые потребности автотрофных [от греч. *auto*, сам, + *trophe*, питание] бактерий ограничены; для их роста достаточно внесения в среду неорганических соединений, содержащих азот и другие минеральные элементы. *Автотрофные бактерии в качестве источника углерода утилизируют двуокись углерода или карбонаты.* Такие бактерии способны синтезировать все необходимые соединения из простых веществ. К ним относят фото- и хемотрофные (хемосинтезирующие) бактерии, использующие соответственно в качестве источника энергии электромагнитное излучение (свет), либо энергию окислительно-восстановительных реакций с участием субстратов, которые служат для них источником питания. Среди автотрофов не обнаружено видов, имеющих медицинское значение.

Гетеротрофия [от греч. *hetero*, другой, + *trophe*, питание]. Некоторые бактерии не способны полностью обеспечить собственный метаболизм за счёт своих синтетических возможностей и нуждаются в наличии минимально одного органического соединения (обычно нужны аминокислоты как источник углерода и азота или углеводы в качестве источника углерода) в окружающей среде. *Гетеротрофные бактерии в качестве источников углерода используют различные углеродсодержащие соединения - гексозы, многоатомные спирты, аминокислоты, органические кислоты и углеводороды.* К гетеротрофным бактериям также относят бактерии-сапрофиты (метатрофы), развивающиеся на мёртвых органических остатках и бактерии-паразиты (пара-трофы), усваивающие органические соединения в форме сложных веществ живого организма.

Азот

Азот необходим бактериям для синтеза аминокислот (белков), пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, а также некоторых витаминов. Поскольку азот во всех живых организмах содержится в восстановленной форме, все минеральные формы азота с большей, чем у аммиака, степенью окисленности должны быть восстановлены.

Ряд микроорганизмов способен утилизировать азот только из органических соединений (ами-ногетеротрофы). Некоторые из микроорганизмов усваивают азот в виде неорганических форм (аминоавтотрофы). Однако многие микроорганизмы способны использовать как органический, так и минеральный азот.

Использование неорганического азота

В природе атомы минерального азота существуют в различной степени окисленности: от N^{5+} (N_2O_5 , азотный ангидрид) до N^{3-} (NH_3 , аммиак). *Степень усвояемости минеральных соединений азота бактериями определяется лёгкостью их превращения в аммиак*, так как он является самым простым предшественником высокомолекулярных азоторганических соединений. В этой группе бактерий возможны два разнонаправленных процесса: ассимиляция (связывания минеральных форм азота в органический материал) и диссимилиация (выделения газообразных форм азота).

- Ассимиляционные процессы. Связывание минеральных форм азота происходит в ходе азотфиксации, ассимиляции аммиака и ассимиляционной нитратредукции. *Азотфиксация*. Азотфиксирующие бактерии (например, *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella* и др.) способны утилизировать азот из атмосферного воздуха, восстанавливая его до аммония с помощью специального фермента (нитрогеназа) в процессе, называемом азотфиксация.

Ассимиляция аммиака. Большинство бактерий усваивает аммоний в ходе ассимиляции аммиака. Бактерии, растущие на средах с аммонием, могут непосредственно включать его в органические соединения. Следует помнить, что после потребления неорганических аммонийных солей в среде накапливаются анионы (SO^{\wedge} , Cl^- , $H_3PO_3^{3-}$ и др.), снижающие pH среды, что замедляет рост культур. Аммонийные соли органических кислот менее подкисляют среду и более благоприятны для роста бактерий.

Ассимиляционная нитратредукция. Подавляющее большинство бактерий и грибов, как и растения, усваивают нитрат в процессе ассимиляционной нитратредукции. На первом этапе нитраты восстанавливаются до нитритов, цикл этих превращений катализирует специфический фермент - ассимиляционная нитратредуктаза В. Второй этап представляет комплекс восстановительных реакций, катализируемых нитритредуктазой, что приводит к образованию аммиака, который используется для синтеза аминокислот и других азотсодержащих компонентов клетки.

- Диссимилиационные процессы. Выделение газообразных форм азота происходит при помощи нитрификации, диссимилиационной нитратредукции и аммонификации нитрата. *Нитрификация*. Нитрифицирующие бактерии (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrosomonas* и др.)

окисляют соли аммония и нитриты до нитратов в процессе, называемом нитрификация.

Диссимилиационная нитратредукция (денитрификация). Ряд бактерий (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus licheniformis*, *Thiobacillus denitrificans* и др.) ведёт восстановление нитратов и нитритов с образованием молекулярного азота в процессе диссимилиационной нит-ратредукции с участием фермента нитратредуктазы А.

Аммонификация нитрата. Бактерии кишечной группы способны выделять аммиак в процессе аммонификации нитрата, когда диссимиляционная нитратредуктаза А проводит только первый этап - восстанавливает нитрат до нитрита, а далее нитрит переходит в аммиак в процессе ассимиляции.

Выявление продуктов превращения исходных форм азота в среде культивирования может быть использовано для идентификации микроорганизмов. Например, денитрифицирующие бактерии выявляют на 5-6-е сутки культивирования по присутствию газа в поплавке (CO₂, N₂) и отрицательной реакции на нитриты (используют реактив Грйсса) и нитраты (реакция с дифениламином).

Использование органического азота

При утилизации азота из органических субстратов он включается в биомассу бактерий в виде аминокрупп. Минерализация органических соединений происходит с выделением аммиака - аммонификация органических соединений. Выделение аммиака в ходе этого процесса используют на практике для идентификации отдельных бактерий. Выделяющийся в атмосферу аммиак меняет цвет подвешенной над средой культивирования красной лакмусовой бумажки на синий. Накопление аммиака в среде определяют реактивом Нёсслера. Первая реакция характерна для многих гнилостных бактерий, вторая - для бактерий кишечной группы. Аммонификацию органических соединений можно рассматривать как промежуточный процесс между диссимиляцией (высвобождение аммиака) и ассимиляцией, поскольку часть органического азота при этом усваивают аммонифицирующие бактерии. Основным источником азота для аминотетротрофов - аминокислоты, менее значимы пурины и пиримидины. Потребность в азотсодержащих субстратах у бактерий варьирует.

- Среди представителей рода *Spirillum* вид *S. graniferum* может утилизировать азот мочевины, а *S. annulus* - нет.

- Отдельные виды (например, *Agrobacterium radiobacter*) могут расти на среде, содержащей одну аминокислоту (в данном примере аспарагиновую), используя её как единственный источник углерода и азота. Другие способны расти лишь при наличии всех необходимых субстратов, используемых для биосинтеза белка (например, *Agrobacterium rubi*). *Способность разлагать определённые аминокислоты* (например, фенилаланин) *применяют для идентификации различных бактерий.*

- Высокомолекулярные соединения не способны проходить через клеточную стенку бактерий, поэтому утилизировать белковый азот способны лишь бактерии, выделяющие экзоферменты (протеазы), расщепляющие белки до низкомолекулярных пептидов и аминокислот. *Наиболее часто о протеолитической активности бактерий судят по способности гидролизовать (разжижать) желатину.* При выращивании бактерий *in vitro* часто в качестве источников азота используют пептоны - препараты неполного гидролиза белков. Лучше усваиваются пептоны со свободными аминокислотами и низкомолекулярными пептидами. Широкое распространение получили также белковые гидролизаты, не подкисляющие среду (в отличие от неорганических аммонийных солей) и удовлетворяющие потребность в аминокислотах у видов, не способных к их синтезу.

Фосфор

В клетках бактерий фосфор присутствует в виде фосфатов (преимущественно фосфатов сахаров) в составе нуклеотидов и нуклеозидов. Фосфор также входит в состав фосфолипидов различных мембран. Фосфаты играют особую роль в энергетическом обмене, расщеплении углеводов и в мембранном транспорте. Ферментативный синтез ряда биополимеров может начаться только после образования фосфорных эфиров исходных соединений (то есть после их

фосфо-рилирования). *Основной природный источник фосфора для бактерий - неорганические фосфаты и нуклеиновые кислоты.* Они присутствуют в составе бульонов, в синтетические питательные среды их вносят дополнительно.

Сера

Сера входит в состав некоторых аминокислот (цистеин, метионин), витаминов (биотин, тиамин), пептидов (глутатион) и белков; участвует в синтетических процессах в восстановленном состоянии - в виде R-SH-групп, обладающих высокой реакционной способностью и легко дегидрирующих в R-S-S-R'-группы. Последние используются для образования более сложных соединений, соединённых дисульфидными (S-S) мостиками. Гидратирование этих соединений восстанавливает их и разрывает мостики. Подобные реакции имеют важное значение для регуляции окислительно-восстановительного потенциала в цитоплазме бактерий. Основной серосодержащий компонент бактериальной клетки - цистеин, в состав которого сера входит в виде тиоловой (-SH) группы. Так, сера в составе метионина, биотина, тиамина и глутатиона проис-

ходит из тиоловой группы цистеина. Хотя сера входит в состав аминокислот и белков в восстановленной форме, большинство бактерий утилизирует серу в форме сульфатов. Перевод окисленной серы из сульфат-иона в восстановленную форму в тиоловой группе известен как ассимиляционная сульфатредукция. У значительно меньшего числа бактерий (например, анаэробных бактерий рода *Desulfovibrio*) происходит диссимиляционная сульфатредукция, при которой сульфаты, сульфиты или тиосульфаты используются как терминальные акцепторы электронов. При этом образуется сероводород (H₂S), как продукт восстановления. *Способность бактерий выделять сероводород применяют на практике как дифференциально-диагностический признак.* Отдельные группы бактерий (например, серобактерии родов *Beggiatoa*, *Thiothrix*) могут окислять сероводород и элементную серу до сульфатов.

Кислород

Кислород, входящий в состав органических веществ бактерий, включается в них двояким путём: опосредованно (из молекул воды либо из CO₂) и непосредственно. Специальные ферменты - оксигеназы - включают кислород (O²⁻) в органические соединения непосредственно из молекулярного кислорода (O₂). Оксигеназы необходимы для разложения многих веществ (например, ароматических углеводов), трудно поддающихся действию других ферментов. Многие бактерии удовлетворяют свои энергетические потребности за счёт дыхания, в процессе которого кислород выступает в качестве терминального акцептора электронов и протонов в дыхательной цепи. В соответствии с потребностями в молекулярном кислороде бактерии разделяют на пять основных групп.

Облигатные (строгие) аэробы способны получать энергию только путём дыхания и поэтому обязательно нуждаются в молекулярном кислороде. К строгим аэробам относят, например, представителей рода *Pseudomonas*. Облигатные (строгие) анаэробы. Рост таких бактерий может быть остановлен даже при низком pO₂ (например, при 10⁻⁵ атм), поскольку у них отсутствуют ферменты, расщепляющие токсические соединения кислорода (каталазы, супероксид дисмутазы). К облигатным анаэробам относят роды *Bacteroides*, *Desulfovibrio*. Факультативные анаэробы растут как в присутствии, так и в отсутствии O₂. К факультативным анаэробам относят энтеробактерии и многие дрожжи, способные переключаться с дыхания в присутствии O₂ на брожение в отсутствие O₂. Аэротолерантные бактерии способны расти в присутствии атмосферного кислорода, но не использовать его в качестве источника энергии. Энергию аэротолерантные бактерии получают исключительно с помощью брожения (например, молочнокислые бактерии). Микроаэрофильные бактерии хотя и нуждаются в кислороде для получения энергии, лучше растут при повышенном содержании CO₂, поэтому они также известны как «капнофильные микроорганизмы» [от греч. *kapnos*, дым, + *philos*, любовь]. К микроаэрофилам относят большинство аэробных бактерий (например, бактерии

родов *Campylobacter* и *Helicobacter*). Бактерии могут существовать в среде, содержащей кислород только при наличии толерантности к кислороду, которая связана со способностью бактериальных ферментов нейтрализовать токсичные соединения кислорода. В зависимости от количества электронов, одновременно переносимых на молекулу O_2 , образуются: ион пероксида O_2^{2-} (образуется флавиновыми оксида-зами при переносе $2e^-$), супероксид-радикал (могут образовать ксантин оксидаза, альдегид ок-сидаза, НАДФН-оксидаза при переносе $1e^-$), и гидроксил-радикал (продукт реакции супероксид-радикала с перекисью водорода). В детоксикации реактивных кислородных радикалов участвуют супероксид дисмутаза, пероксидаза и каталаза.

Супероксид дисмутаза конвертирует супероксид-радикал (наиболее токсичный метаболит) в H_2O_2 . Фермент присутствует в аэробных и аэротолерантных бактериях.

Каталаза превращает H_2O_2 в H_2O и O_2 . Фермент имеется у всех аэробных бактерий, но отсутствует у аэротолерантных организмов. *Строгие анаэробы обычно каталаза- и супероксид-дисмутаза-отрицательны.*

Пероксидаза. Из всех каталазоотрицательных микроорганизмов лишь молочнокислые бактерии способны расти в присутствии воздуха. Их аэротолерантность связана со способностью накапливать пероксидазу. Фермент нейтрализует H_2O_2 в реакции с глутатионом; при этом перекись водорода превращается в воду.

Ростовые факторы

Некоторые бактерии (особенно прихотливые [см. главу 20] или мутанты с наследственными дефектами) могут расти только в среде, дополненной определёнными компонентами, которые сами микроорганизмы синтезировать не могут. Эти компоненты известны как ростовые факторы, а подобные бактерии называют *ауксотрофами* [от лат. *auxilium*, помощь, + греч. *trophe*, питание]. Если ауксотрофия возникает в результате мутации, то «дикий», или основной тип, не нуждающийся в определённом факторе роста, называют *прототрофным*. Основные ростовые факторы - витамины, пурины и пиримидины. Наиболее важны для бактерий водорастворимые витамины, принимающие участие в функционировании большого количества ферментов в качестве коэнзимов. Потребность бактерий в этих продуктах очень мала (например, рост стафилококков обеспечивает внесение 0,003 мг тиамин и 0,2 мг никотиновой кислоты на 1 л среды), то есть *факторы роста не используются в качестве пластического или энергетического материала, но обеспечивают регуляцию метаболизма.*

Классификация. Факторы, стимулирующие рост бактерий, разделяют на три категории.

- Вещества, присутствие которых обязательно для роста бактерий. Это может быть определённая аминокислота, например гистидин, для штамма *Salmonella thyphimurium his-* (гистидин-нотрицательный), ауксотрофного по гистидину, либо набор витаминов (лактофлавин, тиамин, биотин, фолиевая и пантотеновая кислота) и аминокислот, без которых нельзя вырастить молочнокислые бактерии.

- Факторы, отсутствие которых не вызывает полной остановки роста культуры. Обычно это определённые витамины, входящие в состав простетических групп ферментов и необходимые в очень малых количествах.

- Факторы, синтезируемые самими микроорганизмами и добавление которых в среду ускоряет рост, но это условие не обязательно (например, в синтетическую среду культивирования *Escherichia coli* можно добавить дрожжевой автолизат для интенсификации роста, но и на простой минеральной среде с глюкозой бактерия будет расти).

Пусковые факторы роста выделяют в особую категорию. Они имеют существенное значение для начала роста культуры. Позднее клетки культуры синтезируют все необходимые для их роста продукты самостоятельно. В качестве примера можно привести необходимость следовых количеств гистидина для роста ревертантов *Salmonella his*- и их обратной мутации в *his*+ (гистидин-положительный). Хотя прототрофы *his*+ не нуждаются в факторах роста, деление исходного ауксотрофа *his*-, необходимое для закрепления обратной мутации, может протекать только в присутствии гистидина.

Энергетический метаболизм бактерий

Метаболизм [от греч. *metabole*, изменение] - совокупность всех химических превращений, происходящих в клетках. Этот термин объединяет два процесса: катаболизм (диссимиляция, или энергетический метаболизм) и анаболизм (ассимиляция, или конструктивный метаболизм). Первый процесс включает расщепление различных субстратов для получения энергии, второй - синтез высокомолекулярных соединений, используемых для образования клеточных структур. Промежуточный обмен веществ, превращающий низкомолекулярные фрагменты питательных веществ в ряд органических кислот и фосфорных эфиров, называют амфиболизмом. Различия в метаболизме у разных групп бактерий нередко используют в качестве фенотипических маркеров при идентификации микроорганизмов. *На практике любая схема идентификации неизвестной бактерии включает исследование следующих параметров.*

1. Способность к утилизации различных веществ в качестве источника углерода.

2. Способность к образованию специфических конечных продуктов в результате разложения субстратов.

3. Способность смещать рН среды культивирования в кислую или щелочную сторону. Метаболизм большинства бактерий осуществляется посредством биохимических реакций разложения органических (реже неорганических) веществ и синтеза компонентов бактериальной клетки из простых углеродсодержащих соединений. Для нормальной жизнедеятельности любому живому организму необходимы структурные фрагменты и энергия. Реакции, ведущие к синтезу различных компонентов бактериальных клеток (например, полимеризация аминокислот в белки) представляют собой эндэргонические процессы, то есть процессы, не протекающие самопроизвольно, поскольку изменение в них свободной энергии Гиббса (ΔG) положительно. Спонтанно в живой клетке могут происходить только экзэргонические реакции, сопровождающиеся снижением содержания в ней свободной энергии. Иными словами, *для синтеза нового клеточного материала отдельные синтетические реакции должны быть сопряжены с реакциями, в результате которых высвобождается энергия, идущая на этот синтез.*

Реакции, связанные с затратой энергии, реализуются через специальные макроэргические соединения. У бактерий таковыми являются нуклеозидтрифосфаты, ацилфосфаты и ацилтиоэфиры. Среди них наиболее важен АТФ, играющий роль своеобразной «разменной монеты» энергетического метаболизма. АТФ - термодинамически неустойчивая молекула и последовательно отщепляет фосфат с образованием аденозиндифосфата (АДФ) или аденозин-монофосфата (АМФ). Именно эта неустойчивость позволяет АТФ выполнять функцию переносчика химической энергии, необходимой для удовлетворения большей части энергетических потребностей клеток. Энергия каждой из двух этих фосфатных связей приблизительно равна 7,5 ккал, тогда как у обычных фосфатных связей она не превышает 2 ккал. Иными словами, для образования фосфатных связей АТФ требуется больше энергии, но и при их разрыве она выделяется в больших количествах. Другие макроэргические соединения бактериальных клеток: гуанозинтрифосфат (ГТФ), уридинтрифосфат (УТФ), цитидинтрифосфат (ЦТФ), дезокситими-динтрифосфат (дТТФ), ацетилфосфат, фосфоенолпируват, креатинфосфат, ацетилкоэнзим А (аце-тил-КоА). Долгое время считали, что единственный тип энергетической

валюты - высокоэнергетические химические соединения, а среди них прежде всего АТФ, однако последние работы биоэнергетиков опровергли эту догму. Оказалось, что клетка располагает тремя типами энергетической валюты: наряду с АТФ такую роль выполняет протонный и натриевый потенциалы на биологических мембранах.

леотидфосфата (НАДФ) до НАДФН⁺. Последнее может происходить за счёт обратного транспорта электронов с затратой АТФ. Темновая фаза. Образовавшиеся макроэнергетические соединения используются для ассимиляционного восстановления СО₂ в глюкозу. Глюкоза содержит значительное количество энергии (около 690 ккал/моль), что и используют гетеротрофные бактерии, разлагая глюкозу и «запасая» энергию в универсальном хранителе - АТФ.

Получение энергии при окислении химических соединений. Преобладающую часть бактерий составляют бактерии-хемотробы, получающие энергию в результате окислительно-восстановительных реакций расщепления химических веществ, которые в ряде случаев служат для них также источником питания. Разные бактерии получают энергию либо в процессе брожения либо в процессе дыхания. При брожении АТФ образуется исключительно путём субстратного фосфорилирования, а в процессе дыхания преимущественно путём окислительного фосфорилирования за исключением начальных этапов превращения гексоз в триозы (гликолиз, см. ниже).

Получение энергии субстратным фосфорилированием

Субстратное фосфорилирование может происходить при различных реакциях промежуточного метаболизма. При дегидрировании некоторых определённых субстратов часть энергии, освободившейся при окислении, сохраняется в форме высокоэнергетического фосфата. Богатая энергией фосфатная группа затем переносится на АДФ с образованием АТФ. Такой процесс называют фосфорилированием на уровне субстрата (субстратное фосфорилирование). В обмене углеводов важнейшие реакции, приводящие к регенерации АТФ, катализируют *фосфоглицераткиназа* ($1,3\text{-бифосфоглицерат} + \text{АДФ} = 3\text{-фосфоглицерат} + \text{АТФ}$), *пируваткиназа* ($\text{фосфоенолпируват} + \text{АДФ} = \text{пируват} + \text{АТФ}$) и *ацетаткиназа* ($\text{ацетилфосфат или бутирилфосфат} + \text{АДФ} = \text{ацетат или бутират} + \text{АТФ}$). Бактерии и дрожжи, сбраживающие сахара, располагают лишь тем АТФ, который получается с помощью этих ферментов.

Брожение. При брожении происходит анаэробное разложение углеводов и образование АТФ посредством субстратного фосфорилирования. Брожение характерно для факультативных и облигатных анаэробов. При брожении продукты расщепления органического субстрата могут служить одновременно и донорами и акцепторами водорода. Отдельные этапы окисления представляют собой дегидрирование, при котором водород переносится на НАД. Акцепторами водорода в составе НАДН⁺ служат промежуточные продукты расщепления субстрата. Кислород подавляет брожение, и оно у факультативных анаэробов сменяется дыханием. По выходу энергии брожение уступает дыхательному метаболизму: при сбраживании микроорганизмами 1 моля глюкозы образуется от 1 до 4 молей АТФ. Для сравнения: у дрожжей на 1 моль сброженной глюкозы образуется 2 моля АТФ, а при дыхании - 38. При ферментации субстратов в среде накапливаются конечные продукты (лактат, бутират, ацетон, 2-пропанол, этанол, ацетоин и др.). *Определение природы этих продуктов - важный момент для идентификация анаэробов.* Например, образование ацетоина определяют в реакции Фоггеса-Проскауэра, кислотообразова-ние - в тесте с метиловым красным, индолообразование - по методу Грациана. Применяют и другие тесты, разработанные для идентификации бактерий. Любое брожение проходит две стадии: первая (окисление) включает превращение глюкозы в пировиноградную кислоту, вторая (восстановление) - присоединение атомов водорода для восстановления пировиноградной кислоты (рис. 4-7). Сам процесс образования пировиноградной кислоты

включает серию реакций, общих для брожения и аэробного дыхания. У микроорганизмов выделяют три пути образования триоз (пировиноградной кислоты и глицеральдегидфосфата) из углеводов: гликолитический (фруктозо-1,6-бисфосфатный), пентозофосфатный и 2-кето-3-дезоксиглюконоатный (КДФГ-путь, путь Энтнера-Дудорова-Парнаса). Согласно образующимся продуктам, брожение разделяют на следующие типы.

Спиртовое брожение включает превращение пирувата в CO_2 и этанол. В течение многих веков способность дрожжей (особенно *Saccharomyces cerevisiae*) утилизировать глюкозу в анаэробных условиях с высоким выходом этанола и углекислоты применяют в пивоварении и виноделии. Аналогично дрожжам образует этанол *Sarcina ventriculi*. Бактерии кишечной группы, молочнокислые бактерии и клостридии образуют этанол в качестве побочного продукта сбраживания сахаров.

Гомоферментативное молочнокислое брожение (образуется практически только один продукт - молочная кислота) характерно для многих стрептококков и лактобацилл. Конечный продукт - молочная кислота - составляет не менее 90% всех продуктов брожения. В зависимости от стереоспецифичности лактатдегидрогеназы и наличия лактатрацемазы (фермент, переводящий один изомер в другой), могут образоваться различные изомеры молочной кислоты (D, L) или их смесь (DL-молочная кислота).

Гетероферментативное брожение (образуется смесь различных продуктов) характерно для бифидобактерий и молочнокислых бактерий, для рода *Leuconostoc*. Оно приводит к образованию молочной и уксусной кислот в ряде сходных процессов. Конечными продуктами могут быть дополнительно CO_2 и этанол, а при сбраживании фруктозы - маннитол.

Муравьинокислое брожение. Этот тип брожения выделяют на том основании, что характерный, хотя и не главный продукт брожения - муравьиная кислота. Часто этот тип называют *брожение смешанного типа*, поскольку, кроме формиата, образуется ряд других органических кислот. Так, для большинства членов семейства *Enterobacteriaceae* характерно выделение муравьиной и других кислот. Индивидуальные признаки брожения, осуществляемого кишечной палочкой, - расщепление пирувата с образованием ацетил-КоА и формиата, разложение формиата на углекислоту и молекулярный водород, восстановление ацетил-КоА до этанола, и, в отличие от *Enterobacter aerogenes*, отсутствие способности образовывать из пирувата ацетоин и 2,3-бутандиол.

Наиболее часто бактерии получают энергию в результате окисления органических субстратов (чаще всего углеводов) до CO_2 и H_2O ; иначе этот процесс известен как дыхание. Следует помнить, что дыханием следует считать окисление не только органических субстратов, так как бактерии могут окислять вещества, не подверженные ассимиляции, например, сероводород или трёхвалентное железо (так называемое «сероводородное дыхание», «железное дыхание»).

Если в реакциях окисления органических и неорганических веществ дегидрогеназами конечным акцептором электронов служит молекулярный кислород, то такой тип метаболизма называют аэробное дыхание. При этом молекулярный кислород переходит в ион O^{2-} . Пары протонов, отщеплённые от органических субстратов, взаимодействуя с ионизированным кислородом при аэробном дыхании, образуют воду. Если терминальными акцепторами электронов

выступают соединения, содержащие «связанный кислород» (нитраты, нитриты, сульфаты, карбонаты, а также способные к восстановлению элементарная сера, трёхвалентное железо и органический акцептор - фумарат), то такой тип метаболизма называют анаэробное дыхание. Аэробное дыхание - наиболее распространённый процесс получения энергии среди комменсалов и патогенных для человека бактерий. Анаэробное дыхание осуществляют факультативно анаэробные бактерии и строгие анаэробы. Многие факультативные анаэробы при отсутствии кислорода в качестве акцепторов электронов используют нитраты (процесс известен как нитратное дыхание). *При этом образуются характерные продукты восстановления - нитриты и другие восстановленные формы азота, что используют на практике для идентификации бактерий.* В зависимости от природы утилизируемого соединения выделяют бактерии-органотрофы, использующие в качестве доноров водорода и электронов органические вещества, и бактерии-литотрофы [от греч. *lithos*, камень, + *trophe*, питание], использующие в тех же целях неорганические соединения (H_2 , NH_3 , H_2S , S , CO , двухвалентное железо и др.). Среди хемолитотроф-ных бактерий имеющих медицинское значение видов не обнаружено. Обычно ограничиваются указанием на основной способ получения энергии и природу донора водорода и электронов.

- Кишечную палочку, таким образом, относят к хемоорганотрофам, так как она получает энергию путём окисления химических соединений, используя в качестве донора водорода и электронов органические соединения.

- Нитрифицирующие бактерии относят к хемолитотрофам, а растения, цианобактерии и пурпурные серобактерии - к фотолитотрофам.

Катаболизм углеводов

В качестве источника питания и энергии при выращивании в искусственных условиях бактерии наиболее часто используют углеводы. *Способность утилизировать различные углеводы - важный диагностический признак. Базовый субстрат - глюкоза, которую бактерии разлагают в процессе дыхания либо брожения.* Многие реакции катаболизма глюкозы протекают одинаково у аэробных и анаэробных бактерий, в частности, три пути превращения гексоз в триозы (гликолиз, пентозофосфатный путь и путь Энтнера-Дудорова).

Гликолиз

Гликолитический путь (гликолиз, путь Эмбдена-Мейерхофа-Парнаса, фруктозо-1,6-дифосфатный путь) *доминирует у большинства аэробных и анаэробных микроорганизмов* - у кишечной палочки, бацилл, пенициллов, дрожжей, стрептомицетов и многих других. Характерная реакция гликолиза - расщепление фруктозо-1,6-дифосфата альдолазой, в результате чего образуется смесь триозофосфатов, состоящая из дигидроксиацетонфосфата и глицеро-альдегидтрифосфата, которые затем превращаются в пируват (рис. 4-8). Фермент обратной связи, лимитирующий скорость процесса, - фруктозо-6-фосфат дегидрогеназа (фосфофрук-токиназа). *В этом процессе образуется 2 моля АТФ и 2 моля восстановленного НАД (НАДН⁺) на 1 моль глюкозы.*

Пентозофосфатный путь

Пентозофосфатный путь (схема Варбурга-Дйккенса-Хорёккера-Рэкера, фосфоглюконатный путь) включает не только образование пентозофосфатов, но и реакции превращения пентозофосфатов в триозо-3-фосфаты (рис. 4-9). В результате изомеризации фруктозо-6-фосфата в глюкозо-6-фосфат и конденсации двух молекул триозо-3-фосфата в гексозо-фосфат все перечисленные реакции замыкаются в цикл, при одном обороте которого из 3 молекул глюкозо-6-

фосфата образуются 2 молекулы фруктозо-6-фосфата, одна молекула триозо-3-фосфата, 3 молекулы CO_2 и трижды по 2 восстановленных НАДФ (НАДФН⁺). Последовательность подобных превращений глюкозы у бактерий идентична таковой у высших организмов. Этот путь катаболизма глюкозы следует рассматривать как второстепенный, но имеющий специальное назначение - источник пентоз для синтеза нуклеиновых кислот, а также источник восстановительных эквивалентов НАДФН⁺.

Путь Энтнера-Дудорова

Путь Энтнера-Дудорова, или КДФГ-путь (назван по характерному образующемуся продукту - 2-кето-3-дезоксиглюкононату), - сравнительно редкий тип метаболизма, наблюдаемый у ряда бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes eutrophus*); у высших организмов он отсутствует (рис. 4-10). Этот путь - основной для расщепления гексоз у бактерий с дефицитом фосфофруктокиназы (например, у бактерий рода *Pseudomonas*). В результате расщепления

2-кето-3-дезоксиглюконовой кислоты образуются 3-фосфоглицериновый альдегид и пируват. Бактерии, расщепляющие глюкозу подобным образом, лишены ферментов, катализирующих образование молочной, муравьиной и прочих органических кислот. Цикл Кребса

При аэробном дыхании пируват, образованный в ходе гликолиза и пути Энтнера-Дудорова, полностью окисляется (то есть превращается в CO_2) в циклическом процессе, известном как цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), или цикл Кребса (рис. 4-11). До включения в цикл пируват с помощью ферментов превращается в ацетил-КоА. ЦТК служит для полного окисления двухуглеродного соединения - ацетата до CO_2 с отщеплением водорода. При участии трёх дегидрогеназ водород переносится на НАД или НАДФ, а под действием сукци-натдегидрогеназы - непосредственно на хинон. Коферменты передают водород на дыхательную цепь. В ЦТК при окислении ацетата образуются 2 молекулы CO_2 и 8 [H] (из них 6 [H] - на уровне пиридиннуклеотидов и 2 [H] - на уровне флавопротеинов). Кроме того, образуется одна молекула ГТФ, которая может превращаться в АТФ. Энергетический баланс для катаболизма глюкозы, если он идёт по фруктозодифосфатно-му пути, можно рассчитать следующим образом: 2 моля НАДН⁺ образуется во фруктозодифосфатном пути, ещё два - при дегидрировании пирувата; в ЦТК - 2х3 моля НАДН⁺ и 2 моля ФАДН⁺, то есть всего 10 молей НАДН⁺ и 2 моля ФАДН⁺. Таким образом, число синтезируемых

Совокупность биосинтетических реакций включения низкомолекулярных соединений в клеточные полимеры составляет суть конструктивного метаболизма. Комплекс этих реакций иногда называют пластическим обменом.

Углеродные соединения для биосинтетических реакций

Для биосинтеза клеточных компонентов необходимы соответствующие низкомолекулярные соединения-предшественники (например, сахара или аминокислоты). При наличии таких предшественников в окружающей среде они непосредственно вовлекаются в различные биосинтетические пути. Однако гораздо чаще бактериям приходится предварительно

синтезировать большую часть молекул-предшественников из доступных исходных продуктов. Огромное разнообразие субстратов, которые бактерии могут использовать в качестве источников питания, вытекает из широкого спектра их метаболических возможностей. Исходные продукты для биосинтеза образуются в ходе различных путей катаболизма, включая гликолиз, КДФГ-путь, пентозофосфатный путь, окисление пирувата и ЦТК. Например, углеродные фрагменты из ЦТК - сукцинил-КоА и ацетил-КоА - используются соответственно для образования тетрапирролов и жирных кислот. Следует помнить, что подобное «изъятие» интермедиатов из ЦТК возможно лишь при постоянном восполнении их дефицита.

Биосинтез аминокислот и белков

Аминокислоты. Большинство свободно живущих бактерий способно синтезировать все необходимые им аминокислоты. Теоретически все 20 необходимых аминокислот могут находиться в окружающей среде и быть доступными для утилизации. Кроме того, бактерии способны получать аминокислоты из белковых молекул, расщепляя их бактериальными протеазами и пептидазами. Образующиеся при этом олигопептиды и аминокислоты транспортируются в клетку, где включаются в биосинтетические пути либо расщепляются на низкомолекулярные продукты. Паразитические бактерии потребляют готовые аминокислоты из организма хозяина. Бактериям, культивируемым на питательных средах, содержащих только неорганические источники азота или ограниченное количество аминокислот, приходится синтезировать некоторые из них (или даже все) из доступных азотсодержащих соединений. Основное назначение источников азота - поступление в бактериальную клетку «сырья» для формирования аминных (NH_2) и иминных (NH) групп в молекулах аминокислот, нуклеотидов, гетероциклических оснований и других химических компонентов. При этом азотсодержащие вещества, помимо сырья для пластического обмена, могут включаться в энергетический метаболизм (например, у анаэробов некоторые аминокислоты могут образовывать окислительно-восстановительные системы). Наиболее доступные минеральные источники азота в природе - аммонийный ион (NH_4^+) и аммиак (NH_3), легко проникающие в клетки и просто трансформирующиеся в амино- и иминогруппы. Основные исходные соединения для синтеза аминокислот - пируват (образуется в гликоли-

Пуриновые нуклеотиды построены на основе фосфорибозилпирофосфата, с которого и начинается путь их синтеза. Девятичленное пуриновое кольцо синтезируется последовательным присоединением аминогрупп и мелких углеродсодержащих групп, причём все интермедиаты биосинтеза - рибонуклеотиды. Пиримидиновые нуклеотиды формируются в серии последовательных превращений кар-боксилсодержащих интермедиатов, начиная с карбамоилфосфата. Рибозофосфатный остаток присоединяется только после того, как шестичленное пиримидиновое кольцо полностью синтезировано конденсацией аспарагиновой кислоты и карбамоилфосфата. Нуклеиновые кислоты. Большинство синтезируемых нуклеотидов полимеризуется в РНК и ДНК, небольшая часть используется для синтеза коферментов и богатых энергией соединений. Основная часть бактериальной ДНК находится в виде двухцепочечной кольцевой молекулы - бактериальной хромосомы. В процессе репликации хромосома с высокой точностью удваивается, обеспечивая передачу информации потомкам и давая им возможность синтезировать те же самые белки, что и родительская клетка. Синтез ДНК из субстратов-мономеров, четырёх дезоксинуклеозидтрифосфатов (дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ), катализируют ДНК-полимеразы. При этом на каждой одиночной цепи ДНК происходит синтез новой комплементарной цепи: ДНК-полимеразы встраивают нуклеотиды в соответствии с правилами водородного связывания (Гуанин против Цитозина, Аденин против Тимина). Процесс удвоения клеточной ДНК называют репликацией. Если цепь ДНК служит матрицей, на которой полимеризуется цепь РНК (мРНК), то этот процесс называют транскрипцией.

Биосинтез олиго- и полисахаридов

На долю внутриклеточных олиго- и полисахаридов может приходиться до 60% сухой массы бактериальной клетки, тогда как количество синтезируемых внеклеточных полисахаридов может во много раз превышать массу бактерии. При отсутствии сахаров в окружающей среде бактерии синтезируют их из доступных источников углерода. Например, бактерии, растущие на средах, содержащих трёхуглеродные соединения, синтезируют гексозофосфаты из пирувата с помощью реакций, характерных для фруктозодифосфатного пути. Бактериальные олиго- и полисахариды образуются путём присоединения к акцепторным молекулам остатков сахаров из нуклеозиддифосфосахаров. Например, трегалоза, содержащая два остатка глюкозы, соединённых α-1,4-связями, образуется из уридиндифосфатглюкозы и глюкозо-6-фосфата. Характерная особенность синтеза полисахаридов, как и в случае синтеза ДНК, - необходимость затравки -

короткого фрагмента того же полисахарида, который будет синтезироваться; он служит акцептором новых мономерных фрагментов.

Биосинтез липидов

Липиды - гетерогенный класс клеточных компонентов, выделенный на основании их растворимости в неполярных растворителях (эфир, бензол, хлороформ) и нерастворимости в воде. К ним относят жиры, фосфолипиды, стероиды, изопреноиды и поли-р-оксибутират. Липиды подразделяют на два большие класса: липиды, содержащие жирные кислоты, связанные эфирной связью (например, поли-р-оксимасляная кислота, гликолипидный компонент мембраны цианобактерий, ЛПС клеточной стенки), и липиды, состоящие из повторяющихся пятиуглеродных изопреновых фрагментов (например, бактопренол, к которому прикрепляются составляющие компоненты клеточной стенки во время её синтеза). Липиды с изопреновыми единицами содержат хлорофиллы и хиноны. Жирные кислоты синтезируются отдельно, а затем с помощью эфирной связи включаются в липиды. Число типов жирных кислот у каждого вида бактерий строго определено. У прокариот преимущественно встречаются насыщенные жирные кислоты, образование которых начинается с переноса ацетильной группы с ацетил-КоА на особый ацил-переносящий белок. Этот комплекс служит акцептором, к которому последовательно присоединяются двухуглеродные фрагменты, пока не будет достигнута длина, характерная для соединения, присущего данной бактерии (обычно C₁₄-C₁₈).

Взаимосвязь конструктивного и энергетического обмена

Для удобства понимания конструктивный и энергетический обмены были рассмотрены выше по отдельности. Однако разграничить процессы получения энергии и процессы, связанные с конструктивным метаболизмом, крайне сложно, так как они тесно взаимосвязаны. Особенно трудно произвести это разделение в том случае, когда одно и то же вещество потребляется и для построения клетки и как энергетический субстрат. Связующие звенья процессов распада и биосинтеза - продукты неполного окисления - ценны для бактерий не только в плане последующего выделения энергии, но и как строительный материал. Поэтому иногда даже не

возникает необходимость в глубоком окислении субстрата для получения возможно большего количества энергии. Бактериальная клетка всегда поддерживает гибкий (в зависимости от условий внешней среды) баланс между реакциями катаболизма и анаболизма.

Экспоненциальная фаза (логарифмическая) характеризуется максимальной скоростью клеточного деления. Для конкретного вида бактерий в конкретных условиях роста время генерации (то есть время, необходимое для удвоения количества бактерий) постоянно в течение всей логарифмической фазы, но вариабельно у различных видов и штаммов, а также зависит от состава среды и условий культивирования. Время генерации на оптимальной среде может быть коротким (у кишечной палочки 20 мин), либо продолжительным (у *Mycobacterium tuberculosis* 6 ч). В этой фазе в среде происходит максимальное накопление метаболитов бактерий (например, токсинов, бактериоцинов).

Стационарная фаза. В течение этого периода доступность важнейших питательных веществ становится лимитирующим фактором. Устанавливается равновесие между клеточным ростом и делением и процессом отмирания клеток. Спорообразующие бактерии (например, родов *Bacillus* и *Clostridium*) способны переходить в фазу споруляции, активирующуюся при нахождении бактерий в условия ограниченного питания. В определённый момент соотношение

отмирающих, вновь образующихся и покоящихся клеток становится стабильным; подобное состояние известно как максимальная стационарная фаза. Биомасса бактерий в стационарной фазе обозначают как «урожай», или «выход биомассы» (разница между максимальной и исходной биомассой); или «экономический коэффициент», если прирост биомассы отнесён к единице лимитирующего рост субстрата.

Фаза отмирания (спада, лизиса) включает период логарифмической гибели, переходящий в период уменьшения скорости отмирания бактерий. Причины гибели бактерий в нормальных питательных средах до конца не ясны. Понятны случаи, когда в среде накапливаются кислоты (при росте *Escherichia*, *Lactobacillus*). Иногда бактерии разрушаются под действием собственных ферментов (автолиз). Скорость отмирания широко варьирует в зависимости от условий обитания и особенностей микроорганизма (например, энтеробактерии отмирают медленно, а бациллы - быстро).

Двухфазный рост. У бактерий, способных использовать два различных источника углерода, наблюдают двухфазный рост (так называемая диауксия). Примером может служить рост кишечной палочки на среде с глюкозой и сорбитолом.

- Для подобных микроорганизмов характерен начальный пик роста, в течение которого бактерии утилизируют только один углевод.

- После исчерпания его запасов наступает стационарная фаза, в течение которой в культуре иницируются синтез ферментов и механизмы транспорта для утилизации второго углевода.

- Если физиологические условия удовлетворительны, в бактериальной культуре начинается фаза вторичного экспоненциального роста, инициированная утилизацией второго углевода. Рост без деления. Рост бактерий не всегда сопровождается делением. Многие факторы -

детергенты, антибиотики, соли жёлчных кислот, УФ-облучение - задерживают деление клеток. В результате образуются длинные нитевидные формы, значительно превышающие по размерам исходные клетки.

Оценка роста бактерий

Количественную оценку роста обычно проводят в жидких средах, где растущие бактерии образуют гомогенную суспензию. Увеличение количества клеток устанавливают, определяя концентрацию бактерий в 1 мл, либо определяют увеличение клеточной массы в весовых единицах, отнесённых к единице объёма.

Подсчёт микроорганизмов можно проводить непосредственно под микроскопом с использованием различных счётных камер (например, Петрова-Хаузера или Горяева). Если толщина слоя среды с микроорганизмами 0,02 мм, а сторона квадрата на предметном стекле 0,05 мм (объём $5 \times 10^{-8} \text{ см}^3$), то количество подсчитанных в квадрате клеток нужно умножить на 2×10^7 , чтобы получить число клеток в 1 мл.

Количество живых клеток определяют, подсчитывая выросшие на твёрдой питательной среде бактериальные колонии. При этом учитывают разбавление бактериальной суспензии, сделанное при посеве.

Прирост биомассы бактерий оценивают после осаждения центрифугированием известного объёма питательной среды с последующим определением массы осадка (так называемый «сырой вес»). Сухой вес определяют, измеряя массу осадка, высушенного при 100 °С.

Фотометрические методы измерения мутности бактериальной суспензии основаны на её способности поглощать либо рассеивать свет пропорционально количеству бактерий; эти методы широко применяются на практике. Важно помнить, что линейная зависимость между мутностью суспензии и бактериальной массой наблюдается только при низких плотностях клеточных суспензий. Чтобы правильно измерить количество микроорганизмов в культуре с высокой плотностью, нужно сделать соответствующее разведение образца.

Подсчёт с использованием автоматических счётчиков, регистрирующих отрицательный заряд поверхности каждой микробной клетки, основан на снижении проводимости раствора электролита при прохождении одной бактерии через узкое отверстие. Недостаток метода заключается в том, что любая частица (немикробная клетка) или несколько слипшихся частиц дают при подсчёте одинаковый результат.

Биохимические методы определения биомассы основаны на определении общего азота в клетках (метод Кьельдаля), общего углерода (по ван Слайку-Фолчу), общего белка (по Лоури или Фолину), поскольку в бактериальной клетке элементный состав довольно стабилен. В тех

случаях, когда плотность клеточной суспензии очень мала, можно использовать иные биохимические подходы (например, измерять поглощение кислорода, образование CO_2 или кислот).

Факторы, влияющие на рост бактерий

Кроме состава питательных сред, на которых развиваются бактерии, большое значение имеют условия культивирования и, прежде всего, температура, аэрация и концентрация водородных ионов в среде.

Культуральные среды

Культуральные среды обычно komponуют, предварительно зная, рост каких именно физиологических групп микроорганизмов хотят обеспечить. *Вначале целесообразно составить минеральную основу, содержащую все необходимые питательные вещества в неорганической форме. Затем в эту основу вводят источники углерода, энергии, азота и необходимые ростовые факторы.* В количественном отношении придерживаются простого правила: соотношение важнейших элементов, вводимых в воду, должно быть примерно таким же, как в бактериальной клетке (например, среднее соотношение углерод:азот:фосфор:сера:калий:кальций:магний:железо = 5:1:0,3:0,1:0,1:0,05:0,05:0,02. В граммах эти величины дают примерное содержание элементов на 1 л среды).

- Для культивирования некоторых бактерий применяют простые синтетические среды, то

есть среды, содержащие только *определённые химические соединения*: источник углерода (например, глюкозу), аммонийный азот, а также фосфаты, хлориды и сульфаты, в то время как другим необходима комплексная, или сложная среда, дополненная различными веществами, *химический состав которых полностью не определён* (например, среда с экстрактами тканей сердца и мозга).

- По консистенции микробиологические среды разделяют на жидкие (бульон) и твёрдые (плотные), содержащие около 2% «уплотнителя» - агара (полисахарида, получаемого из морских водорослей). В некоторых случаях в качестве «уплотнителя» можно использовать желатину. Среда с небольшим содержанием агара (0,6%) обозначают как полужидкие. Для промышленного выращивания и автоматизированной диагностики предпочтительна жидкая среда. Выращивание на агаризованных средах необходимо для выделения и дальнейшей оценки отдельных колоний бактерий.

- Элективные среды применяют для выделения определённых типов бактерий. Многие микроорганизмы легко обнаруживаются, так как вызывают заметные изменения в окружающей среде. Выделение этих микроорганизмов в *чистой культуре* (клоне) не представляет особых трудностей. Однако есть много других микроорганизмов, относящихся к разным физиологическим группам, выделение которых стало доступным лишь после разработки С.Н. Виноградским и М. Бейеринком *метода накопительных культур*, который подразумевает создание условий (источники энергии, углерода и азота, акцептор электронов, свет, температура, рН и т.п.), обеспечивающих преимущественный рост одного микроорганизма в сравнении с остальными. В подобной *элективной (селективной) среде* наиболее приспособленные бактерии бурно растут, вытесняя контаминирующую микрофлору. Многократный пересев на предпочтительную для данного вида жидкую среду обеспечивает «обогащение» исходной пробы, часто контаминированной другими микроорганизмами. Последующий высев на плотную среду позволяет выделить необходимый штамм. Например, для выделения патогенных энтеробактерий используют элективные плотные среды, к которым добавляют соли висмута, а для обнаружения возбудителя дифтерии - среды с теллуридом. Выросшие на этих средах колонии патогенов, обладающих способностью восстанавливать ионы редких металлов, имеют металлический блеск.

- *Некоторые бактерии практически не способны к росту in vitro* (например, *Mycobacterium leprae*, хламидии), что считается проявлением крайней степени паразитизма и связано с утратой ряда важнейших ферментов, необходимых для самостоятельного роста и развития. Температура

Оптимальная температура роста патогенных для человека микроорганизмов совпадает в основном с температурой тела человека. В отдельных случаях температурный параметр может быть использован как простой способ селекции, например, виды *Campylobacter* лучше растут при температуре 42 °С, слишком высокой для роста большинства других патогенов. В зависимости от требований к температурному режиму бактерии разделяют на три группы.

Мезофильные бактерии лучше всего растут в пределах 20-40 °С; к ним относят большинство

патогенных для человека микроорганизмов. *Термофильные бактерии* лучше растут при 50-60 °С.

Психрофильные бактерии предпочитают расти в интервале температур от 0 до 10 °С. Аэрация

Всем облигатным аэробам в качестве конечного акцептора электронов необходим кислород. При большом объёме жидкости аэробные бактерии могут расти только на поверхности; для роста в глубоких слоях требуется перемешивание. Микроорганизмы могут использовать только растворённый кислород, а его растворимость в воде очень мала (в 1 л при 20 °С содержится 0,28 моля O₂, что хватает для окисления лишь 8 мг глюкозы), поэтому запас кислорода обеспечить невозможно, и он должен поступать к среде непрерывно.

Для обогащения жидкости кислородом увеличивают площадь соприкосновения жидкой и газовой фаз различными способами: культивированием в тонком слое среды, перемешиванием поверхностных и глубоких слоёв жидкости путём встряхивания, вращением сосудов вокруг продольной оси, пропусканием воздуха через жидкость под давлением.

Для полного связывания растворённого кислорода (техника анаэробных культур) предусмотрено применение прокипячённых питательных сред, закрытых без пузырьков воздуха; создание бескислородной атмосферы в специальных установках для культивирования; применение адсорбентов кислорода (дитионита, хлорида одновалентной меди), восстановителей (аскорбиновой кислоты, тиогликолата, цистеина или сульфида, если бактерии его переносят). Концентрация ионов водорода

Установление и поддержание определённой величины рН (логарифм величины, обратной концентрации водородных ионов в молях на литр) имеет существенное значение для роста бактерий. Подавляющее большинство микроорганизмов хорошо растёт при нейтральном рН, равном 7,0. Актиномицеты и бактерии, разлагающие мочевины, предпочитают среды с более высоким рН, то есть слегка щелочные. Некоторые бактерии толерантны к кислой среде (например, лактобациллы). Кислые значения рН предпочитают грибы.

Поддержание рН особенно необходимо для микроорганизмов, продуцирующих кислоты, но не обладающих устойчивостью к ним (кишечные бактерии и псевдомонады). Определённое буферное действие оказывают фосфаты, при более сильном выделении кислот рекомендуется добавлять к среде карбонат кальция или бикарбонат натрия.

Нарушение метаболизма при неблагоприятных значениях рН не связано с прямым действием ионов Н⁺ и ОН⁻. Они лишь снижают степень диссоциации слабых кислот и оснований, которые в недиссоциированном состоянии легче проникают в клетку, чем продукты их диссоциации.

Пигменты бактерий

Колонии многих бактерий могут быть ярко окрашены, что связано с выделением окрашивающего вещества в среду либо окраской самих бактерий. Пигменты бактерий

представлены различными веществами - каротиноидами, феназиновыми производными, пирролами, антоцианами и др. Пигменты бактерий - вторичные метаболиты, то есть они не являются веществами, обязательно присутствующими у всех бактерий. Например, даже внутри одного вида *Serratia marcescens* есть пигментообразующие и беспигментные штаммы. Среди пигментов преобладают жёлтые, оранжевые и красные каротиноидные пигменты. Способность к пигментообразованию выражена у видов *Sarcina*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* и др. Этот признак генетически детерминирован, поэтому его используют в качестве дифференцирующего критерия.

- Пигменты защищают бактерии от действия видимого света и УФ-лучей. Мутанты, лишённые способности к пигментообразованию, быстро погибают на свету. Искусственно окрашенные бактерии (например, метиленовым синим) также проявляют повышенную лабильность к инсоляции. Бактерицидное действие солнечного света проявляется в присутствии кислорода и обусловлено фотоокислением. При этом клеточные пигменты (флавины и цитохромы) действуют как катализаторы. Каротиноиды ингибируют этот процесс. У некоторых бактерий образование пигментов происходит только на свету (например, каротиноидов у туберкулёзной палочки).

- Многие пигменты проявляют антибиотические свойства. Между пигментацией и образованием вторичных метаболитов существует такая тесная корреляция, что при наличии пигментов можно с большой долей вероятности ожидать образования антибиотиков и других БАВ.

Спорообразование

Некоторые бактерии в неблагоприятных условиях способны образовывать особые защитные формы - споры [от греч. *sporos*, семя]. Споры характеризуются высоким коэффициентом светопреломления и располагаются внутриклеточно, поэтому их также называют эндоспорами, а образующие их бактерии - спорангии. Споры образуются лишь внутри вегетирующей бактериальной клетки, и каждая клетка образует одну эндоспору. Спорообразование наблюдают у небольшой группы эубактерий, из патогенных для человека - лишь у видов *Clostridium* и *Bacillus*. На долю спор приходится большая часть сухой массы клетки-спорангия, хотя по объёму спора в 10 раз меньше объёма материнской клетки. Споры - особая форма покоящихся клеток со сведённой к нулю метаболической активностью. Они резистентны к нагреванию, радиации, высыханию и воздействию химических веществ. Благодаря этим свойствам, споры могут длительно сохраняться и обеспечивать сохранение вида в неблагоприятных условиях. Например, в почве, приставшей к растениям гербариев ботанического сада Кью Гарденс (Лондон), пролежавших 200-300 лет, обнаружены жизнеспособные споры *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*. Предположительно в сухой почве некоторое количество спор может сохраняться до 1000 лет, но уже через 50 лет хранения 90% спор теряет жизнеспособность. Основное значение спор в выживаемости бактерий определяет их терморезистентность. Устойчивость к нагреванию (а некоторые споры выдерживают даже кипячение в течение нескольких часов) обеспечивает кальциевая соль дипиколиновой (пиридин-2,6-дикарбоновой) кислоты, составляющая 10-15% общей массы споры. Единственный фактор, к действию которого споры абсолютно лабильны - открытый огонь. Как тут не вспомнить гётевского Мефистофеля и его рассуждения о неистребимости жизни: «...всё в мире так ведётся, что в воздухе, в воде и на сухом пути, в тепле и в холоде зародыш разовьётся; один огонь ещё, спасибо, остаётся, а то б убежища, ей-богу, не найти».

Помимо эндоспор у некоторых бактерий существуют другие покоящиеся формы - экзоспоры (известны только для метанооксиляющих бактерий) и цисты (шарообразная толстостенная клетка у видов *Azotobacter*). Аналогичные клетки миксобактерий называют миксоспорами. Для медицински значимых микроорганизмов перечисленные типы спорообразования не характерны.

Морфология

Споры бывают круглыми, овальными или эллиптическими; некоторые снабжены «рёбрами жёсткости», усиливающими устойчивость к механическим воздействиям. При микроскопическом исследовании споры выделяются высоким коэффициентом светопреломления, аналогичным таковому у обезвоженного белка. В зрелой споре различимы: центральный, плохо окрашиваемый участок (спороплазма), двухслойная ЦПМ и оболочка споры (рис. 4-13). Спороплазма (протопласт споры) включает цитоплазму, бактериальную хромосому, системы

белкового синтеза и некоторые другие (например, анаэробного энергообразования). Оболочка споры двухслойная; пространство между слоями заполняют гликопептидные полимеры, сходные с пептидогликанами, образующие сетчатую структуру (кортекс), проявляющую высокую чувствительность к лизоциму. Внутренний слой (стенка споры) образован пептидогликанами, аналогичными таковым у вегетирующей клетки. Внешний слой (собственно оболочка) образуют кератиноподобные белковые структуры с низкой проницаемостью.

Экзоспориум. У некоторых бактерий материнская клетка образует экзоспориум - двух-трёхслойное желатинообразное покрытие, образованное липопротеинами и углеводами и во многом аналогичное капсуле бактерий. При созревании споры экзоспориум может сохраняться в виде пустого и отстающего от споры «мешка».

Споруляция

Процесс споруляции (спорообразования) начинается сразу после возникновения дефицита питательных веществ и продолжается приблизительно 8 ч. Никаких внешних источников питания или энергии при этом не требуется. Споруляцию стимулирует внесение в среду глюкозы, фосфора и NH_4 ; угнетает внесение пептона,

лактозы, NaCl , CaCl_2 (у бактерий рода *Bacillus* - DL-аланина). Споруляция контролируется особыми генами. Их число варьибельно у различных видов и может достигать 70. Для спорообразования важна индукция гена *spoO*. Его транскрипция запускает последовательную транскрипцию всех остальных необходимых генов (оперонов). Детали спорообразования служат видовыми признаками, но его принципиальные закономерности одинаковы для всех бактерий. Подготовительная стадия сопровождается прекращением деления и увеличением количества липидных включений. Стадия предспоры обычно начинается бурно. В клетке появляется эллиптическая оболочка, окружающая участок цитоплазмы с изменёнными плотностью и тинкториальными свойствами. Подобное образование обозначают терминами «предспора», или «примордиальная спора». Третья стадия включает появление оболочки (обычно в течение 10 мин после образования

предспоры) и ещё большее увеличение коэффициента светопреломления. Стадия созревания споры сопровождается её уплотнением и снижением метаболической активности клетки. Споры могут располагаться центрально, субтерминально или терминально (рис. 4-14). У видов *Bacillus* диаметр споры не превышает ширины клетки, тогда как у многих видов *Clostridium* - значительно превышает. В ряде случаев клетка приобретает весьма характерный вид, нередко являющийся диагностическим признаком. Например, терминально расположенные споры у возбудителя столбняка придают бактериям вид «теннисных ракеток».

Поскольку споры сильно преломляют свет, то распознавание их при микроскопии не представляет затруднений. В спорных случаях прибегают к специальным методам окрашивания.

Прораствание спор

После созревания и лизиса родительской клетки спора освобождается, сохраняясь в покоящемся состоянии до попадания в благоприятные условия.

- Прорастание споры в оптимальных условиях осуществляется в течение 2-3 ч; процент проросших спор увеличивается после соответствующей предварительной обработки. Например, споры могут быть активированы кратковременным прогреванием.

- Прорастанию предшествует активация споры. Её инициируют различные химические вещества, повышение температуры и влажности. Под воздействием автолизина происходит расщепление кортекса, поглощение воды и набухание. Внешне процесс проявляется увеличением («вздутием») споры и уменьшением коэффициента светопреломления. При этом в споре происходят глубокие физиологические изменения: усиливается дыхание, увеличивается активность ферментов, происходит выделение аминокислот, дипиколиновой кислоты и пептидов (потеря сухой массы споры может достигать 20-30%). В этот период спора утрачивает терморезистентность. Затем спора лопается в произвольном месте и из неё выходит вегетативная клетка, снабжённая у подвижных видов жгутиковым аппаратом.

Покоящиеся (некультивируемые) формы бактерий

Специализированные анабиотические формы (такие как эндо- и экзоспоры, микроспоры, цисты) известны лишь для ограниченного круга микроорганизмов. Однако как у спорообразующих микроорганизмов (*Bacillus cereus*) на фоне подавления спорообразования, так и у споронеобразующих (*Pseudomonas carboxidoflava*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*) бактерий внеклеточные микробные метаболиты, проявляющие свойства индукторов анабиоза, вызывают образование *цистоподобных рефрактерных клеток* (термин связан с переходом целой клетки в покоящуюся форму и увеличенной способностью данных клеток по сравнению с обычными сильно преломлять свет). В этих клетках снижение метаболической активности (гипометаболизм) сопровождается развитием резистентности к экстремальным воздействиям. Эти формы отличаются нерегистрируемым уровнем эндогенного дыхания, повышенной терморезистентностью и спе-

цифической ультраструктурой. По сравнению с вегетативными клетками, цистоподобные рефрактерные клетки обладают рядом особенностей ультраструктурной организации: у них снижена плотность рибосом в цитоплазме, цитоплазма приобретает мелкозернистую структуру, увеличена толщина клеточной стенки, в самой клеточной стенке появляется слоистость и некоторые плотные включения. Для споронеобразующих микроорганизмов цистоподобные рефрактерные клетки - единственная покоящаяся форма, способная сохраняться в течение нескольких лет, а для спорообразующих бактерий - альтернатива спорообразованию. Поскольку рефрактерные клетки невозможно выявить с помощью традиционных бактериологических подходов, то в самое ближайшее время они могут создать серьёзную проблему при оценке их эпидемиологической и экологической значимости.

ГЕНЕТИКА БАКТЕРИЙ

В наши дни приоритетным направлением естествознания можно считать молекулярную биологию. Она тесно связана с микробиологией и в известном смысле является её детищем, так как в качестве основных моделей использует бактерии и вирусы, а одно из основных направлений молекулярной биологии - молекулярная генетика - долгое время являлась не чем иным, как генетикой бактерий и бактериофагов. Изучение генетики бактерий имеет также и несомненный прикладной интерес, например в плане установления механизмов передачи патогенных свойств и устойчивости к лекарственным препаратам. Бактерии - удобная модель для генетических исследований. Их отличает: относительная простота строения генома, позволяющая выявлять мутанты с частотой 10^{-9} и ниже; гаплоидность, исключая явление доминантности; половая дифференциация в виде донорских и реципиентных клеток; наличие обособленных и интегрированных фрагментов ДНК (плазмид, транспозонов и т.д.); лёгкость культивирования и возможность получения популяций, содержащих миллиарды микробных тел.

Как и у других организмов, совокупность генов бактериальной клетки - геном - определяет её свойства и признаки (генотип). Фенотип бактериальной клетки - результат взаимодействий между бактерией и окружающей средой - также контролирует геном (так как сами признаки закодированы в бактериальных генах).

Генетический материал бактерий

Ядерные структуры бактерий имеют характерное строение, отличающее их от ядер эукариотических клеток; их образуют так называемые хроматиновые тельца, или нуклеоиды,

лишённые оболочки и включающие в себя почти всю ДНК бактерии.

- Ядерные структуры можно наблюдать в фазово-контрастный микроскоп, где они выглядят как менее плотные участки цитоплазмы. Для их выявления в фиксированных мазках предложена реакция Фельгена-Россенбёка.

- В растущих бактериальных клетках нуклеоиды активно делятся, их количество иногда достигает 2-4.

Прокариотический геном

У бактерий обычно имеется одна замкнутая кольцевидная хромосома, содержащая до 4000 отдельных генов, необходимых для поддержания жизнедеятельности и размножения бактерий, то есть *бактериальная клетка гаплоидна*, а удвоение хромосомы обычно сопровождается её делением.

- Некоторые виды (например, *Brucella melitensis*) стабильно содержат две кольцевые хромосомы, другие (*Leptospira interrogans*) - одну кольцевую хромосому и одну большую плазмиду, третьи - одну линейную хромосому (*Streptomyces antibioticus*)[^] есть обладают сложными генами.

- Бактериальная хромосома содержит до 5×10^6 пар оснований. Для сравнения: геном человека составляет $2,9 \times 10^9$ пар оснований. Длина бактериальной хромосомы в развёрнутом состоянии составляет около 1 мм (*Escherichia coli*).

Некоторые бактерии содержат внехромосомные молекулы ДНК (плазмиды) и мобильные элементы (либо плазмидные, либо хромосомные).

Внехромосомные факторы наследственности

Внехромосомные факторы наследственности бактерий представлены плазмидами, вставочными последовательностями и транспозонами. Все они образованы молекулами ДНК, различа-

ющимися между собой по молекулярной массе, кодирующей ёмкости, способности к автономному реплицированию и др.

Плазмиды

Плазмиды - фрагменты ДНК с молекулярной массой порядка 10^6 - 10^8 дальтон, несущие от 40 до 50 генов. Выделяют автономные (не связанные с хромосомой бактерии) и интегрированные (встроенные в хромосому) плазмиды.

- Автономные плазмиды существуют в цитоплазме бактерий и способны самостоятельно репродуцироваться; в клетке может присутствовать несколько их копий.

- Интегрированные плазмиды репродуцируются одновременно с бактериальной хромосомой. Интеграция плазмид происходит при наличии гомологичных последовательностей ДНК, при которых возможна рекомбинация хромосомной и плазмидной ДНК (что сближает их с профагами).

- Плазмиды также подразделяют на трансмиссивные (например, F- или R-плазмиды), способные передаваться посредством конъюгации и нетрансмиссивные.

Плазмиды выполняют регуляторные или кодирующие функции. Регуляторные плазмиды участвуют в компенсировании тех или иных дефектов метаболизма бактериальной клетки посредством встраивания в повреждённый геном и восстановления его функций.

Кодирующие плазмиды приносят в бактериальную клетку новую генетическую информацию, кодирующую новые, необычные свойства (например, устойчивость к антибиотикам).

В соответствии с определёнными признаками, кодируемыми плазмидными генами, выделяют следующие группы плазмид.

F-плазмиды. При изучении процесса скрещивания бактерий оказалось, что способность клетки быть донором генетического материала связана с присутствием особого F-фактора [от англ. *fertility*, плодовитость]. F-плазмиды контролируют синтез F-пилей, способствующих спариванию бактерий-доноров (F⁺) с бактериями-реципиентами (F⁻). В связи с этим можно указать, что сам термин «плазида» был предложен для обозначения «полового» фактора бактерий (Джошуа Лёдерберг, 1952). F-плазмиды могут быть автономными и интегрированными. Встроенная в хромосому F-плазида обеспечивает высокую частоту рекомбинации бактерий данного типа, поэтому их также обозначают как Hfr-плазмиды [от англ. *high frequency of recombinations*, высокая частота рекомбинаций].

R-плазмиды [от англ. *resistance*, устойчивость] кодируют устойчивость к лекарственным препаратам (например, к антибиотикам и сульфаниламидам, хотя некоторые детерминанты

устойчивости правильнее рассматривать как связанные с транспозонами [см. ниже]), а также к тяжёлым металлам. R-плазмиды включают все гены, ответственные за перенос факторов устойчивости из клетки в клетку.

Неконъюгативные плазмиды обычно характерны для грамположительных кокков, но встречаются также у некоторых грамотрицательных микроорганизмов (например, у *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*). Они обычно имеют небольшие размеры (молекулярная масса примерно $1-10 \times 10^6$ дальтон). Обнаруживают большое количество мелких плазмид (более 30 на клетку), так как только наличие такого количества обеспечивает их распределение в потомстве при клеточном делении. Неконъюгативные плазмиды могут быть также перенесены из клетки в клетку при наличии в бактерии одновременно конъюгативных и неконъюгативных плазмид. При конъюгации донор может передать и неконъюгативные плазмиды за счёт связывания генетического материала последних с конъюгативной плазмидой.

Плазмиды бактериоциногении кодируют синтез бактериоцинов - белковых продуктов, вызывающих гибель бактерий того же или близких видов. Многие плазмиды, кодирующие образование бактериоцинов, также содержат набор генов, ответственных за конъюгацию и перенос плазмид. Подобные плазмиды относительно крупные (молекулярная масса 25-150 млн дальтон), их довольно часто выявляют у грамотрицательных палочек. Большие плазмиды обычно присутствуют в количестве 1-2 копий на клетку. Их репликация тесно связана с репликацией бактериальной хромосомы.

Плазмиды патогенности контролируют вирулентные свойства многих видов, особенно энтеробактерий. В частности F-, R-плазмиды и плазмиды бактериоциногении включают tox^+ -транспозоны (мигрирующий генетический элемент, см. ниже), кодирующие токсинообразование. Нередко tox^- -транспозоны кодируют синтез интактных протоксинов (например, дифтерийного или ботулинического), активируемых клеточными протеазами, образование которых контролируют гены бактериальных хромосом.

Скрытые плазмиды. Криптические (скрытые) плазмиды не содержат генов, которые можно было бы обнаружить по их фенотипическому проявлению.

Плазмиды биодegradации. Обнаружен также ряд плазмид, кодирующих ферменты деградации природных (мочевина, углеводы) и неприродных (толуол, камфора, нафталин) соединений, необходимых для использования в качестве источников углерода или энергии, что обеспечивает им селективные преимущества перед другими бактериями данного вида. Патогенным бактериям подобные плазмиды придают преимущества перед представителями аутомикрофлоры.

Мигрирующие генетические элементы

Мигрирующие генетические элементы - отдельные участки ДНК, способные осуществлять собственный перенос (транспозицию) внутри генома. Транспозиция связана со способностью мигрирующих элементов кодировать специфический фермент рекомбинации - транспозазу.

Вставочные (инсерционные) последовательности [IS-элементы (англ. *insertion*, вставка, + *sequence*, последовательность)] - простейший тип мигрирующих элементов (рис. 4-15, А); их величина не превышает 1500 пар оснований (в среднем 800-1400). IS-элементы самостоятельно не реплицируются и не кодируют распознаваемых фенотипических признаков. Содержащиеся в них гены обеспечивают только их перемещение из одного участка в другой. Основные функции IS-последовательностей - регуляция активности генов бактериальной клетки (могут инактивировать гены, в которые включились, или, встраиваясь в хромосому, проявлять эффект промотора, включающего либо выключающего транскрипцию соответствующих генов), индукция мутаций типа делеций или инверсий (при перемещении) и дупликаций (при встраивании в

хромосому), координация взаимодействий плазмид, транспозонов и профагов (как между собой, так и бактериальной хромосомой).

Транспозоны (Тп-элементы) состоят из 2000-25 000 пар нуклеотидов, содержат фрагмент ДНК, несущий специфические гены, и два концевых IS-элемента (рис. 4-15, Б). При включении в ДНК бактерий транспозоны вызывают дупликации, при выходе из определённого участка ДНК - делеции, при выходе и включении обратно с поворотом фрагмента на 180° - инверсии. Транспозоны не способны к самостоятельной репликации и размножаются только в составе бактериальной хромосомы. Каждый транспозон обычно содержит гены, приносящие важные для бактерии характеристики типа множественной устойчивости к антибактериальным агентам. Поскольку транспозоны содержат гены, определяющие фенотипически выраженные признаки (например, устойчивость к антибиотикам), то их легче обнаружить, чем IS-элементы. В общем, для транспозонов характерны те же гены, что и для плазмид (гены устойчивости к антибиотикам, токсинообразования, дополнительных ферментов метаболизма).

Умеренные и дефектные бактериофаги также могут быть факторами изменчивости, напоминая по своим свойствам интегрированные плазмиды. Встраиваясь в бактериальную хромосому в форме профага (провируса), они вызывают лизогенизацию бактерий, которые могут приобретать новые свойства (см. также гл. 5).

Бактериофаги, как мигрирующие генетические элементы. В некоторых ситуациях факторами изменчивости могут быть умеренные, или дефектные, фаги, поскольку они могут встраиваться в хромосому (состояние профага) и выходить из неё, захватывая иногда и гены хромосомы клетки-хозяина (см. раздел «Трансдукция»). Например, р-бактериофаг сходен с IS-элементами и транспозонами, так как способен включаться практически в любой участок бактериальной хромосомы, принося свой генетический материал и вызывая мутагенный эффект. Сохраняя все типичные свойства фага, р-бактериофаг можно рассматривать как гигантский транспозон.

Мутации у бактерий

Информация, которую несёт ДНК, не является чем-то абсолютно стабильным. Если бы она была таковой, то диапазон реакций родственных микроорганизмов на внешнее воздействие был бы постоянным, а значит, внезапное изменение условий внешней среды для микроорганизмов с «застывшим» генотипом привело бы к исчезновению вида. Реальная нестабильность генома вызвана мутациями, обменом генетической информацией между донором и реципиентом (см. ниже).

Термин «мутация» предложил де Фриз как понятие «скачкообразного изменения наследственного признака» при изучении наследственности у растений. Позднее Бейеринк распространил это понятие и на бактерии. *Мутация - изменение первичной структуры ДНК, проявляющееся наследственно закреплённой утратой или изменением какого-либо признака или группы признаков.* Мутации подразделяют по происхождению, характеру изменений структуры ДНК, фенотипическим последствиям для клетки-мутанта и др. Факторы, вызывающие мутации, известны как мутагены. Они обычно имеют физическую или химическую природу. По происхождению выделяют мутации индуцированные, то есть вызванные искусственно, и спонтанные («дикие»), возникают в популяции бактерий без видимого вмешательства извне).

Спонтанные мутации

К появлению спонтанных мутаций приводят ошибки репликации, неправильное формирование комплементарных пар оснований или структурные искажения ДНК под действием

естественный мутагенов. Спонтанные мутации могут вызывать *благоприятные и неблагоприятные генетические изменения*. Примерный уровень спонтанного мутирования - одна мутация на каждые 10^6 - 10^7 клеток. Численная доля мутантов в клеточной популяции для разных признаков различна и может варьировать от 10^{-4} до 10^{-11} . Для конкретного гена частота мутирования составляет величину порядка 10^{-5} , а для определённой пары нуклеотидов 10^{-8} . Например, если на среду с антибиотиком посеять миллион бактерий, можно ожидать, что в результате спонтанной мутации одна колония выживет.

- Несмотря на то, что уровень мутаций в популяции бактерий для отдельных клеток кажется незначительным, нужно помнить, что популяция бактерий огромна, и они размножаются быстро. Следовательно, уровень мутаций с точки зрения целой популяции довольно значителен. Кроме того, появившиеся спонтанно и устойчивые к действию какого-либо антибиотика мутанты имеют при размножении преимущество по сравнению с "диким" типом бактерий и быстро образуют устойчивую популяцию.

- *Обратные мутации (реверсии) возвращают спонтанно мутировавшую клетку к исходному генетическому состоянию*. Их наблюдают с частотой одна клетка на 10^7 - 10^8 (то есть по меньшей мере в десять раз реже, чем прямые спонтанные мутации).

Индукцированные мутации

Химический мутагенез. Некоторые химические вещества (мутагены) значительно повышают частоту мутирования до одной мутантной клетки на 10^3 - 10^4 клеток. К таким веществам относят аналоги азотистых оснований (например, бромурацил), включающиеся в молекулу ДНК и вызывающие вставку некорректного основания при репликации (в частности, бромур-ацил аналогичен по структуре тимину, он включается в ДНК как партнёр аденина, а затем переходит в енольную форму и узнаётся полимеразой как цитозин, что приводит к включению гуанина вместо аденина); алкилирующие агенты (например, этилметансульфонат алкилирует

ет преимущественно атом азота гуанина); азотистая кислота, дезаминирующая азотистые основания; интеркалирующие агенты (например, акридиновые красители), внедряющиеся между основаниями ДНК и вызывающие увеличение расстояния между ними, что приводит к утрате нуклеотидов, включению дополнительной пары нуклеотидов и др.

Радиационный мутагенез обычно приводит к образованию пиримидиновых димеров. УФ-, рентгеновские лучи и другие виды ионизирующего излучения оказывают на микроорганизмы как летальное (подавляющее жизнедеятельность), так и мутагенное воздействие.

Типы мутаций

Мутации могут индуцировать следующие события: модификации оснований (изменения отдельных нуклеотидов), вставки (включение дополнительных оснований), делеции (потеря одного основания или группы оснований) и деформации спирали ДНК.

- Модификация оснований включает химическое изменение азотистого основания в кодирующей последовательности, что приводит к изменению кодона. В результате вместо одной аминокислоты кодируется другая либо возникает бессмысленный кодон.

- Вставка либо делеция какого-либо основания (аналогов оснований) в ДНК приводит к фреймшифт-мутациям (мутации со сдвигом рамки считывания), что вызывает изменение позиции рамки считывания триплетного кодона, и, таким образом, изменение всех последующих кодонов.

- Деформации спирали ДНК (структурные искажения ДНК) образуются в результате индуцированной УФ-излучением димеризации расположенных близко нуклеотидов (особенно ти-

мина). Образовавшееся циклобутановое кольцо нарушает симметрию ДНК и препятствует правильной репликации. Репликация может быть нарушена также при образовании поперечных межцепочечных сшивок ДНК.

В зависимости от синтеза «правильных» или «неправильных» полипептидов при считывании мРНК, отразившей изменения ДНК (то есть в зависимости от сохранения смысловой функции образующегося полипептида), различают несколько видов мутаций.

- «Молчащие» мутации (мутации «без изменения смысла», то есть не вызывающие изменения аминокислотной последовательности белка). Их появление возможно вследствие вырожденности генетического кода. Получившийся в результате мутирования триплет кодирует ту же самую аминокислоту, что и исходный триплет, поэтому синтезируемый белок остаётся без изменений.

- Миссенс-мутации (мутации «с изменением смысла») возникают при условии, что изменения кодирующей последовательности приводят к появлению в полипептиде иной аминокислоты. Получающийся изменённый белок может быть функциональным или нефункциональным в зависимости от значимости затронутой мутацией области.

- Нонсенс-мутации («антисмысловые», «бессмысленные» мутации) приводят к образованию одного из трёх кодонов-терминаторов (УАГ, УАА, УГА), вызывающих преждевременное окончание синтеза полипептидной цепи. Когда рибосома достигает такого кодона, процесс элонгации полипептидной цепи заканчивается, и высвобождается неполный пептид (вероятно, такое действие терминальных кодонов обусловлено отсутствием тРНК, связывающихся с данными кодонами). Эта мутация приводит либо к синтезу очень коротких нефункциональных белков, либо к полному прекращению синтеза белка.

Репарация ДНК

В клетке существуют механизмы, способные полностью или частично восстанавливать исходную структуру изменённой ДНК. Мутации, вызванные радиацией, химическими веществами и другими факторами, теоретически могли бы привести к вымиранию бактериальной популяции, если бы последняя была лишена способности к репарации ДНК. Совокупность ферментов, катализирующих коррекцию повреждений ДНК, объединяют в так называемые системы репарации, принципиально различающиеся по биохимическим механизмам «залечивания» повреждений. Известно три основных направления коррекции дефектов ДНК.

1. Непосредственная реверсия от повреждённой ДНК к исходной структуре, когда изменения в ДНК исправляется с помощью единственной ферментативной реакции. Например, удаление неправильно присоединённой метильной группы при шестом атоме кислорода гуанина с помощью метилтрансферазы; или расщепление возникшего в результате облучения тиминового димера с помощью фототлиазы (рекомбинационная репарация).

2. «Вырезание» повреждений с последующим восстановлением исходной структуры (эксцизи-онная репарация).

3. Активация особых механизмов, обеспечивающих выживание при повреждениях ДНК (восстановление исходной структуры ДНК в результате рекомбинации; коррекция ошибочного спаривания оснований; трансляционный синтез на повреждённой матрице ДНК). Эти механизмы не всегда приводят к полному восстановлению исходной структуры ДНК.

Компенсация функций, нарушенных в результате мутаций

Первичная мутация может быть компенсирована вторичной мутацией, которая произошла внутри мутировавшего гена (интрагенно) или в другом гене (экстрагенно). Изменения, которые

устраняют проявления мутации, не исправляя при этом первоначального нарушения в ДНК, называют супрессией.

Интрагенная супрессия вызвана вторичной мутацией, корректирующей эффекты первичной мутации. Например, точечная мутация, приводящая к синтезу дефектного белка с утраченной биологической активностью, может быть исправлена, если вторичная точечная мутация приведёт к кодированию аминокислоты, сохраняющей конфигурацию и активность белка. Точное восстановление исходной структуры гена называют истинной обратной мутацией (истинной реверсией). Если эффект первой мутации компенсирован мутацией в другой части гена, такие мутации называют вторичными реверсиями.

Экстрагенная супрессия - подавление проявления мутации, произошедшей в одном гене, вследствие мутации во втором гене.

Перенос бактериальной ДНК

Длительное время считали, что бактерии - изолированные генетические системы, и каждая особь имеет одного (и только одного) родителя, то есть их изменчивость вызвана лишь мутациями. Никто не мог себе представить, что - подобно гаметам высших организмов - бактерии способны обмениваться генетическим материалом и, по аналогии с половым размножением, давать начало потомству с новыми свойствами. Однако Лёдерберг и Тейтем (1946), высевая на минеральную среду, предварительно смешав два типа мутантов *Escherichia coli* (один нуждался в биотине и метионине, другой - в треонине и лейцине), показали, что у бактерий генетические рекомбинанты со способностью к синтезу всех четырёх факторов роста возникают с частотой 10^{-6} , хотя теоретическая вероятность реверсии по двум генам составляет 10^{-14} - 10^{-16} на генерацию. Это противоречие было снято установлением факта прямой передачи генетического материала от донорной клетки к реципиентной (конъюгация). Помимо конъюгации, передача генетического материала у бактерий может осуществляться также с помощью трансформации и трансдукции (рис. 4-16).

Конъюгация

Конъюгация - прямой перенос фрагмента ДНК от донорных бактериальных клеток к реципиентным при непосредственном контакте этих клеток. Биологическая значимость этого процесса стала проясняться после внедрения в медицинскую практику антибиотиков. Устойчивость к антибиотикам можно получить в результате мутации, что происходит один раз на каждые 10^6 клеточных делений. Однако, однажды изменившись, генетическая информация может быстро распространяться среди сходных бактерий благодаря конъюгации, поскольку каждая третья из близкородственных бактерий способна именно к этому типу генетического переноса. Для реализации процесса необходим F-фактор - плаزمид, кодирующая информацию, необходимую для конъюгации.

Конъюгация требует наличия двух типов клеток: доноров (F⁺), обладающих F-фактором, и реципиентов (F⁻), не обладающих им. При скрещивании клеток F⁻ и F⁺ фактор фертильно-сти передаётся с частотой, близкой к 100%.

Фактор переноса содержит гены специальных и необходимых при конъюгации структур - F-пилей и ряд других генов, вовлечённых в процесс взаимодействия с F⁻-клетками. Первый этап конъюгации - прикрепление клетки-донора к реципиенту с помощью F-пилей. Затем между клетками формируется конъюгационный мостик, через который передаётся F-фактор, а также и другие плазмиды, автономно пребывающие в цитоплазме донора. При попадании F-фактора в реципиентную клетку она становится F⁺ и приобретает способность передавать фактор фер-

тельности другим F⁻-клеткам. Подобный механизм обеспечивает приобретение популяционной устойчивости к антибактериальным агентам.

В популяции клеток, содержащих F-плазмиду, только те, в которых она интегрирована в бактериальную хромосому (ШГ⁺-клетки), способны быть донорами хромосомной ДНК. При переносе генетического материала бактериальная ДНК реплицируется, начиная от места включения F-фактора, одна цепь ДНК переносится в реципиентную F⁻-клетку двигаясь 5"-концом вперёд, тогда как другая остаётся в ШГ⁺-клетке, то есть донор сохраняет своё генетическое постоянство. После начала конъюгации хромосомный материал переносится, начиная от генов, близких к начальной точке транспорта (рис. 4-17). В бактерии-реципиенты обычно попадают первые из переносимых генов, размер которых зависит от времени, в течение которого проходила конъюгация, и очень редко - все гены. Позже всех переносится участок плазмиды, содержащий ген переноса, кодирующий F-пили. Поскольку полная трансмиссия - явление редкое, реципиентная клетка при Hfr-конъюгации обычно остаётся F⁻. Вслед за процессом переноса в клетке-реципиенте происходит гомологичная рекомбинация между донорской ДНК и собственной ДНК реципиента.

Процесс конъюгации может происходить только при соблюдении ряда условий.

- На поверхности реципиентных бактерий должны быть рецепторы пилей, имеющие существенное сродство к F-пилям, что позволяет образовать стабильную связь между пилями и рецепторами.

- Для эффективной конъюгации у F-фактора должна быть точка начала репликации, распознаваемая репликативными системами хозяина.

- Эффективность Hfr-конъюгации зависит от величины гомологии ДНК. Перенос негомологичного хромосомного материала донора не приведёт к его интеграции с ДНК реципиента.

Трансформация

Трансформация - генетическое изменение клеток в результате включения в их геном экзогенной ДНК. Феномен открыл Гриффит у *Streptococcus pneumoniae* (1928); позднее О. Эвери, К. Маклеод и М. МакКарти (1944)

выделили трансформирующее начало пневмококков в форме молекулы ДНК (заметим попутно, что именно это и явилось первым прямым доказательством того, что носитель генетической информации - ДНК). Погибшие бактерии постоянно высвобождают ДНК, которая может быть воспринята другими бактериями. Как правило, любая чужеродная ДНК, попадающая в бактериальную клетку, расщепляется эндонуклеазами, но при некоторых условиях такая ДНК может быть включена в геном бактерии. По происхождению ДНК может быть плазмидной либо хромосомной и нести гены, «трансформирующие» реципиента. Подобным путём в популяции могут быть распространены гены, кодирующие факторы вирулентности. В обмене генетической информацией трансформация играет незначительную роль.

Стадии. Трансформация протекает в три стадии: 1) адсорбция двухцепочечной ДНК на участках клеточной стенки компетентных клеток; 2) ферментативное расщепление связавшейся ДНК в некоторых случайно расположенных местах с образованием фрагментов 4-5x10⁶ дальтон; 3) проникновение фрагментов ДНК с молекулярной массой не менее 5x10⁵ дальтон, сопровождающееся разрушением одной из цепей ДНК (последний этап энергозависим). Проникшая цепь ДНК рекомбинирует с генетическим материалом реципиентной клетки.

Применение при картировании бактериальных генов. Трансформация служит хорошим инструментом для картирования хромосом, поскольку трансформированные клетки включают различные фрагменты ДНК. Определение частоты одновременного приобретения двух заданных характеристик (чем ближе расположены гены, тем более вероятно, что они оба включатся в один и тот же участок ДНК) даёт информацию о взаиморасположении соответствующих генов в хромосоме.

Трансдукция

Трансдукция - перенос бактериофагом в заражаемую клетку фрагментов генетического материала клетки, исходно содержащей бактериофаг. Трансдуцирующий бактериофаг обычно переносит лишь небольшой фрагмент ДНК хозяина от одной клетки (донор) к другой (реципиент). Выделено три типа трансдукции: неспецифическая (общая), специфическая и abortивная. В клетке, инфицированной бактериофагом, в ходе сборки дочерней популяции в головки некоторых фагов вместе с вирусной ДНК могут проникнуть фрагменты бактериальной ДНК или плазмиды. Вирусы ограничены в объёме генетического материала в соответствии с объёмом головки. Если ДНК бактериальной клетки расщепляется фагом в нетипичном месте, то чтобы освободить пространство для фрагмента хромосомной ДНК, некоторые участки вирусных ДНК «приносятся в жертву», что приводит к утере определённых их функций. При этом фаговая частица может стать дефектной. Количество аномальных фагов может достигать 0,3% всей дочерней популяции. Образовавшийся фаг и есть частица, вызывающая неспецифическую (общую) трансдукцию. При такой форме трансдукции в клетки-реципиенты могут быть внесены практически любые гены.

При неспецифической трансдукции фагом может быть перенесён любой фрагмент ДНК хозяина, а при специфической лишь строго определённые фрагменты ДНК. Наиболее известным примером специфической трансдукции служит трансдукция, осуществляемая фагом X. Поскольку этот фаг при переходе в состояние профага включается в хромосому бактерий между генами, кодирующими синтез галактозы и биотина, именно эти гены он может переносить при трансдукции. При abortивной трансдукции внесённый фрагмент ДНК донора не встраивается в генофор реципиента, а остаётся в цитоплазме, где его ДНК транскрибируется, но не реплицируется. Это приводит к тому, что при клеточном делении он передаётся только одной из дочерних клеток (то есть наследуется однолинейно) и затем теряется в потомстве.

Свойства трансдуцирующих фаговых частиц следующие.

- Частицы несут лишь часть ДНК фага, то есть не являются функциональными вирусами, а скорее ёмкостями, переносящими фрагменты бактериальной ДНК.

- Подобно прочим дефектным вирусам, частицы не способны к репликации.

- Трансдуцирующие фаги могут содержать какую-либо часть хромосомы хозяина с генами, дающими реципиентной бактерии некоторые преимущества (например, гены устойчивости к антибиотикам или гены, кодирующие способность к синтезу различных веществ). Подобное приобретение бактериями новых свойств получило название феномен лизогении (см. также главу 5).

- Феномен трансдукции может быть использован для картирования бактериальной хромосомы, если следовать тем же принципам, что и при картировании с использованием феномена трансформации.

Ненаследуемые изменения свойств бактерий

Приспособительная активность микроорганизмов лежит в основе их изменчивости. Во многом эта способность определяет пластичность и слаженность обменных процессов, сложившихся в ходе эволюции конкретного вида. Далеко не каждый признак признаётся

пригодным для включения в наследственную информацию. Он должен быть тщательно проверен, доказана его целесообразность для потомства, то есть наследственность консервативна. Однако при действии факторов внешней среды клетка может регулировать экспрессию генов. При этом кодируемый определённым геном белок может быть практически полностью исключён из обмена либо может проводиться в больших количествах (регуляция на уровне синтеза). Белок также может быть изменён по структуре так, что его функциональная активность также меняется (регуляция на уровне активности). Временные, наследственно не закреплённые изменения принято обозначать как модификации. Они могут возникать в популяции любого вида, и их проявления в мире бактерий наблюдают довольно часто. Они в целом контролируются генофоном бактерий, но (в отличие от мутаций) не сопровождаются изменениями кодирующей структуры и утрачиваются при прекращении действия вызвавших их факторов. У бактерий наблюдают морфологические (приводящие к обратимым изменениям формы) и биохимические (приводящие к синтезу некоторых продуктов, чаще ферментов) модификации. По существу, модификации возникают как адаптивные реакции бактериальных клеток на изменения окружающей среды, что позволяет им быстро приспосабливаться благодаря чему сохраняется определённая численность популяции. После устранения соответствующего воздействия, вызвавшего их образование, бактерии возвращаются к исходному фенотипу. Примером адаптации микроорганизмов может служить способность патогенных микроорганизмов образовывать под действием пенициллина *L-формы*, у которых отсутствует клеточная стенка, служащая мишенью для пенициллина.

Стандартное проявление модификации - *разделение однородной популяции на два или несколько типов*. Феномен впервые исследовали Вейль и Фёликс (1917). По предложению де Крайфа (1921), он получил название диссоциация микробов. Обычно диссоциации возникают в условиях, неблагоприятных для исходной популяции (высокая концентрация ионов, неоптимальная температура, избыточно щелочная среда), при старении культуры (например, при длительном хранении) либо под действием антисыворотки, бактериофагов и сильнодействующих агентов. Простые проявления диссоциаций, доступных для наблюдений, - изменение вида и структуры бактериальных колоний на твёрдых питательных средах и особенности роста в жидких средах. Для обозначения диссоциирующих колоний Аркрайт (1921) предложил первые буквы английских названий: S-колонии [от англ. *smooth*, гладкий], R-колонии [от англ. *rough*, шероховатый], M-колонии [от англ. *mucoid*, слизистый] и D-колонии [от англ. *dwarf*, карликовый]. Диссоциация обычно протекает в направлении S -R, иногда через образование промежуточных слизистых (M) колоний. Обратный (R - S) переход наблюдают значительно реже. Большинство патогенных для человека бактерий образует S-колонии; исключение составляют возбудители туберкулёза, чумы, сибирской язвы и немногие другие. Следует помнить, что *диссоциации сопровождаются изменениями биохимических, морфологических, антигенных и патогенных свойств возбудителей*.

ГЛАВА 5. ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Вирусы нельзя отнести ни к растениям, ни к животным. Вне клетки они инертны, а некоторые вирусы даже образуют кристаллы. Вирусную частицу можно рассматривать не как живой организм, а как сравнительно крупный нуклеопротеид, проникающий в клетку и «тиражирующийся» в ней.

ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Хотя ещё в 1885 г. Э. Шамберлан, Э. Ру и Л. Пастёр разработали вакцину против вируса бешенства, а Дженнер ещё в конце XVIII в. получил первую противовирусную (противооспенную)

вакцину, первооткрывателем вирусов и основоположником вирусологии считают всемирно известного отечественного учёного Д.И. Ивановского. Собственно, отсчёт истории вирусологии следует вести от 12 февраля 1892 г., даты сообщения Д.И. Ивановского в Академии наук об открытии возбудителя «табачной мозаики», сделанном на Одесской бактериологической станции, которой тогда руководил Н.Ф. Гамалея. Позднее М. Бёйеринк установил способность возбудителя табачной мозаики диффундировать через агар и заключил, что агент Д.И. Ивановского является живым жидким контагием (*contagium vivum fluidum*). Последующие открытия доказали наличие микроскопических фильтрующихся инфекционных агентов, и уже в первом номере «Бюллетеня Института Пастёра» за 1903 г. Ру объявил, что «те, кто считает вирусы плодами фантазии глубоко ошибаются». Особо отметим высказывание о роли нашего соотечественника американского вирусолога У. Стэнли: «Право Ивановского на славу растёт с годами. Я считаю, что его отношение к вирусам должно рассматриваться в том же свете, как мы смотрим на отношение Пастёра и Коха к бактериям».

С первых шагов вирусологии многие исследователи придерживались мнения, что вирусы - мелкие, фильтрующиеся (то есть проходящие через бактериальные фильтры) формы микроорганизмов, утерявшие способность расти на обычных субстратах. Первые наблюдения над фильтрующимися формами сделал Н.Ф. Гамалёя (1898), обнаруживший просветление взвеси палочек сибирской язвы в дистиллированной воде, вызванное разрушением бактерий, и способность этой жидкости в течение 6-12 ч вызывать разрушение свежих культур сибиреязвенной палочки. В этом же плане интересные попытки вырастить вирусы на различных питательных средах делал директор Лондонского Брауновского общества Ф. Туорт. В ходе экспериментов он также обратил внимание на необычное «стекловидное перерождение» колоний стафилококков, загрязнявших его посевы.

Туорт отметил, что подобные колонии теряли способность к пересевам, а внесение их содержимого в здоровые колонии вызывало перерождение последних. В своей статье (*The Lancet*, 1913) он заключил, что причиной перерождения может быть фермент, разрушающий сами клетки-продуценты, или *агент, поражающий бактерии*. Это открытие подтвердил Ф. д'Эрёлль, выделивший из кишечника больного шигеллы, содержащие некий агент, растворяющий их, и назвал его «невидимый бактериальный антагонист», или бактериофаг (фаг). В настоящее время сам термин «бактериофаг» [от бактерия + греч. *phagein*, поедать] явно исчерпал своё значение и употребляется больше как дань традиции, нежели по существу. Более полно отражает его природу и наши представления о бактериофагах термин «бактериальный вирус».

Особый интерес развивающейся области придало открытие онкогенных вирусов (П. Раус, 1901). Однако длительное время развитию вирусологии препятствовало отсутствие адекватных моделей и методов изучения возбудителей. Исследования ограничивались моделированием вирусных инфекций на лабораторных животных. Исследования П. Руа (1911), Э. Гудпасчера и Э. Вудрафф (1931), Ф. Бернёта (1933) и других учёных заложили основы культивирования вирусов в эмбрионах кур, что позволило позднее перейти к использованию и других тканевых моделей. Совершенствование электронной микроскопии позволило детально изучить морфологию и организацию вирусных частиц. После того, как были открыты микоплазмы, также проходящие через фильтры, к вирусам перестали применять прилагательное «фильтрующиеся». В 1956 г. было сделано ещё одно краеугольное открытие в вирусологии - было установлено, что нуклеиновые кислоты вирусов могут проявлять инфекционные свойства. Этот факт лёг в основу открытия механизма размножения вирусов.

Благодаря успехам в разработке вакцин против многих вирусов - оспы, бешенства, полиомиелита, кори, жёлтой лихорадки и многих других - стала возможна эффективная борьба с вирусными инфекциями человека. В настоящее время эта ещё недавно довольно узкая дисциплина - одна из наиболее интенсивно развивающихся медико-биологических наук. Интерес к вирусологии объясняет, во-первых, *ведущая роль вирусов в инфекционной патологии человека*, их

удельный вес (особенно на фоне практически полного отсутствия средств специфической химиотерапии) возрастает по мере снижения заболеваемости бактериальными, грибковыми и протозойными инфекциями. Во-вторых, на моделях вирусов (как относительно просто организованных формах) разрешают многие фундаментальные вопросы биологии. Одним из крупнейших вкладов вирусологии в современную науку считают открытие фермента обратной транскриптазы, использование которой лежит в основе генной инженерии.

РЕПРОДУКЦИЯ ВИРУСОВ

Фундаментальное отличие вирусов от других инфекционных агентов состоит в механизмах их репродукции: *вирусы не способны к самостоятельному размножению*. Репликация генетического материала вирусов (ДНК или РНК), а также экспрессия вирусных генов (вирусный ген вирусный белок) осуществляются при помощи механизмов репликации, транскрипции, сплайсинга и трансляции инфицированной клетки-хозяина. Циклы репродукции вирусов в инфицированной клетке зависят от типа вирусной нуклеиновой кислоты (подробнее см. раздел «Вирусы» в главе 2).

Репродукция +РНК-вирусов

+РНК-вирусы (например, пикорна- и тогавирусы) проникают в чувствительную клетку путём виропексиса. Репродуктивный цикл начинается после высвобождения вирусного генома в цитоплазме (рис. 5-1).

Пикорнавирусы

Пикорнавирусы размножаются подобно большинству +РНК-содержащих вирусов. Среди них наиболее хорошо изучен полиовирус (возбудитель полиомиелита), имеющий небольшие размеры, «голый» капсид и однонитевую молекулу +РНК. Адсорбционные возможности полиовируса ограничены клетками приматов и человека, имеющих специфические рецепторы. Репликация +РНК полностью происходит в цитоплазме клетки. Репродуктивный цикл подразделяют на раннюю и позднюю стадии.

Ранняя стадия репродукции включает процессы, происходящие после проникновения вируса в клетку до образования большого количества копий +РНК в процессе репликации (см. главу 2). Поздняя стадия репродукции включает синтез белков капсида. Образованные в репликативном синтезе молекулы +РНК функционируют как мРНК, транслируясь в один гигантский полипептид, «нарезаемый» протеазами на капсидные белки. После самосборки капсидов формируется зрелая дочерняя популяция. Поскольку пикорнавирусы лишены суперкапсида, то высвобождение популяции сопровождается массивным повреждением клеточной мембраны с последующим лизисом инфицированной клетки.

Тогавирусы

После проникновения вириона в клетку синтезируется вирусная полимераз (РНК-зависимая РНК-полимераза), катализирующая образование -РНК на матрице +РНК. Образовавшиеся цепи -РНК служат матрицей для синтеза двух типов +РНК (полная и короткая нити). Каждая +РНК транслируется в большой полипептид, подвергающийся последовательному расщеплению и процессингу. Полная нить (42S) служит «шаблоном» для синтеза вирусных полипептидов или идёт на построение геномов дочерних популяций вируса; короткая нить (26S) кодирует белки капсида и два оболочечных белка. Последние гликолизуются, расщепляются и встраиваются в клеточную мембрану, модифицируя её. Дочерние вирионы почкуются через изменённые участки мембраны с образованием суперкапсида.

Ретровирусы

Репродуктивный цикл +РНК-ретровирусов уникален, так как при его реализации как промежуточный продукт образуются молекулы ДНК (рис. 5-2). Поскольку обратная транскрипция и интеграция вирусного генома предшествуют репликации, то (в противоположность прочим молекулам вирусных +РНК) *плюс-молекулы РНК ретровирусов не проявляют инфекционных свойств*, а служат матрицей для синтеза молекулы -ДНК РНК-зависимой ДНК-полимеразой (обратной транскриптазой, ревертазой), входящей в состав вирусной частицы. С молекул -ДНК копируются цепи +ДНК. Затем обе цепи соединяются с образованием двойной цепи и транспортируются в ядро клетки. Клеточные эндонуклеазы и лигазы (интегразы) катализируют сплайсинг ДНК клетки с вирусной ДНК. В результате образуются новые, рекомбинантные молекулы ДНК. Вновь образованная ДНК транскрибируется клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразой в +РНК. Полная копия +РНК способна формировать геномы дочерних популяций, а также транслироваться как мРНК с образованием структурных белков и ферментов, участвующих в сборке вирионов. Эти копии могут быть подвергнуты РНК-сплайсингу - устранению интронов из мРНК-предшественника; в результате образуются малые молекулы мРНК, кодирующие поверхностные, регуляторные и добавочные белки вируса. Самосборка вирусов и созревание вирусных частиц происходит в цитоплазме. Зрелые вирионы выходят из клетки, отделяясь от неё почкованием (высвобождение вируса в окружающую среду может длиться годами).

Репродукция -РНК-вирусов и вирусов с двухнитевыми РНК

-РНК-вирусы проникают в клетку путём слияния (парамиксовирусы) либо виropексиса (раб-до- и ортомиксовирусы). Для эффективной репродукции вирусная -РНК должна быть преобразована в +РНК - аналог клеточной мРНК (рис. 5-3).

-РНК-вирусы

Ранняя стадия репродукции. После высвобождения генома вирусная транскриптаза (РНК-зависимая РНК-полимераза) «запускает» синтез +РНК. При этом *«шаблоном» для вирусной транскриптазы служит вирусный рибонуклеопротеин* (то есть РНК и внутренние белки). В результате образуются полные и короткие молекулы-копии +РНК.

Поздняя стадия репродукции. Полные плюс-нити служат матрицами для синтеза молекул -РНК, составляющих геномы дочерней популяции. Короткие плюс-нити участвуют в синтезе ферментов и белков. Вирусные белки (гемагглютинин и нейраминидаза) взаимодействуют с участками клеточной мембраны. Там же сорбируются и вирусные М-белки (белки матрикса). Они проявляют выраженную гидрофобность за счёт содержания до 75% нейтральных аминокислот. Это свойство даёт им способность взаимодействовать с белками и липидами клеточной мембраны и быть посредником сборки вирусных частиц. С одной стороны, М-белок распознаёт участки включения гликопротеинов вируса в мембрану, с другой - его специфически распознает нуклеокапсид и связывается с ним. Сборка дочерних популяций завершается после присоединения нуклеокапсида к клеточной мембране. Их высвобождение происходит путём почкования через модифицированные участки мембраны. Отпочковывающиеся вирусные частицы захватывают её фрагменты, служащие в дальнейшем суперкапсидами.

Двухнитевые РНК-геномные вирусы

Двухнитевые РНК-вирусы представлены семейством *Reoviridae* (рео- и ротавирусы). Они не имеют суперкапсида и организованы по типу кубической симметрии. С вирусной РНК связана РНК-зависимая РНК-полимераза. Вирусы отличаются удлинённым репродуктивным циклом и тенденция к накоплению продуктов вирусоспецифического синтеза внутри клеток. После высвобождения генома в цитоплазме клеток РНК-полимераза осуществляет синтез молекул мРНК (+РНК) на одной нити -РНК. В результате образуется до 11 функциональных молекул мРНК, соответствующих по размерам 11 сегментам одной нити -РНК. Молекулы транслируются в 11 первичных полипептидных продуктов. Их последующее расщепление приводит к образованию в

заражённых клетках до 16 вторичных полипептидов. Семь первичных и два вторичных полипептида входят в состав вирусных частиц, остальные первичные и вторичные полипептиды выполняют каталитические и регуляторные функции. Параллельно, синтезированная в ходе трансляции вирусная РНК-полимераза запускает синтез минус-нитей на матрице +РНК с последующим их соединением в двухнитевую молекулу РНК. Выход образовавшихся вирионов сопровождается гибелью клетки.

Репродукция ДНК-вирусов

Вирусы, лишённые суперкапсида (например, аденовирусы) проникают в клетки путём виро-пёксиса, а имеющие таковой (покс- и герпесвирусы) - за счёт слияния суперкапсида с клеточной мембраной. Репродуктивный цикл ДНК-содержащих вирусов включает раннюю и позднюю стадии (рис. 5-4). У крупных ДНК-вирусов имеется явное несоответствие между кодирующей ёмкостью генома и молекулярной массой вирусиндуцированных белков и белков, входящих в состав вирионов. Например, у герпесвирусов лишь 15% ДНК кодирует все белки вирионов и их предшественников. Возможно, значительная часть генома содержит гены, кодирующие синтез ферментов и регуляторных белков. Папова-, адено- и герпесвирусы репродуцируются относительно однотипно, в то время как репродукция поксвирусов имеет некоторые особенности.

Ранняя стадия

Вирусная ДНК проникает в ядро клетки, где транскрибируется клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразой. При этом считывается, а затем транслируется часть вирусного генома («ранние гены»). В результате синтезируются «ранние белки» (регуляторные и матричные белки, вирусные полимеразы).

Регуляторные белки выполняют различные функции. При заражении клетки они блокируют синтез клеточных РНК, ДНК и белка и одновременно способствуют экспрессии вирусного генома, изменяя специфичность реагирования клеточных полимераз и полирибосом. Они также запускают репликацию клеточной ДНК, модифицированной встроенными геномами ДНК-содержащих вирусов и ретровирусов, то есть репликацию вирусных геномов.

Вирусоспецифические полимеразы. В репликацию вирусных геномов также вовлечены вирусоспецифические ДНК-полимеразы, участвующие в образовании молекул ДНК дочерних популяций.

Матричные белки необходимы для репликации нуклеиновых кислот и сборки дочерних популяций. Они образуют электронно-плотные скопления в клетке, известные как тельца включений (например, тельца Гварнери при натуральной оспе).

Поздняя стадия. На этом этапе происходит синтез нуклеиновых кислот вируса. Не вся вновь синтезированная вирусная ДНК упаковывается в вирионы дочерней популяции. Часть ДНК («поздние гены») используется для синтеза «поздних белков», необходимых для сборки вирионов. Их образование катализируют вирусные и модифицированные клеточные полимеразы.

Паповавирусы и аденовирусы

Адсорбция, проникновение и депротенинизация аналогичны таковым у РНК-содержащих вирусов, но у папова и аденовирусов депротенинизация протекает в ядре, а у РНК-вирусов - в цитоплазме.

Ранняя фаза. Вирусная ДНК («ранние гены») транскрибируется в ядре клетки. На одной из нитей ДНК реализуется транскрипция вирусной «ранней» мРНК. Механизмы транскрипции вирусной ДНК аналогичны считыванию информации с клеточной ДНК. Специфическая мРНК

транслируется, начинается синтез ферментов, необходимых для образования дочерних копий ДНК. Синтез клеточной ДНК может временно усиливаться, но затем обязательно подавляется регуляторными белками вируса.

Поздняя фаза. В течение поздней фазы дочерняя вирусная ДНК продолжает активно транскрибироваться клеточными РНК-полимеразами, в результате чего появляются продукты поздних вирусоспецифических синтезов. «Поздняя» мРНК мигрирует в цитоплазму и транслиру-

ется на рибосомах. В результате синтезируются капсидные белки дочерней популяции, которые транспортируются в ядро и собираются вокруг молекул дочерней ДНК новых вирусных частиц. Выход полных дочерних популяций сопровождается гибелью клетки.

Герпесвирусы

Основные отличия репродуктивного цикла герпесвирусов от остальных ДНК-вирусов связаны с *более сложной структурой генома*. Адсорбция вирусов на клетках осуществляется через специфические рецепторы. После взаимодействия с рецепторами вирусная оболочка сливается с клеточной мембраной, а нуклеокапсид высвобождается в цитоплазму. Разделение (депротеинизация) вирусного генома происходит на ядерной мембране, и вирусная ДНК оказывается в ядре клетки-хозяина. Репродукция включает раннюю и позднюю стадии, однако они разграничиваются нечётко.

Ранняя стадия. В ранней стадии синтезируются «ранние белки», кодируемые проксимальной третью молекулы ДНК. Они проявляют регуляторные свойства, включая активацию транскрипции других участков вирусного генома, кодирующих ДНК-полимеразу и ДНК-связывающие белки.

Поздняя стадия. В позднюю стадию вирусная ДНК-полимераза индуцирует репликацию материнской ДНК. В результате образуются молекулы ДНК дочерней популяции. Часть дочерней ДНК считывают клеточные полимеразы, что вызывает транскрипцию концевых генов, кодирующих структурные протеины (белки оболочки и гликопротеины шипов).

Сборка дочерних популяций осуществляется в ядре, где капсидные белки окружают молекулы ДНК, формируя нуклеокапсиды. Финальная стадия морфогенеза герпесвирусов - формирование суперкапсида на внутренней поверхности ядерной мембраны. Зрелые дочерние популяции отпочковываются от модифицированной ядерной мембраны, транспортируются через цитоплазму и выделяются наружу.

Поксвирусы

Поксвирусы обладают наиболее сложным репродуктивным циклом, при этом синтезируется более 100 различных белков, входящих в состав вирионов (большинство образует наружную оболочку). Репродукция поксвирусов характеризуется следующими особенностями.

- *Транскрипция ДНК* начинается до полной депротенизации вируса, так как она полностью осуществляется вирусными полимеразами.

- *Репликация* происходит только в цитоплазме и полностью независима от клеточных полимераз, так как, в отличие от прочих вирусов, поксвирусы имеют собственную ДНК-зависимую РНК-полимеразу, которая обеспечивает считывание более половины вирусного генома в течение начальной и ранней стадий.

В репродуктивном цикле выделяют три стадии - начальную, раннюю и позднюю. Начальная стадия запускается сразу же после разделения вируса и выхода вирусной ДНК в цитоплазму.

Ранняя стадия. На этом этапе транскрибируется примерно половина вирусной ДНК. Синтезируются ферменты, кодируемые «ранними генами» и участвующие в репликации вирусной ДНК. Параллельно в небольшом количестве образуются структурные белки.

Поздняя стадия совпадает с началом репликации ДНК (что переключает механизмы транскрипции на считывание второй половины генома). Регуляторные белки блокируют трансляцию «ранней мРНК» и запускают синтез поздних (структурных) белков. Сборка вирионов осуществляется только в цитоплазме посредством реакций мембранного синтеза. Высвобождение зрелых популяций сопровождается лизисом клетки.

Вирус гепатита В

Вирус гепатита В не способен размножаться *in vitro*. Некоторые этапы его репродукции остаются плохо изученными. Геном представлен двухцепочечной молекулой ДНК, но плюс-нить несколько короче, каждая нить имеет на концах одинаковые двойные сегменты, обеспечивающие интеграцию в геном клетки. Вирионы содержат полимеразу, способную транскрибировать

ДНК в РНК.

После *раздевания* вирусные ДНК и полимеразы мигрируют в ядро, где под действием последней осуществляется *дополнение плюс-цепи ДНК* (в качестве матрицы используется минус-цепь). Полная двухцепочечная ДНК транскрибируется с образованием небольших молекул мРНК и полной молекулы +РНК (эта прегеномная РНК служит матрицей для репликации генома).

Синтез различных вирусных ферментов и белков реализуется на небольших молекулах мРНК. Репликация генома осуществляется через ряд последовательных процессов.

- Прегеномная +РНК взаимодействует с вирусной полимеразой. Фермент действует как обратная транскриптаза и синтезирует -ДНК, используя +РНК как матрицу (позднее она разрушается).

- Затем -ДНК используется как матрица для транскрипции +ДНК, но этот процесс носит незавершённый характер и заканчивается образованием двойной молекулы с неполной плюс-цепью. Сборка вирионов заканчивается формированием оболочки, включающей специфический

поверхностный Аг (НВ Аг).

Интеграция. Одновременно с реализацией сложного репродуктивного цикла вирусная ДНК может интегрироваться в геном клетки путём расщепления на множество фрагментов, встраивающихся в различные участки клеточной ДНК. После встраивания доступным для считывания остаётся лишь фрагмент, кодирующий НВ Аг, что даёт ему возможность реплицироваться даже при отсутствии возможности для полной "репродукции вируса.

генетика вирусов и взаимодействие вирусных геномов

Патогенные для человека вирусы обладают двумя основными свойствами - наследственностью и изменчивостью, изучение которых составляет предмет особой научной дисциплины - генетики вирусов.

Характеристика вирусных популяций

Популяционную структуру вирусов и характер протекающих в них процессов определяют следующие факторы.

Высокая численность популяции, что увеличивает вероятность мутаций, которые могут быть подхвачены естественным отбором при изменении условий существования вирусов.

Быстрая смена поколений позволяет изучать изменчивость вирусов не только в эксперименте, но и наблюдать их естественную эволюцию в природе.

Гаплоидность и бесполоый способ размножения определяют: генетическую чистоту популяции (отсутствие гибридов); невозможность сохранения запасов изменчивости за счёт диплоидности; немедленное попадание мутантов под контроль отбора.

Малая ёмкость генома и отсутствие повторяющихся генов. Для реализации инфекционного цикла необходима функциональная целостность всех генов. Незначительное изменение одного из них может вызвать летальный или условно летальный эффект для вируса.

Непрерывность в динамике эпидемического процесса, так как обязательное условие сохранения в природе - передача новым чувствительным хозяевам.

Вирусные популяции хорошо адаптированы к внешним условиям и не претерпевают существенных изменений в течение продолжительного времени. При изменении условий для выживания популяции становится необходимой перестройка наследственной структуры, обеспечивающая адаптацию к новой среде. Подобная перестройка возможна лишь при наличии в общем генофонде популяции изменённых генов. *Генофонд вирусных популяций создаётся и пополняется из четырёх основных источников* (табл. 5-1).

Мутации

Нуклеиновые кислоты вирусов подвержены мутациям, то есть внезапным наследуемым изменениям. Сущность этих процессов заключается в нарушениях генетического кода в виде изменений нуклеотидных последовательностей, их выпадений (делеций), вставок либо перестановок нуклеотидов или пар в одно- и двухнитевых молекулах нуклеиновых кислот. Указанные нарушения могут ограничиваться отдельными нуклеотидами или же распространяться на более значительные участки. У вирусов выделяют спонтанные и индуцированные мутации. Их биологическое значение может быть связано с приобретением или потерей патогенных свойств, а также с приобретением свойств, лишаящих их чувствительности к действию защитных механизмов организма-хозяина. Мутации, полностью нарушающие синтез или функцию жизненно важных белков, приводят к утрате способности к репродукции и иначе известны как *летальные мутации*. В их основе лежат изменения, приводящие к возникновению бессмысленных кодонов (с нарушением синтеза белковой цепочки) либо к появлению вставок или делеций (с глубокими

нарушениями генетического кода). Мутации с потерей способности синтезировать определённый белок или с нарушением его функций, что в определённых условиях может привести к утрате способности к репродукции называют *условно летальными*.

Спонтанные мутации

Спонтанные мутации возникают под действием различных естественных мутагенов и встречаются с частотой $1:10^{-8}$ вирусных частиц. Чаще их можно наблюдать у ретровирусов, что связано с более высокой частотой сбоев в обратной транскрипции.

Индуцированные мутации

Индуцированные мутации вызывают различные химические агенты и УФ-облучение (у ДНК-содержащих вирусов). Принципиальной разницы в перестройке генома, вызванной спонтанными или индуцированными мутациями, нет. Принято считать, что применяемые мутагены лишь увеличивают частоту спонтанных мутаций. При классификации вирусных мутаций используют два разных подхода: их разделяют по характеру изменений генотипа или по изменениям фенотипа, наступающим в результате мутаций. Изучение изменений генотипа

вирусов проводят редко, так как для этого необходимо детальное изучение их геномов. Чаще проводят изучение фенотипических проявлений мутаций как более доступных для исследований.

Проявление мутаций в фенотипе. По фенотипическим проявлениям мутации вирусов можно разделить на четыре группы.

- Мутации, не имеющие фенотипического проявления, не изменяют свойств вирусов и их выявляют лишь при специальном анализе.

- Мутации, имеющие фенотипическое проявление (например, изменение размеров бляшек, образуемых вирусами в культуре клеток или термостабильность вирусов). Мутации, повышающие или снижающие патогенность, можно разделить на точковые (локализующиеся в индивидуальных генах) и генные (затрагивающие более обширные участки генома).

Генетические взаимодействия между вирусами

Заражение вирусами чувствительных к ним клеток носит множественный характер, то есть в клетку может проникнуть несколько вирионов, обычно идентичных или близкородственных. В подобных ситуациях геномы вирусных частиц в динамике репродуктивных циклов могут взаимодействовать или интерферировать. Независимо от типа нуклеиновой кислоты генетические взаимодействия между вирусами представлены несколькими формами: рекомбинация, обмен фрагментами генома, комплементация.

Рекомбинации и перераспределение генов

Рекомбинации и перераспределение генов между геномами приводят к перераспределению генетического материала в дочерних популяциях. Они отмечены во всех группах ДНК-содержащих вирусов, у всех РНК-содержащих вирусов с сегментированным геномом и лишь у немногих РНК-содержащих вирусов с несегментированным геномом (например, у полиовируса и вируса ящура).

- У ДНК-содержащих вирусов с дефектными геномами можно наблюдать рекомбинации, приводящие к образованию нормального дочернего генома (рис. 5-5, А).

- У РНК-овых вирусов при копировании плюс-цепи в минус-цепь полимеразы может «переключаться» с одной плюс-цепи на другую, образуя гибридную минус-матрицу РНК (рис. 5-5, Б). Подобный механизм вызывает появление генетического непостоянства у ВИЧ. Геном ВИЧ образован +РНК, поэтому при транскрипции ДНК из РНК риск «переключения» обратной транскриптазы с одной цепочки на другую достаточно велик. Если обе молекулы идентичны, то подобное явление не приводит к последствиям, но при наличии двух вирусов-мутантов в клетке возможно появление рекомбинантов с иными геномами.

Обмен фрагментами генома

Обмен фрагментами генома наблюдают у РНК-содержащих вирусов с сегментированным геномом. В отличие от рекомбинации суть процесса состоит в обмене крупных блоков наследственного материала. Например, при множественном заражении клетки мутантами вируса гриппа с изменениями, закреплёнными в различных сегментах генома, возможно появление нормального штамма вируса; в образовании популяции последнего принимают участие геномы обоих вирусов (рис. 5-6). В частности, передача двух фрагментов генома вирулентного для цыплят штамма вируса гриппа авирулентному влечёт за собой приобретение последним вирулентных свойств. В результате обмена вирус гриппа типа А может получить новые и селективно ценные

типы поверхностных Аг гемагглютинина и нейраминидазы, что обеспечивает антигенный шифт [от англ. *shift*, перемещение] в динамике инфекционного процесса.

Комплементация

Комплементация - функциональное взаимодействие двух дефектных вирусов, приводящее к появлению возможности их репродукции в условиях, при которых невозможно размножение каждого вируса в отдельности. При реализации подобных отношений вирусные геномы взаимодействуют косвенно, то есть на уровне кодирующих их веществ. *Дефектные вирусы размножаются и передаются горизонтально (то есть от одной особи к другой, в отличие от вертикального способа - от матери к плоду; рис. 5-7).*

Фенотипические смешивание и маскирование

Фенотипические смешивание и маскирование (псевдотипирование). Эти формы взаимодействий можно назвать генетическими лишь в контексте взаимодействия геномов, так как приобретаемые признаки обычно не закрепляются в потомстве, которому свойственны серологические свойства одного из «родительских» штаммов.

Фенотипическое смешивание наблюдают при одновременном заражении клетки близкородственными вирусами (например, различными сероварами полиовирусов или вирусов Кокса-ки). В результате образуются вирионы с гибридными капсидами, в состав которых входят капсомеры, кодируемые геномами двух вирусов (рис. 5-8).

Образование псевдотипов происходит при множественном инфицировании. Феномен заключается в образовании нуклеокапсида, состоящего из генома одного вируса и капсида близкородственного вируса. *Генетические процессы, приводящие к образованию псевдотипов, известны как фенотипическое маскирование.* Процесс может развиваться и в обратном направлении при коинфицировании вирусами идентичного псевдотипа. Если все вирионы, попавшие в клетку, содержат геном типа 2 и заключены в капсид типа 1, то дочерние популяции будут включать капсид и геном типа 2, так как образование всех их структурных компонентов кодирует геном типа 2.

Интерферирующие взаимодействия

Интерференцией вирусов обозначают состояние невосприимчивости к вторичному заражению клетки, уже инфицированной вирусом. Различают интерференцию гетерологическую и гомологическую.

Гетерологическая интерференция. Инфицирование одним вирусом полностью блокирует возможность репликации второго вируса в пределах одной клетки. Один из механизмов гетерологической интерференции связан с угнетением адсорбции другого вируса путём блокирования или разрушения специфичных рецепторов. Другой механизм связан с ингибированием трансляции мРНК любой гетерологичной мРНК в инфицированной клетке.

Гомологическая интерференция. Процесс типичен для многих дефектных вирусов, особенно для повторно пассируемых *in vitro* и с высокой множественностью инфицирования. Дефектные вирусы обычно не способны к самостоятельной репродукции. Их репродукция возможна лишь при заражении клетки совместно с нормальным вирусом. В подобных взаимодействиях последний называют вирусом-помощником. Иногда дефектный вирус может вмешиваться в репродуктивный цикл нормального вируса и образовывать дочерние дефектные интерферирующие (ДИ) вирусные частицы.

- ДИ-частицы содержат лишь часть генома полного вируса.

- По природе дефекта ДИ-частицы делеционные и их можно рассматривать как летальных мутантов.

- Основное свойство ДИ-частиц - способность к интерференции с нормальным гомологичным вирусом. Они способны играть роль помощников в репликации последних (например, за счёт раннего синтеза продуктов регуляции, задействованных в репродукции нормального вируса).

- Способность ДИ-частиц к адсорбции и проникновению в клетку связано с нормальной структурой капсида. Высвобождение и экспрессия дефектной нуклеиновой кислоты приводит к различным биологическим эффектам: тормозит синтетические процессы в клетке, а также ингибирует синтез и трансформацию белков нормальных вирусов (за счёт гомологичной интерференции).

- Циркулирование ДИ-частиц и коинфекция с нормальным гомологичным вирусом вызывают появление вялотекущих, длительных форм заболеваний, что связано со способностью ДИ-частиц реплицироваться значительно быстрее (за счёт простоты генома), а созревание дефектных популяций сопровождается снижением выраженности цитопатического эффекта, характерного для «нормального» вируса.

Детерминанты патогенности вирусов и патогенез вирусных инфекций

Некоторые вирусы способны размножаться в самых различных клетках, тогда как другие проявляют специфичность и размножаются лишь в определённых тканях.

Факторы специфичности

- Количество специфических рецепторов, обеспечивающих взаимодействие вируса с клеткой, обычно ограничено.

- Наличие в геномах чувствительных клеток соответствующих промоторов, обеспечивающих полноценную репродукцию возбудителя.

- В некоторых случаях сама природа клеток способствует проявлению вирулентности возбудителя. Например, G-белок (основной протеин оболочки) вируса бешенства обладает высоким сродством к ацетилхолиновым рецепторам нейронов, что обеспечивает его способность проникать в клетки нервной ткани. Следует отметить, что нейротропные вирусы вызывают

особенно тяжёлые заболевания, так как нервные клетки не регенерируют. Более того, репродукция возбудителя делает их мишенями для цитотоксических иммунных реакций.

Мутации

Довольно часто *вирулентность вирусов увеличивают мутации*. Например, вирулентность вируса гриппа в значительной степени связана с активностью гемагглютинина, и изменения его структуры делают штаммы возбудителя авирулентными. Обратные мутации (реверсии) генов, кодирующих структуру белка, могут восстанавливать его строение и трансформировать ранее авирулентные штаммы в вирулентные.

Особенности макроорганизма

Возраст пациента - один из ведущих факторов, влияющий на проявления заболевания. Например, у детей младшего возраста такие заболевания, как грипп, гепатит В, а также инфекции, вызванные респираторно-синцитиальным вирусом (РС-вирусом) и вирусом Коксаки В, протекают

гораздо тяжелее, чем у старших детей. С другой стороны, корь и ветряная оспа гораздо легче протекает у детей, чем у взрослых. Тем не менее, для значительного спектра вирусных инфекций группами риска принято считать детей младшего возраста и пожилых.

Питание. Практически все вирусные инфекции тяжелее протекают у ослабленных лиц на фоне дефицита питания, что связано с общими нарушениями гомеостаза организма.

Нарушения иммунного статуса. У лиц, страдающих нарушениями клеточных иммунных реакций, многие вирусные инфекции переходят в вялотекущие, хронические формы либо протекают более тяжело. Это связано с дефектами цитотоксических иммунных механизмов, направленных на прерывание репродуктивного цикла и удаление возбудителя из организма.

Наследственные факторы. Существует наследственная невосприимчивость к некоторым вирусным заболеваниям. Большой интерес представляют данные о роли некоторых наследственных факторов у ВИЧ-инфицированных лиц.

- Пациенты с клетками, несущими HLA-B35, составляют группу риска быстрого формирования СПИДа по сравнению с HLA-B8- и [^]A-ЭШ-положительными лицами.

- Пациенты с клетками, несущими HLA-DR2, составляют группу риска быстрого развития оппортунистических инфекций.

- Наличие HLA-DR5 указывает на большую вероятность быстрого развития саркомы Капоши.

Особенности патогенеза вирусных инфекций

В основе патогенеза вирусных инфекций лежит взаимодействие генома вируса с генетическим аппаратом чувствительной клетки. Исключая поражения, вызываемые вирусами, распространяющимися по нервной ткани, патогенез вирусных инфекций сопровождается вирусемией (ви-ремия) - циркуляция возбудителя в крови. В кровоток возбудитель проникает прямым путём или из лимфатической системы. Многие вирусы (например, ВИЧ, вирусы гриппа, кори, герпеса) поражают иммунокомпетентные клетки, что чаще проявляется в нарушении функций и уменьшении числа Т-хелперов, увеличении содержания и активации Т-супрессоров или В-клеток. Некоторые возбудители образуют внутриядерные или цитоплазматические тельца включений (например, тельца Бабеша-Нёгри), имеющие диагностическое значение.

Основные этапы патогенеза вирусных инфекций

Проникновение в организм. *Основные входные ворота для возбудителей вирусных инфекций человека - дыхательные пути и ЖКТ, реже - кожные покровы.* В некоторых случаях развиваются локальные поражения, но чаще в месте проникновения не возникает каких-либо проявлений или они носят стёртый характер, а возбудитель мигрирует в чувствительные ткани.

Распространение возбудителя в организме может носить локальный или системный характер.

Локальные поражения типичны для возбудителей респираторных и кишечных инфекций, а также для некоторых кожных заболеваний. Продолжительность инкубационного периода большинства подобных инфекций составляет 2-3 сут. Первичную репликацию часто сопровождает вирусемия. Она обычно протекает бессимптомно или по типу продромальных явлений, но может возникать и на фоне выраженной клинической картины, не вызывая развития дополнительной симптоматики. Для подобных заболеваний характерно повторное заражение, так как циркулирующие АТ не проявляют протективный эффект, а секреторный иммуноглобулин А (IgA) оказывает лишь кратковременное нейтрализующее действие на слизистой

оболочке. Системные поражения. Из места проникновения возбудители попадают в кровотоки, вызывая вирусемия, и постепенно фиксируются в чувствительных тканях. Первичное распространение обычно вызывает продромальные явления. Поскольку вирусемия предшествует поражению чувствительных тканей, то продолжительность инкубационного и продромального периодов подобных инфекций могут увеличиваться до 2-3 нед. Вирусемия при системных инфекциях обычно носит двухэтапный характер. Первый этап заканчивается поглощением циркулирующих вирусов клетками ретикулоэндотелиальной системы. В дальнейшем возможно несколько вариантов:

- полная элиминация возбудителя (абортная инфекция);
- размножение вирусов в фагоцитах с последующим выходом и развитием выраженной вторичной вирусемии, сопровождающейся появлением характерных клинических признаков заболевания (например, энцефалитов);
- некоторые вирусы (например, вирус гепатита В, пикорна- и тогавирусы) слабо поглощаются фагоцитами и могут циркулировать в крови в свободном состоянии, а возбудители колорадской клещевой лихорадки и лихорадки долины Рифт внедряются в эритроциты;

Основные органы-мишени наиболее распространённых вирусных инфекций представлены на рис. 5-9. Многие из указанных на рисунке возбудителей могут поражать, кроме названных, и другие ткани (так, полиовирусы способны вызывать поражения ЖКТ, а вирус эпидемического паротита обладает тропностью к эпителию извитых канальцев яичек).

Типы вирусных инфекций

На уровне макроорганизма основные формы вирусных поражений принципиально не отличаются от таковых, наблюдаемых при инфицировании вирусами отдельных клеток.

Продуктивная инфекция с образованием дочерних популяций и характерными клиническими проявлениями возможна лишь при наличии в заражённом организме чувствительных клеток, в которых осуществляется репродуктивный цикл возбудителя. Например, возбудитель полиомиелита может реплицироваться только в клетках ЖКТ и ЦНС приматов и человека.

Абортная инфекция развивается при проникновении возбудителя в нечувствительные клетки (например, при попадании вируса лейкоза коров в организм человека) либо в клетки, не способные обеспечить полный репродуктивный цикл (например, находящиеся в стадии клеточного цикла G₁). Способность клеток к поддержанию вирусоспецифических репродуктивных процессов также⁰ подавляет ИФН, противовирусный эффект которого направлен против самых различных вирусов.

Персистирующая инфекция возникает при таком взаимодействии между вирусом и заражённой клеткой, когда в последней продолжается выполнение собственных клеточных функций. Если заражённые клетки делятся, образуется инфицированный клон. Таким образом, увеличение числа заражённых клеток способствует увеличению общей популяции возбудителя в организме. Тем не менее, персистирующие вирусные инфекции обычно нарушают функции клеток, что в конце концов приводит к клиническим проявлениям. У человека развитие персистирующих инфекции в определённой степени зависит от возраста. Например, внутриутробное заражение вирусом коревой краснухи или цитомегаловирусом (ЦМВ) приводит к ограниченному по времени персистированию возбудителя. Появление симптоматики связано с возможностью плода развивать иммунные реакции на инфекционный агент.

Латентная (скрытая) инфекция. В то время как персистирующие инфекции сопровождаются постоянным высвобождением дочерних вирусных популяций, при латентных поражениях они

образуются спорадически. Репродуктивный цикл подобных возбудителей резко замедляется на поздних стадиях и активируется под влиянием различных факторов. Латентные инфекции характерны для большинства герпесвирусов, вызывающих рецидивирующие и обычно не прогрессирующие заболевания.

Инаппаратные инфекции [от лат. *in-*, отрицание, *+appareo*, являться] сопровождаются бессимптомной циркуляцией незначительных количеств возбудителя в отдельных органах. При этом выявить возбудителя можно лишь специальными методами. От бессимптомного носительства подобные поражения отличает большая вероятность возникновения клинических проявлений. Этот термин применяют при целом ряде инфекций, при которых нет явных признаков заболевания. В практике вирусных инфекций у человека часто применяют альтернативный термин «субклиническая инфекция». Собственно, и латентные инфекции можно расценивать как хронически протекающие инаппаратные инфекции, при которых устанавливается баланс между организмом и возбудителем.

Дремлющая (криптогенная) инфекция - форма проявления вирусной инфекции при которой возбудитель в неактивном состоянии находится в отдельных очагах (например, в нервных ганглиях). Клинически инфекция проявляется лишь при резком ослаблении защитных сил организма. Например, вирус герпеса 3 типа, вызывающий при первичном заражении ветряную оспу, пожизненно сохраняется в организме. Рецидив заболевания в форме опоясывающего лишая возможен лишь при нарушениях иммунного статуса (наиболее часто в пожилом возрасте).

Медленные инфекции характеризуются длительным инкубационным периодом (месяцы и годы), в течение которого возбудитель размножается, вызывая всё более явные повреждения тканей. Первоначально возбудитель размножается в ограниченной группе клеток, но постепенно инфицирует всё большее их число. Заболевания заканчиваются развитием тяжёлых поражений и смертью больного. К медленным вирусным инфекциям относят подострый склерозирующий панэнцефалит, ВИЧ-инфекцию и др.

Основные реакции заражённых вирусом клеток

В заражённых вирусом клетках возможны патологические проявления разностороннего характера.

Морфология патологических эффектов

Характерные проявления взаимодействий между вирусом и чувствительными клетками - видимые поражения заражённых клеток вплоть до их гибели, а также присутствие возбудителя в исследуемом материале.

Альтерация и воспаление. При вирусных инфекциях на первый план выступает картина повреждения клеток и воспалительных изменений тканей, при различных инфекциях их соотношение и выраженность варьируют. В противоположность бактериальным инфекциям (где доминируют полиморфноядерные лейкоциты), при вирусных поражениях среди клеточных элементов воспалительных реакций доминируют мононуклеары (лимфо- и моноциты). На этапах, предшествующих разрушению клеток, можно визуально наблюдать их дегенеративные и некротические изменения.

Форма клеток. Вследствие поражения цитоскелета клетки принимают округлую форму.

Изменения структуры ядра достаточно разнообразны: кариопикноз [сморщивание ядра клетки при дистрофических изменениях в ней (от греч. *karion*, ядро, *+pyknosis*, уплотнение)], краевое расположение глыбок хроматина, его распыление и т.д. Подобные поражения способны вызывать адено-, герпес-, парамиксо-, ортомиксо- и ретровирусы.

Плазмолемма (ЦПМ). Изменения её структуры связано с замещением собственных гликоп-ротейнов вирусиндуцированными белками. Эти поражения характерны для инфекций, вызванных оболочечными вирусами, но некоторые «голые» вирусы также могут вызвать изменения клеточной мембраны. Нарушение структуры плазмолеммы может приводить к изменению некоторых её характеристик (например, к увеличению её проницаемости или слиянию с неза-ражёнными клетками). В последнем случае можно наблюдать образование симпластов (поли-кариоцитов) и синцитиев. Симпласты представлены гигантскими многоядерными клетками (например, клетки Цанка, выявляемые при герпетических поражениях), образующимися в результате модификации ЦПМ лизосомальными ферментами. Реже наблюдают образование синцитиев - больших конгломератов цитоплазмы, содержащий сотни и тысячи ядер связанных между собой клеток. Образование синцитиев обусловлено модификацией ЦПМ поверхностными гликопротеинами и характерно для парамиксовирусов.

Тельца включений. Микроскопия заражённых клеток часто позволяет выявить тельца включений - характерный, но не абсолютный признак вирусных поражений. Тельца значительно крупнее, чем отдельные вирионы, и часто окрашиваются кислыми красителями (например, эозином).

- В одних случаях (например, при натуральной оспе) включения играют роль «вирусных фабрик», где собираются дочерние популяции, в других - служат депо побочных продуктов (например, при герпесвирусных инфекциях).

- При заражении клеток ДНК-содержащими вирусами тельца включений располагаются в ядре; исключение - тельца включений поксвирусов (тельца Гварнери).

- При заражении клеток РНК-содержащими вирусами тельца включений располагаются в цитоплазме (например, тельца Бабеша-Негри, выявляемые в цитоплазме клеток головного мозга при бешенстве).

Причины гибели клеток. Размножаясь в клетке, вирусы индуцируют синтез вирусоспецифических белков, в той или иной степени подавляющих метаболизм клетки. Нарушение синтеза макромолекул вызвано нарушением трансляции клеточной мРНК. Среди РНК-геномных вирусов наиболее быстрое и глубокое подавление макромолекулярных синтезов в клетке вызывают пикорнавирусы, среди ДНК-геномных - покс- и герпесвирусы. Действие указанных вирусов реализуется на ранних этапах (до появления морфологических признаков цитопатического эффекта). Ингибирование синтеза РНК и ДНК обычно вторично по отношению к воздействию на белки, контролирующие экспрессию генов и пролиферацию клетки. Значительно реже нарушения вызывают вирусные белки, напрямую ингибирующие синтез нуклеиновых кислот. Среди РНК-геномных вирусов наиболее быстрое и глубокое подавление синтезов нуклеиновых кислот вызывают пикорнавирусы, среди ДНК-геномных - покс- и герпесвирусы.

Во время репродукции вируса в клетке накапливаются вирусные компоненты, оказывающие токсическое и повреждающее действие на клеточные структуры. Например, цитотоксические свойства проявляют капсомеры некоторых аденовирусов, гликопротеины парамиксовирусов. В процессе вирусной инфекции также происходит повреждение мембран лизосом, содержимое которых высвобождается и осуществляет аутолиз клетки. Таким образом, гибель клеток наступает в результате сочетания раннего подавления синтеза клеточных компонентов, накопления токсических вирусных продуктов и повреждения лизосом.

вирусы бактерий

Бактериофаги [от «бактерии», + греч. *phagein*, поедать] - группа вирусов, паразитирующих в бактериальных клетках. Вирусы, вызывающие гибель инфицированных бактерий, известны как литические бактериофаги. Размножение и выход дочерних популяций вируса из бактерии

сопровождается её гибелью и разрушением (лизисом). Бактериофаги широко распространены в природе - их выделяют из воды, почвы, организмов различных животных и человека.

Принципы классификации бактериофагов аналогичны подходам к систематике вирусов вообще. В основу классификации положены антигенная структура, морфология фагов, спектр действия, химический состав и др. Большинство фагов относится к ДНК-вым вирусам, с нуклеокапсидом, организованным по принципу смешанной симметрии. По спектру действия выделяют типовые фаги (Т-фаги), лизирующие бактерии отдельных типов внутри вида, моновалентные фаги, лизирующие бактерии одного вида, и поливалентные фаги, лизирующие бактерии нескольких видов. Бактериофаги устойчивы к различным физическим и химическим воздействиям. Большинство из них без вреда переносит высокие температуры (50-70 °С), действие дезинфектантов (за исключением кислот и формалина), прямой солнечный свет и УФ-облучение в низких дозах. Бактериофаги проявляют иммуногенные свойства, вызывая синтез специфических АТ.

Морфология

Строение бактериофагов наиболее полно охарактеризовано на основе изучения Т-фагов кишечной палочки (рис. 5-10). Внешне большинство бактериофагов напоминают сперматозоиды или головастиков, но среди них встречаются и другие формы, на основании которых выделяют пять основных типов бактериофагов.

- К типу I относят ДНК-овые нитевидные фаги, лизирующие бактерии, содержащие F-плазмиды.
- Фаги типа II представлены головкой и рудиментом хвоста. Геном большинства из них образован молекулой РНК и лишь у фага *js-174* - однонитевой ДНК.
- Фаги типа III имеют короткий хвост (например, Т-фаги 3 и 7).
- К типу IV относят фаги с несокращающимся хвостом и двухнитевой ДНК (например, Т-фаги 1 и 5).
- Фаги типа V имеют ДНК-геном, сокращающийся чехол хвоста, который заканчивается базальной пластиной (например, Т-фаги 2 или 4).

Головка Т-фагов

Головка Т-фагов образована из однотипных субъединиц, организованных по принципу кубической симметрии, и может достигать размеров 100 нм. Капсомеры головки состоят из белковых молекул, построенных преимущественно из аспарагиновой и глутаминовой кислот, а также

173186

◆713

лизина. Содержание белка и ДНК в головке примерно одинаково. Геном большинства фагов образует спирально упакованная *двойная нить ДНК*. Число фагов, содержащих одноцепочечную молекулу ДНК или РНК, незначительно. У некоторых фагов (например, T2) в головке находится внутренний белок, содержащий полиамины (спермин и путресцин) и обеспечивающий суперспирализацию большой молекулы ДНК. В таком виде она может упаковываться в сравнительно небольшом объеме. В составе фаговой ДНК обнаружены необычные азотистые основания (например, оксиметилцитозин).

Хвост Т-фагов

Хвост Т-фагов может достигать 250 нм в длину и 25 нм в ширину. Он включает полый стержень (сконструирован по принципу спиральной симметрии) и сократительный чехол, присоединяющийся к воротничку, окружающему стержень около головки. Чехол образован 120-140 белковыми молекулами, каждая из которых связывает одну молекулу АТФ и ионы Ca^{2+} . В дистальном отделе стержня расположена шестиугольная базальная пластина с шестью шипами и шестью нитями (фибриллами). У чётных фагов (например, у Т2) окончания фибрилл опущены вниз, а у нечётных - загнуты вверх. У некоторых Т-фагов в дистальной части хвоста находится лизоцим (эндолизин).

Размножение бактериофагов

Взаимодействие бактериофагов с клеткой специфично, так как они, как правило, инфицируют бактерии только определённого вида (рис. 5-11). Подобно вирусам животных, репродуктивный цикл литических бактериофагов включает адсорбцию свободного фага на клетке, инъекцию ДНК, репродукцию фага, выход дочерних популяций.

Адсорбция

Прикрепление фага к бактерии происходит при помощи поверхностных структур бактериальной стенки, служащих рецепторами для вирусов. Например, рецепторы для фагов Т3, Т4 и Т7 расположены в липополисахаридном слое, для Т2 и Т6 - в наружной мембране. На бактериях без клеточной оболочки (протопласты, L-формы) бактериофаги не адсорбируются. Некоторые фаги в качестве рецепторов используют F-пили. Помимо рецепторов, адсорбция фага зависит от рН среды, температуры, наличия катионов и некоторых соединений (например, триптофана для Т2-фага). При избытке фага на одной клетке может адсорбироваться до 200-300 вирусных частиц.

Инъекция фага

После адсорбции происходит ферментативное расщепление клеточной стенки лизоцимом, находящимся в дистальной части отростка. Базальная пластина хвоста лизирует прилегающий фрагмент клеточной стенки, выделяя присутствующий в отростке лизоцим. Одновременно в чехле высвобождаются ионы Ca^{2+} , активизирующие АТФазу, что вызывает сокращение чехла и вталкивание стержня хвоста через ЦПМ в клетку. Затем вирусная ДНК «впрыскивается» в цитоплазму (внедрение вирусной ДНК). Поскольку диаметр канала лишь немного превышает диаметр молекулы ДНК (около 20 нм), то ДНК способна попадать в цитоплазму только в форме нити.

Репродукция фага

Проникнув в клетку, ДНК фага «исчезает»; уже через несколько минут обнаружить вирус не удаётся. В этот, так называемый скрытый период (эклипс) вирус берёт на себя генетическое управление клеткой, осуществляя полный цикл репродукции фага. К его окончанию составляющие фага соединяются в зрелый вирион.

Синтез фаговых белков. В первую очередь синтезируются ферменты, необходимые для образования копий фаговой ДНК. К ним относятся ДНК-полимераза, киназы (для образования нуклеозидтрифосфатов) и тимидилат синтетаза. Они появляются в клетке через 5-7 мин после её заражения. Клеточная РНК-полимераза транскрибирует вирусную ДНК в мРНК, которая транслируется бактериальными рибосомами в «ранние» белки фага, включая вирусную РНК-полимеразу и белки, способные посредством различных механизмов ограничивать экспрессию

бактериальных генов. Вирусная РНК-полимераза осуществляет транскрипцию «поздних» белков (например, белков оболочки и эндוליзина), необходимых для сборки фаговых частиц дочернего поколения. Некоторые вирусы расщепляют ДНК клетки-хозяина до нуклеотидов, чтобы использовать их для синтеза собственных нуклеиновых кислот.

Репликация нуклеиновых кислот реализуется за счёт активности вновь синтезированных вирусных ДНК-полимераз, производящих множественные копии вирусных нуклеиновых кислот.

Выход дочерних популяций

Вновь синтезированные белки формируют в цитоплазме пул предшественников, входящих в состав головок и хвостов дочерних вирусных частиц. Другой пул содержит ДНК потомства. Специальные аффинные области в вирусной ДНК индуцируют объединение предшественников головок вокруг агрегатов нуклеиновой кислоты и образование ДНК-содержащих головок. Заполненная головка затем взаимодействует с хвостовой частью, образуя функциональный фаг. Весь процесс (от адсорбции до появления вновь синтезированных вирусов) занимает около 40 мин. После образования потомства («урожай», или выход фага, составляет 10-200 из одной инфицирующей частицы) клетка хозяина лизируется, высвобождая дочернюю популяцию. В разрушении клеточной стенки участвуют различные факторы: фаговый лизоцим, увеличенное внутриклеточное давление. Вирус, по-видимому, также стимулирует образование ауто-лизисов либо блокирует механизмы, регулирующие их синтез (подобные литические факторы выявлены в фаголизатах многих бактерий).

Негативные колонии бактериофага

Размножение фагов в бактериальных культурах, засеянных сплошным «газоном» на твёрдых средах, сопровождается лизисом бактерий и образованием зон просветления - «стерильных пятен». Для их обозначения предложен термин «негативные колонии бактериофага». У разных фагов они имеют строго определённые размеры и форму (например, звёздчатую у дизентерийных фагов). При заражении бульонных культур литическим фагом наблюдают просветление среды. Способность образовывать негативные колонии в культурах чувствительных бактерий в микробиологической диагностике возбудителей инфекционных болезней известна как фагоди-агностика (рис. 5-12).

Лизогения

В некоторых случаях вирулентных свойств фага оказывается недостаточно для разрушения бактерии. Подобные вирусы - умеренные фаги - претерпевают любопытные превращения, известные как редукция фага. При этом процессе ДНК вируса не вызывает образования вирусоспецифических белков и нуклеиновых кислот, но включается в бактериальную хромосому. С практической точки зрения бактерия приобретает новый набор генов (встроенного вируса), а также становится «иммунной» к повторному заражению (интерференция вирусов). Подобный феномен известен как лизогения, а популяции бактерий - как лизогенные культуры. ДНК умеренного вируса реплицирует синхронно с размножением лизогенной бактерии, но иногда (примерно в одной из 10^2 - 10^5 подобных бактерий) фаг начинает спонтанно размножаться, а клетка подвергается лизису. Некоторые умеренные фаги (например, участвующие в процессах трансдукции бактерий) не способны образовывать дочерние популяции, то есть являются дефектными вирусами. *Дефектные фаги используют как векторы в генной инженерии.*

Вирусная ДНК может длительно сохраняться в бактериальном потомстве. Такие латентные бактериофаги известны как провирусы, или профаги.

- Сохранение способности к инфицированию у умеренного фага зависит от низкомолекулярного белкового репрессора, кодируемого вирусной ДНК и «выключающего» все вирулентные функции бактериофага.

- Переход умеренного фага на литический цикл развития происходит при нарушениях синтеза белкового репрессора. При этом встроенный в геном бактерии вирус проявляет все свои вирулентные свойства, репродуцируется и лизирует клетки, а также может инфицировать другие бактерии. Переход умеренного бактериофага в литический *in vitro* можно вызвать воздействием на бактерии ряда факторов. Например, если лизогенные культуры подвергнуть УФ-облучению, действию Н О или создать в среде избыток некоторых питательных веществ и витаминов, то происходит ²не²медленная стимуляция вирулентных свойств фага - индукция фага. Ассоциация фаговой ДНК с геномом бактерии способна качественно изменять свойства бактериальной клетки. Например, известны различные бактерии, вирулентные свойства которых (обычно в виде экзотоксинов или адгезинов) кодируются лизогенными фагами. Иными словами, лизогенная бактерия будет вирулентной, тогда как её нелизогенный двойник останется безвредным. У других бактерий присутствие профага вызывает изменение морфологии или антигенных свойств. Такое изменение генетических свойств, вызванное вирусной ДНК, обозначают терминами «инфекционная наследственность» или «лизогенная (фаговая) конверсия». При лизогении происходит изменение наследственных свойств не только бактериальной клетки, но и фага; размножаясь в клетке, он способен *захватывать* некоторые гены бактерии и, инфицируя другую клетку, передаёт приобретённые гены новому хозяину. Подобная передача (транс-дукция) во многом аналогична генетической рекомбинации у высших растений и животных.

Практическое применение бактериофагов

Свойство специфичности бактериофагов применяют на практике, создавая специализированные иммунобиологические препараты - фаги. Их используют для идентификации выделенных бактерий, их выявления в объектах окружающей среды, а также для лечения и профилактики некоторых инфекционных болезней.

- Поскольку бактерии одного вида часто различаются по набору рецепторов для строго определённых (типовых) вирусов, то их разделяют на фаговары (фаготипы). Типирующие наборы бактериофагов применяют при эпидемиологических исследованиях, выявляющих резервуар инфекции, пути передачи возбудителя и его хозяев.

- По содержанию бактериофагов в объектах окружающей среды (например, воде) судят о наличии в них патогенных бактерий, в которых они размножаются. Аналогичные подходы используют при эпидемиологическом анализе вспышек инфекционных заболеваний. Выделение бактерий одного фаговара от разных больных указывает на общий источник заражения, в противном случае следует искать несколько источников.

- Использование бактериофагов с терапевтической целью ограничивает их строгая специфичность, так как вероятность наличия патогенов, чувствительных к литическому действию фага, сравнительно невелика. Тем не менее, и по настоящее время продолжают применять дизентерийные, сальмонеллёзные, стафилококковые и некоторые другие препараты бактериофагов.

ГЛАВА 6. ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Экология микроорганизмов - наука о взаимоотношениях микробов друг с другом и с окружающей средой. В медицинской микробиологии объектом изучения служит комплекс взаимоотношений микроорганизмов с человеком.

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МИКРОБОВ В ПРИРОДЕ

В природе микроорганизмы заселяют практически любую среду (почва, вода, воздух) и распространены гораздо шире, чем другие живые существа. Как писал известный отечественный микробиолог В.Л. Омелянский: «...Мириады микробов населяют стихии и окружают нас. Незримо они сопутствуют человеку на всём его жизненном пути, властно вторгаясь в его жизнь, то в качестве врагов, то как друзья». Благодаря разнообразию механизмов утилизации источников питания и энергии, а также выраженной адаптации к внешним воздействиям, микроорганизмы могут обитать там, где другие формы жизни не выживают. *Естественные среды обитания большей части организмов - вода, почва и воздух. Число микроорганизмов, обитающих на растениях и в организмах животных, значительно меньше.* Широкое распространение микроорганизмов связано с лёгкостью их распространения по воздуху и воде; в частности, поверхность и дно пресноводных и солёных водоёмов, а также несколько сантиметров верхнего слоя почвы изобилуют микроорганизмами, разрушающими органические вещества. Меньшее количество микроорганизмов колонизирует поверхность и некоторые внутренние полости животных (например, ЖКТ, верхние отделы дыхательных путей) и растений. В зонах обитания микроорганизмы образуют биоценозы [от греч. *bios*, жизнь, + *koinos*, сообщество] - сложные ассоциации со специфическими и часто необычными взаимоотношениями. Каждое микробное сообщество в конкретном биоценозе образуют специфичные аутохтонные микроорганизмы [от греч. *autos*, свой, + *chthon*, страна, местность], то есть микробы, присущие конкретной области. В состав этих сообществ могут внедряться аллохтонные микробы [от греч. *alios*, чужой, + *chthon*, страна; буквально - чужестранец], (например, паразитические), обычно в них не встречающиеся. В природных биоценозах (почва, вода, воздух) выживают и размножаются лишь те микроорганизмы, которым благоприятствует окружающая среда; их рост прекращается, как только меняются условия окружающей среды. В природе большую часть бактерий поедают хищные простейшие, но часть клеток каждого вида выживает; при наступлении благоприятных условий они дают начало новым клонам микроорганизмов.

Типы взаимоотношений микробов в биоценозах

Микроорганизмы жёстко конкурируют между собой. Это связано с тем, что обитающие в конкретном биоценозе микробы обладают принципиально сходными потребностями в источниках энергии и питания. Каждый микроорганизм приспособляется не только к неживым субстратам, но и к другим окружающим его организмам. Подобная адаптация иногда приводит к приобретению особых метаболических свойств, наделяющих обладателя способностью занимать специфические ниши. Например, нитрифицирующие бактерии могут расти без органических источников энергии, окисляя аммиак или нитриты в качестве источника энергии в отсутствие света; другие организмы в подобных условиях не развиваются. Поэтому нитрифицирующие бактерии не испытывают биологической конкуренции. Значительная часть бактерий участвует в конкурентной борьбе, адаптируясь к сосуществованию с другими формами жизни либо вступая с ними в противодействие.

Симбиоз

Симбиоз [от греч. *symbiosis*, совместное проживание] - совместное длительное существование микроорганизмов в долгоживущих сообществах. Взаимоотношения, при которых микроорганизм располагается вне клеток хозяина (более крупного организма), известны как эктосимбиоз; при локализации внутри клеток - как эндосимбиоз. Типичные эктосимбиотические микробы - *Escherichia coli*, бактерии родов *Bacteroides* и *Bifidobacterium*, *Proteus vulgaris*, а также другие представители кишечной микрофлоры. Как пример эндосимбиоза можно рассматривать плазмиды, обеспечивающие, например, резистентность бактерий к ЛС. Симбиотические отношения также разделяют по выгоде, получаемой каждым из партнёров. Мутуализм [от лат. *mutuus*, взаимный] - взаимовыгодные симбиотические отношения. Так, микроорганизмы вырабатывают БАВ, необходимые организму хозяина (например, витамины группы В). При этом обитающие в макроорганизмах эндо- и эктосимбионты защищены от

неблагоприятных условий среды (высыхания и экстремальных температур) и имеют постоянный доступ к питательным веществам. Из всех видов мутуализма наиболее удивительно культивирование некоторых грибов насекомыми (жуками и термитами). С одной стороны, это способствует более широкому распространению грибов, с другой - обеспечивает постоянный источник питательных веществ для личинок. Это напоминает выращивание человеком полезных растений и микроорганизмов. Комменсализм - разновидность симбиоза, при которой выгоду извлекает только один партнёр (не принося «видимого» вреда другому); микроорганизмы, участвующие в таких взаимоотношениях, - комменсалы [от лат. *com-*, с, + *mensa*, стол; буквально - сотрапезники]. Микроорганизмы-комменсалы колонизируют кожные покровы и полости организма человека (например, ЖКТ), не причиняя «видимого» вреда; их совокупность - нормальная микробная флора (естественная микрофлора). Типичные эктосимбиотические организмы-комменсалы - кишечная палочка, бифидобактерии, стафилококки, лактобациллы. Многие бактерии-комменсалы принадлежат к условно-патогенной микрофлоре и способны при определённых обстоятельствах вызывать заболевания макроорганизма (например, при внесении их в кровоток во время медицинских манипуляций).

Паразитизм

Антагонистический симбиоз - симбиотические отношения, наносящие хозяину более или менее выраженный вред; его крайнее проявление - паразитизм [от греч. *para*, при, + *sitos*, пища]. Если микроорганизмы-сапрофиты [от греч. *sapros*, гнилой, + *phyton*, растение] утилизируют мёртвые органические субстраты, то паразитические виды живут за счёт живых тканей растений или животных. Проникая в организм хозяина, они могут вызывать у него заболевание, поэтому их обозначают как патогенные микроорганизмы.

Паразитические микроорганизмы разделяют на внутри- и внеклеточные. Внутриклеточные паразиты - вирусы, риккетсии и хламидии. Внеклеточные паразиты - большинство бактерий и простейших.

Факультативные паразиты. В зависимости от внешних условий некоторые микроорганизмы могут вести себя как паразиты, либо как сапрофиты. Поэтому их так и называют - факультативные паразиты. К ним относят большинство условно-патогенных бактерий.

Облигатные паразиты полностью утратили собственные метаболические возможности и живут, разрушая ткани хозяина.

Метабиоз

В ряде биотопов, особенно в почве, некоторые микроорганизмы утилизируют продукты жизнедеятельности других; например нитрифицирующие бактерии используют аммиак, который образуют аммонифицирующие бактерии. Подобные взаимоотношения известны как метабиоз.

Сателлизм

Некоторые микроорганизмы способны выделять метаболиты, стимулирующие рост других микроорганизмов. Например, сарцины или стафилококки выделяют ростовые факторы, стимулирующие рост бактерий рода *Haemophilus*. Нередко совместный рост нескольких видов микробов активирует их физиологические свойства. Подобные взаимоотношения известны как сател-лизм [от лат. *satelles*, сопровождающий].

Антагонизм

Ситуации, когда один микроорганизм угнетает развитие другого, известны как микробный антагонизм [от греч. *antagonizmai*, соперничество] и отражают сложившиеся эволюционно формы борьбы микроорганизмов за существование (то есть за источники питания и энергии).

Антагонистические взаимоотношения особенно выражены в местах естественного обитания большого числа различных видов и типов микроорганизмов (например, в почве или ЖКТ), имеющих одинаковые пищевые и энергетические потребности. При этом воздействие на конкурента может быть пассивным или активным. В первом случае микроорганизмы быстрее утилизируют субстрат, лишая соперника «сырьевых ресурсов»; во втором - «объявляют войну до полного уничтожения». Формы истребления могут быть переменными - от банального поглощения более мелких видов до выделения высокоспецифичных продуктов, токсичных для конкурентов.

Антибиотики [от греч. *anti*, против, + *bios*, жизнь]. Биологический смысл образования антибиотиков - подавление жизнедеятельности микробов-конкурентов. В частности, действие антибиотиков грибковой природы обычно направлено против бактерий, а бактериальной - против грибов и даже простейших. Было установлено, что антибиотики образуются также в растительных и животных тканях.

Антибиотики растительного происхождения защищают растения-продуценты от патогенных микроорганизмов, а также подавляют жизнедеятельность других растений, конкурирующих за основные источники питания. К антибиотикам растительного происхождения относят фитонциды [от греч. *phyton*, растение, + лат. *caedo (-cido)*, убивать] - эфирные масла, подавляющие жизнедеятельность многих микроорганизмов. Препараты, содержащие фитонциды лука, чеснока, хрена, алоэ, перца и других растений, нашли широкое применение в народной медицине; их использование в традиционной медицине ограничивают трудности получения хорошо очищенных и стойких лекарственных форм.

Антибиотики животного происхождения. Наиболее известен лизоцим (его обнаружил П.Н. Лащенко в 1909 г., детально изучил Александр Флеминг). Лизоцим содержится в белке куриных яиц, слюне, слезной жидкости и различных тканях. Лизоцим - фермент, повреждающий муреиновый слой бактерий.

ИФН - низкомолекулярные белки, обладающие противовирусным эффектом; продуцируются фибробластами, лейкоцитами и лимфоцитами после проникновения в организм патогенных вирусов. Противовирусное действие ИФН не зависит от конкретного возбудителя; инфекционный агент не способен проявлять резистентность к эффекту этих белков.

Бактериоцины - белки, синтезируемые определёнными клонами бактерий. *Бактериоцины вызывают гибель бактерий того же или близких видов*, облегчая конкуренцию за жизненно необходимые субстраты внутри отдельного или близкородственных видов. В отличие от антибиотиков, *секреция бактериоцинов сопровождается гибелью клетки-продуцента*. В популяции бактерий количество продуцентов бактериоцинов незначительно (в среднем 1:1000 бактерий), их количество при необходимости может резко увеличиваться. Бактериоцины участвуют в формировании и поддержании стабильных бактериальных сообществ (например, в кишечнике человека бактериоцины кишечной палочки вызывают гибель патогенных энтеробактерий - шигелл и сальмонелл). Бактериоциногенность (образование бактериоцинов) более выражена у грамотрицательных бактерий, но она известна и у грамположительных видов. Известно около 200 различных бактериоцинов, обычно обозначаемых по родовому или видовому названию продуцента, - колицины (*Escherichia coli*), пестицины (*Yersinia pestis*), стафилоцины (виды *Staphylococcus*), вибриоцины (виды *Vibrio*). Некоторые бактериоцины действуют на ЦПМ, другие ингибируют биосинтез белка. *Основное условие для проявления активности бактериоцина - наличие специфических рецепторов на мембранах клеток-мишеней*.

Наиболее изучены колицины, продуцируемые кишечной палочкой и некоторыми энтеробактериями. Выделено около 30 колицинов, различающихся по антигенным свойствам, химическому составу и механизму действия. Способность к их синтезу используют в эпидемиологических исследованиях, выявляя тип колицина, вырабатываемого патогенным видом

(колицинотипирование), либо тип плазмиды, кодирующей синтез колицина (колициногенотипирование).

МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ

Почва - главный резервуар и естественная среда обитания микроорганизмов, принимающих участие в процессах её формирования и самоочищения, а также в круговороте веществ (азота, углерода, серы, железа) в природе. Помимо неорганических веществ, почва состоит из органических соединений, образующихся в результате гибели и разложения живых существ. Микроорганизмы почвы обитают в водных и коллоидных плёнках, обволакивающих почвенные частицы. Состав микрофлоры почвы разнообразен и включает преимущественно спорообразующие бактерии, актиномицеты, спирохеты, архебактерии, простейшие, сине-зелёные водоросли, ми-коплазмы, грибы и вирусы. Состав микрофлоры зависит от вида почвы, способов её обработки, содержания органических веществ, влажности, климатических условий и других причин. В песчаных почвах преобладают аэробные организмы, в глинистых - анаэробы. Микроорганизмы почвы размножаются при 25-45 °С, термофильные виды (например, бактерии родов *Thermomonospora*, *Thermococcus*) - и при более высокой температуре. Околокорневая (ризосферная) зона растений [от греч. *rhiza*, корень] особенно насыщена микробами, образующими зону интенсивного размножения и повышенной активности, специфичную для каждого вида растений. При этом происходит непрерывная борьба за источники питания и кислород. *Количество микроорганизмов в почве достигает нескольких миллиардов в 1г.* Больше всего их в унавоженной и подвергнутой обработке (пахоте и аэрации) почве - до 4,8-5,2 млрд в 1 г. Меньше микробов содержится в лесной почве, ещё меньше - в песках (0,9-1,2 млрд в 1 г). Масса микроорганизмов в почве на 1 гектар в среднем составляет около 1000 кг. На состав микрофлоры почвы влияет деятельность человека; в частности, регулярное перекапывание почвы отрицательно сказывается на сложившихся биоценозах, особенно лёгких почв (за счёт гибели анаэробных бактерий). Существенный вред микробным сообществам наносит загрязнение почвы отходами, содержащими токсические продукты. На состав микрофлоры неблагоприятно влияет регулярное попадание в почву выделений человека и животных, способствующее избыточному размножению отдельных групп микроорганизмов.

- *Микроорганизмы обильно и многообразно представлены в почве.* В её состав входят микобактерии, псевдомонады, спорообразующие бактерии, азотфиксирующие и нитрифицирующие бактерии, актиномицеты, грибы. Вокруг корней растений имеется зона интенсивного роста и повышенной активности микробов. Поверхность корневой системы колонизируют преимущественно псевдомонады и грибы. Последние вступают в симбиотические отношения с растениями и образуют микоризу (грибокорень), стимулирующую рост обоих партнёров. Насыщенность микробами различных почв варьирует - их значительно больше в почве, богатой органическими веществами и подвергающейся механической аэрации. Наибольшую микробную обсеменённость почв регистрируют на полях с фекальным орошением, свалках, местах выпаса скота. Нередко в состав микробных ценозов подобных мест входят и бактерии, патогенные для человека.

- *Микроорганизмы распределены в почве неравномерно.* На поверхности и в верхних слоях (толщиной 1-2 мм) их относительно мало из-за микробицидного действия солнечных лучей и высушивания. Наиболее многообразна и многочисленна микрофлора почвы на глубине 10-20 см, где протекают основные процессы превращения органических веществ, обусловленные деятельностью микробов. В глубоких слоях почвы микрофлора становится скудной.

- *В почве большинство представителей нормальной и патогенной микрофлоры человека и животных длительно не выживают.* Однако некоторые бактерии, входящие в состав нормальной микрофлоры человека, включаются в биоценоз почвы, а отдельные виды остаются постоянными её обитателями. Эти факты объясняют трудности разделения микрофлоры почв на резидентную

и транзиторную. Для выяснения роли почвы в передаче инфекционных болезней необходимо знать возможную продолжительность сохранения и размножения в ней патогенных бактерий (табл. 6-1). На время выживания патогенных бактерий в почве оказывают влияние многие факторы: состав и тип почвы, температура, влажность, воздействие атмосферных осадков, степень и характер загрязнения (преимущественно органическое, микробное или химическое). Классификация почвенных патогенных микроорганизмов

- *Патогенные микроорганизмы, постоянно обитающие в почве* (например, возбудитель ботулизма). Бактерии попадают в почву с испражнениями человека и животных, их споры сохраняются в ней неопределённо долго.

- *Патогенные спорообразующие микроорганизмы, для которых почва - вторичный резервуар* (например, возбудитель сибирской язвы). Бактерии попадают в почву с фекалиями человека и животных, прочими выделениями, а также с трупами погибших животных. При благоприятных условиях они могут размножаться и сохраняться длительное время в виде спор.

- *Патогенные микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями человека и животных и сохраняющиеся в течение нескольких недель или месяцев.* В эту группу входят различные споронеобразующие бактерии. Основные факторы, приводящие к быстрой гибели микроорганизмов, - неспособность к спорообразованию и антагонистические свойства микрофлоры почвы (конкуренция за источники энергии и питания).

МИКРОФЛОРА ВОДЫ

Вода - естественная среда обитания разнообразных микроорганизмов; из пресных и солёных вод выделяют представителей всех таксономических групп бактерий, простейших, грибов, водорослей и вирусов. Совокупность водных микроорганизмов - микробный планктон.

Типы водной среды. На качественный состав микрофлоры основное влияние оказывает происхождение воды как среды обитания: пресные поверхностные (воды рек, ручьёв, озёр, прудов и водохранилищ), подземные (почвенные, грунтовые, артезианские), атмосферные (дождь, снег) и солёные (морские и озёрные) воды. По характеру пользования выделяют питьевую воду (централизованного и местного водоснабжения; с забором из открытых водоёмов или подземных источников), воду плавательных бассейнов, лёд медицинский и хозяйственный. С санитарной точки зрения особого внимания требуют сточные воды: хозяйственно-фекальные, промышленные, смешанные (хозяйственно-фекальные и промышленные), талые и ливневые; микрофлора этих вод загрязняет природные воды.

Характер микрофлоры водоёмов определяется особенностями конкретной водной среды. Микрофлору водоёмов образуют две группы: аутохтонные (собственно водные) и аллохтонные (попадающие извне при загрязнении) микроорганизмы.

- *Аутохтонная микрофлора - совокупность микроорганизмов, постоянно живущих и размножающихся в воде.* Микробный состав воды напоминает микрофлору почвы, с которой вода соприкасается (придонные и прибрежные почвы).

В состав специфической водной микрофлоры входят *Micrococcus candidans* и *M. roseus*, *Sarcina lutea*, *Bacterium aquatilis communis*, *Pseudomonas fluorescens*, различные виды *Proteus* и *Leptospira*. Среди анаэробов в незагрязнённых водоёмах выделяют *Bacillus cereus*, *B. mycoides*, *Chromobacterium violaceum*, виды *Clostridium*.

- *Аллохтонная микрофлора* - совокупность микроорганизмов, случайно попавших в воду и сохраняющихся в ней сравнительно короткое время.

- * Для резидентов почва служит природным биотопом.

- Количественные соотношения микроорганизмов в открытых водоёмах варьируют в широких пределах, что зависит от типа водоёма, степени его загрязнения, смены метеорологических условий, сезона и т.д.

- Микроорганизмы воды играют значительную роль в круговороте веществ, расщепляя органические вещества животного и растительного происхождения и обеспечивая питательными веществами другие организмы, живущие в воде.

Биологическое загрязнение водоёмов. Воды поверхностных водоёмов открыты для всех видов микробной контаминации (загрязнения). Со сточными, ливневыми, тальными водами в водоёмы попадают многие виды микроорганизмов, способные резко изменить микробный биоценоз и санитарный режим.

- Основной путь микробного загрязнения - попадание неочищенных отходов и сточных вод.

- Микрофлора сточных вод состоит из обитателей кишечника человека и животных, включая представителей нормальной и условно-патогенной флоры; в её состав могут входить и патогенные виды (возбудители кишечных инфекций, туляремии, иерсиниозов, лептоспирозов, вирусы полиомиелита, гепатита А и др.).

- Микробное загрязнение водоёмов происходит также при купании людей и животных, полоскании белья. В воде бассейнов можно обнаружить бактерии группы кишечной палочки (БГКП), энтерококк, стафилококк, нейссерии, пигментообразующие, спорообразующие бактерии, грибы и другие микроорганизмы (вирусы, простейшие). Если купающийся человек - бактерионоситель, то в воду могут попадать сальмонеллы и шигеллы.

- Вода - не благоприятная для размножения патогенных микроорганизмов среда; основной биотоп - организм человека или животных.

Самоочищение водоёмов. *Основной путь самоочищения - конкурентная активация сапрофитической микрофлоры*, приводящая к быстрому разложению органических веществ и уменьшению численности бактерий, особенно фекального происхождения. Способность к самоочищению связана с присутствием в воде постоянных видов микроорганизмов, входящих в конкретный биоценоз. Однако количественные и качественные соотношения микробов в биоценозах нестойки и изменяются под действием различных факторов, то есть меняются в зависимости от сапробности. Термин «сапробность» обозначает комплекс особенностей водоёма, в том числе состав и количество микроорганизмов в воде, содержащей в определённых концентрациях органические и неорганические вещества. Процессы самоочищения воды в водоёмах происходят последовательно и непрерывно, с постепенной сменой биоценозов. По загрязнённости различают полисапробные, мезосапробные и олигосапробные зоны.

Полисапробные зоны (зоны сильного загрязнения) содержат большое количество легко разлагающихся органических веществ и почти полностью лишены кислорода. Микробный биоценоз подобных зон особенно обилен, но видовой состав ограничен анаэробными бактериями, грибами, актиномицетами. Количество бактерий в 1 мл воды в полисапробной зоне равно миллиону и выше.

Мезосапробные зоны (зоны умеренного загрязнения) характеризуются доминированием окислительных и нитрификационных процессов. Качественный состав разнообразен: в основном, нитрифицирующие, облигатно аэробные бактерии, а также виды *Clostridium*, *Pseudomonas*,

Mycobacterium, Flavobacterium, Streptomyces, Candida и др. Общее количество микроорганизмов: сотни тысяч в 1 мл.

Олигосапробные зоны (зоны чистой воды) характеризуются окончившимся процессом самоочищения, небольшим содержанием органических соединений и окончанием процесса минерализации. Вода отличается высокой степенью чистоты. Количество бактерий от 10 до 1000 в 1 мл воды. *Патогенные микроорганизмы, попадающие в водоёмы, достаточно обильны в полисапроб-*

ных зонах, постепенно отмирают в мезосапробных и практически не обнаруживаются в олигосапробных зонах.

МИКРОФЛОРА ВОЗДУХА

Воздух - среда, не поддерживающая размножение микроорганизмов; это определяется отсутствием питательных веществ и недостатком влаги. Кроме того, в воздухе более выражено микробицидное действие солнечных лучей УФ-спектра. Жизнеспособность микроорганизмов в

воздухе обеспечивают взвешенные частицы воды, слизи, пыли и фрагментов почвы. Атмосферный и воздух закрытых помещений значительно различаются по количественному и качественному составу микрофлоры. Бактериальная обсеменённость жилых помещений всегда выше, чем атмосферного воздуха; это справедливо и в отношении патогенных микроорганизмов, попадающих в воздух от больных людей, животных и бактерионосителей.

Микрофлору воздуха условно разделяют на резидентную (постоянно обнаруживаемую) и временную (обнаруживают спорадически). *Наибольшее количество микробов содержится в околосемных слоях атмосферы.* По мере удаления от земной поверхности воздух становится чище. Постоянная микрофлора атмосферного воздуха формируется почвенными микроорганизмами. Более или менее регулярно в её состав входят *Micrococcus roseus, M. flavus, M. candidans, Sarcina flava, S. alba, S. rosea, Bacillus subtilis, B. mycoides, B. mesentericus*, виды *Actinomyces*, грибы родов *Penicillium, Aspergillus, Mucor* и др. Временная микрофлора атмосферного воздуха также формируется за счёт микроорганизмов почвы и видов, поступающих с поверхности водоёмов. Находящиеся в атмосферном воздухе микроорганизмы подвергаются солнечному и температурному воздействию, атмосферным осадкам и ветру. Поэтому микрофлора воздуха весьма динамична, непрерывно меняется и обновляется.

Контаминация воздуха патогенными микроорганизмами происходит капельным путём; микробы содержатся в составе аэрозоля, образующегося при разговоре, кашле, чихании. Кроме того, микроорганизмы попадают в воздух со слущивающимся эпителием кожных покровов, пылью из загрязнённого постельного белья и заражённой почвы.

- Аэрозоль - коллоидная система, состоящая из воздуха, капелек жидкости или твёрдых частиц, и включающая различные микроорганизмы. Размер аэрозольных частиц варьирует от 10 до 2000 нм. При чихании может образовываться до 40 000 капель. В зависимости от размера частиц, электрического заряда, скорости движения в воздухе различают капельную и пылевую фазы аэрозоля, а также капельные ядрышки.

Капельная фаза представлена мелкими каплями, длительно сохраняющимися в воздухе, но испаряющимися до оседания.

Пылевая фаза - крупные, быстро оседающие частицы; в результате, образующие пыль, способную подниматься в воздух.

Капельные ядрышки - мелкие капельки аэрозоля (до 100 нм); высыхая, остаются в воздухе во взвешенном состоянии и образуют устойчивую аэродисперсную систему. В них частично сохраняется влага, поддерживающая жизнеспособность микроорганизмов. Последние в составе капельных ядрышек могут переноситься на значительные расстояния.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В КРУГОВОРОТЕ ВЕЩЕСТВ

Круговорот веществ - совокупность превращений химических элементов, из которых построены живые организмы. Основные факторы, определяющие доминирующую роль микробов в круговороте веществ, - *широкое распространение микроорганизмов* (например, слой плодородной почвы толщиной 15 см может содержать до 5 т микробной биомассы на гектар) и их *необычайная метаболическая гибкость при высокой скорости обмена*. Большое значение имеет узкая специализация отдельных групп микроорганизмов в отношении утилизируемых веществ. Поэтому некоторые этапы круговорота веществ могут осуществляться исключительно прокариотами. В природе все организмы разделяют на три группы. Продуценты - зелёные растения и микроорганизмы, синтезирующие органические вещества, используя энергию солнца, углекислый газ и воду. Потребители (консументы) - животные, расходующие значительную часть первичной биомассы на построение своего тела. Деструкторы - бактерии (в том числе актиномицеты) и грибы, разлагающие погибшие животные и растения; при этом органические вещества превращаются в неорганические, то есть происходит минерализация.

Круговорот углерода

Взаимосвязь живых организмов на Земле особенно ярко выражена в круговороте углерода. Атмосферный воздух содержит около 0,03% CO₂, но продуктивность зеленых растений настолько велика, что весь запас углекислоты в атмосфере (2600 x 10⁹ т CO₂) был бы истрачен за 20 лет - срок, ничтожно короткий в масштабах эволюции. Фотосинтез бы прекратился, если

бы микроорганизмы, растения и животные не обеспечивали возвращение CO₂ в атмосферу в результате непрерывной минерализации органических веществ. Циклические превращения углерода и кислорода реализуются главным образом через *два разнонаправленных процесса*: кислородный фотосинтез и дыхание (либо горение в небиологических реакциях).

- При кислородном фотосинтезе аэробные цианобактерии и зелёные растения основную часть окисленной формы углерода (CO₂) переводят в восстановленное состояние, характерное для органических соединений (например, глюкозу), а восстановленную форму кислорода (H₂O) окисляют до O₂. Хотя анаэробные пурпурные и зелёные бактерии могут восстанавливать CO₂ до органических веществ, окисляя отличные от воды соединения (NH₃, NO⁻, H₂, Fe²⁺, восстановленные соединения серы), вклад этих процессов в общую фиксацию CO₂ незначителен. В результате фотосинтетической фиксации CO₂ образуются сахара и другие соединения. Основная масса фиксированного углерода растений откладывается в виде полимерных углеводов (крахмал, целлюлоза). *Поэтому сахара играют ведущую роль в питании всех живых организмов, нуждающихся в органической пище* (организмы-гетеротрофы), и *служат предпочтительными питательными веществами для большинства гетеротрофных микроорганизмов*.

- В присутствии кислорода полное окисление органических веществ до CO₂ осуществляют многие аэробные (псевдомонады, бациллы) и факультативно анаэробные (актиномицеты) бактерии, грибы, а также животные. В качестве примеров неполного окисления можно привести окисление сахаров уксуснокислыми бактериями (*Acetobacter*, *Gluconobacter*) с образованием ацетата, образование лактата грибами порядка *Mucorales* (*Rhizopus oryzae*, *R. nigricans* и др.), образование глюконовой кислоты аспергиллами и пенициллами.

- В анаэробных условиях органические соединения расщепляются путём брожения (дрожжи, молочнокислые бактерии, пропионовокислые бактерии, бактерии

семейства *Enterobacteriaceae*), либо окисляются в процессе анаэробного дыхания при наличии акцепторов водорода. В роли акцепторов водорода выступают нитраты, сульфаты, карбонаты, фумараты, Fe^{3+} ; соответственно выделяют денитрифицирующие, сульфатредуцирующие, метанобразующие бактериями. Ме-танобразующие бактерии (*Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanosarcina*) - строгие анаэробы, составляющие последнее звено анаэробной пищевой цепи. Выделяемый ими метан в аэробных условиях может окисляться до CO_2 метилотрофными бактериями (*Methylomonas*, *Methylosinus*, *Methylococcus*).

- Углерод извлекается из круговорота различными путями. Ионы карбоната, содержащиеся в морской воде, соединяются с растворёнными в ней ионами Ca^{2+} и осаждаются в виде $CaCO_3$ (карбонат кальция). Последний также образуется биологическим путём в известковых структурах простейших, кораллов и моллюсков, откладываясь в качестве известняковых горных пород. Отложение неминерализованных органических остатков в условиях высокой влажности и недостатка кислорода приводит к накоплению гумуса, образованию торфа и каменного угля. Ещё один вид изъятия органического углерода из круговорота - отложения нефти и газа (метана).

- Деятельности человека неуклонно сдвигает баланс углерода в сторону образования CO_2 . С одной стороны, это связано с интенсивным сжиганием нефти, угля и природного газа, а с другой - с уменьшением фотосинтетической фиксации углерода за счёт уничтожения лесных массивов, деградации почвы и загрязнения океана.

Круговорот азота

Азот составляет 80% земной атмосферы; количество азота, участвующего в круговороте, исчисляется 10^8 - 10^9 т в год. Как газ азот химически инертен; он не может быть непосредственно использован растениями, животными и большинством микроорганизмов. Относительный дефицит связанного азота на поверхности Земли при практически неисчерпаемом его запасе в атмосфере подразумевает наличие определённого этапа, лимитирующего скорость круговорота. Этот этап - азотфиксация, осуществляемая исключительно азотфиксирующими бактериями. Промышленный синтез аммиака из азота и водорода составляет не более 5% фиксированного азота нашей планеты. Поэтому значение биологической азотфиксации для жизни на планете огромно.

Азотфиксация в природе осуществляется как свободноживущими микроорганизмами (несим-биотическая азотфиксация), так и бактериями, существующими в сообществе с растениями (симбиотическая азотфиксация).

Несимбиотическая азотфиксация осуществляется бактериями рода *Azotobacter*, фиксирующими около 20 мг азота на 1 г использованного сахара, аноксигенными фототрофными бактериями, цианобактериями, клостридиями, факультативными анаэробами *Bacillus polymixa*, *Klebsiella pneumoniae*, хемолитотрофными бактериями *Alcaligenes latus*, *Xanthobacter autotrophicus*, метилотрофными, метаногенными и сульфатредуцирующими бактериями). Симбиотическая фиксация азота осуществляется бактериями рода *Rhizobium* (вызывают образование клубеньков у бобовых растений), актиномицетами рода *Frankia* (симбионты тропических растений), цианобактериями *Anabaena azollae*, *Nostoc punctiforme*. В отсутствие кислорода бактерии из нитрата, используемого в качестве акцептора водорода, образуют молекулярный азот. Этот процесс известен как денитрификация (диссимиляционная нитратредукция), или «нитратное дыхание», так как в данном случае роль нитрата в качестве окислителя аналогична роли молекулярного кислорода в аэробном дыхании. Способностью к денитрификации обладают многие факультативно аэробные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *P. stutzeri*, *P. fluorescens*, *Bacillus licheniformis*, *Paracoccus denitrificans*, *Thiobacillus denitrificans*). Ассимиляционная нитратредукция характерна для большинства микроорганизмов и для растений. Нитрат служит источником азота для построения клеточных компонентов. Источником азота для растений и микроорганизмов может быть и аммоний, усвояемый ими в процессе ассимиляции аммиака.

- При разложении растительных и животных белков в почве освобождается аммоний. Собственно процесс аммонификации обусловлен деятельностью различных грибов и бактерий (*Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, псевдомонады и др.). Если в почве достаточно кислорода, то аммоний подвергается нитрификации, которую осуществляют две группы микроорганизмов, соответственно окисляя аммиак до нитрита (виды *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*) и нитрит до нитрата (*Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*). Частично нитрификация осуществляется и при участии гетеротрофных бактерий (виды *Arthrobacter*), образующих нитрит из аммония, и грибов, способных окислять аммоний до нитрата. Однако скорость нитрификации у гетеротрофных бактерий в 10^3 - 10^4 раз меньше, чем у автотрофных.

- Нитрат - основное азотистое вещество почвы, используемое растениями в процессе роста. Практика удобрения почв навозом основана на способности микроорганизмов к минерализации органического азота. Нитраты легко выщелачиваются из почвы и, таким образом, часть связанного азота в виде солевых растворов удаляется с материков в океан. Связанный азот, необходимый для роста растений, удаляется из почвы также в процессе денитрификации, идущем с освобождением газообразного азота. Без денитрификации земной и атмосферный запас азота в конце концов сосредоточился бы в виде солей в океане, и жизнь стала бы возможной только на узкой прибрежной полосе. Удаление токсичных нитратов и мутагенных нитритов из пресной воды в реакциях денитрификации приводит к улучшению качества питьевой воды. Таким образом, микроорганизмы - естественные регуляторы количества связанного (то есть доступного для жизнедеятельности) азота в природе.

Круговорот серы

Во всех организмах сера представлена главным образом сульфгидрильными (-SH) или дисульфидными (-S-S-) группами метионина, цистеина и гомоцистеина. При анаэробном разложении белков сульфгидрильные группы отщепляются десульфурезами, при этом выделяется сероводород. Этот процесс напоминает аммонификацию азотсодержащих органических соединений. Наибольшее количество сероводорода образуется при диссимиляционном восстановлении сульфатов (диссимиляционная сульфатредукция, или «сульфатное дыхание»), осуществляемом облигатно анаэробными бактериями (бактерии родов *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema*). Последние используют сульфат для окисления низкомолекулярных органических соединений или молекулярного водорода. Диссимиляционное восстановление элементной серы в анаэробных условиях способны осуществлять бактерии рода *Desulfuromonas*. Сульфатредуцирующие (или десульфатирующие) бактерии в круговороте серы играют роль, сопоставимую с ролью нитратредуцирующих бактерий в круговороте азота. Их деятельность заметна на дне прудов, вдоль побережья моря по чёрному цвету ила (связан с образованием сульфида двухвалентного железа) и запаху (за счёт выделения сероводорода). Из-за токсического действия сероводорода некоторые береговые области иногда практически безжизненны.

- Образованный в отсутствие молекулярного кислорода сероводород может быть окислен анаэробными фототрофными бактериями семейства *Chromatiaceae* до серы (виды *Chlorobium*) или до сульфата (виды *Chromatium*). В этом семействе известны бактерии, накапливающие серу внутри клеток в качестве промежуточного продукта окисления сероводорода (виды *Thiospirillum*, *Chromatium*, *Thiodictyon*), и бактерии, откладывающие серу вне клеток (виды *Ectothiorhodospira*).

- В аэробных условиях сероводород под действием бесцветных серобактерий (виды *Beggiatoa*, *Thiothrix*) окисляется (через промежуточное образование серы) в сульфат. Сероводород может также окисляться в присутствии кислорода абиотическим путём. Свободную серу в аэробных условиях могут окислить до сульфата представители рода *Thiobacillus*. Некоторые

из них - хемолитотрофы, другие используют в качестве источников энергии и углерода органические соединения.

- Образую большие количества серной кислоты, тиабациллы уменьшают щелочность почвы, переводя карбонат кальция в лучше растворимый сульфат кальция, вымываемый из почвы. Таким образом, добавляя в известковые почвы элементную серу, можно бороться с их избыточным известкованием. Что касается серы, необходимой для синтеза серосодержащих аминокислот, то она поступает в организм животных с пищей, содержащей восстановленные соединения серы; растения и часть микроорганизмов получают её в процессе ассимиляционной сульфатредукции. Как и при ассимиляции нитрата, ассимилируется ровно столько питательных веществ, содержащих серу или азот, сколько их необходимо для роста организма; поэтому никакие восстановленные продукты метаболизма серы в окружающую среду не выделяются.

Круговорот фосфора

В организмах фосфор находится только в пятивалентном состоянии - в форме солей и свободных фосфатных ионов (PO_4^{1-}), либо в виде органических фосфатных веществ. Большинство органических фосфорсодержащих соединений неспособно поглощаться клетками, и потребность клеток в фосфоре удовлетворяется потреблением фосфатных ионов. Последние включаются в органические компоненты клеток и после смерти при гидролизе этих соединений вновь высвобождаются. Фосфаты доступны для сухопутных организмов благодаря непрерывному переводу нерастворимых фосфатных соединений в растворимые. В этом процессе микробам принадлежит ведущая роль. Кислые продукты метаболизма - органические и неорганические (например, азотная и серная) кислоты растворяют фосфат кальция; образуемый бактериями сероводород способствует растворению фосфатов железа. Подсчитано, что продукцию биомассы в конечном итоге лимитируют азот и фосфор. Так, из элементов, содержащихся в 1 м³ морской воды, можно создать, опираясь в расчёты в содержании углерода около 100 г биомассы, рассчитывая по азоту - 6 г, по фосфору - только 5 г биомассы.

НОРМАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА ЧЕЛОВЕКА

Организм человека в норме содержит сотни видов микроорганизмов; среди них доминируют бактерии, вирусы и простейшие представлены значительно меньшим числом видов. Подавляющее большинство таких микроорганизмов - сапрофиты-комменсалы; но как в любом биоценозе взаимоотношения в системе микроорганизм-макроорганизм могут носить как симбиотический, так и паразитический характер. Видовой состав микробного биоценоза различных отделов организма периодически меняется, но *каждый индивидуум имеет более или менее характерные микробные сообщества*. По Ламарку, основные условия выживания вида (включая микроорганизмы) - нормальная жизнедеятельность, быстрое воспроизведение плодovитого потомства, колонизирующего определённый ареал обитания. Для большинства комменсалов эти положения не тождественны понятиям «патогенность» и «вирулентность» и во многом определяются скоростью размножения и колонизации. *Термин «нормальная микрофлора» объединяет микроорганизмы, более или менее часто выделяемые из организма здорового человека*; бактерии, входящие в состав нормальной микрофлоры, представлены в табл. 6-2. Провести чёткую границу между сапрофитами и патогенными микробами, входящими в состав нормальной микрофлоры, часто невозможно. Сложившиеся положения о нормальной микрофлоре не абсолютны. Например, менингококки и пневмококки, вызывающие менингиты, пневмонии и септицемии, выделяют из носоглотки 10% клинически здоровых лиц. Для остальных 90% они представляют серьёзную опасность. Практически у каждого человека подобные бактерии могут спорадически колонизировать носоглотку; их обозначают термином «транзиторные члены микробных сообществ». Таким образом, попадание патогенного микроба в орган, чувствительный к его факторам патогенности, не всегда приводит к развитию заболевания. Этот феномен связан с состоянием защитных факторов макроорганизма; не менее важно участие микрофлоры,

конкурирующей с потенциальным возбудителем за пищевые и энергетические источники и препятствующей его колонизации.

В течение внутриутробного периода организм развивается в стерильных условиях полости матки, и его первичное обсеменение происходит при прохождении через родовые пути и в первые сутки при контакте с окружающей средой. В случае рождения посредством кесарева сечения состав микробов, колонизирующих организм новорождённого, существенно иной (например, в первые недели жизни отмечают дефицит лактобацилл, энтеробактерий, дифтероидов).

Основные микробные биотопы

Основные отделы организма человека, заселяемые бактериями: кожные покровы, воздухоносные пути, ЖКТ, мочеполовая система. В указанных областях бактерии живут и размножаются; а их содержание варьирует в зависимости от условий существования. Например, в желудке, двенадцатиперстной кишке, мочевом пузыре, матке, в зонах газообмена в лёгких бактерий в норме практически нет, а их обнаружение даёт основания для подозрения на инфекционный процесс. Выделение бактерий из обычно стерильных тканей (кровь, СМЖ, синовиальные жидкости, а глубокие ткани) имеет диагностическое значение. *Независимо от вирулентных свойств, все бактерии подвергаются воздействию защитных факторов макроорганизма.*

Полость рта

В полости рта на микроорганизмы действует слюна, механически смывающая бактерии и содержащая антимикробные вещества (например, лизоцим). Тем не менее, в полости рта всегда есть области, легко колонизируемые микроорганизмами (например, десневые карманы, щели между зубами). В состав микрофлоры полости рта входят различные микроорганизмы; часть образует аутохтонную микрофлору, другие - аллохтонную (присущую другим областям). Аутохтонная микрофлора характерна для данной области (в данном случае - полость рта). Среди аутохтонных микроорганизмов различают резидентные (облигатные) и транзиторные виды. Среди последних наиболее часто встречаются возбудителей инфекционных поражений, хотя к транзиторным видам относятся и комменсалы, обитающие в других биотопах (кожа, ЖКТ). Аллохтонная микрофлора полости рта представлена микробами, присущими другим областям. В её состав входят виды, обычно обитающие в кишечнике или носоглотке. Среди бактерий доминируют стрептококки, составляющие 30-60% всей микрофлоры ротоглотки; различные виды выработали определённую «географическую специализацию», например, *Streptococcus mitior* тропен к эпителию щёк, *Streptococcus salivarius* - к сосочкам языка, *Streptococcus sanguis* и *Streptococcus mutans* - к поверхности зубов. Менее азрируемые участки колонизируют анаэробы - актиномицеты, бактероиды, фузобактерии и вейлонеллы. В полости рта также обитают спирохеты родов *Leptospira*, *Borrelia* и *Treponema*, микоплазмы (*M. orale*, *M. salivarium*), грибы рода *Candida* и разнообразные простейшие (*Entamoeba buccalis* и *E. dentalis*, *Trichomonas buccalis*). Первичное проникновение бактерий в полость рта происходит при прохождении плода по родовым путям; первоначальная микрофлора представлена лактобациллами, энтеробактериями, коринебактериями, стафилококками и микрококками; уже через 2-7 сут эта микрофлора замещается на бактерии, обитающие в полости рта матери и персонала родильного отделения. Обитатели полости рта обладают патогенным потенциалом, способным вызвать местное повреждение тканей. Важную роль в патогенезе местных поражений играют органические кислоты и их метаболиты, образующиеся при ферментации микроорганизмами углеводов. Основные поражения полости рта (кариес зубов, пульпиты, периодонтиты, заболевания периодонта, воспаления мягких тканей) вызывают стрептококки, пептострептококки, актиномицеты, лактобациллы, коринебактерии и др. Реже встречающиеся анаэробные инфекции (например, болезнь Березовского-Венсана-Плаута) вызывают ассоциации бактероидов, превотелл, актиномицетов, вейлонелл, лактобацилл, нокардий, спирохет и др.

Кожа

На кожных покровах микроорганизмы подвержены действию бактерицидных факторов сального секрета, повышающих кислотность (соответственно значение pH снижается). В подобных условиях живут преимущественно *Staphylococcus epidermidis*, микрококки, сарцины, аэробные

и анаэробные дифтероиды. Другие виды - *Staphylococcus aureus*, а-гемолитические и негемолитические стрептококки - правильнее рассматривать как транзиторные. Основные зоны колонизации - эпидермис (особенно роговой слой), кожные железы (сальные и потовые) и верхние отделы волосяных фолликулов. Микрофлора волосяного покрова идентична микрофлоре кожи. Первичная колонизация кожных покровов плода происходит при родах, но эта микрофлора (фактически флора родовых путей матери) в течение недели замещается вышеуказанными бактериями. Обычно на 1 см² выявляют 10³-10⁴ микроорганизмов; на участках с повышенной влажностью их число может достигать 10⁶. Соблюдение элементарных правил гигиены может уменьшить число бактерий на 90%.

Дыхательная система

Верхние отделы дыхательных путей несут высокую микробную нагрузку - они анатомически приспособлены для осаждения бактерий из вдыхаемого воздуха. Помимо обычных негемолитических и зеленеющих стрептококков, непатогенных нейссерий, стафилококков и энтеробактерий, в носоглотке можно обнаружить менингококки, пиогенные стрептококки, пневмококки и возбудитель коклюша. Верхние отделы дыхательных путей у новорождённых обычно стерильны и колонизируются в течение 2-3 сут. По мере взросления, совершенствования защитных механизмов вероятность носительства патогенных бактерий снижается; у подростков и взрослых их находят сравнительно редко.

Мочеполовая система

Микробный биоценоз органов мочеполовой системы более скудный. Верхние отделы мочевого-водяного пути обычно стерильны; в нижних отделах доминируют *Staphylococcus epidermidis*, негемолитические стрептококки, дифтероиды; часто выделяют грибы родов *Candida*, *Torulopsis* и *Geotrichum*. В наружных отделах доминирует *Mycobacterium smegmatis*. У 15-20% беременных женщин из влагалища выделяют *Streptococcus agalactiae* группы В, представляющий серьёзную опасность для новорождённых в плане развития пневмоний и гнойно-септических поражений.

ЖКТ

Наиболее активно бактерии заселяют ЖКТ; при этом колонизация осуществляется «по этажам». В желудке здорового человека микробов практически нет, что вызвано действием желудочного сока. Тем не менее, отдельные виды (например, *Helicobacter pylori*) адаптировались к обитанию на слизистой оболочке желудка, но общее число микроорганизмов обычно не превышает 10³/мл. Верхние отделы тонкой кишки также относительно свободны от бактерий (менее 10³/мл), что связано с неблагоприятным действием щелочного pH и пищеварительных ферментов. Тем не менее, в этих отделах можно обнаружить кандиды, стрептококки и лактобациллы. Нижние отделы тонкой и, особенно, толстая кишка - огромный резервуар бактерий; их содержание может достигать 10¹² в 1 г фекалий. ЖКТ новорождённого можно считать стерильным; имеется незначительное число бактерий, проникших во время прохождения по родовым путям. Интенсивная колонизация ЖКТ начинается в течение первых суток внеутробной жизни; в составе микрофлоры в дальнейшем возможны вариации. У естественно вскармливаемых детей доминирует *Lactobacillus bifidus*; прочие бактерии представлены кишечными палочками, энтерококками и стафилококками. У находящихся на искусственном вскармливании

доминируют *Lactobacillus acidophilus*, энтеробактерии, энтерококки и анаэробы (например, клостридии).

Роль нормальной микрофлоры

Нормальная микрофлора играет важную роль в защите организма от патогенных микробов, например, стимулируя иммунную систему, принимая участие в реакциях метаболизма. В то же время эта флора способна привести к развитию инфекционных заболеваний.

Инфекции

Большая часть инфекций, вызываемых представителями нормальной микрофлорой, носит оппортунистический характер. В частности, кишечные анаэробы, (например, бактероиды) могут вызывать формирование абсцессов после проникновения в кишечную стенку в результате травм или хирургических вмешательств; основными возбудителями часто регистрируемых постгриппозных пневмоний считают микроорганизмы, обитающие в носоглотке любого человека. Число подобных поражений настолько велико, что возникает впечатление, что врачи чаще имеют дело с эндогенными, а не экзогенными инфекциями, то есть с патологией, индуцированной эндогенной

микрофлорой. Отсутствие чёткого разграничения между условно-патогенными микробами и комменсалами даёт основание полагать, что неограниченная колонизация любым видом бактерий, способным выживать в организме человека, может приводить к развитию инфекционной патологии. Но это положение относительно - различные члены микробных сообществ проявляют патогенные свойства разного порядка (некоторые бактерии чаще вызывают поражения, чем другие). Например, несмотря на многообразие кишечной микрофлоры, перитониты, обусловленные прорывом бактерий в брюшную полость, вызывают лишь несколько видов бактерий. Ведущую роль в развитии подобных поражений играет не вирулентность самого возбудителя, а состояние защитных систем макроорганизма; так, у лиц с иммунодефицитами слабовирулентные или авирулентные микроорганизмы (кандиды, пневмоцисты) могут вызывать тяжёлые, часто фатальные поражения.

Нормальная микрофлора составляет конкуренцию для патогенной; механизмы подавления роста последней достаточно разнообразны. Основной механизм - избирательное связывание нормальной микрофлорой поверхностных рецепторов клеток, особенно эпителиальных. Большинство представителей резидентной микрофлоры проявляет выраженный антагонизм в отношении патогенных видов. Эти свойства особенно ярко выражены у бифидобактерий и лактоба-цилл; антибактериальный потенциал формируется секрецией кислот, спиртов, лизоцима, бакте-риоцинов и других веществ. Кроме того, высокая концентрация указанных продуктов ингибирует метаболизм и выделение токсинов патогенными видами (например, термолабильного токсина энтеропатогенными эшерихиями).

Стимуляция иммунной системы

Нормальная микрофлора - неспецифический стимулятор («раздражитель») иммунной системы; отсутствие нормального микробного биоценоза вызывает многочисленные нарушения в иммунной системе. Другая роль микрофлоры была установлена после того, как были получены безмикробные животные-гнотобионты [от греч. *gnotos*, познание, + лат. *biota* (от греч. *bios*) жизнь]. Было показано, что нормальная микрофлора оказывает постоянное антигенное «раздражение» иммунной системы, а у гнотобионтов его отсутствие вызывает недоразвитие основных иммунокомпетентных органов (например, тимуса, лимфоидной ткани кишечника). Аг представителей нормальной микрофлоры вызывают образование АТ в низких титрах. Они преимущественно представлены IgA, выделяющимися на поверхность слизистых оболочек. IgA

составляют основу местной невосприимчивости к проникающим возбудителям и не дают возможности комменсалам проникать в глубокие ткани.

Вклад в метаболизм

Нормальная кишечная микрофлора играет огромную роль в метаболических процессах организма и поддержании их баланса.

Обеспечение всасывания. Метаболизм некоторых веществ включает печёночную экскрецию (в составе жёлчи) в просвет кишечника с последующим возвратом в печень; подобный печёночно-кишечный круговорот характерен для некоторых половых гормонов и солей жёлчных кислот. Эти продукты экскретируются, как правило, в форме глюкуронидов или сульфатов, не способных в этом виде к обратному всасыванию. Всасывание обеспечивают кишечные бактерии, вырабатывающие глюкуронидазы и сульфатазы. Сульфатазы могут оказывать и неблагоприятное действие, установленное на примере искусственного подсластителя цикла-мата. Фермент конвертирует цикламат в канцерогенный продукт циклогексамин, вызывающий злокачественное перерождение эпителия мочевого пузыря.

Обмен витаминами и минеральными веществами. Общеизвестный факт - ведущая роль нормальной микрофлоры в обеспечении организма человека ионами Fe^{2+} , Ca^{2+} , витаминами К, D, группы В (особенно В₁, рибофлавин), никотиновой, фолиевой и пантотеновой кислотами. Кишечные бактерии принимают участие в инактивации токсичных продуктов эндо- и экзогенного происхождения. Кислоты и газы, выделяющиеся в ходе жизнедеятельности кишечных микробов, оказывают благоприятное действие на перистальтику кишечника и своевременное его опорожнение.

Дисбактериоз

На состав микробных сообществ полостей организма влияют различные факторы: состав и качество пищи, курение и употребление алкоголя, нормальная перистальтика и своевременное опорожнение кишечника и мочевого пузыря, качество пережёвывания пищи и даже характер

трудовой деятельности (сидячий или иной). Наибольшее воздействие оказывают заболевания, связанные с изменениями физико-химических свойств эпителиальных поверхностей (например, синдром мальабсорбции), и приём *антимикробных препаратов широкого спектра, действующих на любые, в том числе непатогенные микроорганизмы*. В результате выживают более устойчивые виды - стафилококки, кандиды и грамотрицательные палочки (энтеробактерии, псевдомонады). Следствие этого - стойкие нарушения микробных ценозов - дисбактериозы, или дисбиозы. Наиболее тяжёлые формы дисбактериозов - стафилококковый сепсис, системный кандидоз и псевдомембранозный колит; среди всех форм доминируют поражения микрофлоры кишечника.

- Показания для бактериологической диагностики дисбактериоза кишечника: длительно протекающие инфекции и расстройства, при которых не удаётся выделить патогенные энтеробактерии; затяжной период реконвалесценции после перенесённой кишечной инфекции; дисфункции ЖКТ на фоне или после проведённой антибиотикотерапии или у лиц, постоянно контактирующих с антимикробными препаратами. Исследования также следует проводить при болезнях злокачественного роста, у страдающих диспептическими расстройствами, лиц, подготавливаемых к операциям на органах брюшной полости, недоношенных или травмированных новорождённых, а также при наличии бактериемий и гнойных процессов, трудно поддающихся лечению (язвенные колиты и энтероколиты, пиелиты, холециститы и др.).

- Посевы изучают на наличие патогенных микроорганизмов и на нарушение соотношения различных видов микробов. Результаты исследования следует считать объективными при анализе

роста изолированных колоний в том случае, если можно изучить морфологию и подсчитать количество колоний на чашку Пётри. После идентификации проводят пересчёт содержания микроорганизмов каждого вида на 1 г исследуемого материала. При обнаружении патогенной микрофлоры необходимо изучить её чувствительность к антибактериальным препаратам и бактериофагам. При определении чувствительности следует отдавать предпочтение антибиотикам узкого спектра для возможно более направленного подавления патогенов.

- К оценке результатов следует подходить осторожно, поскольку состав кишечной микрофлоры варьирует. Необходимо отличать *истинный дисбактериоз* от *дисбактериальных реакций* (сдвиги в составе микрофлоры незначительны, либо кратковременны и не требуют специфической коррекции). При истинном дисбактериозе нарушения микробного ценоза обычно коррелируют с клиническими проявлениями, и их нормализация достаточно длительна (2030 сут). При оценке результатов следует указать наличие или отсутствие патогенной микрофлоры и дать состав присутствующих микроорганизмов.

- Повторные исследования. Следует отразить положительную или отрицательную динамику изменения в составе микробных сообществ.

- Коррекция дисбактериозов. Для коррекции дисбактериозов следует применять эубиотики - взеси бактерий, способные восполнить численность недостающих или дефицитных видов. В отечественной практике широко применяют бактериальные препараты в виде высушенных живых культур различных бактерий, например, коли-, лакто- и бифидобактерины (содержащие соответственно *Escherichia coli*, виды *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*), бификол (содержащий виды *Bifidobacterium* и *Escherichia coli*), бактисубтил (культура *Bacillus subtilis*) и др.

факторы внешней среды и микроорганизмы

Микроорганизмы подвержены постоянной воздействию факторов внешней среды. Влияние этих факторов может быть благоприятным либо неблагоприятным. Неблагоприятные воздействия могут приводить к гибели микроорганизмов, то есть оказывать микробицидный эффект (например, фунгицилы или вирулицидный), либо подавлять размножение микробов, оказывая статическое действие (например, бактериостатическое). Неблагоприятное воздействие на микроорганизмы факторов внешней среды люди использовали с древнейших времён. Например, погреба часто окуривали серой; во время эпидемий для обеззараживания предметов их прокаливали или обрабатывали специальными составами (например, смесью уксуса и винного спирта). Открытие и изучение свойств патогенных микроорганизмов стало началом направленной разработки методов подавления жизнедеятельности микробов. Было установлено, что некоторые воздействия оказывают избирательный эффект на отдельные виды, другие - проявляют широкий спектр активности.

Физические факторы

На жизнедеятельность микроорганизмов влияют температурные воздействия, высушивание, различные виды излучения и осмотическое давление внешней среды.

Температура

Микробы приспосабливаются к изменениям температуры окружающей среды. Выделяют *оптимальную температуру* (благоприятную для роста и размножения), *минимально* и *максимально приемлемые* (за их пределами рост прекращается). По отношению к температурным условиям микроорганизмы разделяют на мезофильные, психрофильные и термофильные.

- Мезофильные виды [от греч. *mesos*, средний, промежуточный, + *philed*, любить] лучше растут в пределах 20-40 °С; к ним относится большинство патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

- Термофильные виды [от греч. *therm(e)*, тепло, + *philed*, любить] быстрее растут при температуре выше 40 °С, верхний предел 70 °С (примеры - *Thermoactinomyces vulgaris*, *Bacillus stearothermophilus*). К термотолерантным относят микробов, растущих при повышении температуры до 50 °С (например, *Methylococcus capsulatus*); к крайне термофильным - виды, для которых оптимальная температура роста превышает 65 °С (*Sulfolobus*). Отдельные виды бактерий способны расти при температуре выше 70 °С: *Sulfolobus acidocaldarius* растёт при 80 °С, а *Pyrodictium occultum* (строгий анаэроб, восстанавливающий серу) - при 105 °С.

- Психрофильные виды [от греч. *psychros*, холод, + *philed*, любить] растут в диапазоне температур 0-10 °С; к ним относится большинство сапрофитов, обитающих в почве, пресной и морской воде (например, морские светящиеся бактерии, некоторые железобактерии рода *Galionella*). Высокая температура вызывает коагуляцию структурных белков и ферментов микроорганизмов. Большинство вегетативных форм гибнет при 60 °С в течение 30 мин, а при 80-100 °С - через 1 мин. Для сохранения жизнеспособности относительно благоприятны низкие температуры (например, ниже 0 °С), безвредные для большинства микробов. Бактерии выживают при температуре ниже -100 °С; споры бактерий и вирусы годами сохраняются в жидком азоте. Простейшие и некоторые бактерии (спирохеты, риккетсии и хламидии) менее устойчивы к температурным воздействиям.

Стерилизация. Температурные воздействия применяют для стерилизации - полного удаления микроорганизмов из различных сред и обеззараживания предметов. Разработано много режимов стерилизации; следует помнить, что термическая обработка применима лишь в отношении термоустойчивых материалов (стекло, металлы). Наиболее простые и доступные методы - прокаливание и кипячение.

Пастеризация. Метод позволяет эффективно уничтожать микроорганизмы инкубацией материала при 71,7 °С в течение 15 с с последующим быстрым охлаждением (быстрая пастеризация). Медленная пастеризация подразумевает более длительную экспозицию (30 мин) при 60 °С. Строго говоря, пастеризация - не стерилизующий метод, так как к ней чувствительны не все микроорганизмы. Метод широко применяют при обработке пищевых продуктов для профилактики кишечных инфекций, желудочно-кишечных форм туберкулёза и Ку-лихорадки.

Стерилизация сухим жаром. Проводят в сухожаровых шкафах при 160 °С в течение 2 ч; метод позволяет уничтожать не только вегетирующие клетки (погибают в течение нескольких минут), но и споры микроорганизмов (необходима экспозиция в течение 2 ч). Такие воздействия разрушают структуру большинства органических соединений и ведут к значительному испарению жидкостей (например, воды из питательных сред).

Автоклавирование (стерилизация текучим паром) включает обработку горячим паром (121 °С) под высоким давлением (1,2-1,5 атм); наиболее эффективно для стерилизации термостабильных жидкостей. Термоустойчивые споры микроорганизмов погибают в течение 15 мин. Обработка больших объёмов (более 500 мл) требует более длительной экспозиции. В лабораториях применяют специальные паровые котлы-автоклавы с горизонтальной или вертикальной загрузкой. Текучий пар нельзя применять для стерилизации сред, содержащих углеводы, молоко и желатина.

Тиндализация - метод дробной стерилизации при низких температурах - ежедневное прогревание сред при 56-58 °С в течение 5-6 сут. В результате такого дробного прогрева погибают вегетативные клетки бактерий, проросших из термостойких спор. Основной недостаток - невозможность полной элиминации микроорганизмов, так как некоторые споры не успевают

прорасти во временных интервалах между сеансами прогревания, а некоторые вегетативные клетки успевают образовать термостабильные споры. Метод применяют для стерилизации сыворотки крови, асцитической жидкости и т.д.

Высушивание

При относительной влажности окружающей среды ниже 30% жизнедеятельность большинства бактерий прекращается. Время их отмирания при высушивании различна (например, холерный вибрион - за 2 сут, а микобактерии - за 90 дней). Поэтому *высушивание не используют как метод элиминации микробов с субстратов*. Неблагоприятное влияние высушивания на микроорганизмы применяют при консервировании сухих продуктов и изготовлении сухих концентратов пищевых продуктов. Широко распространено искусственное высушивание микроорганизмов, или лиофилизация. Метод включает быстрое замораживание с последующим высушиванием под низким давлением (сухая возгонка). Лиофильную сушку применяют для сохранения иммунобиологических препаратов (вакцин, сывороток), а также для консервирования и длительного сохранения культур микроорганизмов.

Излучение

Солнечный свет губительно действует на микроорганизмы, исключением являются фототрофные виды. При этом паразитические виды более чувствительны к облучению, чем сапрофиты. Спектр солнечной активности содержит неионизирующее (УФ- и инфракрасные лучи) и ионизирующее (например, у-лучи) излучение. Наибольший микробицидный эффект оказывает коротковолновое УФ-лучи. *Энергию излучения используют для дезинфекции, а также для стерилизации термолабильных материалов*.

УФ-лучи (в первую очередь коротковолновые, то есть с длиной волны 250-270 нм) действуют на нуклеиновые кислоты. Микробицидное действие основано на разрыве водородных связей и образовании в молекулах ДНК димеров тимина, приводящем к появлению нежизнеспособных мутантов. Применение УФ-излучения для стерилизации ограничено его низкой проникаемостью и высокой поглотительной активностью воды и стекла.

Рентгеновское и у-излучение в больших дозах также вызывает гибель микробов. Применяют для стерилизации бактериологических препаратов, изделий из пластмасс. Работа с источниками излучения требует строгого соблюдения правил безопасности. Облучение вызывает образование свободных радикалов, разрушающих нуклеиновые кислоты и белки с последующей гибелью микробных клеток.

Микроволновое излучение применяют для быстрой повторной стерилизации длительно хранящихся сред. Стерилизующий эффект достигается быстрым подъемом температуры.

Осмотическое давление

Высокая внеклеточная концентрация сахаров и солей приводит к выходу воды из бактерий и простейших. Это свойство концентрированных растворов сахаров и поваренной соли применяют для консервирования пищевых продуктов. Чувствительность микроорганизмов к такому воздействию переменна (например, возбудитель ботулизма погибает в 6% растворе NaCl, а грибы рода *Candida* - в 14%). Вещества, повышающие осмотическое давление, не обеспечивают достоверной гибели всех микроорганизмов; сделанные на их основе консервы нельзя считать безопасными.

Фильтрация

Эффективный метод физического удаления микроорганизмов - фильтрация. Естественное обеззараживание почвенных вод осуществляется фильтрацией через пористые

породы, задерживающие микробы. Для удаления микроорганизмов применяют различные природные (например, целлюлоза, каолин, инфузорная земля, асбест) и искусственные (мелкопористое стекло, фарфор) материалы; они обеспечивают эффективную элиминацию микроорганизмов из жидкостей и газов. Микробы адсорбируются на стенках пор фильтрующего материала. Фильтры имеют форму свечей (например, свечи Шамберлана), либо пластин, вкладываемых в фильтрующие устройства (аппарат Зейтца) или специальные насадки. Фильтрацию применяют для стерилизации жидкостей, чувствительных к температурным воздействиям, разделения микробов и их метаболитов (экзотоксинов, ферментов), а также для выделения вирусов.

Химические факторы

Способность ряда химических веществ подавлять жизнедеятельность микроорганизмов и предотвращать порчу органических субстратов известна с глубокой древности. В частности, египтяне широко применяли кислоты, щёлочи, природные ароматические вещества для мумификации умерших; персы-огнепоклонники для предохранения дерева и кожи от гниения использовали нефть и её продукты. Применение химических веществ - основа метода антисептики (предложил Джозеф Листер в 1867 г.). Эффективность зависит от концентрации химических веществ и времени контакта с микробом. Химические вещества могут подавлять рост и размножение микроорганизмов, проявляя статический эффект, либо вызывать их гибель [микробицидный эффект (от лат. *caedo*, убивать)]. Дезинфектанты и антисептики дают неспецифический микробицидный эффект; химиотерапевтические средства проявляют избирательное противомикробное действие.

Дезинфектанты и антисептики

Дезинфектанты - химические средства неспецифического действия, применяемые для обработки помещений, оборудования и различных предметов. Антисептики - вещества, используемые для обработки живых тканей. Дезинфицирующие средства оказывают в рабочих концентрациях бактерицидное действие, а антисептики (в зависимости от концентрации) - бактериостатическое или бактерицидное. Антисептики и дезинфектанты обычно легко растворимы в воде и действуют быстро; они дешёвы и при правильном применении не оказывают вредного воздействия на организм человека. Дезинфекция позволяет уменьшить число патогенных микроорганизмов на объектах внешней среды. Дезинфекцию проводят с определённой периодичностью (профилактическая дезинфекция), либо при возникновении инфекционного заболевания или подозрении на него (очаговая дезинфекция).

Спирты, или алкоголи (этанол, изопропанол и др.). Как антисептики, наиболее эффективны в виде 60-70% водных растворов. Спирты осаждают белки и вымывают из клеточной стенки липиды. При правильном применении эффективны в отношении вегетативных форм большинства бактерий; споры бактерий и грибов, а также вирусы к ним резистентны.

Галогены и галогенсодержащие препараты (препараты йода и хлора) широко применяют как дезинфектанты и антисептики. Препараты взаимодействуют с гидроксильными группами белков, нарушая их структуру.

- Как антисептики применяют йодсодержащие препараты - спиртовой раствор йода (5% в этаноле); йодинол (1% водный раствор содержит 0,1% йода, 0,3% калия йодида и 0,9% поливинилового спирта, замедляющего выделение йода); йодонат (водный раствор комплекса поверхностно-активного вещества с йодом); повидон-йод (комплекс йода с поливинилпирролидоном) и раствор Люголя применяют для обработки слизистых оболочек.

- Как дезинфектанты применяют хлорсодержащие препараты - газообразный хлор (взаимодействуя с водой, образует хлорноватистую кислоту; в присутствии органических веществ

противомикробное действие уменьшается); хлорную известь (5,25% NaClO, также образующую при растворении хлорноватистую кислоту); хлорамин Б (содержит 25-29% активного хлора; для обеззараживания питьевой воды применяют в виде таблеток, содержащих 3 мг активного хлора); хлоргексидина биглюконат (гибитан).

Альдегиды алкилируют сульфгидрильные, карбоксильные и аминокгруппы белков и других органических соединений, вызывая гибель микроорганизмов. Альдегиды широко применяют как консерванты. Наиболее известные - формальдегид (8%) и глутаральдегид (2-2,5%) - проявляют раздражающее действие (особенно пары), ограничивающее их широкое применение.

- Раствор формальдегида обладает дезинфицирующим и дезодорирующим эффектами. Применяют для мытья рук, дезинфекции инструментов, обработки кожи ног при повышенной потливости. Входит в состав препаратов (формидрон, мазь формалиновая). Мыльный раствор формальдегида (лизформ) применяют для спринцеваний в гинекологической практике, для дезинфекции рук и помещений.

- Уротропин (гексаметиленetetрамин) в кислой среде организма расщепляется с выделением формальдегида; последний, выделяясь с мочой, оказывает антисептическое действие. Применяют при инфекционных процессах мочевыводящих и желчевыводящих путей, кожных заболеваниях. Входит в состав комбинированных препаратов (кальцекс, уробесал).

- Циминаль, цимизоль и цидипол - антисептики, действующие за счёт образования формальдегида путём их гидролиза; применяют для индивидуальной профилактики венерических заболеваний у мужчин после случайных половых связей.

Кислоты и щёлочи применяют как антисептики. Среди кислот наиболее известны борная, бензойная, уксусная и салициловая. Применяют для лечения поражений, вызванных патогенными грибами и бактериями. Наиболее распространена салициловая кислота, применяемая в спиртовых растворах (1-2%), присыпках, мазях, пастах (например, для лечения дерматоми-козов в областях, подверженных трению); оказывает также в зависимости от концентрации отвлекающее, раздражающее и кератолитическое действие. Из щелочей наиболее распространён раствор аммиака (нашатырный спирт содержит 9,5-10,5% аммиака), применяемый для обработки рук хирурга (0,5% раствор).

Металлы. Антимикробный эффект основан на способности осаждать белки и другие органические соединения. В качестве антисептиков широко применяют нитрат серебра (ляпис), сульфат меди (медный купорос) и хромат ртути (мербромин). Соединения металлов (особенно свинца, мышьяка и ртути) не рекомендуют применять для дезинфекции и антисептики, поскольку они способны накапливаться в организме человека. Исключение - сулема (ртути дихлорид), иногда применяемая для дезинфекции белья, одежды, предметов ухода за больными.

Фенолы и их замещённые производные широко применяют как дезинфектанты, в меньших концентрациях - в качестве антисептиков. Препараты денатурируют белки и нарушают структуру клеточной стенки. От применения собственно фенола отказались давно вследствие его токсичности, но его производные (например, гексахлорофен, резорцин, хлорофен, тимол, салол) применяют часто.

Катионные детергенты оказывают бактерицидное действие, связанное с изменением проницаемости ЦПМ. Их эффект уменьшают анионные поверхностно-активные вещества (по этой причине катионные детергенты несовместимы с мылами), низкие значения pH (то есть повышенная кислотность), некоторые органические соединения, ионы металлов. Катионные детергенты адсорбируются пористыми и волокнистыми материалами. При нанесении на кожу образуют плёнку, под которой могут оставаться живые микроорганизмы. Наиболее часто применяют для обработки рук хирурга (препараты циргель, дегмицид, роккал).

Газы как дезинфектанты известны с глубокой древности. Двуокись серы ещё в античности широко применяли для обработки складов и предохранения пищевых продуктов. Не менее широкое распространение получила дератизация двуокисью серы. Для уничтожения спор микроорганизмов при стерилизации предметов из пластмасс применяют окиси этилена и пропилена под давлением при 30-60 °С. Метод позволяет эффективно уничтожать большинство микроорганизмов, в том числе в тканях и жидкостях (кровь, гнойное отделяемое). Механизм действия связан со способностью окиси этилена алкилировать белки. В частности, повреждению подвергаются сульфгидрильные группы вегетативных форм и карбоксильные группы оболочек спор.

Красители. В качестве антисептиков давно применяют различные красители (например, бриллиантовый зелёный, метиленовый синий, риванол, основной фуксин).

Окислители. Механизм антимикробной активности связан с окислением метаболитов и ферментов микроорганизмов, либо денатурацией микробных белков. Наиболее распространённые окислители, применяемые как антисептики, - перекись водорода и перманганат калия (в просторечии, марганцовка).

Химиотерапевтические средства

Вещества с избирательным действием применяют в качестве химиотерапевтических средств.

Они должны эффективно подавлять размножение или уничтожать возбудителей (см. главу 9), при этом не оказывая токсического действия на организм.

ГЛАВА 7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Биотехнология [от греч. *bios*, жизнь, + *techne*, мастерство] - наука,

изучающая производственные процессы, основанные на использовании

с различными целями микроорганизмов, биокатализаторов и различных биологических систем (культур растительных и животных тканей, протопластов и т.д.). Её отличие от традиционной микробиологической и бродильной промышленности заключается в том, что *биотехнология возникла на основе достижений генной инженерии и инженерной энзимологии* (науки о применении ферментов в микробиологической промышленности). Современная биотехнология базируется на применении последних достижений в области создания рекомбинантных ДНК и генетически модифицированных организмов.

Этапы развития биотехнологии

Истоки биотехнологии относят ко времени развития хлебопечения, виноделия, сыроварения, получения спирта брожением, силосования кормов и т.д. Лишь с 70-х годов XX столетия, со времени зарождения генной инженерии, началось бурное развитие биотехнологии. Выделяют следующие наиболее важные периоды в становлении биотехнологии.

- Развитие эмпирической технологии - неосознанное применение микробиологических процессов (хлебопечение, виноделие) примерно с VI тыс. до н.э.

- Зарождение фундаментальных биологических наук в XV-XVIII вв.

- Первые внедрения научных данных в микробиологическое производство в конце XIX-начале XX вв. - период революционных преобразований в микробиологической промышленности.

- Создание научно-технических предпосылок возникновения современной биотехнологии в первой половине XX в. (открытие структуры белков, применение вирусов в изучении генетики клеточных организмов).

- Возникновение собственно биотехнологии как новой научно-технической отрасли (середина XX в.), связанное с массовым рентабельным производством препаратов; организация крупнотоннажных производств по получению белка на углеводородах (с начала 60-х годов).

- Появление новейшей биотехнологии, связанное с применением в практике генной и клеточной инженерии, инженерной энзимологии, иммунной биотехнологии.

Области применения биотехнологии

Новые методы получения промышленно важных продуктов - прежде всего методы биотехнологии, и в особенности, промышленной микробиологии. *Промышленная микробиология осно-*

вывается на применении микроорганизмов в промышленности для получения коммерчески ценных продуктов и лекарств. Важнейшие продукты микробного синтеза - специальные вещества, используемые для фармацевтических и пищевых целей (антибиотики, ферменты, ингибиторы ферментов, витамины, ароматизаторы, добавки для пищевой промышленности и др.). Гибкость метаболизма и высокая способность микробов к адаптации, простота культивирования, изученность генетики, разработанные методы направленного создания штаммов с заданными свойствами - преимущества, делающие микробную биотехнологию одним из перспективных направлений промышленности. Целесообразность промышленного производства определяется такими факторами, как высокий выход продукта (образование больших количеств из исходного материала), низкая стоимость производства и доступность сырья.

Области применения биотехнологии представлены в табл. 7-1. В настоящее время разработаны способы получения более 1000 наименований продуктов биотехнологическими способами. В США совокупная стоимость этих продуктов в 2000 г. оценивается в десятки миллиардов долларов. Все отрасли, в которых может быть использована биотехнология, перечислить практически невозможно.

Оптимизация микробиологических процессов в биотехнологии. Принципиальные подходы к оптимизации микробных биотехнологических процессов: управляемое культивирование (изменение состава питательной среды, целевые добавки, регуляция скорости перемешивания, аэрации, модификация температурного режима и пр.); генетические манипуляции, которые подразделяют на традиционные методы (селекция штаммов) и методы генной инженерии (технология рекомбинантных ДНК).

В настоящее время микробиологическим путём получают микробную биомассу, первичные и вторичные продукты метаболизма. Первичные продукты (продукты первой фазы) - метаболиты, синтез которых необходим для выживания данного микроорганизма. Синтез вторичных продуктов (продукты второй фазы) не относится к жизненно необходимым для микроорганизма-продуцента. Оптимальные условия для получения биомассы определяются высокими скоростями потока среды через культуры микроорганизмов и стабильными химическими условиями культивирования (в том числе pH, количество кислорода и углерода). Процесс получения продуктов первой фазы (в частности, ферментов) оптимизируют в целях увеличения удельной активности фермента (единиц/гхч⁻¹) и объёмной продуктивности (единиц/литрхч⁻¹).

Для получения продуктов второй фазы (например, антибиотиков) главная задача - максимальное увеличение их концентрации, что ведёт к снижению затрат на их выделение.

Промышленное применение микроорганизмов

Производство продуктов первой фазы. К наиболее известным промышленным продуктам микробного синтеза относятся: ацетон, спирты (этанол, бутанол, изопропанол, глицерин), органические кислоты (лимонная, уксусная, молочная, глюконовая, итаконовая, пропионовая), ароматизаторы и вещества, усиливающие запахи (глутамат натрия). Спрос на последние постоянно увеличивается из-за тенденции к употреблению малокалорийной и растительной пищи, для придания вкусу и запаху пищи разнообразия. Ароматические вещества растительного происхождения можно проводить путём экспрессии генов растений в клетках микроорганизмов. Методом геной инженерии в клетки *E. coli* введён ген, кодирующий синтез а-антитрипсина человека, ингибирующего активность эластазы. Его образование бактериями достигает 15% синтеза всех клеточных белков. Таким образом получают препарат эглин, применяемый для компенсации врождённого отсутствия а-антитрипсина, приводящего к тяжёлой форме эмфиземы лёгких. Иммуномодулятор бестатин, ингибитор поверхностных пептидаз лимфоцитов, продуцирует *Streptococcus olivoretuculi*. Микроорганизмы - продуценты ингибиторов других важных в медицине ферментов. Например, ингибитор амилазы, синтезируемый *Streptococcus tendae*, блокирует гидролиз крахмала и снижает содержание сахара в крови; назначается больным диабетом. Каптоприл из культуральной жидкости стрептококков препятствует образованию ангиотензина II и снижает артериальное давление (АД) у гипертоников.

Производство продуктов второй фазы. С использованием микроорганизмов получают витамины В₁, В₂ (продуценты - бактерии, грибы родов *Candida*, *Pichia*, *Ashbya*); фолиевую, пантотеновую кислоты, пиридоксаль, витамина В (продуценты - *Propionibacterium shermanii*, *Pseudomonas denitrificans* или метаногенные бактерии). Витамин С производят путём химического синтеза, однако этап высокоселективного дегидрирования D-сорбита в L-сорбозу осуществляют с помощью уксуснокислых бактерий.

Производство антибиотиков. Крупномасштабное производство антибиотиков способно давать десятки тысяч тонн продукта в год. Усовершенствование производства антибиотиков связано с селекцией культур, резистентных к бактериофагам, а также с применением мутантных штаммов, у которых отсутствуют системы обратного подавления синтеза антибиотиков. Крупная веха в истории антибиотиков - возможность химической модификации природных (образуемых микроорганизмами) антибиотиков. В настоящее время производят большое количество полусинтетических антибиотиков - направленное изменение структуры антибиотика позволяет расширить спектр действия и, отчасти, снять проблему устойчивости к антибиотикам.

Производство вакцин. Традиционные методы производства вакцин основаны на применении ослабленных или убитых возбудителей. В настоящее время многие новые вакцины (например, для профилактики гриппа, гепатита В) получают методами геной инженерии. Противовирусные вакцины получают, внося в микробную клетку гены вирусных белков, проявляющих наибольшую иммуногенность. При культивировании такие клетки синтезируют большое количество вирусных белков, включаемых впоследствии в состав вакцинных препаратов. Более эффективно производство вирусных белков в культурах клеток животных на основе технологии рекомбинантных ДНК. С использованием микроорганизмов получают также лимфокины (ИЛ-2, факторы роста, миелопептиды). Перспективы развития этих производств связаны с применением животных в качестве акцепторов рекомбинантной ДНК.

Важное направление биотехнологии - культивирование растительных клеток, образующих БАВ. Подобный подход отменяет необходимость в закладке больших плантаций лекарственных растений и связанные с этим проблемы (уход за посевами, профилактика болезней лекарственных растений), позволяя получить нужные препараты более дешёвыми методами. Таким образом получают БАВ женьшеня, строфанта и других растений.

Генная инженерия и биобезопасность

Производство продуктов микробного синтеза - безусловно одно из самых развитых направлений современной промышленности. Однако многие достижения современной биотехнологии связаны не только с использованием метаболитов микробов. Многие проблемы медицины, пищевой промышленности, сельского хозяйства решаются с применением организмов с модифицированным геномом. С 1982 г. ряд фирм Европы, США и Японии производят инсулин человека, выделяемый из культуральной жидкости кишечной палочки. Из 1000 л бактериальной культуры получают около 200 г человеческого инсулина. Такое количество ранее получали из 1600 кг тканей поджелудочной железы животных. Новый продукт позволяет избежать развития аллергических реакций на животный инсулин. Необходимый для сыроваренной промышленности телячий тимозин продуцируется дрожжами. Лимфокины, иммуноглобулины (Ig) и многие другие медицинские препараты получают с помощью трансгенных микроорганизмов, в которые введены соответствующие гены человека. Наметилась тенденция применения в качестве организмов-реципиентов генов не только бактерий, но и высших животных. Например, в 1994 г. гены белков женского молока были введены трансгенному быку, его потомство даёт молоко улучшенного качества, используемое для детского питания. По оценкам экспертов, в 2000 г. стоимость продукции, выпускаемой в США на основе генно-инженерных методов, достигнет 50 млрд долларов.

Теоретическая база генной инженерии. Интенсивное развитие молекулярной биологии началось после открытия (Дж. Уотсон, Ф. Крик, М. Уилкинс, 1953) структуры наследственного материала живой клетки (ДНК) и последующей расшифровки принципов генетического кодирования. Последовательность пар оснований кодирует порядок расположения аминокислот в пептидной молекуле. *Основу молекулярной биологии составляет принцип комплементарности: ДНК- саморепродуцирующаяся молекула; кроме самой себя, она способна воспроизводить копии химически родственного полимера - рибонуклеиновые кислоты, которые, в свою очередь, служат матрицами для производства клеточных белков.* Белок или комплекс белков определяют конкретный признак живого организма. *Этот путь - центральная догма молекулярной биологии: ДНК о ДНК о РНК -белок - признак.* Первая двунаправленная стрелка символизирует процесс репликации (удвоения ДНК), вторая - процесс транскрипции, который, в случае РНК-содержащих вирусов, может также идти в обратном направлении от РНК к ДНК. Организация генетического материала. Гены [от греч. *genos*, рождение] - единица наследственности, участок ДНК, занимающий специфическое место в хромосоме. С точки зрения генетики, ген - наследуемый фактор и неделимая единица генетического материала. Структурный ген (цистрон) - фрагмент ДНК, участвующий в образовании полипептидной цепи. В его состав входят лидерная последовательность, кодирующие фрагменты (экзоны), вставочные последовательности (интроны) и концевая последовательность. Поскольку некоторые белки состоят более чем из одной субъединицы, формулировку «один ген - один фермент» применительно к гетеромультимерному (то есть состоящему из двух и более различных полипептидных субъединиц) белку следует трактовать как «один ген - одна полипептидная цепь».

Генотип - совокупность генов организма. Ещё в древности люди эмпирически использовали закономерности наследования. На основании этого опыта получила развитие селекция [от лат. *selectio*, выбирать] - наука о методах создания новых сортов растений и пород животных путём отбора и скрещивания. До недавнего времени генотип казался неприступным, не поддающимся действиям человека. Открытие структуры генов позволило выделять их в изолированном виде, синтезировать биохимически и даже вводить в организм. Стало возможным воздействие на ген без его выделения из организма. Всё это создало предпосылки для манипулирования генотипом. В 80-е годы XX в. появилось новое понятие - генная инженерия - раздел молекулярной генетики, связанный с конструированием не существующих в природе сочетаний генов при помощи генетических и биохимических методов. Впервые введение чужеродного гена и изменение признаков организма осуществили английские микробиологи О. Эвери, К. Маклэод и М. -МакКарти (1944). Из клеток пневмококка (серовар III) они выделили

трансформирующий фактор (как выяснилось впоследствии, последовательность ДНК). После обработки этим фактором часть непатогенных бактерий серовара ПР превратилась в патогенные, причем именно серовара Ш. Это была первая демонстрация факта, что некие факторы могут передаваться от клетки к клетке, изменяя ее наследственные свойства. В 1972 г. Пол Берг с сотрудниками сообщили о получении *in vitro* рекомбинантной ДНК, состоящей из фрагментов разных молекул ДНК - вирусной (в том числе фаговой) и бактериальной. Иными словами, речь шла о получении энзимологическими методами (при помощи ферментов рестриктаз) синтетической генной конструкции. Позднее были предложены новые методы выявления ДНК: блот-гибридизация, увековечившая имя его создателя Э. Саузерна в английском названии метода *southern blotting* (1975); методы секвенирования ДНК (анализ первичной последовательности нуклеотидов в цепочке ДНК), основанные П. Сэнджером. В настоящее время для получения доступного для анализа и дальнейших манипуляций количества фрагмента ДНК применяют метод ПЦР, разработанный Нобелевским лауреатом (1994) американцем Кеєм Мюллисом. Процедура получения и использования синтетической генной конструкции, состоит из нескольких этапов.

- Внедрение интересующего исследователей гена (выделенного, модифицированного либо синтезированного) в векторную молекулу ДНК *in vitro* с помощью рекомбинации. В роли вектора может выступать плазмидная ДНК, либо нуклеиновая кислота вируса или фага. Например, ген ИФН человека вводят в геном бактериофага X.

- Введение рекомбинантной (гибридной) векторной ДНК в клетку. В рассматриваемом примере этот этап заключается в заражении клеток кишечной палочки гибридными фагами.

- Отбор клеток, экспрессирующих введенный ген (молекулярное клонирование).

- Культивирование отобранных клонов.

Введение чужеродного гена в организм приводит к изменению свойств и признаков последнего, то есть к созданию генно-инженерно модифицированного организма. Модифицированный генно-инженерно организм - клетка, группа клеток или вирус, содержащие генетический материал, полученный с применением методов генной инженерии. Известны три способа воздействия на генотип организма.

Трансформация бактериальных клеток в результате включения экзогенной ДНК приводит к появлению нового генетического маркера. Для эукариот аналогичный процесс - транс-фекция эукариотических клеток (в связи с тем, что термин «трансформация» обозначает переход в состояние неконтролируемого роста и применяется по отношению к опухолевому перерождению клеток).

Избирательная инактивация гена («адресное» разрушение гена, «антисмысловая» блокировка гена или производимой им РНК), позволяющая вывести из строя любой ген внутри клетки. Этот процесс известен также как «нокаутирование» [от англ. *to knock out*, сбивать с ног], а модифицированные организмы - как нокаутные.

Направленное изменение гена (адресный мутагенез *in vivo*, генная инженерия *in vitro - ex vivo*) по желанию исследователя.

Применение методов генной инженерии особо оправдано в следующих случаях.

- Невозможность культивировать микроорганизм-продуцент. В частности, возбудители сифилиса, проказы, малярии не растут на искусственных средах. Поэтому для получения вакцинных или диагностических препаратов гены, кодирующие синтез необходимых Ag, выделяют и встраивают в геном легко культивируемых микроорганизмов (например, кишечной палочки).

- Высокая опасность заражения при работе с патогенными микроорганизмами. В таких случаях идентифицируют основные Аг возбудителя и встраивают кодирующие их гены в геномы безопасных микроорганизмов. В частности, выращиванием рекомбинантных штаммов кишечной палочки и дрожжей получены основные Аг ВИЧ (например, р24, gp41, gp120).

- Высокая стоимость продуктов, получаемых традиционными методами. В частности, методом генной инженерии получают многие цитокины (оо-ИФН, ИЛ, миелопептиды) и гормоны (инсулин, соматотропный гормон).

Особое значение имеет создание методами генной инженерии диагностических, лечебных и профилактических препаратов, ранее получаемых дорогостоящими методами. Чаще всего это продукты, выделяемые из крови иммунизированных доноров, - животных и людей. Технология получения гибридом основана на выделении от доноров клеток-продуцентов и их слияния с миеломными (опухолевыми) клетками. В результате образуется гибридная клетка - гибридома, способная быстро и бесконечно размножаться на искусственных питательных средах и синтезировать необходимые продукты. Подобным способом часто получают АТ. Предшественники гибридом - плазматические клетки, синтезирующие Ig определённого типа. Поэтому получаемые продукты получили название моноклональных АТ (рис. 7-1). Наиболее часто применяют линии миеломных клеток мышей и крыс.

Частота слияний в смешанной культуре клеток (миеломных и донорских клеток-продуцентов) невелика - одна гибридома на 10^4 клеток.

Образовавшиеся гибридомы немедленно реклонировуют, так как многие гибридные клетки склонны «выбрасывать» лишние хромосомы, пока их число не будет равным диплоидному набору (при этом гены, ответственные за антителообразование, могут быть утрачены).

Гибридомы создают не только на основе В-клеток, но и Т-лимфоцитов и многих других, секретирующих лимфокины, факторы роста и т.д.

Продукты, полученные технологией гибридом, применяют для лечения и профилактики различных болезней, а также для изучения строения и функций различных молекул (например, клеточных рецепторов). В частности, при помощи гибридом получают моноклональные АТ, применяемые в иммуногистохимической диагностике опухолей.

Генная инженерия и биобезопасность. Воздействия на генотип могут приводить к непредсказуемым последствиям для человека, растений, животных и окружающей среды. В случае намеренного использования вышедших из-под контроля или специально изготовленных генетических агентов, поражающих живое, эти агенты рассматриваются как *биологическое оружие*. Биологическая безопасность - одна из приоритетных задач человечества. В 1975 г. на Международной конференции по биобезопасности (Асилмар, Калифорния) были приняты основные положения по экспериментам с рекомбинантной ДНК. В 1985 г. образована *Информационная рабочая группа по биобезопасности*, в которую вошли страны-участницы Организации индустриального развития при ООН (UNIDO), Программа охраны окружающей среды ООН (UNEP) и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). В 1991 г. к ним присоединилась Организация по пищевым ресурсам и сельскому хозяйству ООН (FAO). Попытки урегулирования законодательства в области биотехнологии пока не привели к успеху; это связано с различиями в общественном восприятии биотехнологии, промышленной политике и законодательных возможностях. С одной стороны, на уровне правительств происходит легализация биотехнологических продуктов. С другой стороны, различия в законодательствах создают барьеры для продвижения продукции на глобальный рынок. В развитых странах регулирование качества продукта осуществляется задолго до его выпуска, в развивающихся странах - *post factum*. Потерпев поражение в борьбе за запрещение трансгенных продуктов, некоторые организации требуют введения специальной маркировки на такие товары. Одно из

положительных достижений в области биобезопасности в России - принятие федерального закона «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности». Россия также подписала соглашение о маркировке генно-инженерных продуктов и препаратов.

Оценка риска, связанного с применением генетически модифицированных микроорганизмов. Все микроорганизмы с точки зрения патогенности для человека разделены на четыре группы опасности.

Группа опасности 1: наиболее вероятно не вызывающие заболеваний человека.

Группа опасности 2: могут вызывать заболевания у тех, кто с ними работает. Однако в целом микробы малоконтагиозны (например, *E. coli*, *Mycoplasma pneumoniae*, вирус папилломы человека).

Группа опасности 3: могут вызывать болезни человека и представляют серьёзную опасность для работающих с ними. Есть риск распространения в обществе, но известны меры профилактики (*Bacillus anthracis*, *Mycobacterium leprae*, ВИЧ).

Группа опасности 4: могут вызывать заболевания, опасны для работающих с ними, имеют высокий риск распространения в обществе, нет действенных мер профилактики (пример - вирусы геморрагических лихорадок).

Группы 2-4 объединяют патогенные микроорганизмы. Номер группы опасности определяет объём предохранительных мероприятий, необходимых при проведении работ. Для любого уровня обязательны правила GLP (*Good Laboratory Practice*). Чтобы определить уровень поддержания генетически модифицированных микроорганизмов, существуют *Правила Международного Наблюдательного Комитета по Генетической Модификации* (1993). По специальным таблицам оценивается тип вектора (самомобилизующийся [самостоятельно встраивающийся в хромосому], мобилизующийся плохо или немобилизующийся [оба нуждаются в присутствии встраивающего вектора]). Также учитывают тип хозяина (дикий, ослабленный, ауксотроф), тип включения трансгенной конструкции под промотор (с максимальной экспрессией, сильный, слабый, сайт-специфичный, дефектный) и опасность продуктов (токсическое вещество, БАВ с повреждающим эффектом, с маловероятным повреждающим эффектом, вероятно без эффекта, некодирующая последовательность ДНК). Перемножением величин факторов из таблиц получаем цифровые значения, определяющие уровень поддержания для генетически модифицированных микроорганизмов, соответствующий классу опасности.

Риск для окружающей среды определяется из таблиц как высокий, средний, низкий или нулевой посредством перемножения вероятности опасности (высокая, средняя, низкая, нулевая) на последствия опасности (значительные, средние, низкие, нулевые). В рассмотренном примере риск близок к нулю.

Генная диагностика и генная терапия

Генная диагностика имеет большое будущее в экспресс-диагностике инфекционных болезней. На ранних этапах инфекции, когда АТ в организме ещё не выработаны, диагностика основана на

идентификации Аг, в том числе специфических генов возбудителя. Для этого выявления наиболее часто применяют методы гибридизации и амплификации ДНК (см. также главу 11).

Генная терапия - метод лечения заболеваний, основанный на переносе в клетки организма определённых генов. Основная проблема генной терапии - разработка эффективного и безопасного способа переноса необходимых генов в дефектные клетки организма. В качестве «средств доставки» генов используют различные векторы, наиболее часто - различные вирусы (см. ниже). В

настоящее время разработки генной терапии касаются только соматических клеток. 14 сентября 1990 г. была проведена первая успешная попытка коррекции генных дефектов при наследуемом Т-клеточном иммунодефиците, связанном с недостаточностью фермента аде-нозин дезаминазы. Двум больным девочкам провели пересадку собственных Т-лимфоцитов, в которые был внесён трансген - нормальный ген недостающего фермента. В результате нескольких проведённых инфузий у обеих пациенток наступило полное выздоровление. В настоящее время несколько тысяч больных несут в своём организме клетки, генетически изменённые искусственным путём. В 1992 г. в США осуществили введение в клетки печени человека гена белка-рецептора, адсорбирующего липопротеины низкой плотности в гепатоциты женщины, страдающей выраженным атеросклерозом (патология была связана с дефицитом липопротеинов вследствие генных нарушений). Посредством трансфекции ген был введён в гомогенизированные клетки печени, которые затем переносили в печень пациентки. После такой процедуры состояние женщины улучшилось, хотя до пересадки «генно-инженерной печени» она перенесла инфаркт (в 16 лет) и операцию на сердце (в 26 лет).

Виды генной терапии

В настоящее время разработаны три основных вида генной терапии, различаемых по способу доставки вектора в поражённые клетки.

Генная терапия *ex vivo*. Поражённые клетки выделяют из организма пациента, инкубируют с вектором, после чего генно-инженерные (генетически изменённые) клетки вносят в организм. Наиболее часто метод применяют в отношении клеток крови. Это связано с простотой их выделения и последующего обратного введения.

Генная терапия *in situ*. В этом случае вектор вводят непосредственно в поражённые ткани. Например, пациентам с муковисцидозом аденовирусные векторы доставляют непосредственно в трахею и бронхи; в некоторые опухоли непосредственно инъецируют вектор, несущий цитокин или токсин; в мышцу больного, страдающего мышечной дистрофией, производят инъекцию вектора, несущего ген дистрофина.

Генная терапия *in vivo* - вектор вводят в кровоток. До настоящего времени на практике этот метод не применяли, однако метод прост и удобен, поэтому его считают наиболее перспективным.

Векторы

Как было указано выше, для переноса соответствующих генов в клетку используют различные векторы [от лат. *vector*, переносчик]. Основная проблема при их разработке - преодоление иммунологического барьера реципиента, ограждающего организм от различных внешних воздействий, в том числе и от внедрения чужеродной ДНК в геном клеток. В этом плане особый интерес представляют вирусы, так как из всех известных агентов лишь они способны более или менее успешно интегрировать генетический материал в геном клеток человека. Поэтому все усилия специалистов генной терапии на настоящий момент сконцентрированы в области генной инженерии вирусов, применяемых в качестве векторов, доставляющих терапевтические гены в клетки организма больного.

Векторы на основе РНК-овых вирусов. РНК-геномные вирусы легко интегрируют в геном клетки-хозяина, тем самым обеспечивая долговременную экспрессию необходимого гена. Для создания генно-терапевтических векторов наиболее перспективны ретровирусы. С их участием проведено около 60% всех клинических попыток генной терапии.

Ретровирусы относительно безвредны для человека, исключая, конечно, ВИЧ и Т-лимфотропные вирусы человека. Наиболее часто в качестве вектора применяют вирус лейкемии мышей. При разработке векторов из их состава полностью исключают гены, кодирующие синтез

продуктов, обеспечивающих репродукцию. Кодированная ёмкость трансгенов в составе ретровирусных векторов не превышает 8000 пар оснований нуклеиновых кислот.

Основные проблемы применения РНК-вирусных векторов - эффективная доставка генетического материала в клетки, поддержка долговременной экспрессии и трансдукция неделяющих-ся клеток (большинство РНК-векторов неспособно к эффективному переносу трансгенов в покоящиеся клетки). Однако неспособность ретровирусов к трансдукции покоящихся клеток в конкретной ситуации может оказаться и выгодной, например, в генной терапии глиобластом (злокачественные опухоли мозга). Идея их применения заключается в избирательной трансдукции неделяющих клеток в очаге поражения - опухолевых клеток и клеток сосудов; нервные клетки не делятся и потому не служат мишенью ретровирусных векторов.

Векторы на основе ДНК-геномных вирусов. Векторы, созданные на основе ДНК-вирусов обладают большими размерами по сравнению с РНК-геномными вирусами и поэтому, могут вмещать фрагменты ДНК (трансгены) длиной до 35 000 пар оснований.

- Аденовирусные векторы. На основе аденовирусов создают векторы для генной терапии *in situ* муковисцидоза и злокачественных опухолей. Аденовирусные векторы способны к высокоэффективной трансдукции большого спектра клеточных типов человека, включая неделяющиеся клетки. Особое внимание заслуживают векторы на основе аденоассоциированного вируса. Аденоассоциированный вирус - непатогенный вирус, широко распространённый у человека (АТ к его Аг обнаруживают у 80% людей). Вирус тропен к определённой части генома - он интегрируется преимущественно с коротким плечом хромосомы 19. В экспериментах показана эффективность векторов, созданных на основе аденоассоциированного вируса, в трансдукции клеток мозга, скелетных мышц и печени.

- Другие ДНК-геномные вирусы. Среди остальных ДНК-содержащих вирусов относительно часто применяют вирус простого герпеса (ВПГ), проявляющий тропность к нервной ткани (соответственно используют для трансдукции клеток мозга).

Невирусные векторы (молекулы ДНК со свойствами транспозонов или вставочных последовательностей) менее распространены, чем векторы на основе вирусов. Тем не менее, невирусные векторы обладают многими преимуществами, такими как безопасность и простота конструирования. Путём конструирования синтетической системы по доставке генов внутрь клетки можно избежать опасности продуцирования рекомбинантного вируса или других токсических эффектов.

Перспективы генной терапии

Несмотря на низкий риск развития побочных реакций, связанных с генной терапией, эффективность переноса генов и их последующей экспрессии в клетках остаётся невысокой. Последнее связано со сложностями чёткой идентификации генов, кодирующих синтез тех или иных белков; трудностями их выделения и подбора соответствующих векторов. Поэтому проводимые в настоящее время клинические эксперименты можно определить как *начальные стадии испытаний генной терапии*, вовлекающие очень ограниченное число пациентов. Исходя из этого, методы коррекции генетических «сбоев» необходимо разрабатывать применительно к тяжёлым заболеваниям (злокачественные опухоли, наследуемые болезни, синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД), аутоиммунные расстройства, ишемическая болезнь сердца). Тем не менее, накопление информации о генной терапии и ложные представления о невысоком риске развития побочных реакций создают опасные предпосылки для внедрения методов генной терапии в лечение патологических состояний, непосредственно не угрожающих жизни больного, коррекции косметических дефектов и улучшения общего состояния организма. Например, методы генной терапии применимы к лечению облысения, а трансдукция гена гормона роста может привести к росту организма, гена дистрофина - к наращиванию мышечной массы. К

таким фривольным попыткам применения генной терапии следует подходить крайне осторожно - большинство учёных и врачей сходятся во мнении, что посягательства на геном человека на настоящий момент допустимы лишь в крайних случаях, каковыми являются угрожающие жизни состояния. Медицинское сообщество не может быть абсолютно уверено в отсутствии у генной терапии отдалённых негативных эффектов. По этим же причинам не следует применять генную терапию в отношении половых клеток.

ГЛАВА 8. УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ

В этой главе рассмотрены вопросы, характеризующие патогенность и вирулентность микроорганизмов, факторы их патогенности и вирулентности, особенности течения инфекционного процесса и эпидемиологии инфекционных болезней.

ПАТОГЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Человек контактирует с множеством микроорганизмов, но лишь немногие из них способны вызывать инфекционные болезни. *Пато-генность или отсутствие таковой - видовой, генетически детерминированный признак микроорганизма.* Патогенный потенциал многих возбудителей зависит как от свойств, присущих конкретному микроорганизму, так и от состояния факторов защиты организма-хозяина. В зависимости от характера данных взаимоотношений все микробы подразделяют на патогенные, условно-патогенные и непатогенные.

Патогенные микроорганизмы

Патогенные микроорганизмы вызывают инфекционные заболевания у здоровых лиц. Такие возбудители произошли от свободножи-вущих видов, адаптировавшихся к существованию во внутренней среде организма. *Патогенные микробы активно проникают в чув-ствительные организмы, так как паразитирование - важная часть их жизненного цикла.* Адаптация к паразитированию в тканях проявляется специфическими поражениями, выделенными в отдельные нозологические формы.

Условно-патогенные микроорганизмы

Условно-патогенные микроорганизмы, как правило, лишены болезнетворных свойств и не вызывают инфекционных заболеваний у здорового человека. Они нередко колонизируют кожу и слизистые оболочки, но способны и к длительному существованию во внешней среде. *Условно-патогенные микробы вызывают поражения после пассивного переноса во внутреннюю среду организма* (например, при нарушении целостности анатомических барьеров). Поскольку эти микроорганизмы лишены тропности к тем или иным тканям, то заболевания не имеют выраженной специфичности и больше зависят от степени поражения органа, чем от патогенных свойств возбудителя. Важные условия их развития - массивность инфицирования и нарушения сопротивляемости организма. Чем более выражены эти нарушения, тем более широкий спектр микроорганизмов способен вызывать инфекционные поражения. Обычно даже непатогенные (точнее, не способные вызывать поражения у здорового человека) микроорганизмы находят «возможность» инициировать инфекционный процесс. Их так и называют - оппортунистические патогены [от англ. *opportunity*, возможность, удобный случай].

Подразделение микроорганизмов на непатогенные и условно-патогенные виды имеет нечёткие границы. Например, сенная палочка (*Bacillus subtilis*) не патогенна для человека, но может вызывать тяжёлые глазные инфекции и бактериемию после попадания в кровь. Более правильна оценка паразитических свойств микроорганизма, так как *в основе любого инфекционного процесса лежит феномен паразитизма.* Паразитические микроорганизмы

используют организм хозяина как источник питания, среду обитания и размножения. В соответствии со степенью паразитизма микроорганизмы разделяют на несколько типов.

Облигатные паразиты

Все этапы жизненного цикла микроорганизма связаны с организмом хозяина. Вне организма человека эти микроорганизмы быстро погибают либо не размножаются. Облигатные паразиты - хламидии, риккетсии и вирусы.

Факультативные паразиты

Факультативные паразиты часть своего жизненного цикла проводят как свободноживущие особи; тем не менее, паразитическая фаза имеет ведущее значение. Факультативные паразиты - многие кишечные бактерии.

Случайные паразиты

Случайные паразиты - свободноживущие виды, для них естественной средой обитания служит внешняя среда, а паразитирование в организме человека - случайная, абсолютно необязательная фаза жизненного цикла. Случайные паразиты - грибы, вызывающие подкожные микозы, или атипичные микобактерии.

Патогенность и вирулентность

Оба понятия близки, но не идентичны. Патогенность - не абсолютная, а относительная величина, поэтому для определения степени патогенности возбудителя применяют термин «вирулентность».

Патогенность

Патогенность [от греч. *pathos*, болезнь, + *genos*, рождение] *определяет специфичность патологических процессов, вызываемых конкретным возбудителем*, что проявляется развитием соответствующего типа инфекционного заболевания (кишечного, дыхательного и т.д.). Генотип патогена фенотипически проявляется его вирулентными и токсигенными свойствами. Так, условно-патогенные микроорганизмы способны вызывать заболевания лишь при значительных нарушениях функциональных свойств местных и общих защитных факторов. Характерными свойствами патогенных микроорганизмов являются специфичность (способность вызывать определённую инфекционную болезнь после проникновения в организм) и органотропность (способность предпочтительно поражать определённые органы или ткани).

Вирулентность

Вирулентность [от лат. *virulentus*, ядовитый] *отражает степень патогенности различных изолятов или штаммов конкретного патогенного вида*.

Критерии вирулентности. К критериям, определяющим вирулентность микроорганизмов, относят инфекционность, способность к колонизации, инвазивность, токсигенность и способность к длительному персистированию. С известным допущением столь внушительный набор факторов, определяющих вирулентность, можно расценивать как «ответ» инфекционного агента на многообразие защитных механизмов организма хозяина. Инфекционность - собственно способность заражать макроорганизм. Способность к колонизации - свойство заселять очаги первичного инфицирования. Инвазивность - способность проникать в ткани, лежащие за пределами входных ворот инфекции, и размножаться в них. Токсигенность - способность образовывать ядовитые вещества, вызывающие болезнетворное действие.

Способность к персистенции - свойство длительно циркулировать либо сохраняться в определённом очаге, что обусловлено способностью долгое время противодействовать влиянию защитных факторов макроорганизма.

Летальная доза. За единицу измерения вирулентности принята летальная доза (DL, от лат. *dosis letalis*) - наименьшее количество патогенных микроорганизмов или токсина, способное вызвать гибель определённого количества лабораторных животных. На практике применяют несколько производных от величин DL.

DCL (*dosis certe letalis*) - количество микробов или токсина, вызывающее гибель 100% лабораторных животных.

LD₅₀ - количество патогенных микроорганизмов, способное вызывать гибель 50% экспериментально заражённых лабораторных животных. Применяют также величины LD₇₀, LD₇₅, LD₉₀ и т.д.

Инфицирующая доза (ID [от англ. *infectious dose*]) - минимальное количество патогенных микроорганизмов, способное вызвать развитие заболевания у определённого количества лабораторных животных. По аналогии с летальным эффектом определяют ID₁₀₀, ID₅₀ и т.д.

Генетический контроль патогенности и вирулентности

Все вышеназванные факторы и параметры патогенности и вирулентности подвержены фенотипическим и генотипическим изменениям. Причины таких изменений - эффекты различных физических и химических факторов. В первую очередь патогенные свойства бактерий находятся под контролем хромосомных и плазмидных генов. Способность к образованию экзотоксинов детерминируют внехромосомные тох-гены конвертирующих бактериофагов и плазмид (например, синтез дифтерийного гистотоксина, ботулинического нейротоксина и др.). Образование эндотоксинов кодируют хромосомные гены.

Генотипическое снижение вирулентности возможно при мутациях, рекомбинациях, утере внехромосомных наследственных факторов (плазмид, транспозонов, вставочных (IS-) последовательностей).

Фенотипическое снижение вирулентности возможно при попадании возбудителя в неблагоприятные условия. *In vitro* оно возникает в результате неблагоприятного режима культивирования и состава питательной среды, воздействия селективных неблагоприятных факторов либо обработки популяции гомологичной антисывороткой. *In vivo* снижение вирулентности возникает вследствие селекции маловирулентных штаммов в гетерогенной популяции возбудителя под действием защитных факторов, антимикробных препаратов и др. Выжившая популяция приобретает устойчивость к этим воздействиям, но «платит» своими патогенными свойствами (например, за счёт утери плазмидных или хромосомных генов патогенности). Со времён Пастёра искусственное снижение вирулентности - аттенуация [от лат. *attenuo*, ослаблять] - положено в основу производства ряда вакцин. Таким образом, *патогенность* - *качественный признак болезнетворного микроба, а вирулентность* - *количественное проявление патогенности*.

ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ

К основным факторам патогенности (вирулентности) относят способность микроорганизмов к колонизации, их устойчивость к разным микробицидным факторам организма, свойства инвазивности и токсигенности, а также способность к длительному персистенции.

Способность к колонизации

Адгезия

Размножению бактерий в первичном очаге инфицирования предшествует адгезия [от лат. *ad-haesio*, прикрепляться к чему-либо], то есть закрепление бактерий на поверхности клеток, что, собственно, и служит началом инфекционного процесса. Прикрепление к поверхности клеток (например, к эпителию слизистых оболочек) обеспечивают адгезины, или факторы колонизации - различные микробные продукты - молекулы адгезии (белки, ЛПС, липо-тейхоевые кислоты). Молекулы адгезии могут располагаться непосредственно на поверхности бактериальной клетки либо входить в состав микроворсинок или капсул. Взаимодействие инфекционного агента с эпителиальными клетками происходит в результате нескольких типов связей, различных по природе и специфичности. Выделяют связи, основанные на взаимодействии электростатических сил, обусловленные гидрофобными свойствами поверхности, лиганд-рецепторные взаимодействия.

Заряд. Бактериальные и эукариотические клетки заряжены отрицательно, но поверхностные микроворсинки грамотрицательных бактерий снижают заряд бактерий и уменьшают электростатические силы отталкивания.

Гидрофобность. Бескапсульные бактерии обладают высокой гидрофобностью, усиливающей адгезивность; гидрофобные участки обладают сродством к лигандам на поверхности эукариотических клеток, что и приводит к прочности связи.

Специфические взаимодействия. На поверхности бактерий имеются молекулы, способные к стереоспецифичному связыванию с комплементарными молекулами на мембранах эукариотических клеток (например, гемагглютинины или тейхоевые кислоты).

Другие механизмы колонизации. Некоторые бактерии способны «заранее подготавливать» место для дальнейшего размножения; например, нейраминидаза облегчает проникновение холерного вибриона через слой слизи и контакт с сиалосодержащими рецепторами эпителия кишечника. Микроорганизмы также способны сорбироваться на бактериях, уже колонизировавших поверхность слизистых оболочек, либо связывать белки (например, фибронектин), рецепторы к которому имеются на многих клетках макроорганизма. У капсулированных бактерий в прикреплении активно участвуют полисахариды капсулы.

Для успешной колонизации очага первичного инфицирования бактерии должны выдержать действие многочисленных и разнообразных микробицидных факторов хозяина. Для защиты от них микроорганизмы активно используют ряд структур (например, капсулы) и синтезируемых веществ (например, ферменты).

Капсула

Капсула (или её менее выраженный аналог - слизистый слой) ингибирует начальные этапы защитных реакций - распознавание и поглощение.

- Капсулы «экранируют» бактериальные структуры, активирующие систему комплемента, а также структуры, распознаваемые иммунокомпетентными клетками. Например, слой капсульно-го вещества защищает тейхоевые кислоты стафилококков от связывания опсонинами.

- Гидрофильность капсул затрудняет их поглощение фагоцитами, а само капсульное вещество защищает бактерию от действия лизосомальных ферментов и токсичных оксидантов, выделяемых фагоцитирующими клетками.

- Большое значение имеет лёгкая отделяемость капсул или слизистого слоя от поверхности бактерий. В частности, при поглощении капсулированных бактерий (например, синегнойной палочки), последние легко «снимают с себя» капсулы и избегают прямого контакта с фагоцитом.

Инактивирующие ферменты

Микроорганизмы синтезируют различные ферменты, обезвреживающие многие гуморальные защитные факторы. Например, многие возбудители, особенно паразитирующие на слизистых оболочках, выделяют протеазы, расщепляющие в том числе и молекулы IgA. В инактивировании токсических кислородных продуктов фагоцитов задействованы каталаза и супероксид дисмутаза. Бактериальные ферменты также способны изменять pH окружающей среды, делая её пригодной для размножения. Например, *Helicobacter pylori* выделяет уреазу, нейтрализующую кислую среду в желудке.

Инвазивность

Патогенность многих микроорганизмов (например, шигелл) связана с проникновением в эпителиальные клетки, где они размножаются, вызывая нарушение целостности пласта эпителия. Основные факторы, обеспечивающие инвазивность бактерий, - подвижность (обеспечивает проникновение как в клетки, так и межклеточные пространства) и особые клеточные факторы - инвазины [от лат. *invasio*, проникать, атаковать], способствующие проникновению в эпителиоциты посредством эндоцитоза (например, поверхностные белки грамотрицательных бактерий). Некоторые микроорганизмы проникают за пределы эпителия либо посредством активной инвазии, либо в результате имплантации через различные повреждения кожных покровов. Как разновидность инвазии можно рассматривать способность микроорганизмов диссеминировать из первичного очага инфекции и циркулировать в крови.

Токсигенность

Токсины

Токсины [от греч. *toxikon*, яд] - важнейшие факторы патогенности, вырабатываемые микроорганизмами и реализующие основные механизмы инфекционного процесса. Роль микробных токсинов в патогенезе инфекционных болезней впервые доказали Э. Ру и А. Иерсен (1888), отделившие «ядовитое начало» возбудителя дифтерии от бактериальных клеток и сумевшие воспроизвести с его помощью клиническую картину болезни у морских свинок.

Токсины облегчают первичную колонизацию и вызывают системные поражения, характеризующие специфические проявления той или иной инфекционной болезни. Некоторые токсины не ведут к развитию клинической картины, но вносят вклад в патогенез заболевания (так называемые парциальные токсины). Спектр активности токсинов необычайно широк: от веществ, облегчающих распространение по тканям, до метаболитов, селективно повреждающих активность определённых клеток. Бактериальные токсины традиционно подразделяют на эндотоксины и экзотоксины (их основные характеристики представлены в табл. 8-1), хотя подобная классификация не совсем корректна. Более правильной была бы систематизация токсинов по химическому составу (например, фосфолипазы или детергенты) либо по механизму действия, например, на поражающие клеточную мембрану (цитолизины) и действующие на различные внутриклеточные мишени. К сожалению, химический состав значительной части токсинов и комплекс оказываемых ими биологических эффектов изучены недостаточно. Многие бактериальные токсины вырабатываются в форме предшественников (протоксины), трансформирующихся в активную форму. За единицу измерения биологической активности токсинов, как и вирулентности микроорганизмов, принята величина летальной дозы.

Экзотоксины

Экзотоксины (табл. 8-2) - секреторные белковые вещества, обычно проявляющие ферментативную активность. Нередко экзотоксины служат единственным фактором

вирулентности микроорганизма, действуют дистанционно (далеко за пределами очага инфицирования) и ответственны за клинические проявления инфекции (например, энтеротоксины вызывают диарею, нейротоксины - параличи и другие неврологические симптомы). Наибольшую токсичность проявляет ботулотоксин - 6 кг токсина могли бы убить всё человечество. Высокая токсичность экзотоксинов обусловлена особенностью структуры их фрагментов, имитирующей строение субъединиц гормонов, ферментов или нейромедиаторов хозяина. В результате экзотоксины проявляют свойства антиметаболитов, блокируя функциональную активность естественных аналогов. *Экзотоксины проявляют высокую иммуногенность; в ответ на их введение образуются специфические нейтрализующие АТ (антитоксины)*. По степени связи с бактериальной клеткой экзотоксины разделяют на три группы - А, В и С.

Группа А - токсины, секретируемые во внешнюю среду (например, токсин дифтерийной палочки).

Группа В - токсины, частично секретируемые во внешнюю среду и частично ассоциированные с бактериальной клеткой (например, тетаноспазмин столбнячной палочки).

Группа С - токсины, связанные с бактериальной клеткой и высвобождающиеся после её гибели (например, экзотоксины энтеробактерий). Свойства экзотоксинов

- Экзотоксины обычно содержат бифункциональные (лигандные и эффекторные) структуры. Первые распознают и связывают комплементарный рецептор (ганглиозиды, белки, гликопротеины) на мембране клетки, вторые обеспечивают эффекторное действие, наиболее часто - гидролиз НАД до АДФ-рибозы и никотинамида с последующим переносом АДФ-рибозильного остатка на мишени.

- Связывание и проникновение экзотоксинов в определённой степени напоминает механизм действия пептидных и гликопротеиновых гормонов, что обусловлено родством их молекулярных структур. Внутриклеточная мишень для эффекторной части молекулы токсина - обычно жизненно важная система, например, биосинтеза белка (для А-токсина синегнойной палочки и шигелл) либо аденилатциклазная система (для холерогена, термолабильного токсина кишечной палочки или экзотоксина *Bordetella pertussis*).

- Наиболее распространённая классификация экзотоксинов основана на характере мишеней для их эффектов: нейротоксины поражают клетки нервной ткани, гемолизины разрушают эритроциты, энтеротоксины поражают эпителий тонкого кишечника, дерматонекротоксины вызывают некротические поражения кожных покровов, лейкоцидины повреждают фагоциты (лейкоциты) и т.д.

- По механизму действия выделяют цитотоксины (например, энтеротоксины или дерматонек-ротоксины), мембранотоксины (например, гемолизины и лейкоцидины), функциональные блокаторы (например, холероген), эксфолиатины и эритрогенины. Нередко патогенные бактерии синтезируют несколько экзотоксинов, проявляющих различное действие (летальное, гемолитическое, цитотоксическое и т.д.).

Эндотоксины

В определённой степени токсигенным микроорганизмам (активно секретирующими токсины) противопоставлены патогенные бактерии, обладающие токсическими субстанциями, слабо диффундирующими в окружающую среду и названные (по предложению Р. Пфайффера) эндотоксинами. *Эндотоксины - интегральные компоненты клеточной стенки грамотрицательных бактерий; большая их часть высвобождается только после гибели*

бактериальной клетки. Представлены комплексом протеинов, липидных и полисахаридных остатков. За проявление биологического эффекта ответственны все группировки молекулы эндотоксина. Биологическая активность напоминает таковую у некоторых медиаторов воспаления; эндотоксинемия обычно сопровождается лихорадкой, обусловленной выбросом эндогенных пирогенов из гранулоцитов и моноцитов. При попадании значительного количества эндотоксина в кровотоки возможен эн-дотоксиновый шок, обычно заканчивающийся смертью больного. Бактериальные эндотоксины проявляют сравнительно слабое иммуногенное действие, и иммунные сыворотки не способны полностью блокировать их токсические эффекты. Некоторые бактерии могут одновременно синтезировать экзотоксины и выделять (при гибели) эндотоксины (например, токсигенные *Escherichia coli* и холерные вибрионы).

Экзоферменты

Важными факторами патогенности следует считать экзоферменты (например, лецитиназа, гиалуронидаза, коллагеназа и др.), нарушающие гомеостаз клеток и тканей, что приводит к их повреждению. *Способность к образованию экзоферментов во многом определяет инвазивность бактерий - возможность проникать через слизистые оболочки, соединительнотканые и другие барьеры*. Например, гиалуронидаза расщепляет гиалуроновую кислоту, входящую в состав межклеточного вещества, что повышает проницаемость различных тканей. Этот фермент синтезируют бактерии родов *Clostridium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* и др. Нейраминидаза облегчает преодоление слоя слизи, проникновение внутрь клеток и распространение в межклеточных пространствах. Нейраминидазу секретируют холерные вибрионы, дифтерийная палочка; он также входит в состав вируса гриппа. К этой же группе следует отнести и бактериальные ферменты, разлагающие антибиотики.

Суперантигены

Некоторые токсины (например, токсин Дика стрептококков или энтеротоксин стафилококков) способны действовать как суперантигены, вызывая поликлональную активацию различных клонов лимфоцитов. Поликлональная активация сопровождается гиперсекрецией лимфокинов с развитием цитокинопосредованной интоксикации.

Способность к длительному выживанию в организме

Разнообразные микробы хорошо выдерживают воздействие защитных факторов и колонизируют нестерильные полости различных организмов. К длительному выживанию в составе микробных сообществ способны не только сапрофитические и условно-патогенные (формирующие нормальную микрофлору), но и некоторые паразитические виды.

- В ряде случаев развивающиеся иммунные реакции лишают возбудитель возможности полностью реализовать свои патогенные свойства, но оказываются бессильными удалить его из организма. Таким путём формируется бактерионосительство.

- Патогенез ряда инфекционных болезней в качестве ведущего фактора включает длительную циркуляцию возбудителя (например, возбудителей сифилиса, туберкулёза, бруцеллёза и др.). Длительное выживание в организме хозяина во многом определяет способность патогенов «уходить» от действия защитных факторов (например, за счёт изменения антигенной структуры либо путём антигенной мимикрии).

ИНФЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС

Проникновение микроба в организм приводит к развитию комплекса физиологических (адаптационных) и патологических реакций, направленных на восстановление гомеостаза, известных как инфекционный процесс, или инфекция. Термин «инфекция» [от лат. *infectio*, вносить что-либо вредное, + позднелатинское *infectio*, заражение] может определять и

сам инфекционный агент, и факт его попадания в организм, но более правильно его применять для обозначения всей совокупности реакций между возбудителем и хозяином. *Проникновение любого микроорганизма в организм приводит к развитию защитных реакций.* Спектр этих реакций широк, крайние его полюса -инфекционная болезнь и бессимптомная циркуляция микроорганизма. Таким образом, термины «инфекционный процесс» и «инфекционная болезнь» не тождественны, так как инфекционная болезнь - лишь частный случай инфекционного процесса, выявляемая клиническими или лабораторными методами.

Условия развития инфекции

Патогенность - видовой признак. Таким образом, всегда возможны внутривидовые вариации. Это означает, что патогенность может быть по-разному выражена у различных штаммов. Вероятность развития инфекционной болезни в значительной степени определяют видовые свойства возбудителя, количество возбудителя, пути и место проникновения в организм, скорость размножения.

Инфицирующая доза

При попадании в организм незначительного числа патогенных микроорганизмов (что бывает наиболее часто) их обычно эффективно элиминируют защитные факторы организма. Для развития заболевания необходимо, чтобы патоген обладал достаточной вирулентностью, а его количество (инфицирующая доза) превышала некоторый порог, определяемый в каждом конкретном случае вирулентностью возбудителя и состоянием резистентности организма. В контексте патогенных свойств инфицирующую дозу можно рассматривать как определённое количество микроорганизмов, обеспечивающее возможность адгезии, колонизации и инвазии в ткани.

Скорость размножения

На вероятность развития инфекционного процесса и его тяжесть существенно влияет скорость размножения возбудителя. Например, чумная палочка настолько быстро размножается в организме, что иммунная система практически не успевает ответить на её проникновение формированием защитных реакций.

Входные ворота инфекции

Не менее значимо проникновение возбудителя. Многих возбудителей отличает тропизм [от греч. *trope*, направление] к определённым тканям. Например, гонококк вызывает типичные поражения после попадания на слизистые оболочки половых органов или глаз, а дизентерийная амёба - на слизистую оболочку кишечника. С другой стороны, туберкулёзная или чумная палочки способны вызвать заболевание вне зависимости от пути проникновения, приводя к развитию полиморфных поражений, варьирующих в зависимости от места проникновения. Для таких патогенов характерен пантропизм. Проникнув в организм, возбудитель начинает размножаться в месте внедрения, формируя первичный очаг поражения (первичный аффект) либо распространяется (диссеминирует) в другие органы и ткани.

Динамика инфекционного процесса

При развитии инфекционного процесса можно выделить несколько стадий.

- Проникновение инфекционного агента; его адаптация к условиям внутренней среды организма и колонизация тканей, к которым тропен микроорганизм.
- Образование продуктов жизнедеятельности (токсины, ферменты), оказывающих повреждающее действие и приводящих к нарушению гомеостаза организма.

• Распространение инфекционного агента из очага проникновения. Наиболее часто микробы диссеминируют по лимфо- и/или кровотоку. Для характеристики явлений, связанных с нахождением микроорганизмов или токсинов в крови и лимфе, применяют термины: бактериемия (наличие в крови бактерий);

фунгемиа (наличие в крови грибов); вирусемия (наличие в крови вирусов); паразитемиа (наличие в крови простейших).

Названные состояния могут сопровождаться клиническими проявлениями либо протекать бессимптомно. Нередко микроорганизмы циркулируют в кровотоке временно, проникая в кровь при чрезмерных физических нагрузках и стрессовых ситуациях (длительной бессоннице, переохлаждении или перегреве организма). Как правило, их циркуляция протекает бессимптомно или субклинически, хотя в кровотоке практически здоровых пациентов могут циркулировать *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium perfringens* и др.

Клинически выраженные состояния обычно развиваются при проникновении микроорганизмов в кровь в результате травм, после медицинских манипуляций либо из инфекционного очага. Пребывание микроорганизмов в крови характерно для многих вирусных (грипп, гепатит В) и бактериальных (брюшной тиф, риккетсиозы) инфекций. Циркуляция микроорганизмов в кровотоке - важная и обязательная стадия патогенеза инфекций, передающихся через укусы членистоногих - переносчиков заболеваний (чума, сыпной тиф), поддерживающих циркуляцию возбудителя в природе и тем самым сохраняющих его как вид.

Важная особенность бактериемий - микроорганизмы циркулируют в кровотоке, но не размножаются в нём. Однако уменьшение микробицидных свойств крови даёт возможность микроорганизмам размножаться в кровотоке, что приводит к развитию тяжёлых генерализованных состояний, известных как сепсис [от греч. *sepsis*, гниение]. Обычно такая ситуация - следствие непрерывного или периодического поступления возбудителей в кровотоки. Состояния, при которых микроорганизм только размножается в крови, определяют термином септицемия [от греч. *sepsis*, гниение, + *haima*, кровь]. Состояния, при которых микроорганизм не только размножается в кровотоке, но и формирует новые очаги гнойного воспаления в различных тканях и органах, известны как септикопиемии [от греч. *sepsis*, гниение, + *pion*, гной, + *haima*, кровь]. Если в патогенезе инфекционного заболевания ведущим звеном служит интоксикация, вызванная циркуляцией экзоили эндотоксинов возбудителя в крови, то такие состояния определяют термином токсинемия. Помимо лимфо- и гематогенного путей некоторые возбудители распространяются нейrogenным путём, в том числе непосредственно по отросткам нейронов (нейропробазия).

Важно, что в ответ на проникновение микроорганизма и/или его токсинов в организме происходит формирование защитных реакций, направленных на инактивирование возбудителя, а также на восстановление гомеостаза. Естественное окончание инфекционного процесса - гибель больного или выздоровление пациента. Выздоровление обычно приводит к развитию невосприимчивости к повторному заражению.

Формы инфекционного процесса могут быть разнообразными; далеко не всегда инфекционный процесс проходит все стадии своего развития, так как при попадании патогена в невосприимчивый (иммунный) организм процесс заканчивается на начальных стадиях.

Особенности инфекционных болезней

Инфекционные болезни характеризуются специфичностью, контагиозностью и цикличностью. Специфичность

Каждую инфекционную болезнь вызывает конкретный возбудитель. Однако известны инфекции (например, гнойно-воспалительные процессы), вызываемые различными микробами. С другой стороны, один возбудитель (например, стрептококк) способен вызывать различные поражения.

Контагиозность

Контагиозность (заразительность) определяет способность возбудителя передаваться от одного лица к другому и скорость его распространения в восприимчивой популяции. Для количественной оценки контагиозности предложен индекс контагиозности - процент переболевших лиц в популяции за определённый период (например, заболеваемость гриппом в определённом городе за 1 год).

Цикличность

Развитие конкретного инфекционного заболевания ограничено во времени, сопровождается цикличностью процесса и сменой клинических периодов.

Инкубационный период [от лат. *incubatio*, лежать, спать где-либо]. Обычно между проникновением инфекционного агента в организм и проявлением клинических признаков существует определённый для каждой болезни промежуток времени - инкубационный период, *характерный только для экзогенных инфекций*. В этот период возбудитель размножается, происходит накопление как возбудителя, так и выделяемых им токсинов до определённой пороговой величины, за которой организм начинает отвечать клинически выраженными реакциями. Продолжительность инкубационного периода может варьировать от часов и суток до нескольких лет.

Продромальный период [от греч. *prodromos*, бегущий впереди, предшествующий]. Как правило, первоначальные клинические проявления не несут каких-либо патогномичных [от греч. *pathos*, болезнь, + *gnomon*, показатель, знак] для конкретной инфекции признаков. Обычно слабость, головная боль, чувство разбитости. Этот этап инфекционной болезни называется продромальный период, или «стадия предвестников». Его продолжительность не превышает 24-48 ч.

Период развития болезни. На этой фазе и проявляются черты индивидуальности болезни либо общие для многих инфекционных процессов признаки - лихорадка, воспалительные изменения и др. В клинически выраженной фазе можно выделить стадии нарастания симптомов (*stadium incrementum*), расцвета болезни (*stadium acme*) и угасания проявлений (*stadium decrementum*).

Реконвалесценция [от лат. *re-*, повторность действия, + *convalescentia*, выздоровление]. Период выздоровления, или реконвалесценции как конечный период инфекционной болезни может быть быстрым (кризис) или медленным (лизис), а также характеризоваться переходом в хроническое состояние. В благоприятных случаях клинические проявления обычно исчезают быстрее, чем наступает нормализация морфологических нарушений органов и тканей и полное удаление возбудителя из организма. Выздоровление может быть полным либо сопровождаться развитием осложнений (например, со стороны ЦНС, костно-мышечного аппарата или сердечно-сосудистой системы). Период окончательного удаления инфекционного агента может затягиваться и для некоторых инфекций (например, брюшного тифа) может исчисляться неделями.

Формы инфекционных заболеваний

Инфекционные болезни обычно сопровождаются нарушениями гомеостаза организма и его физиологических функций. Множество взаимодействующих параметров в системе «конкретный возбудитель-конкретный организм» находит отражение в различных формах инфекционного

процесса и его вариантах. Другими словами, в зависимости от эпидемиологической ситуации, типа и свойств возбудителя (например, инфицирующей дозы, вирулентности и т.д.), состояния параметров гомеостаза человека, а также от конкретных особенностей взаимодействия возбудителя и организма инфицированного человека, инфекционный процесс может принимать различные формы (от клинически выраженных до бессимптомных, от суперинфекций до бактерионосительства). Ниже рассмотрены основные формы инфекционных процессов.

Экзо- и эндогенные инфекции

Экзогенные инфекции развиваются в результате проникновения в организм патогенных микроорганизмов из внешней среды.

Эндогенные инфекции обычно развиваются в результате активации и, реже, проникновения условно-патогенных микроорганизмов нормальной микрофлоры из нестерильных полостей во внутреннюю среду организма (например, занос кишечных бактерий в мочевыводящие пути при их катетеризации). *Особенность эндогенных инфекций - отсутствие инкубационного периода.*

Регионарные и генерализованные инфекции

- Регионарные инфекционные заболевания - инфекционный процесс протекает в каком-либо ограниченном, местном очаге и не распространяется по организму.

- Генерализованные инфекционные заболевания развиваются в результате диссеминирования возбудителя из первичного очага, обычно по лимфатическим путям и через кровотоки.

Моноинфекции и миксты

Моноинфекции - заболевания, вызванные одним видом микроорганизмов.

Смешанные инфекции (миксты) развиваются в результате заражения несколькими видами микроорганизмов; подобные состояния характеризует качественно иное течение (обычно более тяжёлое) по сравнению с моноинфекцией, а патогенный эффект возбудителей не имеет

простого суммарного характера. Микробные взаимоотношения при смешанных (или микст-) инфекциях переменны:

- если микроорганизмы активизируют или отягощают течение болезни, их определяют как активаторы, или синергисты (например, вирусы гриппа и стрептококки группы В);

- если микроорганизмы взаимно подавляют патогенное действие, их обозначают как антагонисты (например, кишечная палочка подавляет активность патогенных сальмонелл, шигелл, стрептококков и стафилококков);

- индифферентные микроорганизмы не влияют на активность других возбудителей.

Суперинфекции, реинфекции, рецидивы

Суперинфекции. От смешанных инфекций следует отличать вторичные инфекции (суперинфекции), возникающие на фоне уже имеющегося заболевания.

Реинфекция - случай повторного заражения одним и тем же возбудителем. Реинфекции не следует рассматривать как рецидивы.

Рецидивы формируются под действием популяции инфекционного агента, уже циркулирующего в организме, а не в результате нового заражения.

Манифестные и бессимптомные заболевания

Манифестные инфекции могут протекать типично, атипично или хронически.

- *Типичная инфекция.* После попадания в организм инфекционный агент размножается и вызывает развитие характерных патологических процессов и клинических проявлений.

- *Атипичная инфекция.* Возбудитель размножается в организме, но не вызывает развития типичных патологических процессов, а клинические проявления носят невыраженный, стёртый характер. Атипичность инфекционного процесса может быть вызвана пониженной вирулентностью возбудителя, активным противодействием защитных факторов его патогенным потенциалам, влиянием проводимой антимикробной терапии и совокупностью указанных факторов.

- *Хроническая инфекция* обычно развивается после инфицирования микроорганизмами, способными к длительному персистированию. В ряде случаев под влиянием антимикробной терапии либо под действием защитных механизмов бактерии преобразуются в L-формы. При этом они лишаются клеточной стенки, а вместе с ней и структур, распознаваемых АТ и служащих мишенями для многих антибиотиков. Другие бактерии способны длительно циркулировать в организме, «уходя» от действия указанных факторов за счёт антигенной мимикрии или изменения антигенной структуры. Подобные ситуации известны также как персистирующие инфекции [от лат. *persisto, persistens*, выживать, выдерживать]. По окончании химиотерапии L-формы могут возвращаться к исходному (вирулентному) типу, а виды, способные к длительному персистированию, начинают размножаться, что и вызывает вторичное обострение, рецидив болезни.

- *Медленные инфекции.* Само название отражает медленную (в течение многих месяцев и лет) динамику инфекционного заболевания. Возбудитель (обычно вирус) проникает в организм и латентно присутствует в клетках. Под влиянием различных факторов инфекционный агент начинает размножаться (при этом скорость репродукции остаётся невысокой), заболевание принимает клинически выраженную форму, тяжесть которой постепенно усиливается, приводя к гибели пациента.

Бессимптомные инфекции. В подавляющем большинстве случаев патогенные микроорганизмы попадают в неблагоприятные условия различных областей организма, где погибают либо подвергаются действию защитных механизмов или элиминируются чисто механически. В некоторых случаях возбудитель задерживается в организме, но подвергается такому «сдерживающему» давлению, что не проявляет патогенных свойств и не вызывает развития клинических проявлений (абортивные, скрытые, «дремлющие» инфекции).

- *Абортивная инфекция* [от лат. *aborto*, не вынашивать, в данном контексте - не реализовывать патогенный потенциал] - одна из наиболее распространённых форм бессимптомных поражений. Такие процессы могут возникать при видовой или внутривидовой, естественной либо искусственной невосприимчивости (поэтому человек не болеет многими болезнями других животных). Механизмы невосприимчивости эффективно блокируют жизнедеятельность микроорганизмов, возбудитель не размножается в организме, инфекционный цикл возбудителя прерывается, он погибает и удаляется из макроорганизма.

- *Латентная, или скрытая, инфекция* [от лат. *latens*, спрятанный] - ограниченный процесс с длительной и циклической циркуляцией возбудителя, аналогичной наблюдаемой при явных формах инфекционного процесса. Возбудитель размножается в организме; вызывает развитие защитных реакций, выводится из организма, но никаких клинических проявлений не наблюдаются. Подобные состояния также известны как инаппарантные инфекции (от англ. *inapparent*, неявный, неразличимый). Так, нередко в латентной форме протекают вирусные гепатиты, полиомиелит,

герпетические инфекции и т.д. *Лица с латентными инфекционными поражениями представляют эпидемическую опасность для окружающих.*

• *Дремлющие инфекции* могут быть разновидностью латентных инфекций или состояниями после перенесённого и клинически выраженного заболевания. Обычно при этом устанавливается клинически не проявляемый баланс между патогенными потенциями возбудителя и защитными системами организма. Однако под влиянием различных факторов, понижающих резистентность (стрессы, переохлаждения, нарушения питания и т.д.), микроорганизмы приобретают возможность оказывать патогенное действие. Таким образом, *лица, переносящие дремлющие инфекции, - резервуар и источник патогена.*

• *Микробоносительство.* Как следствие латентной инфекции или после перенесённого заболевания возбудитель «задерживается» в организме, но подвергается такому «сдерживающему давлению», что не проявляет патогенных свойств и не вызывает развития клинических проявлений. Такое состояние называется микробоносительство. Подобные субъекты выделяют патогенные микроорганизмы в окружающую среду и представляют большую опасность для окружающих лиц. Выделяют острое (до 3 мес), затяжное (до 6 мес) и хроническое (более 6 мес) микробоносительство. Носители играют большую роль в эпидемиологии многих кишечных инфекций - брюшного тифа, дизентерии, холеры и др.

Эпидемиология инфекционного процесса

Изучением условий возникновения инфекционных болезней и механизмов передачи их возбудителей, а также разработкой мероприятий по их предупреждению занимается отдельная медицинская наука - эпидемиология. Практически любой эпидемический процесс включает три взаимосвязанных компонента:

- 1) источник инфекции;
- 2) механизм, пути и факторы передачи возбудителя;
- 3) восприимчивый организм или коллектив.

Отсутствие одного из компонентов прерывает течение эпидемического процесса.

Источники инфекции

Различные одушевлённые и неодушевлённые объекты внешней среды, содержащие и сохраняющие патогенные микроорганизмы, обозначают термином резервуары инфекции, но их роль в заболеваемости человека далеко не одинакова. Для большинства инфекций человека основной резервуар и источник - больной человек, в том числе лица, находящиеся в инкубационном периоде (ранние носители) и на этапах реконвалесценции, либо бессимптомные (контактные) микробоносители. В соответствии с источником инфекции выделяют следующие типы инфекционных болезней.

Антропонозы. Инфекции, при которых источником инфекции является только человек, известны как антропонозы [от греч. *anthropos*, человек, + *nosos*, болезнь].

Зоонозы. Инфекции, при которых источниками инфекции являются животные, но ими могут болеть и люди, известны как зоонозы [от греч. *zoon*, животное, + *nosos*, болезнь].

Зооантропонозы. Инфекции, поражающие животных и способные передаваться человеку, известны как зооантропонозы [от греч. *zoon*, животное, + *anthropos*, человек, + *nosos*, болезнь], например сибирская язва, бруцеллёз.

Сапронозы. Инфекции, развивающиеся после проникновения свободноживущих бактерий или грибов в организм человека с объектов окружающей среды и поверхности тела (например, при попадании в рану) известны как сапронозы [от греч. *sapros*, гнилой, + *nosos*, болезнь].

Механизмы, факторы и пути передачи

Механизмы передачи определяют способы перемещения инфекционного агента из заражённого организма в восприимчивый организм. Для этого возбудитель должен быть выведен из заражённого организма, некоторое время пребывать во внешней среде и внедриться в восприимчивый организм. Выделяют фекально-оральный, аэрогенный (респираторный), кровяной (трансмиссивный) и контактный механизмы передачи. Указанные механизмы передачи характерны для подавляющего большинства инфекций человека; с позиций эпидемиологии пути их распространения рассматриваются как горизонтальная передача возбудителя. Существует также группа заболеваний (обычно вирусных), возбудители которых способны трансплацентарно переходить от матери к плоду (вертикальная передача).

Факторы и пути передачи. *Факторы передачи - элементы внешней среды, обеспечивающие передачу возбудителей инфекционных болезней.* Ими могут быть вода, различные пищевые продукты, воздух, почва, членистоногие переносчики, бытовые предметы и т.д. *Пути передачи определяют конкретные факторы передачи или их сочетание, обеспечивающие перенос инфекционного агента от больного человека или носителя здоровому.* Обычно механизмы передачи инфекционного агента имеют несколько путей.

- Фекально-оральный механизм включает алиментарный, водный или контактно-бытовой пути передачи.

- Кровяной (трансмиссивный) механизм включает передачу возбудителей через укусы переносчиков, парентеральный и половой пути передачи.

- Аэрогенный (респираторный) механизм включает воздушно-капельный и воздушно-пылевой пути передачи возбудителя.

- Контактный механизм включает раневой и контактно-половой пути передачи.

Специфичность пути передачи. Для большинства патогенных микроорганизмов *путь передачи от больного лица здоровому специфичен*, и нарушение эпидемического цикла может либо прервать его (например, попадание шигелл в дыхательный тракт), либо усугубить тяжесть заболевания (например, попадание возбудителя сифилиса в кровоток через загрязнённую инъекционную иглу). С другой стороны, проникновение патогенного микроорганизма в области, резистентные к его инвазивным потенциям, обычно не вызывает заболевания (например, большинство возбудителей респираторных инфекций, попав в ЖКТ, погибает под действием желудочного сока и пищеварительных ферментов).

Классификация инфекционных болезней

В соответствии с механизмами передачи возбудителя принята классификация инфекционных болезней, которую разработал Л.В. Громашёвский.

I группа - болезни с фекально-оральным механизмом передачи (например, кишечные инфекции);

II группа - болезни с аэрогенным механизмом передачи (например, грипп или корь);

III группа - болезни с трансмиссивным механизмом передачи (например, малярия, клещевой энцефалит);

IV группа - болезни с контактным механизмом передачи (например, венерические болезни).

Восприимчивость популяции

Известно, что при наличии в популяции 95% невосприимчивых лиц циркуляция возбудителя прекращается, а сама популяция расценивается как «эпидемически благополучная». Для предупреждения развития инфекционных заболеваний широко применяют комплекс мероприятий, направленных на различные звенья инфекционного процесса.

Мероприятия I группы направлены на выявление, изоляцию и лечение (санацию) больного или бактерионосителя. Их часто дополняют карантинными мероприятиями.

Мероприятия II группы представлены комплексом санитарно-гигиенических мер, направленных на разрыв механизмов и путей передачи возбудителя. Мероприятия состоят из обеспечения и соблюдения гигиенических нормативов, разукрупнения организованных контингентов, санитарного контроля за пищевыми продуктами и предприятиями, их производителями, соблюдения правил асептики и антисептики в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ), проведения дезинфекций и дезинсекций и т.д.

Мероприятия III группы направлены на увеличение «иммунной прослойки» популяции. Наиболее эффективный метод - широкомасштабная активная иммунопрофилактика (вакцинация) различных инфекционных болезней.

В соответствии с эффективностью проводимых мероприятий по предупреждению инфекционных заболеваний выделяют управляемые инфекции (для их предупреждения эффективно используют различные вышеуказанные мероприятия) и неуправляемые инфекции (меры предупреждения отсутствуют).

Интенсивность эпидемического процесса

Интенсивность эпидемического процесса обуславливает множество факторов, основными из которых выступают свойства и распространённость возбудителя, характер иммунной «прослойки» в популяции, а также и географическое положение конкретных территорий. По интенсивности эпидемических процессов выделяют спорадическую заболеваемость, эпидемии и пандемии. Спорадическая заболеваемость [от греч. *sporadikos*, рассеянный] - обычный уровень заболеваемости конкретной инфекцией в отдельном регионе за определённый период (обычно за год). Как правило, количество больных не превышает десяти случаев на 100 000 населения. Эпидемия [от греч. *epi-*, над, + *demos*, народ]. В некоторых случаях обычный уровень заболеваемости конкретной инфекцией за определённый период резко превышает уровень спорадической заболеваемости. В таких случаях происходит эпидемическая вспышка, а при вовлечении в процесс нескольких регионов - эпидемия. Пандемия. В редких ситуациях уровень заболеваемости конкретной инфекцией за определённый период резко превышает уровень эпидемий. При этом заболеваемость не ограничивается пределами конкретной страны или материка, болезнь практически охватывает всю планету. К счастью, подобные «сверхэпидемии», или пандемии [от греч. *pan-*, всеобщий, + *demos*, народ], вызывает очень ограниченный спектр возбудителей (например, вирус гриппа). В соответствии с распространённостью инфекционные заболевания также выделяют повсеместные (убиквитарные) и эндемичные инфекции, выявляемые на определённых, нередко небольших территориях. По частоте случаев различают:

кризисные инфекции - заболеваемость более 100 случаев на 100 000 населения (например, ВИЧ-инфекция);

массовые инфекции - заболеваемость составляет 100 случаев на 100 000 населения (например, ОРВИ);

распространённые управляемые инфекции - заболеваемость составляет 20-100 случаев на 100 000 населения (например, корь);

распространённые неуправляемые инфекции - заболеваемость составляет менее 20 случаев на 100 000 населения (например, анаэробные газовые инфекции);

спорадические инфекции - заболеваемость составляют единичные случаи на 100 000 населения (например, риккетсиозы).

Возбудители убиквитарных инфекций распространены повсеместно. Эндемичные возбудители вызывают эндемии [от греч. ep-, в, + *-demos*, народ]. Как критерий эпидемического процесса эндемия не отражает его интенсивность, но указывает на заболеваемость в определённом регионе. Выделяют истинные и статистические эндемии.

- Истинные эндемии обуславливают природные условия региона (наличие источников инфекции, специфических переносчиков и резервуаров сохранения возбудителя вне организма человека). Поэтому истинные эндемии также известны как природно-очаговые инфекции.

- Понятие статистической эндемии также применяют и в отношении убиквитарных инфекций, распространённых в различных природных условиях (например, брюшного тифа). Их частоту обуславливают не столько климатические, сколько социально-экономические факторы (например, недостатки водоснабжения). Кроме того, понятие социальной эндемии применяют и к неинфекционным болезням, например эндемичному зубу, флюорозу и др.

Природно-очаговые инфекции. Учение о природной очаговости инфекционных болезней, ставшее неотъемлемой частью медицинской микробиологии, создал выдающийся отечественный паразитолог Е.Н Павловский.

Природно-очаговые инфекции - особая группа болезней, имеющих эволюционно возникшие очаги в природе. Природный очаг - биотоп на территории конкретного географического ландшафта, заселённый животными, видовые или межвидовые различия которых обеспечивают циркуляцию возбудителя за счёт его передачи от одного животного другому, обычно через кровососущих членистоногих-переносчиков. Природно-очаговые инфекции разделяют на эндемичные зоонозы, ареал которых связан с ареалом животных - хозяев и переносчиков (например, клещевой энцефалит), и эндемичные метаксено-зы, связанные с ареалом животных, прохождение через организм которых является важным условием распространения болезни (например, жёлтая лихорадка). При появлении в определённое время в очаге человека переносчики могут заразить его природно-очаговой болезнью. Так зоонозные инфекции становятся антропозоонозными.

Конвенционные и особо опасные инфекции

Для предупреждения возникновения инфекционных болезней, представляющих особую опасность для здоровья населения и склонных к быстрому распространению, разработаны международные правила (конвенции) по получению информации об их появлении и мерам профилактики. В случае их возникновения страны обязаны ставить в известность ВОЗ и регулярно сообщать о проводимых противоэпидемических мероприятиях. ВОЗ обрабатывает и рассылает информацию во все страны мира. Рассмотрев полученную информацию, представители стран принимают решение о проведении различных карантинных мероприятий и информируют об этом ВОЗ. В настоящее время группа конвенционных, или карантинных, инфекций включает чуму, жёлтую лихорадку и холеру. Отдельную группу составляют особо опасные инфекции - острые инфекционные болезни человека, способные к внезапному появлению, быстрому распространению и характеризующиеся тяжёлым течением и высокой летальностью. К ним относят как конвенционные инфекции, так и сибирскую язву, туляремию, полиомиелит,

геморрагические лихорадки Лас-са, Эбола и Марбург, сыпной и возвратный тифы, бруцеллёз, малярию, многие арбовирусные инфекции и др. Наиболее эффективный метод их предупреждения- глобальный международный контроль над их распространением. В Российской Федерации действуют правила, направленные на предупреждение заноса возбудителей из-за рубежа и их распространения по территории страны, локализацию и ликвидацию очагов особо опасных инфекций.

ГЛАВА 9. ХИМИОТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Краткая историческая справка

Эвристический период

Проблема лечения инфекционных заболеваний имеет такую же долгую историю, как и изучение самих болезней. С точки зрения современного человека, первые попытки в этом направлении были наивны и примитивны, хотя некоторые из них и не были лишены здравого смысла (например, прижигание ран или изоляция больных). Опыт, накопленный тяжёлым путём проб и ошибок, вооружил знахарей знаниями целебных свойств вытяжек из трав и тканей животных, а также различных минералов. Изготовление настоев и отваров из растительного сырья было широко распространено в античном мире, их пропагандировал Клавдий Галён (отсюда и термины «галеновы», «галеники»). В средневековые репутацию препаратов из лекарственного сырья значительно «подмочили» всевозможные зелья, «изыскания» алхимиков и, конечно, убеждённости в неизлечимости «кар Господних». В этой связи следует упомянуть верование в целительное действие рук «помазанников Божьих», через прикосновение царствующей особы (*touche royal*) проходили толпы больных. Например, Людовик XIV возложил руки на 10 000 больных, а Карл II Стюарт - на 90 000. По мере понимания врачами правильности концепции *contagium vivum* лечение болезней принимало всё более «этиот-ропный» характер. Основателем химиотерапии с полным правом должен считаться Парацельс, названный А.И. Гёрценым «первым профессором химии от сотворения мира». Парацельс не без успеха применял для лечения инфекций человека и животных различные неорганические вещества (например, соли ртути и мышьяка). После открытия Нового Света стало известно о свойствах коры дерева «кинакина», использовавшейся индейцами для лечения малярии. Популярности этого средства способствовало чудесное излечение жены вице-короля Америки, графини Цинхон, и в Европу кора прибыла уже под названием «порошок графини» (*polvo de la condesa*), а позднее её имя присвоили и самому хинному дереву (*Cinchona*). Такую же славу снискало и другое заокеанское средство - ипекакуана, применявшееся индейцами для лечения «кровоавых» поносов.

Становление химиотерапии

Честь разработки адекватных подходов к лечению инфекционных болезней принадлежит нашему соотечественнику: Дмитрий Леонидович Романовский в 1890 г. указал, что «истинная специфичность действия на самую сущность болезни, на производящего её паразита» заключается «в разрушительном действии на паразита» и для каждой инфекции должно быть найдено «вещество, которое при введении в заболевший организм окажет наименьший вред последнему и вызовет наибольшее деструктивное действие в патогенном агенте». История современных антимикробных средств началась с открытия Паулем Эрлихом способности анилиновых красителей убивать трипаносомы.

Красители. Пауль Эрлих и его сотрудник Киёси Шйга испытали более 500 красителей (от бриллиантового зелёного до генци-анового фиолетового) и обнаружили один, способный

защищать от гибели мышей, заражённых трипаносомами. Авторы так его и назвали - трипановый красный, но вскоре оказалось, что препарат не действует на микроорганизмы, укрывшиеся в тканях. Дальнейшие их поиски выявили трипановый синий и другие красители, обладавшие бактерицидным эффектом *in vitro*, но не *in vivo*.

Производные мышьяка. Неудача с красителями не остановила Эрлиха, им овладела другая идея - излечивать сифилис. К этому времени медицина обогатилась новым противотрипаносомозным средством атоксилом (органическое производное мышьяка). Атоксил с успехом применил Роберт Кох для лечения сонной болезни, но через несколько месяцев выяснилось страшное побочное действие препарата - дегенерация зрительного нерва. Эрлиха это не смутило, так как атоксил эффективно применяли для лечения малокровия у кур, возбудитель которого был поразительно похож на возбудителя сифилиса. Под своим любимым девизом «не спеша и без усталости» (*ohne Hast, ohne Rast*) Эрлих с легендарным упорством испытывал всё новые и новые производные атоксила. Успех ждал исследователя на 606-м соединении. Он назвал его сальварсаном (спасающим), и, действительно, препарат спас жизни тысячам больным различными спирохетозами (сифилис, фрамбезия и др.). Теория *волшебной пули*. Основываясь на собственных результатах изучения АТ, «повреждающих» микробы и их токсины, но не собственные клетки организма, Эрлих разработал постулат о «волшебной пуле» (*die Zauberkegel*) - веществе с минимальной органотропностью и максимальной паразитотропностью. Этот постулат стал основным принципом поиска новых химиотера-

певтических средств.

Сульфаниламиды

После блестящих открытий Эрлиха все поиски ЛС окутались покровом тайны. Специалисты ведущих фармацевтических фирм исследовали каждое новое соединение, не разглашая полученные результаты. В 1908 г. австрийский химик П. Гельмо получил р-аминобензолсульфамид (сульфаниламид) из каменноугольной смолы. Позднее химик фирмы «Байер» Х. Герляйн установил, что присоединение сульфаниламида к кислым красителям улучшает качество окраски, и предложил новый кирпично-красный краситель - хризоидин. Уже в 1913 г. специалисты фирмы «Байер» установили его способность убивать различные бактерии. В 1932 г. фирма «ИГ Фарбенинду-стрие» запатентовала оранжево-красное вещество с необычным для красителей названием стреп-тозон. В лабораториях фирмы его детально изучил выдающийся бактериолог Г. Домагк, опубликовавший свои результаты в знаменитой статье «*Ein Beitrag zur Chemiotherapie der bakteriellen Infektionen*» («Вклад в химиотерапию бактериальных инфекций»), ознаменовавшей

рождение нового класса химиотерапевтических агентов. Монопольные права на стрептозон (получивший название «пронто-зил» или «красный стрептоцид») позволили «ИГ Фарбенинду-стрие» захватить рынок антимикробных ЛС. Но дельцы от фармацевтики не придали значения открытию П. Гельма и не запатентовали сульфаниламид, а исследования группы Э. Фурнб из парижского Пастеровского института показали, что действующим началом пронтозила является его бесцветная фракция. Под названием «белый стрептоцид» этот препарат стали широко тиражировать во многих странах.

Антибиотики

При изучении сибирской язвы Пастёр заметил, что заражение животного смесью возбудителя и других бактерий часто мешает развитию заболевания, что позволило ему предположить, что конкуренция между микробами может блокировать патогенные свойства возбудителя. Впервые идею о возможности применения существующего антагонизма между микробами для лечебных целей высказал И.И. Мёchnikov. Позднее было показано, что такими свойствами обладают не только микробы, но и их стерилизованные продукты. Эти находки

положили начало развитию двух направлений в подходе к лечению инфекций: *применение стерилизованных микробных культур* (чему особый толчок дало открытие и применение туберкулина Кбха) и *особых ингибирующих агентов, продуцируемых микробами*. В последующем было установлено, что отдельные почвенные спорообразующие бактерии выделяют вещества, убивающие бактерии других видов. В 70-х годах XIX в. русские врачи В.А. Маннасёин и А.Г. Полотёбнов установили бактерицидные свойства плесневых грибов (*Penicillium glaucum*) и эффективность экстрактов их культур при лечении инфицированных язв и ран. Для этого направления ведущее значение имело открытие А. Флёмингом пенициллинов (1928). Следствием этой знаменитой «случайности» (в открытую чашку Пётри со стафилококками нечаянно попала плесень *P. notatum*, образовавшая зону задержки роста) явилось получение чистого пенициллина (Х. Флбри и Э. Чейн, 1940) и начало новой эры в химиотерапии. Первый отечественный пенициллин (крустозин) был получен З.В. Ермбльевой из *P. crustosum* в 1942 г. Безусловно, без предшествующих многолетних исследований, в том числе и отечественных учёных, эта «случайность» вряд ли была столь плодотворной. Более того, в 1985 г. в архивах Лионского университета была найдена диссертация рано скончавшегося студента-медика (Эрнест Августин Дюшенё), за сорок лет до Флеминга подробно характеризующая открытый им препарат из плесени *P. notatum*, активный против многих патогенных бактерий.

основные принципы химиотерапии инфекционных болезней

С общих позиций основу действия любого антимикробного вещества составляет принцип физиологической имитации, согласно которому *действие любого препарата на патоген обусловлено соответствием конфигурации молекул этого вещества или его частей с конфигурацией молекул соединений, участвующих в*

физиологической регуляции процессов, специфичных для возбудителя. В настоящее время известны несколько десятков тысяч агентов, подавляющих жизнедеятельность возбудителей инфекционных заболеваний, но фармакологические свойства лишь нескольких сотен соединений позволяют применять их в качестве ЛС. Эффективность любого препарата опосредует сумма слагаемых, обеспечивающих его терапевтическое действие: сохранение стабильности структуры при введении в организм либо образование активного метаболита, скорость абсорбции и элиминации, способность к проникновению в ткани и биологические жидкости, избирательность действия, чувствительность микроорганизмов.

Критерии эффективности

При оценке эффективности антимикробных препаратов к основным критериям относят терапевтический индекс, достижимую концентрацию в сыворотке крови, спектр активности. Терапевтический индекс - частное от деления минимальной токсической дозы соединения на минимальную дозу, проявляющую антимикробную активность. *Более высокие значения терапевтического индекса соответствуют большей эффективности препарата*.

Достижимая концентрация в сыворотке крови зависит от массы тела пациента, дозы препарата, пути и схемы введения, а также скорости его выведения из организма. В настоящее время этот критерий не считают абсолютным, так как содержание ряда препаратов в тканях может намного превышать их концентрацию в сыворотке крови.

Спектр активности антимикробных средств

Антимикробные агенты действуют только на вегетирующие клетки, но не на споры или цисты. Для реализации своей биологической активности антимикробное средство должно:

- проникнуть в бактериальную клетку;

- связаться с соответствующей мишенью и модифицировать её;
- сохранить при этом свою структуру либо образовать активный метаболит.

Выбор препарата для химиотерапии определяет спектр его активности и чувствительность к нему микроорганизмов. Препараты со специфической активностью включают антибактериальные, противогрибковые, антипротозойные и противовирусные препараты. Препараты узкого спектра активны в отношении небольших групп микроорганизмов. Препараты широкого спектра активны в отношении больших групп микроорганизмов.

Эффекты антимикробных препаратов

Антибактериальные, противогрибковые и антипротозойные препараты тормозят рост либо вызывают гибель микроорганизмов. Противовирусные препараты ингибируют репликацию вирусов, блокируя их адсорбцию на чувствительных клетках, высвобождение вирусного генома либо подавляя вирусоспецифические синтезы. *Активность химиотерапевтических препаратов выражают в единицах действия (ЕД) или в микрограммах (мкг).*

- Антибактериальные препараты проявляют бактериостатическую и/или бактерицидную активность.
- Противогрибковые препараты проявляют фунгистатическую или/и фунгицидную активность.
- Противовирусные препараты проявляют виростатическую и/или вирулицидную активность.

антибактериальные препараты

К антибактериальным химиотерапевтическим средствам относят антибиотики, сульфаниламидные препараты, синтетические антибактериальные средства различного химического строения, противосифилитические и противотуберкулёзные средства. Структуры бактериальной клет-

ки, служащие мишенями для основных антибактериальных химиотерапевтических препаратов, представлены на рис. 9-1.

АНТИБИОТИКИ

В главе 6 было указано, что, различные организмы, реализуя антагонистические взаимодействия в биоценозах, выделяют БАВ (антибиотики, бактериоцины) подавляющие жизнедеятельность своих конкурентов. Антибиотики [от греч. *anti-*, против, + *biosis*, жизнь] - химические вещества биологического происхождения, избирательно тормозящие рост и размножение или убивающие микроорганизмы.

Классификация

Антибиотики классифицируют и характеризуют по их происхождению, химической структуре, механизму действия, спектру активности, частоте развития лекарственной устойчивости и т.д. Тип продуцента. В соответствии с типом продуцента выделяют антибиотики, синтезируемые грибами (например, бензилпенициллин, гризеофульвин, цефалоспорины), актиномицетами (например, стрептомицин, эритромицин) и бактериями (например, полимиксины). Способы получения антибиотиков: • биосинтетические (природные), их продуцентами выступают специальные штаммы микроорганизмов;

• полусинтетические, получаемые химическим соединением природного антибиотика, точнее его «ядра», с различными химическими радикалами (при этом возможно направленное создание препаратов с заданными свойствами); • синтетические антибиотики, источник их получения - химический синтез, возможный после определения структуры природных препаратов (например, синтетическим путём получают левомицетин). Механизм действия. Антибиотики подавляют различные процессы: синтез компонентов клеточной стенки, функции ЦПМ, синтез белка, транскрипцию и синтез нуклеиновых кислот микроорганизмов.

Ингибиторы синтеза компонентов клеточной стенки

Препараты этой группы проявляют наиболее избирательное действие, так как все они так или иначе влияют на синтез пептидогликана клеточной стенки бактерий, отсутствующего в клеточных мембранах эукариотических клеток. Наибольшее распространение получили р-лактамы антибиотики, бацитрацины, ванкомицин и циклосерин.

Р-Лактамные антибиотики

К р-лактамам относят пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы. Все р-лактамы антибиотики обладают сходной структурой (содержат р-лактамное кольцо) и механизмами анти-

микробного действия (рис. 9-2). Они тормозят синтез пептидогликана, селективно угнетая активность ферментов, участвующих в терминальной перекрёстной сшивке линейных молекул гликопептидов. Основным ферментом среди них является транспептидаза, опосредующая соединение аланина и глицина на терминальных участках пептидной цепи (подробнее см. рис. 4-3 и поясняющий текст в главе 4). Молекулы пенициллинов структурно гомологичны D-аланин-Э-аланину, что даёт им возможность блокировать активные центры фермента и ингибировать синтез пептидогликанов. Мишенями для действия антибиотиков служат также ингибиторы аутолитических ферментов, ответственных за удаление деградирующих компонентов клеточной стенки и разъединение дочерних клеток. Активация ферментов приводит к быстрому лизису бактерий в результате нарушения целостности их клеточной стенки. Различия в чувствительности грамположительных и грамотрицательных бактерий к р-лактамам зависят от структурных отличий их клеточных стенок (количество пептидогликана, наличие липидов, природа перекрёстных сшивок, активность аутолитических ферментов). *Все β-лактамы антибиотики оказывают бактерицидное действие.* Пенициллины

Структурной основой пенициллинов служит 6-аминопенициллановая кислота. При расщеплении р-лактамного кольца бактериальными р-лактамазами образуется неактивная пенициллановая кислота, не обладающая антибактериальными свойствами (см. рис. 9-11). Различия в биологических свойствах пенициллинов определяют радикалы у аминогруппы 6-аминопенициллановой кислоты.

Основная мишень пенициллинов - пенициллин-связывающие белки, а также ингибиторы аутолитических ферментов. В настоящее время применяют биосинтетические (продуцируемые грибами рода *Penicillium*) и полусинтетические, а также потенцированные пенициллины. Пенициллины легко проникают в различные ткани и органы. Неустойчивость при кислых значениях среды делает невозможным (за небольшим исключением) назначение пенициллинов для приёма внутрь. Пенициллины обладают самой низкой токсичностью в ряду антибиотиков. Биосинтетические пенициллины (бензилпенициллин, феноксиметилпенициллин) *оказывают действие на грамположительные и ограниченное число грамотрицательных микроорганизмов.* Препараты не проникают в большинство грамотрицательных бактерий и инактивируются бактериальными р-лактамазами

(пеницилиназами). Полусинтетические пенициллины получают присоединением к аминогруппе б-аминопенициллановой кислоты различных радикалов. *Препараты I поколения отличает узкий спектр действия*, направленный преимущественно в отношении грамположительных микроорганизмов, включая штаммы-продуценты р-лактамаз (оксациллин, флуоксациллин, флуоксациллин и др.). *Препараты II и III поколений отличает широкий спектр действия, но они инактивируются β-лактамазами.* Аминопенициллины (ампициллин, амоксициллин и др.) активны в отношении грамположительных кокков и ряда аэробных и факультативно анаэробных грамотрицательных бактерий; карбокси-, уреидо- и ацилпенициллины (азлоциллин, пиперациллин и

др.) активны в отношении грамположительных и грамотрицательных аэробных и анаэробных бактерий (особенно видов *Pseudomonas* и *Proteus*). Потенцированные пенициллины разработаны в связи с увеличением числа бактерий, продуцирующих р-лактамазы, и возрастанием их роли в патологии человека. Эти препараты содержат дополнительное р-лактаманное кольцо, связывающее р-лактамазы, что защищает молекулу антибиотика от инактивации этими ферментами. Наибольшее распространение нашли клавулановая кислота и сульбактам.

Клавулановая кислота расширяет антибактериальный спектр р-лактаманых антибиотиков путём необратимого связывания и ингибирования многих бактериальных р-лактамаз.

Сульбактам - сульфон пенициллановой кислоты с ограниченной антибактериальной активностью. Комбинация ампициллина и сульбактама эффективна при лечении желудочно-кишечных и гинекологических инфекций.

Цефалоспорины

р-Лактаманное кольцо цефалоспоринов более устойчиво (по сравнению с пенициллинами) к действию р-лактамаз и других бактериальных ферментов. Природные цефалоспорины легко модифицируются, известно множество полусинтетических препаратов. В соответствии с последовательностью внедрения в медицинскую практику различают цефалоспорины разных поколений: I поколение (цефазолин, цефадроксил, цефалексин и др.); II поколение (цефуроксим, цефа-мандол и др.); III поколение (цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, цефоперазон и др.); IV поколение (цефепим, цефпиром). Цефалоспорины активны против многих грамположительных и грамотрицательных бактерий и препараты каждого последующего поколения обычно имеют более широкий спектр действия.

Цефазолин, цефадроксил активны против грамположительной микрофлоры, в том числе против продуцентов р-лактамаз; к ним могут быть резистентны энтерококки.

Цефуроксим, цефамандол активны в отношении тех же микроорганизмов, что и препараты первого поколения, а также эффективно подавляют энтеробактерии, гемофилов и нейссерии.

Цефтазидим, цефоперазон активны также против синегнойной палочки и других неферментирующих бактерий.

Цефокситин, цефотетан также эффективны при инфекциях, вызванных бактероидами; цефотетан проявляет пролонгированный эффект. Монобактамы и карбапенемы

Монобактамы (например, азтреонам) устойчивы к р-лактамазам и активны в отношении узкого спектра аэробных грамотрицательных бактерий (виды *Pseudomonas* и *Serratia*), проявляющих множественную антибиотикорезистентность.

Карбапенемы (например, имипенем) имеют самый широкий спектр действия среди всех антибиотиков, содержащих р-лактаманное кольцо. В частности, к карбапенемам чувствительны

гонококки и штаммы *H. influenzae*, резистентные к пенициллину и ампициллину. Из устойчивых к эффекту имипенема бактерий отметим листерии, пастереллы (*Pasteurella multocida*), псевдомонады и стрептококки группы D.

Бацитрацины

Бацитрацины - пептидные антибиотики, продуцируемые перед спорообразованием *Bacillus subtilis* и *B. licheniformis*; угнетают построение клеточной стенки, нарушая полимеризацию пептидогликанов. Бактерицидный эффект бацитрацинов направлен против грамположительной микрофлоры; грамотрицательные бактерии, исключая нейссерии, обычно резистентны.

Ванкомицин

Ванкомицин - гликопептид, продуцируемый различными видами *Streptomyces* (обычно *S. orientalis*). Блокирует синтез пептидогликанов клеточной стенки (связывается с D-аланил-D-алани-ном). Эффективен в отношении многих грамположительных бактерий. Вместе с ристомицином, клиндамицином и линкомицином составляют группу антистафилококковых антибиотиков.

Циклосерин

Продуценты циклосерина - различные виды *Streptomyces*. Препарат нарушает включение D-аланина в пептидогликан клеточной стенки бактерий. Оказывает бактериостатическое действие на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, тормозит рост *M. tuberculosis* (действует на штаммы, резистентные к стрептомицину, фтивазиду и тубазиду).

Ингибиторы функций цитоплазматической мембраны

ЦПМ служит селективно проницаемым барьером, нарушение её функций приводит к выходу из клетки белков, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, ионов с последующей её гибелью. К препаратам этой группы относят полимиксины, полиеновые антибиотики и грамицидины.

Полимиксины

Полимиксины - комплекс полипептидов, синтезируемых *Bacillus polymyxa* и некоторыми другими бактериями. Полимиксины нарушают осмотическую резистентность ЦПМ. Подобно катион-ным детергентам, полимиксины действуют на мембраны клеток бактерий, богатые фосфатидилэта-ноламином. Спектр их бактерицидного эффекта включает грамотрицательную микрофлору (эшерихии, шигеллы, протей, клебсиеллы, псевдомонады и др.). Препараты токсичны, в медицинской практике применяют лишь полимиксины В и Е (колистин) местно.

Полиеновые антибиотики

Полиеновые антибиотики (нистатин, леворин и амфотерицин В) продуцируют виды *Streptomyces*

(рис. 9-3). Эти антибиотики применяют как противогрибковые препараты,

так как они связывают эрго-стерол ЦПМ клетки гриба, что приводит к потере клеткой низкомолекулярных соединений. Амфотерицин В иногда назначают также при первичном амёбном менингоэнцефалите, поражениях ЦНС, вызванных акантоамёбами, и при лейшманиозах.

Грамицидины

Грамицидины - полипептидные антибиотики, продуцируемые *Bacillus brevis*. Они нарушают целостность ЦПМ; грамицидины ограниченно применяют как бактериостатические средства при инфекциях, вызванных грамположительными кокками и бациллами.

ингибиторы синтеза белка

Ингибиторы синтеза белка - многочисленная и разнообразная по химической структуре группа антибиотиков - нарушают функциональные свойства рибосом. Бактерии имеют 70 S рибосомы, а клетки млекопитающих - 80 S рибосомы. Субъединицы этих типов рибосом и их функциональная

специфичность весьма различны, что и объясняет подавление синтеза белка антибиотиками на бактериальных рибосомах без выраженного влияния на рибосомы млекопитающих. К этой группе отнесены аминогликозиды, тетрациклины, хлорамфеникол, макролиды, азалиды, линкозамиды.

Аминогликозиды

История аминогликозидов ведёт своё начало от открытия стрептомицина (Ваксман, 1944), послужившего отправной точкой для широкого изучения антимикробных продуктов стрептомицетов. В настоящее время известно более 50 препаратов, подразделяемых на поколения. Препараты I поколения - стрептомицин, канамицин и др.; II поколения - гентамицин, сизомицин, тобрамицин; III поколения - амикацин и др. Аминогликозиды показаны при резистентности микроорганизмов к другим препаратам или при необходимости быстрого достижения бактерицидного эффекта. Препараты этой группы проявляют синергизм с другими антибиотиками, в первую очередь с р-лактамами, и этот эффект часто используют при терапии

инфекций, вызванных бактериями с множественной антибиотикорезистентностью (например, сочетание гентамицина с ампициллином).

Эффекты. Аминогликозиды реагируют с 30 S субъединицей 70 S рибосомы бактерий, образуя необратимый комплекс с одним из рибосомальных белков. В результате блокируются функции рибосом. Известно три варианта эффекта аминогликозидов на трансляцию: блокада образования пептидных связей; ингибирование взаимодействия тРНК с комплексом «мРНК-рибосома»; искажение кода мРНК (сборка дефектных полипептидов).

Спектр активности включает многие грамположительные и грамотрицательные бактерии; к аминогликозидам малочувствительны некоторые стрептококки (пиогенный и зеленящий) и пневмококки, абсолютно резистентны энтерококки, провиденции, бактероиды и прочие анаэробы. Ряд аминогликозидов (стрептомицин, канамицин) подавляют рост туберкулёзной палочки, а также простейших - амёб, лейшманий, токсоплазм (мономицин, канамицин).

Тетрациклины

Тетрациклины - бактериостатические антибиотики широкого спектра действия, продуцируемые видами *Streptomyces*, взаимодействуют с 30 S субъединицей рибосомы, блокируя присоединение тРНК к комплексу «рибосома-мРНК» и нарушая включение новых аминокислот в полипептидную цепь. В настоящее время биосинтетические тетрациклины (окситетрациклин, тетрациклин) практически вытеснены полусинтетическими препаратами (доксициклин, миноциклин). Тетрациклины активны в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микоплазм и внутриклеточных паразитов - риккетсий, легионелл и хламидий;

имеют большое значение в качестве средств лечения холеры, бруцеллёза, туляремии и др. При наличии у бактерий специфических R-плазмид тетрациклины или вообще не проникают в бактериальные клетки, или так быстро удаляются из них, что ингибирующие концентрации не создаются.

Хлорамфеникол

Хлорамфеникол (левомицетин, продуцент - *Streptomyces venezuelae*). Его молекула содержит нитробензен, опосредующий токсичность препарата для клеток бактерий и млекопитающих (рис. 9-4). Хлорамфеникол взаимодействует с 50 S субъединицей рибосомы и ингибирует активность пептидилтрансферазы, ответственной за образование пептидных связей. Антибиотик может быть инактивирован хлорамфениколтрансферазой, синтез фермента контролируют гены некоторых R-плазмид. Препарат действует на многие грамотрицательные и грамположительные бактерии, риккетсии, спирохеты и хламидии и относится к немногим химиотерапевтическим средствам, эффективным в отношении грамотрицательных анаэробов.

Макролиды

Макролиды (рис. 9-5) - продуцируемые видами *Streptomyces* антибиотики, спектр их действия несколько шире, чем у бензилпенициллина. Известны биосинтетические (эритромицин, олеандомицин и спирамицин) и полусинтетические препараты (рокситромицин, кларитромицин и др.). Препараты активны преимущественно в отношении пенициллин- и тетрациклинрезистентных штаммов бактерий, а также внутриклеточных паразитов - риккетсий, хламидий и др. Проявляют бактериостатический эффект, подавляя активность пептидилтрансфераз. Могут быть неэффективны у бактерий с мутациями в 50 S субъединице рибосомы или содержащих R-плазмиды, способные метилировать 23 S субъединицу рРНК.

Азалиды

Азалиды - антибиотики широкого спектра. Наиболее известен азитромицин, способный депонироваться в фагоцитах и действовать на поглощённые ими бактерии, а также легко проникать в различные клетки организма. Механизмы антимикробной активности аналогичны таковым у макролидов.

Линкозамиды

Линкомицин - антибиотик, вырабатываемый *Streptomyces lincolnensis* var. *lincolnensis*. Спектр активности, характер и механизмы антибактериального действия сходны с таковыми у макролидов (однако все штаммы кишечной палочки резистентны к препарату). Для лечения инфекций, вызванных анаэробными бактериями, эффективен синтетический аналог линкомицина клиндамицин (7-хлор-7-дезоксилинкомицин), но его применение сопряжено с риском чрезмерного роста *Clostridium difficile*, что может привести к появлению диареи и псевдомембранозного колита.

Ингибиторы транскрипции и синтеза нуклеиновых кислот

Среди большого числа антибиотиков, подавляющих транскрипцию, на практике применяют лишь

анзамицины (рифамицины) - продукты жизнедеятельности *Streptomyces mediterranei*. Наиболее известен полусинтетический препарат рифампицин (рис. 9-

б). Бактерицидная активность рифампици-на опосредована ингибированием ДНК-зависимой РНК-полимеразы, что приводит к торможению синтеза любых видов бактериальной РНК, а также поздних стадий самосборки поксвирусов. Спектр действия: грамположительные и грамотрицательные бактерии, легионеллы, хламидии, бруцеллы и микобактерии. Основное показание к применению -

лечение туберкулёза. Препарат назначают также при проказе, легионеллёзах. *Устойчивость к рифами-цинам развивается довольно быстро.* Последнее, а также эффективность при лечении туберкулёза определяют целесообразность ограничения (по возможности) их широкого применения при немикобактериальных инфекциях.

сульфаниламиды

Сульфаниламиды - первые антибактериальные средства широкого спектра действия, нашедшие применение в медицине как системные бактериостатики. Сульфаниламиды (рис. 9-7) относят к структурным аналогам р-аминобензойной кислоты - предшественника фолиевой кислоты. Все соединения являются производными сульфаниламида (амида сульфаниловой кислоты), получаемые путём замещения атома водорода в амидной группе. Препараты проявляют бактериостатическое действие, конкурентно угнетая дигидроптероат синтетазу, что препятствует образованию

дигидрофолиевой кислоты и соответственно тетрагидрофолиевой кислоты, необходимой для синтеза пуриновых и пиримидиновых оснований. В результате подавляется рост и размножение микроорганизмов. Спектр активности сульфаниламидов: многие грамположительные бактерии (стрептококки, актиномицеты, нокардии, палочка сибирской язвы), грибы и простейшие. Многие грамотрицательные бактерии резистентны к сульфаниламидам; тем не менее, к их действию чувствительны *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, виды *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, *Proteus mirabilis* и *Chlamydia trachomatis*. Клетки человека мало чувствительны к препаратам, так как не способны к синтезу фолиевой кислоты (основные потребности удовлетворяются за счёт поступления её с

пищей). Структурно близкие к сульфаниламидам парааминосалициловая кислота (ПАСК) и сульфоны (например, дапсон) проявляют аналогичное действие и эффективны при лечении различных микобактериозов (туберкулёз, лепра).

антибактериальные препараты различных классов

Из антибактериальных препаратов наибольшее применение нашли хинолоны, диаминопири-мидины, производные нитроимидазола и нитрофурана.

Хинолоны

Хинолоны (налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин) оказывают бактерицидное действие, так как ингибируют активность ДНК-топоизомеразы (ДНК-гираза), что препятствует спирализации молекулы ДНК и ведёт к невозможности транскрипции. Спектр активности хинолонов в большей степени включает грамотрицательные бактерии, но всё же большинство грамотрицательных анаэробных бактерий (например, бактероиды, фузобактерии) резистентны или умеренно чувствительны к их действию.

Производные нитроимидазола

Производные нитроимидазола (метронидазол) проявляют селективный бактерицидный эффект в отношении грамотрицательных анаэробных бактерий (например, рода *Bacteroides* и *Helicobacter pylori*). Антимикробное действие препарата связано с наличием у анаэробных бактерий белков-ферредоксинов, участвующих в окислительно-восстановительных

реакциях. Ферредоксины восстанавливают нитрогруппы препарата до нитрозогидроксиламиногрупп, накапливающихся в клетках в концентрациях, в 10-100 раз превышающих таковые во внеклеточной среде. Депонированный метаболит вызывает множественные нарушения структуры ДНК. Токсический эффект не реализуется на клетках теплокровных, так как они не содержат пируват-ферредоксин оксидоредуктазы.

Производные нитрофурана

Производные нитрофурана представлены синтетическими нитрофуранальдегидами, вызывающими выраженный бактерицидный эффект *in vitro*. Их применяют преимущественно в виде антисептиков местно (например, фурацилин). В качестве химиотерапевтических средств производные нитро-фурана применяют для лечения инфекций ЖКТ и мочевыводящих путей (фуразолидон, фурагин, нитрофурантоин). К ним обычно чувствительны бактерии, устойчивые к антибиотикам и сульфаниламидам. При кишечных инфекциях назначают фуразолидон; препарат можно вводить ректально. Фурадонин и фурагин быстро всасываются из ЖКТ и выделяются в значительных количествах почками, где создаются их высокие бактерицидные и бактериостатические концентрации.

Диаминопиримидины

Диаминопиримидины ингибируют синтез ДНК у бактерий и некоторых грибов, подавляя активность дигидрофолат редуктазы, что ведёт к нарушению образования фолиевой кислоты. Наиболее известный препарат - триметоприм, применяемый обычно в комбинации с сульфаметоксазолом (ко-тримоксазол), оказывает бактерицидное действие.

Противосифилитические препараты

К основным препаратам для лечения сифилиса относят пенициллины: препараты короткого (например, бензилпенициллина калиевая или натриевая соли) или пролонгированного действия (бициллины). При непереносимости бензилпенициллина применяют тетрациклины, макролиды или азалиды. Помимо антибиотиков, назначают препараты висмута - бийохинбл и бисмовербл. Бактериостатическое действие последних связано с подавлением активности ферментов, содержащих сульфгидрильные группы.

Противотуберкулёзные препараты

В связи с лекарственной устойчивостью *Mycobacterium tuberculosis* при лечении туберкулёза применяют комбинации антибиотиков (рифампицин, стрептомицин, циклосерин, канамицин, ви-омицин) с синтетическими препаратами различных классов (изониазид, этамбутол, натрия пара-аминосалицилат).

Изониазид структурно близок пиридоксину. Механизм антибактериального эффекта связан со способностью изониазида ингибировать активность ферментов, участвующих в синтезе миколовых кислот, являющихся основными структурными компонентами клеточной стенки мико-

бактерий. Препарат действует и на внутриклеточно расположенные бактерии. При монотерапии к нему быстро развивается резистентность. В ряде случаев она обусловлена утерей гена *katG*, кодирующего синтез каталазы-пероксидазы.

Этамбутол подавляет синтез РНК и эффективен только в отношении возбудителя туберкулёза.

Натрия пара-аминосалицилат оказывает бактериостатическое действие только на туберкулёзную палочку, что обусловлено конкурентными взаимодействиями с р-аминобензойной кислотой, необходимой для синтеза фолиевой кислоты.

ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Арсенал средств специфической терапии грибковых поражений человека разнообразен и содержит препараты, действующие на различные этапы метаболизма возбудителей. Механизм действия подавляющего большинства противогрибковых средств связан с нарушением синтеза стеролов, входящих в состав клеточной стенки (рис. 9-8). Стерола также служат мишенями и для таких противогрибковых средств, как рассмотренные выше полиеновые антибиотики.

Азолы

Азолы (имидазолы и триазолы) блокируют активность ферментов, участвующих в 14-демети-лировании ланостерола, что ведёт к нарушению синтеза эргостерола. Изменение структуры ЦПМ грибковых клеток приводит к выходу макромолекул и ионов наружу. Чувствительность ферментов млекопитающих к азолам значительно ниже, чем ферментов грибов. Вещества проявляют широкий спектр фунгицидной активности. Наиболее известны клотримазол, миконазол, итрако-назол и кетоконазол.

Фторцитозин

Фторцитозин (флуцитозин) - антиметаболит, нуклеотидный аналог, подавляющий синтез нуклеиновых кислот. После проникновения в клетку молекула подвергается дезаминированию и превращается в 5-фторурацил, ингибирующий активность тимидилат синтетазы - фермента синтеза тимидиловой кислоты. Этот фунгистатик применяют при лечении системных дрожжевых микозов, его часто комбинируют с амфотерицином В (особенно при криптококкозе).

Аморолфин

Аморолфин - производное морфолинов, ингибитор синтеза эргостерола, блокирует превращение фекостерина в эпистерин. Назначают при онихомикозах, вызываемых дрожжевыми и плесневыми грибами.

Аллиламины

Аллиламины (нафтифин, тербинафин) оказывают фунгицидное действие вследствие ингибирования активности скваленэпоксидазы и нарушения синтеза эргостерола. Тербинафин (лами-

Цитоплазматическая мембрана

зил) применяют для лечения дермато- и онихомикозов при возможности и необходимости системного лечения.

Гризеофульвин

Гризеофульвин - антибиотик, продуцируемый *Penicillium griseofulvum*, - проявляет фунгистатическое действие в отношении грибов родов *Trichophyton*, *Microsporum* и *Epidermophyton*, не действует на дрожжеподобные грибы и бактерии. Механизм антигрибковой активности обусловлен нарушением организации микротрубочек.

ПРОТИВОПРОТОЗОЙНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Простейшие резистентны к большинству антибактериальных препаратов, но всё же ряд антибиотиков подавляет их жизнедеятельность (например, доксициклин активен в отношении балан-тидиев и малярийных плазмодиев, клиндамицин и мономицин - малярийных плазмодиев и

дизентерийных амёб). В связи с тем, что метаболизм простейших скорее напоминает таковой у животных, это сходство биохимических процессов может привести после приёма противопрозо-зойных препаратов к развитию токсических эффектов у человека. Это обстоятельство значительно уменьшает потенциальное количество мишеней для фармакологического воздействия на простейших и ограничивает арсенал противопрозо-зойных ЛС. Мишенями для ЛС у простейших выступают ферменты, имеющиеся только у них (уникальные ферменты), либо абсолютно незаменимые для их жизнедеятельности (незаменимые ферменты).

Уникальные ферменты простейших

Ферменты этой группы участвуют в синтезе нуклеотидов, энергетическом метаболизме и окислительно-восстановительных реакциях. Препараты, угнетающие уникальные ферменты простейших, нетоксичны для клеток млекопитающих.

Дигидроптероат синтетаза

Споровики (малярийные плазмодии, токсоплазмы и др.) не способны утилизировать экзогенные фолаты и имеют ферменты, катализирующие их синтез. Дигидроптероат синтетаза превращает птеридин и р-аминобензойную кислоту в дигидроптероевую кислоту - предшественник дигидрофолиевой кислоты. Активность фермента подавляет сульфадоксин, а также конкурентные антагонисты р-аминобензойной кислоты - сульфаниламиды и сульфоны.

Пируват синтетаза

Пируват синтетаза (пируват-ферредоксин оксидоредуктаза). У анаэробных простейших (три-хомонады, энтоамёбы) нет митохондрий, но они экспрессируют пируват синтетазу. Фермент катализирует образование ацетил-КоА в ходе электронного транспорта, в том числе перенос электронов от пирувата на нитрогруппы производных нитроимидазола (метронидазол). В результате нитрогруппы восстанавливаются в токсичные нитрозогидроксиламиногруппы. Депонированный метаболит вызывает множественные нарушения структуры ДНК.

Нуклеозид фосфотрансферазы

Многие простейшие не способны синтезировать пуриновые нуклеотиды *de novo*, но экспрес-сируют трансферазы, фосфорилирующие пуриновые и пиримидиновые основания.

- У лейшманий пури-нуклеозид фосфотрансфераза переносит фосфатную группу в 5'-положение пуриновых нуклеозидов. Этим же путём фермент фосфорилирует структурные аналоги пури-новых нуклеозидов - аллопуринол рибозид, формицин В и тиопуринол рибозид. В форме трифосфатов эти препараты могут встраиваться в нуклеиновые кислоты либо ингибировать активность ферментов, участвующих в метаболизме пуринов.

- У трихомонад конверсию экзогенного тимидина в тимидин 5'-фосфат осуществляет тимидин фосфотрансфераза, её активность избирательно подавляет гуанозин.

Трипанотион редуктаза

Природный трипептид глутатион в восстановленной форме действует как донор, а в окисленной - как акцептор водорода. В клетках трипаносом глутатион присутствует в форме трипаноти-она - уникального конъюгата со спермидином. Посредством трипанотион редуктазы трипанотион выполняет важную роль в поддержании в восстановленном состоянии тиолов клеточных мембран.

Нифуртимокс и меларсопрол ингибируют активность этого фермента, что приводит к избыточному накоплению токсических кислородных продуктов в трипаносомах. В результате

происходит окисление тиолов и гибель паразитов, так как они не синтезируют каталазы и глутатион пероксидазы.

Незаменимые ферменты простейших

Эти ферменты синтезируются как в клетках простейших, так и в клетках млекопитающих. В отличие от клеток млекопитающих, для простейших эти ферменты абсолютно незаменимы. Кроме того, ферменты, синтезируемые клетками млекопитающих и простейших, отличаются по специфичности к субстратам.

Пуринфосфорибозил трансферазы

У лейшманий и трипаносом ключевым ферментом образования пуринов является гипоксантин-гуанин-фосфорибозил трансфераза. Аллопуринол рибозид - структурный изомер гипоксантина, служит субстратом для фермента паразитов, но не для фермента, синтезируемого клетками млекопитающих. Препарат превращается в риботид и после фосфорилирования встраивается в РНК. Аналогичным образом препарат действует на лямблии, у которых ключевыми ферментами синтеза пуриновых нуклеотидов выступают аденин- и гуанин-фосфорибозил трансферазы.

Орнитин декарбоксилаза

Орнитин декарбоксилаза регулирует синтез полиаминов у трипаносом, плазмодиев и лямблий. Эфлорнитин ингибирует фермент, приводя к дестабилизации молекулы ДНК и нарушениям её репликации.

Гликолитические ферменты

Трипаносомы, циркулирующие в крови, лишены митохондриальных дыхательных ферментов и для восстановления НАД используют глицерол-3-фосфат оксидазу и глицерол-3-фосфат дегидро-геназу. Препарат сурамин блокирует действие обоих ферментов, препятствуя окислению НАДФ, и тем самым нарушает синтез АТФ.

Препараты для лечения и профилактики малярии

Противомалярийные препараты включают производные хинолина (хлорохин, хинин, прима-хин) и производные пиримидина (хлоридин). Поскольку эти препараты действуют на различные стадии развития малярийного плазмодия, их подразделяют на несколько групп.

- Гематошизотропные средства (подавляют эритроцитарную шизогонию).
- Гистошизотропные средства (подавляют тканевую шизогонию).
- Средства, действующие на презритроцитарные (первичные тканевые) формы.
- Препараты, действующие на паразитроцитарные (вторичные тканевые) формы.
- Гамонтотропные средства (подавляют половые формы).

Гематошизотропные средства

Наиболее известны 4-замещённые производные аминохинолина хлорохин и гидроксихлоро-хин, назначаемые *при неосложнённом течении малярии*. Эти ЛС взаимодействуют с ДНК и блокируют реакции матричного синтеза. Аналогичное действие они оказывают и на клетки млекопитающих, но в простейших накапливаются в значительно больших концентрациях и вызывают их гибель. Действие на малярийные плазмодии реализуется двумя путями: 1) связывание и нарушение выведения токсичного для плазмодиев феррипротопорфирина,

образующегося при их паразитировании в эритроцитах; 2) нейтрализация кислых значений рН, что приводит к инактивации лизосомальных ферментов в пищеварительных вакуолях плазмодия.

При осложнённом течении малярии, вызванном хлорохинрезистентными плазмодиями, используют фансидар (сульфадоксин-пириметамин). Сульфадоксин блокирует активность дигидроптероат-синтетазы, превращающей птеридин и р-аминобензойную кислоту в дигидроптероевую (предшественник дигидрофолиевой кислоты). Пириметамин ингибирует дигидрофолат редуктазу, препятствуя образованию тетрагидрофолатов из дигидрофолатов, что нарушает образование тимина из урацила. Подобное комплексное воздействие на образование фолатов вызывает нарушение синтеза ДНК. Гематошизотропную активность также проявляют сульфаниламиды, сульфоны и тетрациклины (доксциклин), применяемые в сочетании с другими противомалярийными препаратами. При эритроцитарной шизогонии также можно применять хинин и артемизин (хингхаосу).

Хинин. Алкалоид коры хинного дерева (*Cinchona*) для лечения малярии на протяжении многих веков применяли южно-американские индейцы. Механизмы действия аналогичны таковым у 4-замещённых производных аминохинолина. При этом хинин проявляет меньшую активность, но вызывает более быстрый терапевтический эффект.

Артемизин - терпеновый лактон, экстрагируемый из полыни (*Artemisia*); на протяжении многих веков применялся в Китае для лечения малярии. Молекула препарата содержит эндопероксидные мостики, взаимодействующие с Fe^{2+} в инфицированных эритроцитах, что приводит к образованию токсических радикалов, окисляющих тиолы мембранных белков паразита.

Гистошизотропные средства

Жизнедеятельность преэритроцитарных форм подавляет 4-замещённое производное аминохинолина хлоридин, ингибирующий активность дигидрофолат редуктазы, что нарушает синтез тет-рагидрофолиевой кислоты. Препарат также активен в отношении эритроцитарных шизонтов. Для элиминации гипнозоитов *Plasmodium vivax* из печени (параэритроцитарная форма) применяют 8-замещённое производное аминохинолина примаквин (примахин). Примахин нарушает мито-хондриальное окисление, разрушая убихинон, играющий роль переносчика электронов. Под действием препарата в эритроцитах образуются оксиды и пероксиды металлов, оказывающие токсическое действие на паразитов.

Гамонтотропные средства

На половые формы плазмодиев действуют примахин и хлоридин, оказывающие гамонтоцидное и гамонтостатическое действие соответственно. Механизм действия препаратов аналогичен проявляемому ими при подавлении тканевой шизогонии. Повреждение половых форм приводит к нарушению разных стадий спорогонии.

Для личной химиопрофилактики малярии применяют хлоридин, хлорохин, а также прогуанйл (тиазиновый метаболит прогуанила), ингибирующий дигидрофолат редуктазу плазмодиев, что нарушает образование тетрагидрофолиевой кислоты.

Препараты для лечения амёбиоза

Амебициды подразделяют (в зависимости от локализации дизентерийных амёб в организме) на несколько групп.

- Амебициды, эффективные при любой локализации паразитов.
- Амебициды прямого действия, эффективные при локализации паразитов в просвете толстой кишки.

- Амебициды непрямого действия, эффективные при локализации паразитов в просвете и стенке толстой кишки.
- Амебициды, эффективные при локализации паразитов в стенке толстой кишки и в печени.
- Амебициды, эффективные при локализации паразитов в печени.

Амебициды, эффективные при любой локализации паразитов

Универсальным средством, эффективным при кишечном и внекишечном амебиазе, считают метронидазол. Механизм его противопаразитарного действия во многом аналогичен таковому при действии на бактерии (см. раздел «Антибактериальные препараты различных классов» главы 9). Кроме того, метронидазол, взаимодействуя с нуклеотидами, подавляет синтез ДНК и РНК. Препарат малоэффективен в отношении амёб, находящихся в просвете кишечника, и не действует на цисты паразитов.

Амебициды прямого действия, эффективные при локализации паразитов

в просвете толстой кишки

Наиболее часто применяют 8-замещённое производное оксихинолина хиниофон. Препарат ингибирует синтез ДНК и РНК, подавляя жизнедеятельность вегетативных форм, а также образование цист. Аналогичный механизм действия имеет и близкий по структуре препарат йодохинол.

Амебициды непрямого действия, эффективные при локализации паразитов

в просвете и стенке толстой кишки

Амебициды непрямого действия, эффективные при локализации паразитов в просвете и стенке толстой кишки, представлены антибиотиками тетрациклинового ряда. Эти препараты практически не оказывают прямого действия на амёб, а их антипротозойный эффект обусловлен подав-

лением жизнедеятельности бактерии, поглощающих кислород и обеспечивающих существование дизентерийной амёбы как анаэроба.

Амебициды, действующие на амёб в стенке кишечника и в печени

Препаратом выбора принято считать эметин - алкалоид корня ипекакуаны (*Cephaelis ipecacuanha*). Активность препарата связана с подавлением синтеза нуклеиновых кислот у паразитов.

Амебициды, действующие на амёб в печени

Для лечения применяют хлорохин, накапливающийся в паренхиме печени в высоких концентрациях. Механизм действия препарата такой же, как при действии на эритроцитарные шизонты малярийного плазмодия.

Трихомониаз, лямблиоз, балантидиаз и токсоплазмоз

Для лечения лямблиоза применяют производные нитроимидазола (метронидазол, тинидазол). Химиотерапию трихомониаза иногда дополняют производными нитрофурана (фуразолидон, фурагин). При лечении балантидиаза применяют антибиотики (тетрациклины) и хинио-фон. Для подавления жизнедеятельности *Toxoplasma gondii* назначают пириметамин, ингибирующий дигидрофолат редуктазу и нарушающий синтез ДНК; также хлоридин и сульфаниламиды. Механизмы прямого и опосредованного действия этих

препаратов аналогичны проявляемым в отношении малярийных плазмодиев, дизентерийной амёбы и различных бактерий.

Лейшманиозы

Из средств химиотерапии лейшманиозов препараты выбора - пятивалентные соединения окиси сурьмы (например, солюсурьмин). Эти ЛС трансформируются в трёхвалентные соединения, способные связывать SH-группы белков, что приводит к блокаде ферментов, участвующих в гликолизе и цикле Кребса. Для лечения кожных поражений местно применяют мепракин (акрихин) и метронидазол, а в качестве альтернативы - пентамидин, назначаемый также для лечения пневмоцистозов.

Трипаносомозы

Для лечения африканских трипаносомозов (сонная болезнь) широко применяют меларсопрол - органическое соединение мышьяка, ингибирующее активность глицерол-3-фосфат оксидазы. Препарат проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и эффективен на поздних стадиях заболевания. Реже назначают эфлорнитин, ингибирующий активность орнитин декарбоксилазы, участвующей в синтезе полиаминов, что ведёт к дестабилизации молекулы ДНК и нарушению репликации. На ранних стадиях африканских трипаносомозов назначают сурамин. Действие препарата основано на том, что трипаносомы, циркулирующие в крови, лишены митохондриальных дыхательных ферментов и для восстановления НАД используют глицерол-3-фосфат оксидазу и глицерол-3-фосфат дегидрогеназу. Препарат блокирует оба фермента, препятствуя окислению НАДФ и тем самым нарушая синтез АТФ. Сурамин не проникает через ГЭБ и неэффективен на поздних стадиях болезни. Для лечения болезни Чагаса назначают примахин, его механизм действия аналогичен эффекту на возбудитель малярии. Также используют нифуртимокс, вызывающий образование токсических кислородных радикалов, подавляющих жизнедеятельность *Trypanosoma cruzi* (последняя лишена каталазы и глутатион пероксидазы, инактивирующих кислородные радикалы). К препаратам второго ряда относится пентамидин. Механизм его эффекта на лейшманию аналогичен проявляемому в отношении грибов *Pneumocystis carinii*.

ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Сложность получения противовирусных средств обусловлена тесной связью этапов репродукции вирусов с метаболическими, энергетическими и ферментативными реакциями заражённой клетки. В результате любой противовирусный препарат практически всегда оказывает токсическое воздействие и на внутриклеточные процессы. Именно поэтому до сих пор не найден «пенициллин» для вирусов. Разработка противовирусных средств требует привлечения достижений в изучении молекулярной биологии вирусов, инфекционной иммунологии и принципов лечения

бактериальных инфекций. В этом плане особое внимание привлекают природные соединения (в первую очередь ИФН), индуцирующие антивирусное состояние клетки, и перспективы выделения из клеток макро- и надмолекулярных продуктов, проявляющих антивирусный эффект. По характеру действия и клинической значимости препараты, применяемые для лечения вирусных инфекций, подразделяют на четыре основные группы - *этиотропные*, *иммуномодулирующие* (корректирующие дефекты иммунного реагирования, развивающиеся при заболевании), *патогенетические* (направленные на борьбу с интоксикацией, обезвоживанием, сосудистыми и органами поражениями, аллергическими реакциями, а также на профилактику бактериальных суперинфекций) и *симптоматические* (купирующие сопутствующую симптоматику, например, кашель, головную боль и др.). В настоящем разделе приведён обзор имеющихся этиотропных средств (блокаторы адсорбции и депротенинизации вирусов, ингибиторы вирусных ДНК-полимеразы и обратной транскриптазы, аналоги

нуклеозидов). Большинство этиотропных препаратов имеет *узкий спектр активности* (в лучшем случае, в пределах одного семейства). Известно лишь несколько препаратов, воздействующих на ранние этапы репродукции, и ни одного ЛС, подавляющего сборку дочерних популяций. Рассматриваемые ниже препараты сгруппированы в порядке расположения мишеней их действия в динамике репликативного цикла вирусов (рис. 9-9).

Ингибиторы адсорбции, проникновения и депротенинизации вирусов

Ig. Первый этап взаимодействия вирусов с чувствительными клетками включает адсорбцию, проникновение в неё (посредством виропексиса и слияния мембран) и высвобождение нуклеокапсида («раздевание»). Вирусспецифические АТ, взаимодействуя с антигенными детерминантами вирусов, тем самым предупреждают распознавание вирусами рецепторов клеточных мембран.

Производные адамантана

Производные адамантана (трициклические симметричные адамантамины). Слияние клеточных мембран с вирусными суперкапсидами происходит при низких значениях рН. Ремантадин и амантадин (рис. 9-10), будучи соединениями основного характера, увеличивают значение рН эндосом, тем самым предупреждая слияние. Другой механизм ингибирования слияния мембран обусловлен способностью ремантадина в низких концентрациях взаимодействовать с белком М2 вирусов гриппа типа А. Белок М2 ответственен за образование в

липидной оболочке ионных каналов, предположительно обеспечивающих транспорт протонов внутрь вириона и его раздевание. Дизоксарил взаимодействует с суперкапсидами, препятствуя высвобождению вирусных нуклеокапсидов.

Ингибиторы синтеза ранних белков

Основными белками, синтезируемыми на ранних стадиях репродукции, выступают РНК-полимеразы и неструктурные белки. Их синтез *in vitro* ингибируют гуанидин, 2-(оо-гидроксibenзил)-бензимидазол и аналогичные соединения. Однако этот эффект практически не воспроизводится *in vivo*, что связано с быстрым развитием химиорезистентности. Поэтому в арсенале противовирусных средств препараты, эффективно подавляющие синтез ранних белков, отсутствуют.

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот

Крупным достижением в разработке противовирусных средств оказались ЛС - аналоги нуклеотидов (аномальные нуклеотиды). Эти ЛС действуют как антиметаболиты, что обусловлено их структурным сходством с пуриновыми и пиримидиновыми основаниями. *Основные механизмы антивирусного действия препаратов связаны с подавлением активности вирусных полимераз.* Аналогию с нуклеотидами ЛС приобретают в результате их фосфорилирования клеточными и некоторыми вирусными киназами. В форме нуклеотидных аналогов препараты ингибируют вирусные ДНК-полимеразы и/или выступают субстратами для вирусных ферментов; в результате ЛС встраиваются в вирусные нуклеиновые кислоты, образуя дефектные полинуклеотиды или обрывая их дальнейший рост. Селективный эффект ЛС обеспечивает большой их аффинитет к

вирусным полимеразам по сравнению с природными нуклеотидами. Кроме того, вирусные ферменты более лабильны к их действию по сравнению с полимеразами клеток млекопитающих.

Ингибиторы обратной транскриптазы

Ингибиторы обратной транскриптазы избирательно взаимодействуют с ферментом ретровирусов, включая ВИЧ.

Зидовудин (азидотимидин). Известно два механизма действия этого ЛС.

- Препарат обладает большим аффинитетом к обратной транскриптазе по сравнению с природными субстратами, тем самым блокируется взаимодействие фермента с последними.

- Встраивание аналога в нуклеотидную цепь вместо тимидина блокирует её дальнейшую сборку, так как препарат не содержит 3'-ОН-группу, необходимую для образования 5'-3'-диэфирных связей в составе нуклеиновой кислоты.

Ламивудин, ставудин, залцитабин (применяется при развитии резистентности к азидотимидину), диданозин (проявляет меньшую токсичность) имеют аналогичный зидовудину механизм антивирусного эффекта.

Невирапин - нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы. Препарат связывает гидрофобные фрагменты молекулы фермента (к чему не способны прочие ингибиторы). Штаммы ВИЧ, устойчивые к нуклеозидным ингибиторам, не обладают перекрёстной резистентностью к этому препарату.

Ингибиторы ДНК-полимераз ДНК-содержащих вирусов

Ингибиторы ДНК-полимераз ДНК-содержащих вирусов представлены препаратами, фосфорилируемыми как клеточными киназами, так и вирусными тимидин киназами. Видарабин - аналог пурина с четвертичной структурой, аналогичной дезоксиаденозину. Антивирусный эффект этого ЛС связан с подавлением ДНК-полимеразы интермедиатом видарабина аденинарабинозид-5'-трифосфатом. Видарабин - эффективное средство лечения герпетических энцефалитов, существенно снижающее смертность больных. Галогенизированные производные. Для проявления антивирусного эффекта необходимо их метаболизирование до фосфорилированных нуклеотидов, подавляющих вирусные ДНК-полимеразы.

Идоксуридин (5'-йодо-2'-дезоксуридин, 5'-йододезоксуридин, IUD) - первый и наиболее эффективный противовирусный препарат данной группы; фосфорилируется как клеточной, так и вирусоспецифической тимидин киназой, то есть его активная форма образуется как в заражённых, так и в интактных клетках. Применяют местно для лечения герпетических кератитов. Побочные эффекты препарата (подавление лейкопоэза) при системном применении ограничили возможность его широкого использования.

Трифторидин (виropтик). Степень селективного воздействия препарата на ДНК-содержащие вирусы (герпеса, оспы, аденовирусы) выше, чем идоксуридина, что обусловлено более высокой (в 15-20 раз) скоростью его фосфорилирования вирусоспецифической тимидин киназой.

Ацикловир - ациклический нуклеозидный аналог гуанозина с высокой избирательностью к инфицированным вирусом клеткам. В клетках происходит последовательное превращение ацикловира в моно-, ди- и трифосфат. Первый этап индуцирует вирусоспецифическая тимидинкиназа, экспрессируемая в клетках вскоре после заражения; за реализацию остальных этапов фосфорилирования ответственны клеточные киназы. Образующийся ациклогуанозинтрифосфат ингибирует ДНК-полимеразу вирусов, тормозя образование полноценной молекулы нуклеиновой кислоты, так как из-за отсутствия гидроксильной группы к ациклогуанозинтрифосфату не могут присоединяться последующие нуклеотиды. Таким образом, препарат не влияет на синтез ДНК в незаражённых клетках, так как в них он не превращается в активную форму. Препарат эффективен при лечении инфекций, вызванных ВПГ. При инфекциях, вызванных другими герпесвирусами (например, ЦМВ или вирусом Эпштейна-Барр), это препарат назначать нецелесообразно, так как названные возбудители лишены вирусоспецифической тимидинкиназы.

Фамциклоvir. Механизм действия фамцикловира аналогичен таковому ацикловира. Фармако-кинетика препарата позволяет применять его с большими интервалами, и он вызывает меньше побочных эффектов.

Ганциклоvir - производное ацикловира; активируется под действием киназ млекопитающих и вирусных фосфотрансфераз с образованием трифосфата, ингибирующего преимущественно ДНК-полимеразу ЦМВ.

Фоскарнет. Помимо подавления активности обратной транскриптазы, препарат ингибирует активность всех ДНК-полимераз герпесвирусов и вируса гепатита В. Механизм действия обусловлен связыванием полифосфатных групп ДНК-полимеразы, что препятствует поступлению пирофосфатов из дезоксирибонуклеозидтрифосфата и блокирует элонгацию молекулы ДНК. Аналогичный механизм заложен в ингибирование обратной транскриптазы, но препарат взаимодействует с ферментом через группировки, отличные от участвующих в связывании пирофосфатов.

Нуклеотидные аналоги широкого спектра

Препараты этой группы ингибируют активность как РНК-, так и ДНК-полимераз вирусов. Среди большой группы соединений клиническое применение нашёл рибавирин. Этот аналог гуанозина проявляет антивирусную активность *in vitro* в отношении не менее чем 27 РНК- и 12 ДНК-содержащих вирусов. Основные механизмы антивирусной активности:

- конкуренция с гуанозином за связь с ферментами, обеспечивающими образование ГТФ;
- ингибирование полимераз нуклеиновых кислот вирусов;
- нарушение экспонирования мРНК встраиванием метилированного гуанина в 5'-окончание молекулы РНК.

Ингибиторы протеаз

Ингибиторы протеаз представлены негидролизующимися синтетическими пептидами (препараты саквинавир, ритонавир, индинавир). Механизм действия связан с конкурентным ингибированием протеаз ВИЧ, что ведёт к подавлению дезинтеграции молекул полипротеинов. В результате в ВИЧ-инфицированных клетках накапливаются проявляющие цитотоксическое действие нерасщеплённые предшественники gag-полипротеина.

Ингибиторы сборки дочерних популяций

Ингибиторы сборки дочерних популяций представлены производными тиосемикарбазонов. Практическое применение нашёл Г^γ-метилизатин-р-тиосемикарбазон (метисазон). Антивирусное действие обусловлено подавлением синтеза поздних белков (точнее, синтеза поздних мРНК или поздних полисом), что нарушает сборку дочерних популяций.

устойчивость микроорганизмов к действию антимикробных средств

Известно два типа устойчивости микроорганизмов к антимикробным средствам - естественная (природная) и приобретённая. Естественная резистентность относится к видовым признакам микроба. Она, в основном связана с отсутствием мишеней на клеточной стенке либо непроницаемостью последней для определённых ЛС.

Химиорезистентность у бактерий

К основным механизмам резистентности к действию антибактериальных средств относят способность к синтезу инактивирующих ферментов и модификация мишеней, с

которыми взаимодействует лекарственный препарат. Устойчивость к фармакологическим воздействиям обуславливают естественные (внутренние) и приобретённые факторы.

Устойчивость, не связанная с наследуемыми свойствами

Изменение метаболической активности клеток-мишеней. Большинство антибактериальных средств эффективно подавляет жизнедеятельность лишь активно растущих клеток. Значительная часть возбудителей, пребывая в латентной стадии, способна выживать в тканях в течение многих лет, оставаясь при этом резистентными к действию ЛС (например, микобактерии туберкулёза).

Уменьшение количества мишеней для ЛС. Проводимая химиотерапия способна уменьшать количество мишеней для действия препарата. Например, под действием пенициллинов

отдельные бактерии способны трансформироваться в L-формы, лишённые клеточной стенки и поэтому резистентные к действию антибиотиков с подобным механизмом действия.

Устойчивость, обусловленная изменениями генома

Мутации приводят к изменениям структурных белков (например, в структуре 30 S субъединиц рибосом, поринов или пенициллин-связывающих белков клеточной стенки) и ферментов (например, ДНК-зависимых РНК-полимераз или ДНК-гираз). Также возможны мутации в локусе гена, кодирующего чувствительность к ЛС.

Спонтанные мутации, наблюдаемые с частотой от 10^{-7} до 10^{-12} , играют очень незначительную роль в формировании резистентности.

Селекция штаммов. На фоне применения антибактериального средства часто происходит селекция штаммов, способствующая выживанию и последующему доминированию в популяции бактерий с резистентностью к ЛС. Подобным путём ряд штаммов золотистого стафилококка вырабатывает устойчивость к метициллину. Эти штаммы известны как MRSA [от англ. *methicillin resistant S. aureus*].

Плазмиды резистентности

Плазмиды резистентности обычно представлены внехромосомными молекулами ДНК. Бактерии, наиболее часто содержащие такие плазмиды, перечислены в табл. 9-1. Плазмиды могут включать один и более генов, кодирующих синтез ферментов, осуществляющих инактивацию или модификацию ЛС, а также опосредующих быструю элиминацию ЛС из клетки. Гены множественной устойчивости могут также кодировать транспозоны, интегрированные в плазмиды. Плазмиды грамотрицательных бактерий, или R-факторы [от англ. *resistance*, устойчивость] могут придать устойчивость к одному или нескольким ЛС одновременно. Плазмиды способны вызывать состояние эпидемической резистентности передачей соответствующих дочерних популяций плазмид посредством бактериальной конъюгации или трансдукции.

Механизмы формирования лекарственной устойчивости

Защиту бактерий от действия ЛС обеспечивает комплекс факторов, основными из которых считают ферментативную инактивацию препаратов и удаление либо маскировку рецепторов для них. Гены, кодирующие синтез продуктов, обуславливающих лекарственную устойчивость, могут быть хромосомными либо включёнными в состав R-плазмид, передаваемых в бактериальной популяции.

Ферментативная инактивация ЛС

Ферментативная инактивация ЛС реализуется внеклеточно и внутриклеточно. Изменения активности ферментов связаны с мутациями генов, кодирующих их структуру, либо с увеличением образования числа копий генов, кодирующих его (амплификация).

р-Лактамазы. Механизм действия обусловлен разрушением р-лактамного кольца в молекулах антибиотиков (рис. 9-11). Стафилококки секретируют ферменты после попадания препарата в окружающую их среду, что приводит к снижению его концентрации. Для них характерна популяционная резистентность - большая доза инфекционного агента вызывает более интенсивное развитие устойчивости. Синтез ферментов кодируют индуцибельные гены, то есть р-лактамазы более интенсивно образуются в присутствии препарата. Более тонкая клеточная стенка грамотрицательных бактерий позволяет антибиотикам проникать внутрь клетки, где они

взаимодействуют с р-лактамазами в периплазматическом пространстве. Грамотрицательные бактерии (эшерихии, синегнойная палочка) проявляют более выраженную резистентность (по сравнению с грамположительными бактериями), не зависящую от дозы инфекционного агента. По специфичности действия р-лактамазы, продуцируемые грамотрицательными бактериями, разделяют на несколько групп (взаимодействующие только с пенициллинами, или цефалоспоринами, или и с обеими группами антибиотиков). У грамотрицательных бактерий синтез β -лактамаз происходит перманентно, вне зависимости от наличия ЛС. Ацетилтрансферазы, фосфорилазы и нуклеотидазы стрептококков, стафилококков, энтеробактерий и синегнойной палочки модифицируют аминогликозиды, препятствуя их связыванию с рибосомами (механизм действия хлорамфеникол ацетилтрансферазы, продуцируемой стафилококками и энтеробактериями аналогичен действию ацетилтрансфераз аминогликозидов). Ферменты расположены на поверхности ЦПМ и инактивируют лишь часть препарата, проникшего в клетку, так что концентрация препарата в биологических жидкостях снижается незначительно (не более чем на 0,5%).

Изменения проницаемости клеточной стенки

Способность к проникновению ЛС в бактерию детерминирована самой природой клеточной стенки. Например, большинство антибиотиков легко попадает внутрь грамположительных бактерий, в то время как оболочка грамотрицательных микроорганизмов служит барьером для многих из них, в особенности, если мишени расположены в цитоплазме и препараты проявляют выраженную гидрофильность (тетрациклины, аминогликозиды, макролиды и др.). Порины - образующие каналы в мембране энтеробактерий белки, опосредующие проникновение многих гидрофильных антибиотиков; различные факторы (например, мутации) изменяют структуру канала и тем самым снижают проницаемость клеточной стенки. ЛПС ингибируют проникновение через клеточную стенку гидрофобных (липофильных) антибактериальных агентов. R-формы, лишённые полисахаридной капсулы и содержащие незначительные количества ЛПС, обычно чувствительны к большинству антибиотиков. Изменения электронного транспорта. Проникновение аминогликозидов прямо зависит от переноса электрона к атому кислорода; такие препараты неэффективны против анаэробов и факультативных бактерий, пребывающих в анаэробных условиях (например, при образовании абсцессов). Ферментирующие бактерии (например, стрептококки) также резистентны к их действию.

Прочие факторы

Отмечена способность ряда бактерий отвечать на фармакологическое воздействие повышением синтеза транспортных белков, выводящих препараты (например, тетрациклины) из клетки. Отдельные микроорганизмы (например, *Streptococcus pneumoniae*) способны трансформировать бактерицидную активность антибиотиков в бактериостатическую, эффект

достигается уменьшением проницаемости клеточной стенки и связыванием ЛС аутолитическими ферментами (муре-ингидролазами).

Химиорезистентность у вирусов

Устойчивость вирусов чаще развивается при многократном применении препаратов и передаётся последующим поколениям. Известно, что практически ко всем, заведомо немногочисленным противовирусным средствам, можно экспериментально получить устойчивые штаммы возбудителей. В основе изменения наследственных свойств вирусов лежат два различных процесса -

мутация и селекция; для каждого из них важную роль играет внешняя среда как индуктор мутаций и как селективный фактор. Принимая во внимание тот факт, что спонтанные мутации вирусов позвоночных животных возникают с частотой 10^{-5} - 10^{-6} , появление природных мутантов - достаточно редкое явление, и первоочередная роль в формировании резистентных штаммов принадлежит процессам селекции. Выделяют два основных пути преодоления устойчивости к химиопрепаратам: комбинированное применение препаратов с различными механизмами действия и использование ЛС, воздействующих на ранние этапы репродукции, что резко снижает вероятность проявления резистентности. В клинических условиях зарегистрированы случаи устойчивости к следующим препаратам.

Ацикловир. Выделены устойчивые штаммы герпесвирусов, мало патогенные для лиц с нормальным иммунным статусом, но представляющие серьёзную угрозу для больных с иммунодефицитами, так как такие штаммы способны вызывать диссеминированные поражения, включая поражения ЦНС. Механизм резистентности обусловлен отсутствием или модификациями структуры тимидин киназы; реже устойчивость опосредуют мутации генов, кодирующих структуру ДНК-полимеразу, что делает её невосприимчивой к эффектам прочих ингибиторов фермента.

Ганцикловир. Устойчивость обусловлена снижением уровня фосфорилирования ЛС в заражённых клетках в связи с изменениями структуры вирусной фосфотрансферазы и ДНК-полимеразы.

Зидовудин. Наблюдают почти 100% резистентность штаммов ВИЧ, выделенных от пациентов, получавших препарат более 6 мес, что в некоторой степени парадоксально, так как известны случаи длительного выживания больных со СПИДом, получавших препарат более 15 мес. Устойчивость обусловлена мутациями генов, кодирующих структуру ревертазы, что приводит к снижению аффинитета фермента к ЛС, но не способности транскрибировать РНК вируса.

Невирапин. Устойчивость развивается довольно быстро, иногда через несколько недель после начала химиотерапии; основные механизмы обусловлены точечными мутациями, вызывающими изменения структуры взаимодействующего с ЛС фрагмента молекулы обратной транскриптазы.

Цитозинарабинозид и рибавирин. В отличие от прочих известных противовирусных препаратов, до настоящего времени не выявлены штаммы, резистентные к цитозинарабинозиду и рибавирину.

методы определения чувствительности к антимикробным агентам

Критериями активности того или иного препарата выступают минимальная ингибирующая концентрация (МИК) - *наименьшая концентрация препарата, тормозящая рост тест-культуры* и минимальная бактерицидная концентрация (МБК) - *наименьшая концентрация препарата, вызывающая бактерицидный эффект.*

Серийные разведения в жидких средах

Метод серийных разведений в жидких средах позволяет установить МИК и МБК препарата для выделенного возбудителя. Исследования можно выполнять в различных объемах питательной среды (1-10 мл). Используют жидкие питательные среды, соответствующие пищевым потребностям возбудителя. В пробирках (обычно восьми) готовят серию двойных разведений препарата на питательной среде. Концентрацию уменьшают соответственно от 128 до 0,06 мкг/мл (базовая концентрация может варьировать в зависимости от активности препарата). Конечный объем среды в каждой пробирке составляет 1 мл. Контролем служит пробирка, содержащая чистую питательную среду. В каждую пробирку вносят по 0,05 мл физиологического раствора, содержащего 10^6 /мл микробных клеток. Пробирки инкубируют 10-18 ч при 37 °С (или до появления бактериального роста в контрольной пробирке). По истечении указанного срока результаты учитывают по изменению оптической плотности среды визуально или нефелометрически (рис. 9-12). Также можно применять модифицированный метод, используя среду, дополненную глюкозой и индикатором. Рост микроорганизмов сопровождается изменением рН среды и, соответственно, окраски индикатора.

Серийные разведения в плотных средах

Метод серийных разведений в плотных средах во многом аналогичен методу разведений в жидких средах, но определение МБК требует более сложных манипуляций. Готовят двойные серийные разведения препарата от 1:10 000 до 1:320 000, затем вносят по 1 мл каждого разведения в пробирки,

содержащие по 4 мл (или 9 мл) охлажденного до 45 °С агара. Процедуру проводят одной пипеткой с перенесением препарата от меньшей концентрации к большей. Содержимое пробирок можно быстро внести в чашки Петри, либо пробирки «скашивают» до застывания агара. Затем агар засевают исследуемой стандартизированной тест-культурой (петлей или специальным дозатором, засевающим чашку 36 видами различных микроорганизмов) и инкубируют 18-20 ч при 37 °С. После инкубации определяют МИК по отсутствию роста на чашках (пробирках), содержащих наименьшие концентрации препарата.

Диффузионные методы

Диффузионные методы менее точны, чем методы разведений, но более просты в исполнении и позволяют определять чувствительность к нескольким ЛС одновременно. Поэтому их чаще применяют на практике. Исходный метод. Чашки Петри заполняют питательной средой, соответствующей пищевым потребностям возбудителя, слоем в 4-5 мм. После застывания агар подсушивают в термостате при 37 °С в течение 20 мин. Посев тест-культуры можно осуществлять внесением в полуостывший агар, но чаще микробную взвесь настилают на агар. После равномерного распределения по поверхности излишки взвеси удаляют, а чашки подсушивают в термостате. В агаре пробивают лунки и в каждую вносят по 0,1 мл раствора исследуемых препаратов, после чего инкубируют 18 ч при 37 °С (срок инкубации может варьировать в зависимости от скорости роста микроорганизма). Активность учитывают, измеряя диаметр зоны подавления роста для каждого препарата. Метод дисков. В настоящее время вместо классического (исходного) метода повсеместно применяют модификацию, предложенную Кйрби и Бауэром и признанную стандартным тестом (рис. 9-13). После посева тест-культуры на агар наносят диски из фильтровальной бумаги, пропитанные различными антимикробными препаратами (используют коммерческие образцы, содержащие известные концентрации). После инкубации при 37 °С в течение времени, необходимого для роста выделенного возбудителя, проводят определение диаметра зоны торможения роста. Размеры зон, полученные в опыте, сравнивают с величинами зон задержки роста, указанными в инструкциях, прилагаемых к дискам, после чего выделенные микроорганизмы относят к чувствительным, умеренно чувствительным или резистентным.

Определение способности к образованию р-лактамаз

Среди многочисленных методов наибольшее распространение получил р-лактамазный тест метод с использованием дисков, пропитанных нитроцефином - цефалоспорином, изменяющим окраску диска при гидролизе антибиотика (рис. 9-14). После нанесения на колонию бактерий, продуцирующих р-лактамазы, диска с нитроцефином последний через 10 мин (для стафилококков через 60 мин) изменяет окраску с желтоватой на коричнево-малиновую.

- Положительный результат указывает, что бактерии резистентны ко всем р-лактамаза-чувстви-тельным пенициллинам. Метод не следует применять для определения чувствительности к цефалоспорином.

- Отрицательный результат не всегда свидетельствует о чувствительности бактерий к пеницил-линам, так как в ряде случаев резистентность может быть обусловлена изменениями структуры пенициллин-связывающих белков.

- Следует помнить, что способностью образовывать р-лактамазу обладают многие бактерии, и результаты теста следует рассматривать не более как полезную информацию для ограниченного числа клинически значимых организмов: *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, стафилококков, стрептококков и грамотрицательных анаэробов (при инфекциях, вызванных ими, результаты теста вполне информативны).

Выявление метициллинрезистентных стафилококков

Определение проводят при помощи полосок фильтровальной бумаги, содержащих 25 мкг мети-циллина (рис. 9-15). Предварительно производят посев исследуемой культуры и устойчивого эталонного штамма (для контроля качества полосок) параллельными штрихами. При наличии чувствительности к метициллину исследуемые бактерии образуют зоны задержки роста вокруг полоски.

Определение чувствительности к антибиотикам у анаэробных бактерий

Определение чувствительности к антибиотикам у анаэробных бактерий проводят сравнительно редко, например, при изучении нового ЛС, периодическом обследовании микробной флоры в стационарах, иногда индивидуально у некоторых пациентов. Используя соответствующую питательную среду, можно применять практически все изложенные в этой главе методы, исключая метод дисков. Следует помнить, что устойчивость к р-лактамам антибиотикам у грамотрицательных анаэробов *in vitro* часто обусловлена как способностью образовывать р-лактамазы, так и гидролизом самих препаратов (например, имипенема или цефокситина). Наиболее употребим метод серийных разведений в агаре.

Новые методы определения чувствительности бактерий к химиопрепаратам

В настоящее время разработаны компьютеризованные системы, автоматически проводящие выделение бактерий из исследуемых образцов и определяющие их чувствительность к различным ЛС. Их основное достоинство - освобождение персонала бактериологических лабораторий от большого объема рутинных исследований и четкая стандартизация полученных результатов. Широкое распространение этих устройств в отечественной практике ограничивает их стоимость. Среди более доступных методов наибольшее распространение нашли система Alamar и E-тест, совмещающие в себе достоинства метода серийных разведений и метода дисков.

Автоматические системы учёта результатов метода серийных разведений (например, Baxter MicroScan Ai1;o8CAK-4) - автоматизированные инкубационные системы со встроенными

фотометрами, нефелометрически регистрирующими рост бактерий или его отсутствие через 24 ч после внесения микроорганизмов в лунки микропанелей. Принцип действия основан на учёте разницы оптической плотности среды в лунках, где есть рост бактерий, и в лунках, где его нет. В настоящее время разработаны устройства (например, ВИТЕК), позволяющие получить результаты уже через 4-10 ч.

Система Alamar представляет собой панель с лунками, в каждую помещены диски из фильтровальной бумаги, содержащие различные концентрации антимикробных препаратов и пропитанные индикатором Alamar Blue. После внесения в лунку бактерий диск синеет, а при их дальнейшем росте его окраска меняется на розовую. Порядок размещения дисков в лунках соответствует двойным серийным разведениям препарата. Последняя лунка с синим диском, предшествующая лункам с порозовевшими дисками, соответствует МИК препарата.

Е-тест [от англ. *ellipse*, эллипс, так как при наличии чувствительности образуется зона задержки роста эллиптической формы] - модификация метода дисков, но вместо последних используют полоски из фильтровальной бумаги, пропитанной различными концентрациями препаратов, каждая из этих зон имеет соответствующую маркировку. Полоски помещают на поверхность агара. Если бактерии чувствительны к действию препарата, вокруг участков полоски, содержащих его ингибирующие концентрации, образуется эллипсоидная зона. Её форма обусловлена действием сразу нескольких концентраций препарата. МИК соответствует участок полоски, где её пересекает граница зоны задержки роста (рис. 9-16).

побочные эффекты антибиотикотерапии

Эффективность применения антимикробных препаратов различных классов ограничивают их многочисленные побочные эффекты (токсические и аллергические реакции, дисбактериозы и т.д.).

Токсические реакции

Характер побочных явлений зависит от органотропности препарата, его дозировок и способов введения.

Поражения паренхимы печени наиболее часто вызывают тетрациклины, рифампицин и левомицетин. Неграмотное применение последнего может привести к развитию своеобразного поражения, известного как синдром «серого ребёнка». Препарат метаболизирует в печени, образуя глюкурониды. При врождённой недостаточности глюкуронил трансферазы (например, при синдромах Жильебёра-Майленграхта и Крйглера-Найяра) левомицетин накапливается в крови в токсических концентрациях, развиваются общая слабость, рвота, появляется серый оттенок кожных покровов, боли в сердце, отёки и гепатомегалия, возможен летальный исход.

Поражения почек нередко наблюдают при назначении амфотерицина В, связывающегося с холестерином мембран эпителия почечных канальцев. Нефротоксическое действие могут также оказать линкомицин, аминогликозиды (последние также обладают ототоксичностью вследствие влияния на VIII пару черепных нервов).

Поражения органов кроветворения. Нарушения функций костного мозга (анемии, лейко- и тромбоцитопений, вплоть до апластического криза) относят к наиболее тяжёлым осложнениям антибиотикотерапии. Подобные поражения способен вызывать левомицетин. В ряде случаев проявления апластической анемии возникают даже после однократного приёма препарата.

Дисбактериозы

Дисбактериозы (дисбиозы) обычно развиваются после применения антибиотиков широкого спектра, подавляющих жизнь многих бактерий, в том числе и непатогенных. В результате конкурентный баланс в микробных ценозах резко нарушается, что даёт устойчивым видам возможность колонизировать свободные участки. Этими химиорезистентными бактериями обычно являются условно-патогенные виды. Их чрезмерное размножение может приводить к развитию вторичных эндогенных инфекций. Наиболее часто наблюдают дисбактериозы кишечника, вызванные приёмом тетрациклинов внутрь. Для профилактики этого осложнения следует назначать препараты узкого спектра, контролировать вероятность избыточного роста грибов и широко использовать эубиотики.

Аллергизирующее действие

Применение антибиотиков может вызывать аллергические реакции, их спектр варьирует от различных кожных высыпаний до анафилактического шока. Наиболее выраженным аллергизирующим действием обладают природные антибиотики, особенно пенициллины. В значительной степени это связано с широким распространением грибов-продуцентов в окружающей среде и высокой сенсibilизирующей активностью их продуктов. В подобных ситуациях, применение антибиотиков играет роль введения разрешающей дозы для развития аллергической реакции. Степень её проявления прямо пропорциональна степени сенсibilизации организма.

Иммунодепрессивные эффекты

Многие антибиотики способны снижать функциональную активность защитных факторов организма. Во многом эти свойства обусловлены цитостатическим эффектом препаратов на иммуно-компетентные клетки. Поскольку эукариотические клетки практически лишены специфических мишеней для ЛС, это действие носит неспецифический характер и направлено на самые различные клеточные популяции. Среди применяемых антибиотиков наиболее выраженным иммунодепрессивным эффектом обладают препараты, способные подавлять функции органов кроветворения, например, левомецетин. Особо следует упомянуть антибиотик циклоспорин, первоначально разработанный как противогрибковое средство, но проявивший выраженное ингибирующее действие на развитие клеточных цитотоксических реакций. Это свойство побудило использовать его при пересадках органов в качестве препарата, подавляющего отторжение трансплантата.

ГЛАВА 10. УЧЕНИЕ ОБ ИММУНИТЕТЕ

В этой главе рассмотрены основные этапы развития иммунологии, виды и факторы невосприимчивости к возбудителям инфекционных заболеваний, организация и функции иммунной системы и её расстройства, а также иммунодиагностика, иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний.

ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ИММУНОЛОГИИ

Термин «иммунитет» происходит от латинского «*immunitas*» - освобождение от податей или повинностей. Эта привилегия была распространена в Древнем Риме и средневековой Европе (сравните с современным термином «депутатский иммунитет»). Лицо, на которое оно распространялось, называлось «*immunis*» (иммунный). Невозможно установить, кто именно ввёл эти термины в медицину, но они удивительно точно отражают состояние освобождения от «дани», которую человек «платит» патогенным микробам. Иммунология - специальная наука, изучающая проявления иммунитета; сформировалась как отдельное направление науки лишь во второй половине XX в. Гораздо более продолжительна история иммунологии как прикладного раздела инфекционной патологии и микробиологии. Многовековые наблюдения за заразными (то есть

инфекционными) болезнями заложили фундамент современной иммунологии. В этом отношении наглядны комментарии Фукидда в «Истории Пелопонесской войны» (V в. до н.э.): «...несмотря на широкое распространение в войсках эпидемии чумы, никто не заболел дважды, по крайней мере смертельно... и для захоронения трупов использовали переболевших». И в настоящее время достижения иммунологии находят основное прикладное применение в области лечения и профилактики инфекционных болезней. И по сей день термин «иммунитет» в общеупотребительном смысле связывают с устойчивостью к инфекционным болезням. В контексте накопленных данных подобные представления устарели; более корректен термин «невосприимчивость». История изучения механизмов невосприимчивости, включающая первые «любопытные факты» и глобальные открытия, - одна из ярких страниц медицины.

Эвристический период

Поскольку иммунология долгое время оставалась направлением микробиологии, этапы развития этих наук во многом сходны. В начале было эмпирическое, точнее - эвристическое познание, основанное на постепенном накоплении фактов и выяснении истины. За много веков до нашей эры появились описания невосприимчивости к инфекционным заболеваниям. Не менее древними являются попытки использовать наблюдения в практических целях, то есть предохранить человека от заболевания. Применительно к оспе эти попытки оказались успешными: на протяжении многих веков до н.э. в Индии, Китае, странах античного мира вдыхали, втирали в неповреждённые или травмированные кожу и слизистые оболочки небольшие порции материала от выздоравливающих людей. Интересно, что подобные введения материала (сейчас известно, что это Ag) небольшими дозами применяли и для иммунизации против змеиных и прочих ядов (первенство в разработке этого метода приписывают Митридату Евпатору). Вышеупомянутый способ вакцинации против натуральной оспы - вариоляция [от лат. *variola*, оспа] - получил сравнительно широкое распространение на Востоке. Только в 1721 г. жена английского посла в Стамбуле леди Мэри Монтегю перенесла этот метод в Европу. Следует отметить, что вариоляция представляла опасную процедуру, вероятность развития оспы составляла 1-20 на 1000 привитых. В России в числе первых этой процедуре подвергла себя Екатерина II. Попытки перенести методику вариоляции для профилактики других инфекций успеха не имели. Тем не менее, возможность искусственного создания невосприимчивости была доказана, что послужило предпосылкой для открытия вакцинации. В 1796 г. Эдвард Дженнер доказал, что прививка человеку вируса коровьей оспы - вакцинация [от лат. *vaccinus*, коровий] - эффективна для профилактики натуральной оспы. В течение следующих 2 лет было вакцинировано более 100 000 человек. Открытие вакцинации - гениальное эмпирическое достижение - не привело, однако, к дальнейшему развитию иммунологии инфекционных болезней; для этого требовались знания их этиологии и патогенеза.

Становление научного изучения иммунитета

Первые попытки объяснить невосприимчивость к заразным болезням предприняли англичане Т. Люис и Д. Каннинхэм (1872). Они связывали невосприимчивость со способностью крови противостоять брожению. В 1877 г. М. Рейнб доказал, что введение крови телят, вакцинированных против коровьей оспы, прекращает её течение у больных животных. Этот опыт можно расценивать как предвестник иммунопрофилактики, основы которой заложили открытия Кбха и особенно Пастера. Последний доказал возможность ослабления вирулентности, то есть аттенуации возбудителей. Собственно, история иммунологии как науки начинается с опыта Пастера по иммунизации овец вакциной против сибирской язвы в местечке Пюи ле Фор (5 мая 1888 г.). Исследования Пастера позволили научно обосновать главный принцип борьбы с инфекционными заболеваниями - создание массовой невосприимчивости. Э. Ру и А. Иерсен выделили дифтерийный токсин, а Э. Беринг и Ш. Китазато открыли возможность получения дифтерийного и столбнячного антитоксинов (1890-1892), что заложило основы иммунотерапии. М. Грубер и Г. Дархэм (1896) выявили агглютинины у больных и иммунизированных лиц и

создали предпосылки для разработки серологической диагностики инфекционных болезней. Р. Пфайффер и В. Коллэ (1898) открыли новые горизонты вакцинопрофилактики, применяя убитые микробы. В 1889 г. Х. Бюхнер доказал, что бактерицидное действие крови не связано с эритроцитами; он открыл вещество сыворотки крови и назвал его алексином [от греч. *alexo*, защищать]. Через 5 лет В.И. Исаев и Пфайффер описали фенбмен разрушения холерного вибриона в присутствии АТ и алексина. Уже через год Ж. Борде показал, что алексин взаимодействует с комплексом Аг-АТ, дополняя и завершая антимикробное действие АТ. По этой причине автор присвоил алексину название комплемент [от лат. *complementum*, дополняющий; делающий полным]. В 1909 г. П.Л. Лащенко открыл протеолитический ферментлизозим, селективно повреждающий клеточные стенки, содержащие пептидогликаны. Позднее лизоцим выделил в чистом виде А. Флеминг (1922). Было установлено, что микробицидные свойства сыворотки крови обуславливают и другие вещества - плакйны тромбоцитов [от лат. *plaga*, повреждение], р-лизины, пропердин [от лат. *pro-*, для, + *perdere*, разрушать] и др. Установив действие формалина и высоких температур на токсины, Г. Рамбн разработал методику получения столбнячного и дифтерийного анатоксинов (1915). Полученные им данные стали основой для создания антитоксических вакцин, а изучение «вспомогательных веществ»- адьювантов [от лат. *adjuvantis*, помогать кому-либо] (1930-1932) позволило получить с их помощью гипериммунные сыворотки.

Разработка теорий иммунитета

Выявление роли патогенных микроорганизмов в развитии инфекционных болезней, возможность искусственного создания невосприимчивости подтолкнули к изучению факторов защиты организма от инфекционных агентов. Пастер предложил теорию «исчерпанной силы»; согласно этой теории «невосприимчивость» представляет состояние, при котором организм человека (как питательная среда) не поддерживает развитие микробов. Однако автор быстро понял, что его теория не может объяснить ряд наблюдений. В частности, Пастер показал, что если заразить курицу сибирской язвой и держать её ноги в холодной воде, то у неё развивается заболевание (в обычных условиях куры невосприимчивы к сибирской язве). Развитие фенбмена обуславливало снижение температуры тела на 1-2 °С, то есть ни о каком исчерпывании питательной среды в организме речь идти не могла.

Фагоцитарная теория иммунитета

В 1883 г. появилась теория иммунитета, опирающаяся на эволюционное учение Чарлза Дарвина и основанная на изучении пищеварения у животных, располагающихся на разных ступенях биологического развития. Автор новой теории, И.И. Мечников, обнаружил сходство внутриклеточного переваривания веществ у амёб, клеток энтодермы кишечнорастных и некоторых клеток мезенхимного происхождения (моноцитов крови, тканевых макрофагов). Мечников ввёл термин «фагоциты» [от греч. *phagos*, поедать, + *kytos*, клетка], а позднее предложил разделять их на микрофаги и макрофаги. Такому разделению способствовали и достижения П. Эрлиха, дифференцировавшего посредством окраски несколько типов лейкоцитов. В классических работах по сравнительной патологии воспаления И.И. Мечников доказал роль фагоцитирующих клеток в элиминации патогенов. В 1901 г. в Париже вышел его монументальный итоговый труд «Невосприимчивость в инфекционных болезнях». Значительный вклад в распространение фагоцитарной теории внесли работы Э. Ру и учеников И.И. Мечникова (А.М. Безредка, И.Г. Савченко, Л.А. -Тарасевич, Ф.Я. Чистбвич, В.И. Исаев).

Гуморальная теория иммунитета

Ещё до появления фагоцитарной теории англичане Т. Льюис и Д. Каннигэм в 1876 г. доказали, что кровь некоторых животных способна противостоять брожению. Позднее было установлено, что плазма и сыворотка крови способны уничтожать - склеивать (*агглютинировать*) и осаждать (*преципитировать*) микробы; эта способность

возрастает после вакцинации. Как выяснилось, не только бактерии и их продукты, но и другие вещества (их назвали Аг) способны вызывать выработку особых веществ (их назвали АТ), ответственных за агглютинацию и преципитацию. Отсюда вытекало, что помимо фагоцитоза организм обладает и другими способами защиты от микроорганизмов. Критику фагоцитарной теории начал Г.Н. Габричевский, доказавший, что решающую роль в элиминации возбудителя возвратной лихорадки играет сыворотка крови, а не фагоциты. П. Баумгартен и Г. Наттелл показали справедливость этого положения по отношению к сибирской язве. Э. Райт обнаружил АТ, стимулирующие фагоцитарные реакции и назвал их опсонинами. Положение о ведущей роли АТ в невосприимчивости поддержал Р. Кох, выдвинувший гуморальную теорию иммунитета. Полемика между сторонниками обеих теорий (фагоцитарной, или клеточной, и гуморальной) переросла в настоящую «войну», в которой мишенями часто становились её участники, а не теории. Позднее учёные поняли, что к познанию функций иммунной системы во всей её сложности нельзя подходить на основе взаимоисключающих положений, а правильный путь включает сопоставление и осмысление открытий, часто кажущихся противоречивыми, но согласующихся по сути. Сам И.И. Мечников впоследствии так охарактеризовал иммунитет: *«Под невосприимчивостью к заразным болезням надо понимать общую систему явлений, благодаря которым организм может выдержать нападение болезнетворных микробов».*

- Шведский иммунолог Н.К. Йёрне (1955) предложил теорию естественного отбора. Согласно этой теории каждая клетка синтезирует большой ассортимент АТ; некоторые из них могут быть комплементарными проникшему Аг, то есть Аг - не индуктор иммунного ответа, а селекционирующий фактор.

- Более прогрессивной оказалась теория Н.Ф. Гамалеи (1928), согласно которой АТ появляются только после контакта с Аг и образующего на АТ некие «отпечатки». Последние, отрываясь от клетки циркулируют в крови и, будучи «негативом» Аг, связывают его. Это положение развили Ф. Брейнль, К. Ландштайнер, Л. Пблинг и Ф. Гбровиц, предложившие теорию «прямой матрицы». Авторы рассматривали АТ как «глобулиновые молекулы, изменяющиеся под влиянием Аг». То есть каждый Аг индуцирует специфические изменения конечной структуры углобулинов, обуславливающие специфичность образования комплекса Аг-АТ. Эта теория удовлетворяла практически всем известным положениям, но открытие фенбмена иммунной толерантности показало его явную недостаточность.

Иммунная толерантность и клонально-селекционная теория иммунитета

По мере развития знаний о структуре и функциях иммунной системы выяснилось, что многие защитные реакции организма направлены не только против Аг микробов, но и против клеток других организмов того же вида и даже собственного организма. П. Медавэр (1945) установил, что клетки животного-донора, внесённые животному-реципиенту, всегда уничтожаются иммунными механизмами. Этот иммунный барьер способен преодолевать лишь ткани, взятые в организме и пересаженные в этот же организм (например, пересадка кожи с туловища на руки при ожогах). Возникал вопрос: почему ткани конкретного индивида для него самого не обладают антигенными свойствами? В 1953 г. М. Хашек установил, что контакт с Аг в плодном периоде приводит к развитию «неотвечаемости» на аналогичный Аг у взрослого животного. В 1957 г. ответ на эти вопросы дал Ф.М. Бернет, обосновавший явление иммунной «терпимости» (толерантности). Сам фенбмен открыл английский иммунолог Биллинхэм, установивший, что иммунизация Аг у плода приводила к тому, что его повторное введение взрослому животному не вызывало образования АТ. Таким образом, *контакт организма с Аг в антенатальном периоде приводит к развитию толерантности к нему во взрослом состоянии.* Открытие иммунной толерантности позволило иначе взглянуть на проблему пересадки органов, а внедрение в практику иммунодепрессантов - успешно решать задачи современной трансплантологии. Описание фенбмена иммунной толерантности позволило Бернету и Феннеру предложить теорию «непрямой матрицы». Согласно этой теории вещества организма, способные

выступать в роли Аг, несут некую «метку», защищающую их от действия собственных иммунных механизмов. Эта теория во многом составила основу концепции клонального отбора иммунокомпетентных клеток.

- У плода существуют две категории иммунокомпетентных клеток: реагирующие с Аг организма и с чужеродными Аг. Приближаясь к завершению эмбриональной стадии клетки первой категории теряют способность размножаться (то есть образовывать клоны). Во взрослом состоянии организм обладает им-мунокомпетентными клетками, реагирующими только с чужеродными Аг.

- В соответствии с этой концепцией Бернет предположил, что *«центральный биологический механизм - механизм распознавания своего и чужого»*. Он постулировал, что: *«величайший смысл иммунитета, по-видимому, заключается в той роли, которую он играет в процессах, направленных на поддержание структурной и функциональной целостности любого сложного организма»*.

Анафилаксия и аллергия

Анафилаксия

В 1839 г. французский невропатолог Ф. Мажандй заметил, что кролики с каждым разом всё труднее переносят введение яичного белка и умирают после третьей инъекции. Позднее врачи столкнулись со случаями шока и острой остановки сердца после повторного введения дифтерийной антитоксической сыворотки, а американский иммунолог Т. Смит воспроизвёл такой шок в эксперименте. Французские исследователи Ш. Рише и П. Портье (1902) установили аналогичный эффект у экстрактов морского кишечнорастворимого *Physalia physalia* (португальский военный кораблик). Они показали, что первое введение как бы «подготавливает» организм для повторного. В настоящее время этот феномен известен как сенсibilизация [от лат. *sensibilitas*, чувствительность], то есть повышение чувствительности организма к воздействию какого-либо фактора окружающей или внутренней среды. Последующее введение играет «разрешающую» роль, вызывая видимые эффекты (бронхоспазм, остановка сердца и др.). Для того чтобы подчеркнуть негативную роль сенсibilизации, Рише дал явлению название анафилаксия [от греч. ана, против, + (*pro-*)*phylaxis*, защита] - сенсibilизация выступает против «защиты организма». Таким образом было доказано, что несчастные случаи, вызванные лечебными сыворотками, обусловлены содержащимися в них чужеродными белками (сыворотки изготавливались из крови лошадей, овец и морских свинок). Чаще всего смерть наступала после повторного введения сыворотки. Позднее оказалось, что Рише сильно преувеличил негативный эффект сенсibilизации организма, проведя за счёт приставки анаглубокую черту между анафилаксией и иммунными реакциями - явлениями, родственными по своей природе. В 1903 г. Артнос описал феномен местной анафилаксии (позднее получивший его имя) - развитие местной некротической реакции после подкожного введения разрешающей дозы Аг. Способ и место попадания сенсibilизирующей (то есть первой) дозы при этом не имели значения. Проблема анафилаксии побудила многих исследователей к разработке методов её преодоления. Первым, кому это удалось, стал известный отечественный микробиолог А.М. Безредка, открывший (1907) метод десенсibilизации - дробного введения лечебных сывороток в малых дозах, снижающих чувствительность организма к сенсibilизирующему агенту (аллергену). Для этого первоначально вводят небольшую дозу подкожно перед основной дозой; либо несколько малых, но возрастающих доз внутривенно с интервалом 15-30 мин.

Аллергия

Несомненно с анафилаксией обладает другое явление, впервые описанное Кохом. После подкожного введения взвеси убитых туберкулёзных палочек заражённым туберкулёзом морским свинкам на месте инъекции развивалась местное воспаление. Таким

образом, вторая инъекция «выявляла» болезнь. Позднее именно этот метод стал одним из основных способов выявления туберкулёза. Подробные исследования явления провёл К. фон Пирке, изучавший осложнения после вакцинации против оспы. Руководствуясь наблюдениями Дженнера (появление иногда после прививки местной сыпи), он установил, что после повторного введения вакцины через несколько часов появляются кожные высыпания. Они не содержали вирус и, следовательно, были результатом реакции организма, а не действия вируса. Фон Пирке дал этому явлению название «аллергия» [от греч. *allos*, другой, + *ergon*, работа]; ответ организма на вторичную вакцинацию он назвал ранней аллергической реакцией. Позднее было установлено, что аллергию также вызывают факторы, не имеющие отношения к живым организмам (лекарства, химические вещества). Феномен анафилаксии и аллергические реакции нельзя смешивать, хотя оба состояния обусловлены сенсibilизацией организма, вызванной Аг. В 1921 г. О. Прауснитц и Х. Кюстнер доказали возможность переноса факторов гиперчувствительности с помощью сыворотки крови больного, получившего впоследствии название «реакции Прауснитца-Кюстнера». Вскоре было установлено, что этот сывороточный фактор принадлежит к фракции углобулинов; он получил название *кожносен-сibilизирующее АТ*, или *атопический реагин*. В 1967 г. супруги Ишизака установили, что эти факторы - Ig класса E.

Задачи современной иммунологии

Вторая половина XX в. характеризуется бурным развитием иммунологии. Иммунная система была определена как *комплекс биологических механизмов организма, направленных на поддержание структурного и функционального гомеостаза. Элементы иммунной системы распознают «свои» и «чужие» Аг и удаляют всё генетически отличное от него как чужеродное. Биологическая цель иммунных реакций - поддержание индивидуальности конкретного организма и отдельного вида; защита его от различных инфекционных и неинфекционных болезней.* В настоящее время иммунология - биомедицинская дисциплина, включающая общие и частные направления. Общая иммунология изучает молекулярные и клеточные основы иммунных реакций, их регуляцию, генетический контроль, а также принципы наследования клеточных Аг и роль иммунных механизмов в процессах индивидуального развития. Частная иммунология носит прикладной характер; основные направления - вакцинология, иммуноонкология, иммунопатология, аллергология, трансплантационная иммунология.

Вакцинология изучает методы искусственного создания невосприимчивости к инфекционным агентам и принципы разработки новых вакцинных препаратов.

Трансплантационная иммунология изучает иммунную несовместимость тканей, отторжение трансплантатов, условия и способы преодоления несовместимости.

Имуноонкология - наука, изучающая роль иммунной системы в развитии злокачественных заболеваний.

Имунопатология и аллергология изучают нарушения иммунных реакций и механизмы развития извращённых реакций на Аг.

Разработка новых методов иммунодиагностики заболеваний, создание средств и способов коррекции иммунных нарушений - не менее актуальные направления современной иммунологии.

ВИДЫ НЕВОСПРИИМЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Многообразие систем защиты организма позволяют человеку оставаться невосприимчивым к действию инфекционных агентов. Поскольку инфекционные поражения могут быть системными или местными, то *невосприимчивость (иммунитет)* также подразделяют на *общую* и *местную*. Защитные механизмы могут быть направлены против различных Аг

микроорганизмов. В связи с этим реакции, обеспечивающие невосприимчивость, разделяют на *антимикробные* и *антитоксические*. Различают *невосприимчивость врождённую и приобретённую*.

- Местный иммунитет обуславливает защиту кожи и слизистых оболочек от патогенных воздействий. Основные эффекторный механизмы местной невосприимчивости - секреторные АТ (относятся к IgA) и фагоциты. Известный отечественный микробиолог и иммунолог А.М. Безредка расценивал способность местных защитных реакций обеспечивать общую невосприимчивость организма к инфекционному агенту как основную форму защиты, что легло в основу предложенной им теории иммунитета.

- Общий иммунитет обеспечивает генерализованную защиту внутренней среды организма от патогенных воздействий.

Видовой иммунитет

Видовой, или видоспецифический, иммунитет - генетически закреплённая невосприимчивость, присущая каждому виду. Например, человек никогда не заболевает чумой крупного рогатого скота. Крысы резистентны к дифтерийному токсину и, по выражению У. Бойда (1969), «...эта устойчивость наследуется так же, как крысиные уши и хвост». В пределах вида имеются особи, не восприимчивые к некоторым патогенам (например, среди людей встречаются лица, устойчивые к возбудителям кори или ветряной оспы). Одна из форм врождённой невосприимчивости связана с переносом IgG от матери к плоду через плаценту (передача по вертикали). Это обеспечивает устойчивость новорождённого ко многим возбудителям в течение некоторого, обычно индивидуально варьирующего срока. Видовой иммунитет может быть *абсолютным* (например, нечувствительность человека к вирусам бактерий) или *относительным* (например, восприимчивость к возбудителю сибирской язвы у кур появляется после переохлаждения). Как и всякое биологическое явление, невосприимчивость к инфекциям варьирует (по типу нормального распределения) у различных индивидуумов одного вида или расы. Индивидуальная невосприимчивость проявляется среди особей одного вида, например некоторые лица не болеют корью. Индивидуальная невосприимчивость зависит от состояния иммунной и эндокринной систем, качества питания, наличия сопутствующей патологии и др. Нередко индивидуальную восприимчивость или резистентность к инфекциям детерминируют генетические особенности. Например, лица с дефицитом глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы более восприимчивы к тропической малярии, вызываемой *Plasmodium falciparum*. А больные серповидноклеточной анемией более устойчивы к заражению тропической малярией. Расовая невосприимчивость. Внутри одного вида могут существовать значительные расовые вариации видовой невосприимчивости. Например, многие представители негроидной расы оказываются более устойчивыми к малярии, вызываемой *Plasmodium vivax*, если на их эритроцитах отсутствует Ag *Duffy*, являющийся рецептором для паразитов. С другой стороны, вероятность развития диссеминированного кокцидиоидомикоза у выходцев из Африки в 10 раз выше, чем у европейцев.

Приобретённый иммунитет

Приобретённый иммунитет формируется в течение жизни индивидуума и не передаётся по наследству; может быть естественным или искусственным.

Естественно приобретённый иммунитет развивается после перенесённого инфекционного заболевания, протекавшего в клинически выраженной форме, либо после скрытых контактов с микробными Аг (так называемая бытовая иммунизация). В зависимости от свойств возбудителя и состояния иммунной системы организма невосприимчивость может быть пожизненной (например,

после кори), длительной (после брюшного тифа) или сравнительно кратковременной (после гриппа).

Инфекционный (нестерильный) иммунитет - особая форма приобретённой невосприимчивости; не является следствием перенесённой инфекции, обусловлен наличием инфекционного агента в организме. Невосприимчивость исчезает сразу после элиминации возбудителя из организма (например, туберкулёз; вероятно, малярия).

Искусственно приобретённый иммунитет. Состояние невосприимчивости развивается в результате вакцинации, серопротекции (введения сывороток) и других манипуляций.

- *Активно приобретённый иммунитет* развивается после иммунизации ослабленными или убитыми микроорганизмами либо их Аг. В обоих случаях организм активно участвует в создании невосприимчивости, отвечая развитием иммунного ответа и формированием пула клеток памяти. Как правило, активно приобретённая невосприимчивость устанавливается через несколько недель после иммунизации, сохраняется годами, десятилетиями или пожизненно; по наследству не передаётся. *Вакцино- или иммунопротекция* - важнейший инструмент в борьбе с инфекционными заболеваниями - преследует создание активно приобретённой невосприимчивости.

- *Пассивно приобретённый иммунитет* достигается введением готовых АТ или, реже, сенсibilизированных лимфоцитов. В таких ситуациях иммунная система реагирует пассивно, не участвуя в своевременном развитии соответствующих иммунных реакций. Готовые АТ получают иммунизацией животных (лошадей, коров) или людей-доноров. Препараты представлены чужеродным белком, и их введение нередко сопровождается развитием неблагоприятных побочных реакций. По этой причине подобные препараты применяют только с лечебными целями и не используют для плановой иммунопротекции. В целях экстренной протекции применяют столбнячный антитоксин, антирабический Ig и др. Широкое распространение нашли антитоксины - АТ, нейтрализующие токсины микроорганизмов. Пассивно приобретённая невосприимчивость развивается быстро, обычно через несколько часов после введения препарата; сохраняется недолго и исчезает по мере удаления донорских АТ из кровотока.

ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ОТ ИНФЕКЦИОННЫХ АГЕНТОВ

Любой микроорганизм, попавший на кожу и слизистые оболочки, подвергается воздействию защитных факторов. Неповреждённые покровы организма (кожа и слизистые оболочки) не проницаемы для большинства представителей нормальной микрофлоры и патогенных микроорганизмов. Структуры, расположенные под эпидермисом и эпителием слизистых оболочек, стерильны. Проникновение микроорганизмов через эти барьеры может вызвать развитие инфекционного процесса. Функции этих барьеров и других защитных факторов многообразны и не ограничены только антимикробной защитой. В настоящем разделе рассмотрены системы, обеспечивающие барьерные функции, распознавание, уничтожение и элиминацию инфекционных агентов. Подобные *факторы защиты* разделяют на *конституциональные* (врождённые) и *приобретённые* (индуцированные). Их не следует рассматривать обособленно, так как они функционируют в постоянном взаимодействии, образуя целостную систему защиты. Факторы защиты характеризуют скорость протекания инфекционного процесса и определяют уничтожение и удаление возбудителя из организма. В зависимости от свойств возбудителя роль отдельных факторов защиты может быть различной; некоторые компоненты могут быть вообще не задействованы.

Конституциональные факторы защиты образуют естественные барьеры на путях проникновения инфекции; во многом определяют особенности строения (конституции) конкретного организма. Нередко применяют термин «факторы неспецифической резистентности», что отражает неизбирательный по отношению к инфекционному агенту характер ответа. Понятие

«неспецифический иммунитет» некорректно, так как иммунный ответ всегда строго специфичен в отношении индуктора. Более правильно отождествлять активность факторов неспецифической резистентности с воспалительными реакциями, так как в них задействованы одни и те же популяции клеток и аналогичные растворимые факторы (см. далее).

Индукцибельные факторы защиты - специфические реакции иммунной системы, индуцированные проникновением инфекционного или любого другого агента, обладающего признаками чужеродности (злокачественная клетка, трансплантат и др.).

Конституциональные факторы резистентности организма

Конституциональные факторы относятся к эволюционно наиболее древним. Они крайне многообразны, а механизмы их функционирования переменны; конституционные факторы объединяет неспецифичность действия. Например, наиболее простой фактор устойчивости слизистых оболочек - так называемая *ареактивность клеток*, связанная с отсутствием рецепторов, на которых адсорбируются вирусы или фиксируются токсины. Факторы неспецифической резистентности разделяют на *механические*, *физико-химические* и *иммунологические*. Основа первых - анатомические барьеры (кожа и слизистые оболочки). Они служат первой линией защиты против возбудителей инфекций. Строение, физические свойства, секреторные вещества физико-химических барьеров не позволяют микробам попасть во внутреннюю среду организма, часто убивая либо ингибируя их рост (табл. 10-1).

Механические барьеры

Кожа и слизистые оболочки эффективно защищают организм человека от патогенов. Необходимое условие проникновения многих возбудителей - микротравмы кожи и слизистых оболочек, либо укусы кровососущих насекомых.

Кожные покровы снабжены «непрístupным» многослойным эпителием. Эта «линия обороны» подкреплена секретами кожных желёз и постоянным слущиванием отмерших слоёв эпидермиса. Нарушение целостности эпидермиса (например, при травмах или ожогах) - серьёзная предпосылка для микробных инвазий, особенно при контактах с инфицированными субстратами (почва, растительные остатки и т.д.). Следует помнить, что помимо барьерной роли кожа снабжена мощной системой иммунной защиты (лимфоциты, клетки системы моно-нуклеарных фагоцитов).

Слизистые оболочки могут иметь специальные анатомические структуры (например, волоски в носовых ходах или реснички мерцательного эпителия трахеи). Погружённые в слизь реснички формируют волны однонаправленных колебаний и перемещают слизь с заключёнными в ней частицами вверх (к выходу их дыхательных путей) по поверхности эпителия (процесс мукоцилиарного транспорта).

Физико-химические факторы

Кожные покровы. Механические барьерные свойства кожи дополняются *секретами сальных и потовых желёз с низкими рН*. Они сами проявляют прямую бактерицидную активность (за счёт действия жирных кислот) либо снижают рН кожи до неблагоприятных значений (за счёт секреции уксусной, молочной и других кислот).

Слизистые оболочки. Слизистые оболочки имеют множество защитных факторов - от кислых значений рН желудка до секреции ферментов и АТ. Резистентность слизистых оболочек дополняют различные физиологические механизмы, например кашлевой рефлекс, предотвращающий аспирацию различных объектов. Кроме того, большинство слизистых оболочек колонизирует нормальная микрофлора, противодействующая размножению патогенных микроорганизмов. *Слизь*. Слизистые оболочки покрыты слоем слизи - организованной гелеобразной гликопротеиновой структуры, задерживающей и фиксирующей различные объекты,

в том числе микроорганизмы. Слизь гидрофильна; через неё могут диффундировать многие образующиеся в организме вещества, в том числе бактерицидные (например, лизоцим и пероксидазы). *Лизоцим*. В отделяемых слизистых оболочках содержится лизоцим - фермент, лизирующий клеточные стенки преимущественно грамположительных бактерий. Лизоцим присутствует и в других жидкостях организма (например, в слюне, слёзной жидкости). *Сурфактант*. В нижних участках воздухоносных путей и дыхательном отделе лёгкого слизи нет, но поверхность эпителия покрыта слоем сурфактанта - поверхностно-активного вещества, способного фиксировать и уничтожать грамположительные бактерии. *Ig*. На поверхность эпителия ЖКТ и дыхательного тракта постоянно выделяется *секреторный IgA*. *Кислая среда*. Большинство патогенных бактерий чувствительно к низким значениям pH, что обуславливает их гибель под действием кислот, содержащихся в желудочном соке и жёлчи. Во влагалище взрослых женщин кислую pH поддерживают лактобациллы, ингибируя размножение дрожжей и анаэробных грамотрицательных бактерий.

Факторы иммунобиологической резистентности

Если возбудитель преодолевает поверхностные барьеры, его встречают факторы второй *иммунобиологической* линии неспецифических защитных механизмов. Такие защитные механизмы принято делить на *гуморальные* и *клеточные*. Комплекс конституциональных механизмов защиты тканей - эволюционно древняя форма организованной защиты - предшественник индуцированных (иммунных) реакций. Подтверждением этому служит факт, что значительная часть конституциональных компонентов защиты индуцибельна и находится в тканях в неактивной форме. Их активацию вызывают различные вещества-медиаторы воспаления. Ключевую роль в неспецифической защите внутренней среды организма играют комплемент и фагоцитирующие клетки. Их активность во многом дополняют различные БАВ (табл. 10-2).

Система комплемента

Система комплемента - группа по меньшей мере 26 сывороточных белков (компонентов комплемента), опосредующих воспалительные реакции при участии гранулоцитов и макрофагов (табл. 10-3). Компоненты системы участвуют в реакциях свёртывания крови, способствуют межклеточным взаимодействиям, необходимым для процессинга Ag, вызывают лизис бактерий и клеток, инфицированных вирусами. В норме компоненты системы находятся в неактивной форме. Активация комплемента приводит к поочередному (каскадному) появлению его активных компонентов в серии протеолитических реакций, стимулирующих защитные процессы (рис. 10 - 1). Основные функции компонентов комплемента в защитных реакциях - *стимуляция фагоцитоза*, *нарушение целостности клеточных стенок микроорганизмов* мембраноповреждающим комплексом (особенно у видов, устойчивых к фагоцитозу, например гонококков) и *индукция синтеза медиаторов воспалительного ответа* (например, ИЛ-1; табл. 10-4). Кроме того, система комплемента стимулирует воспалительные реакции (некоторые компоненты - хемоаттрактанты для фагоцитов), участвует в развитии иммунных (через активацию макрофагов) и анафилактических реакций. Активация компонентов комплемента может происходить по классическому и альтернативному путям.

Классический путь. *Активация комплемента по классическому пути комплексами AgAT*. Включает поочередное образование всех 9 компонентов (от C1 до C9). Компоненты классического пути обозначают латинской буквой «C» и арабскими цифрами (C1, C2...C9), для субкомпонентов комплемента и продуктов расщепления к соответствующему обозначению добавляют строчные латинские буквы (dq, C3b и т.д.). Активированные компоненты выделяют чертой над литерой (например, C2), инактивированные компоненты - буквой «i» (например, iC3b). Первоначально с комплексом Ag-AT взаимодействует C1 (субкомпоненты C1q, C1r, C1s), затем к ним присоединяются «ранние» компоненты C4, C2 и C3. Они активируют компонент C5, прикрепляющийся к мембране клетки-мишени (бактерии, опухолевые или инфицированные

вирусами клетки) и запускающий образование литического комплекса (C5b, C6, C7, C8 и C9). Иначе он называется *мембраноповреждающий (мембраноатакующий) комплекс*, так как его образование на мембране вызывает разрушение клетки. Примеры микробных продуктов, активирующих систему комплемента по классическому пути, - ДНК и белок А стафилококков.

Альтернативный путь. Активация комплемента по альтернативному пути происходит *без участия АТ* и задолго до их появления. Факторы альтернативного пути имеют буквенное обозначение: Р (пропердин), В и D (ферменты системы комплемента). Запуск альтернативного пути осуществляет активация компонента С3, взаимодействующего с факторами В и D. Затем через образование компонента С5 (но без участия С1, С2 и С4) альтернативный путь также завершается образованием на поверхности клеток-мишеней мембраноповреждающего комплекса. Альтернативный путь активируется такими микробными продуктами, как эндотоксины бактерий, вирусы (например, гриппа).

Фагоцитирующие клетки

Фагоциты выполняют не только защитные (поглощают и разрушают чужеродные агенты), но и дренажные функции (удаляют погибшие и деградировавшие структуры организма). Фагоциты представлены клетками миелопоэтического ряда (*полиморфноядерные лейкоциты*) и макрофага-гально-моноцитарной системы (*моноциты, тканевые макрофаги*). Основные свойства фагоцитирующих клеток представлены в табл. 10-5.

Полиморфноядерные лейкоциты имеют дольчатое ядро и множество мелких цитоплазматических гранул (поэтому их также называют гранулоциты). По окрашиванию гранул выделяют три типа клеток: нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. *Нейтрофилы - основные эф-факторные клетки острого воспаления*; у взрослых лиц они составляют самую многочисленную популяцию лейкоцитов. Основная часть нейтрофилов циркулирует в крови в течение 6-7 ч. Затем они скапливаются в капиллярах, где формируют краевой пул, прикрепляясь к эндотелию (по периметру кровотока); в таком состоянии нейтрофилы находятся в готовности немедленно

покинуть кровеносное русло (*феномен краевого стояния*). *Нейтрофилия* (увеличение их количества в периферической крови) часто указывает на наличие воспалительной реакции. Потенциал эозинофилов направлен не столько на фагоцитирование бактерий, сколько на нейтрализацию паразитов, особенно гельминтов (например, нематод). Поэтому, *эозинофилия* - признак, указывающий на возможную глистную инвазию. Кроме того, эозинофилы участвуют в разрушении гистамина, выделяя гистаминазу. Именно поэтому эозинофилию также наблюдают при аллергических заболеваниях. Определённая роль в подобной специализации эозинофилов принадлежит специфическим гранулам, содержащим пероксидазы и катионные белки (например, основной белок, катионные белки эозинофилов), активные именно в отношении паразитов. В активации эозинофилов важную роль играют IgE, образующиеся в ответ на сенсибилизацию организма аллергенами (в том числе микробными).

Макрофаги и моноциты. В поглощении и элиминации патогенов участвуют также макрофаги и моноциты. Последние представляют предшественники макрофагов и циркулируют в кровотоке 1-2 дня. Затем они мигрируют за пределы сосудистого русла и заселяют различные ткани, превращаясь в резидентные макрофаги и формируя, в отличие от полиморфноядерных лейкоцитов, *фиксированные линии тканевой защиты*. Выделяют альвеолярные и лёгочные (интерстициальные) макрофаги, макрофаги печени (клетки фон Купффера), соединительной ткани (гистиоциты), почек (мезангиальные клетки) и др. Активация макрофагов возможна лишь в присутствии конкретных стимулов (например, бактериальных продуктов, С3b, у-ИФН). Подобная особенность позволяет некоторым бактериям, грибам и простейшим персистировать в цитоплазме неактивированных макрофагов. Активация макрофагов протекает бурно, сопровождаясь

интенсивным выходом микробицидных веществ, а также цитокинов, регулирующих уровень воспалительной реакции и индуцирующих развитие иммунного ответа.

Фагоцитоз - процесс поглощения и переваривания фагоцитами микроорганизмов, других клеток, фрагментов некротизированной ткани и чужеродных частиц. Механизмы активации фагоцитов обоих типов (полиморфноядерные лейкоциты и моноциты/макрофаги) принципиально одинаковы. Активирующими стимулами могут быть бактериальные продукты (например, ЛПС, N-формилловые пептиды и др.), компоненты комплемента (например, C3 и C5), многие цитокины и АТ, рецепторы к которым присутствуют на мембранах фагоцитов. Фагоцитоз состоит из четырёх последовательных стадий: хемотаксис, прикрепление к объекту, поглощение и уничтожение. Хемотаксис [от греч. *σιμητα*, химия, + *taxis*, упорядоченное концентрирование] - амёбовидное передвижение фагоцитов по градиенту концентрации активирующих стимулов (хемотак-синов, или факторы хемотаксиса). Свойством активировать миграцию макрофагов обладают

C3b, C5a, C5b, C6-, C7- и Ва-компоненты комплемента, бактериальные ЛПС, продукты деградации клеток, хемокины. Скорость привлечения клеток при хемотаксисе легко представить, оценив, например, время образования гноя и его объём после попадания занозы (рис. 10-2).

Адгезия [от лат. *adhaesio*, приклеиваться]. Одно из условий успешного поглощения возбудителя - *эффективная адгезия к микробу*. Жгутики позволяют микробам быстро перемещаться в жидкой фазе, а фагоциты не умеют «плавать», но хорошо «бегают», то есть свои поглотительные свойства они способны реализовывать только на какой-либо плотной поверхности (например, на эпителии). Опсонины [от греч. *opson*, лакомство], такие как АТ, C3b, фибро-нектин, сурфактант, обволакивают микроорганизмы и существенно ограничивают их подвижность. Опсонины делают поглощение более эффективным, что связано со стабильностью взаимодействий опсонинов с соответствующими рецепторами (к Fc-фрагментам АТ, компонентам комплемента, фибронектину и др.) на мембране фагоцита (рис. 10-3). Отсутствие этих рецепторов приводит к резкому снижению функциональной активности фагоцитов (например, врождённый дефицит C3b-рецепторов сопровождается высокой частотой бактериальных инфекций и даже выделен в отдельную нозологическую форму - *недостаточность адгезии лейкоцитов*).

Поглощение. Поглощение микробов идентично таковому у амёб; в результате образуется *фагосома* с заключённым внутри объектом фагоцитоза (рис. 10-4, А). К фагосоме устремляются лизосомы и выстраиваются по её периметру. Затем мембраны фагосомы и лизосом сливаются (*фагосомо-лизосомальное слияние*), и ферменты лизо-сом изливаются в образовавшуюся фаголи-зосому. Поглощению способствует взаимодействие поверхностных рецепторов фагоцитов с Ag или фрагментами опсонинов, сорбированных на поверхности бактерии. Эта реакция напоминает действие замка-молнии (так называемый зипперный механизм поглощения [от англ. *zip*, замок-молния]). Фагоцитированные микроорганизмы подвергаются атаке комплекса различных микробицидных факторов, разделяемых на кислородзависимые и кислороднезависимые.

Кислородзависимая микробицидная активность реализуется через образование значительного количества продуктов с токсическим действием, повреждающих микроорганизмы и окружающие структуры. За их образование ответственны *НАДФ-оксидаза* (флавопротеин - цитохромредуктаза) плазматической мембраны и *цитохром b*; в присутствии хинонов этот комплекс трансформирует O₂ в *анион супероксида* (O₂⁻). Последний проявляет выраженное

повреждающее действие, а также быстро трансформируется в *перекись водорода* по схеме: $2O^- + H_2O = H_2O_2 + O_2$ (процесс катализирует фермент *супероксид дисмутаза*). Пероксид водорода (H_2O_2) проявляет меньший повреждающий эффект, но в его присутствии фермент *миелопероксидаза* конвертирует ионы Cl^- в ионы $HClO$, обладающие бактерицидным действием, во многом аналогичным эффекту хлорной извести ($NaClO$).

Кислороднезависимые механизмы активируются в результате контакта опсонизированного объекта с мембраной фагоцита. В процессе фагосомолизосомального слияния первыми с мембраной фагосомы сливаются гранулы, содержащие *лактофerrин* и *лизоцим*, затем к ним присоединяются азурофильные гранулы, содержащие *катионные белки* (например, *САР57*, *САР37*), *протеиназы* (например, эластазу и коллагеназу), *катепсин G*, *дефензины* и др. Эти продукты вызывают повреждение клеточной стенки и нарушение некоторых метаболических процессов; в большей степени их активность направлена против грамположительных бактерий.

Завершённость фагоцитарных реакций. Поглощённые фагоцитами бактерии обычно погибают и разрушаются (рис. 10-4, Б). Некоторые бактерии, снабжённые капсулами или плотными гидрофобными клеточными стенками, могут быть устойчивы к действию лизосомальных ферментов; другая часть патогенов способна блокировать слияние фагосом и лизосом. В подобных случаях *фагоцитоз носит незавершённый характер*, и возбудитель выживает в цитоплазме поглотившей его клетки. Многие факультативные и облигатные внутриклеточные паразиты не только сохраняют жизнеспособность внутри клеток, но и способны размножаться. Персистенция патогенов опосредуют три основных механизма.

Блокада фагосомолизосомального слияния. Подобный механизм отмечен у вирусов (например, вируса гриппа), бактерий (например, микобактерий) и простейших (например, токсоплазм).

Резистентность к лизосомальным ферментам (например, гонококки и стафилококки). Способность патогенных микроорганизмов быстро покидать фагосомы после поглощения и длительно пребывать в цитоплазме (например, риккетсии). Другие защитные функции фагоцитов

• *Инициация иммунных реакций*. Поглощая чужеродные агенты, макрофаги «перерабатывают» (так называемый *процессинг Ag*) и «представляют» (*презентация*) их Ag иммунокомпе-

тентным клеткам. При этом они выделяют цитокины, активирующие лимфоциты. Другими словами, макрофаги - Ag-процессирующие и Ag-представляющие клетки, и фагоцитоз можно рассматривать как видимое отражение этих иммунных функций. • *Антителозависимый цитолиз*. Фагоциты участвуют в антителозависимом клеточно-опосредованном цитолизе; для этого клетки экспрессируют на своей поверхности рецептор Fc-фрагмента IgG (CD16).

Прочие факторы неспецифической резистентности

Система ИФН - важнейший фактор неспецифической резистентности организма человека. Следует отметить, что открытие ИФН А. Айзексом и Ж. Линденманном (1957) было плодом блестящей случайности, по своей значимости сравнимой с открытием пенициллинов Флемингом: изучая интерференцию вирусов (см. главу 5), авторы обратили внимание на то, что некоторые клетки становились резистентными к повторному заражению вирусами. В настоящее время ИФН относят к классу индуцируемых белков клеток позвоночных. Важнейшие их функции: антивирусная, противоопухолевая, иммуномодулирующая и радиопротективная. Различают три ИФН: α-ИФН синтезируют лейкоциты периферической крови (ранее был известен как

лейкоцитарный ИФН); р-ИФН синтезируют фибробласты (ранее известен как фибробластный ИФН); у-ИФН - продукт стимулированных Т-лимфоцитов, НК-клеток и (возможно) макрофагов (ранее был известен как иммунный ИФН). По способу образования различают ИФН типа I (образуется в ответ на обработку клеток вирусами, молекулами двухцепочечной РНК, полинуклеотидами и рядом низкомолекулярных природных и синтетических соединений) и ИФН типа II (продуцируется лимфоцитами и макрофагами, активированными различными индукторами; действует как цитокин). ИФН видоспецифичны. Каждый биологический вид, способный к их образованию, продуцирует свои уникальные продукты, похожие по структуре и свойствам, но не способные проявлять перекрёстный антивирусный эффект (то есть действовать в условиях организма другого вида). Механизм антивирусного действия. ИФН индуцируют «антивирусное состояние» клетки (резистентность к проникновению или блокада репродукции вирусов). Блокада репродуктивных процессов при проникновении вируса в клетку обусловлена угнетением трансляции вирусной мРНК. При этом противовирусный эффект ИФН не направлен против конкретных вирусов; то есть *ИФН не обладают вирусспецифичностью*. Это объясняет их универсально широкий спектр антивирусной активности. ИФН взаимодействует с интактными клетками ещё неинфицированными клетками, препятствуя реализации репродуктивного цикла вирусов за счёт активации клеточных ферментов (протеинкиназ). ИФН I. Основной биологический эффект - подавление синтеза вирусных белков; способны воздействовать на другие этапы репродукции вирусных частиц, включая отпочковывание дочерних популяций. «Антивирусное состояние» клетки развивается в течение нескольких часов после введения ИФН или индукции их синтеза. При этом ИФН не влияют на ранние этапы репликативного цикла (адсорбцию, пенетрацию и «раздевание» вирусов) - противовирусное действие проявляется даже при заражении клеток инфекционными РНК. ИФН не проникают в клетки, а взаимодействуют со специфическими мембранными рецепторами (ган-глиозиды или аналогичные структуры, содержащие олигосахара). По связыванию ИФН с рецептором и реализации его эффектов механизм активности напоминает действие некоторых гликопептидных гормонов. ИФН активирует гены, некоторые из которых кодируют образование продуктов с прямым антивирусным действием - протеинкиназы и 2'5'-олигоденила-т синтетазы (рис. 10-5). ИФН II (р-ИФН) также способны проявлять антивирусный эффект. Он связан с несколькими механизмами. Во-первых, активация ИФН NO-синтетазы приводит к повышению внутриклеточного содержания оксида азота, ингибирующего размножение вирусов. Во-вторых, ИФН активирует эффекторные функции НК-клеток, Т-лимфоцитов, моноцитов, тканевых макрофагов и гранулоцитов, проявляющих антителозависимую и антителонезависимую цитотоксичность. Кроме того, ИФН блокирует депротенинизацию («раздевание») вирусов, высвобождение зрелых вирусных частиц из клетки, а также нарушает метилирование вирусной РНК. В смешанных культурах ИФН-чувствительных и ИФН-резистентных клеток «антивирусное состояние» чувствительных клеток распространяется и на популяции резистентных клеток. Естественные АТ («антигеннезависимые», «неспецифические» АТ) составляют до 7% общего количества Ig в сыворотке крови неиммунизированных людей и животных. Их происхождение связывают с ответом иммунной системы на Ag нормальной микрофлоры. В эту же группу входят АТ, длительно циркулирующие после выздоровления от инфекционного заболевания. Часть пула подобных АТ синтезируется параллельно с образованием специфических АТ. Необходимость в их появлении остаётся неясной. Эти АТ *низкоспецифичны*, но способны *перекрёстно реагировать с широким спектром Ag*. Вызывают агглютинацию микробов, их разрушение (в присутствии комплемента), нейтрализуют вирусы и токсины, а также стимулируют фагоцитарные реакции (через опсонизацию возбудителей).

Факторы, выделяющиеся при разрушении клеток, - комплекс продуктов различного происхождения, проявляющих бактерицидное действие. Основные продукты этой группы -

лейкины (высвобождаются при разрушении нейтрофилов) *иплакины* (высвобождаются при разрушении тромбоцитов).

Воспаление

Воспаление - комплекс защитно-приспособительных реакций, возникающих в сосудах и окружающих тканях в ответ на повреждение или патологическую стимуляцию, вызванную физическим, химическим или биологическим агентом. Впоследствии ткани могут полностью восстанавливать свою структуру и функции, либо в них формируются стойкие дефекты. Хорошо известны классические признаки острого воспаления, предложенные Цельсом: *покраснение (rubor)*, *отёк (tumor)*, *боль (dolor)*, *повышение температуры (calor)* и *нарушение функций органа или ткани (functio laesa)*. Иногда острая реакция меняет свои характеристики и принимает хроническое течение. Воспаление начинается с активации систем комплемента и гемостаза. Многие компоненты этих систем известны как *медиаторы воспалительных реакций*. Гистамин - основной медиатор воспалительных реакций - вызывает расширение поверхностных венул кожи и слизистых оболочек, увеличение сосудистой проницаемости и стимуляцию терминалей чувствительных нейронов типа С (проводят болевые импульсы; их активация вызывает чувство зуда и боли), высвобождающих нейропептиды (вещество Р) в задних рогах спинного мозга. Выброс гистамина из тучных клеток и базофилов индуцируют IgE-зависимые механизмы, различные вещества (опиаты, аминогликозиды) и анафилатоксины (компоненты системы комплемента C3a и C5a). Кинины - низкомолекулярные пептиды (олигопептиды), увеличивающие проницаемость сосудов и высвобождение медиаторов полиморфноядерными фагоцитами. Предшественники кининов - кининогены (высокомолекулярные белки). Протеолиз кининогенов с образованием кининов осуществляют *калликреины* - специфические протеазы полиморфноядерных фагоцитов. Ключевой субстрат этих реакций - *фактор Хагемана*, играющий важную роль в реакциях свёртывания.

Лейкотриены и простагландины, а также их метаболиты, - основные медиаторы острого воспаления. Повышают проницаемость сосудов, вызывают сокращение гладкомышечных клеток. Лейкотриен В₄ активирует хемотаксис полиморфноядерных фагоцитов; тромбоксан А₂ индуцирует агрегацию тромбоцитов, а простагландины, действуя на гипоталамус, вызывают повышение температуры тела. Кроме того, простагландины воздействуют на нервные окончания волокон типа С - именно поэтому стимулы, в норме не вызывающие болевой реакции, при воспалении провоцируют приступ боли.

Белки острой фазы воспаления. Воспалительная реакция сопровождается высвобождением различных белков (преимущественно из печени), также выполняющих медиаторные функции. Их объединяют общим термином «белки острой фазы воспаления». Наиболее известны *C-реактивный белок*, *ЛПС-связывающий белок*, *сывороточный амилоидный белок А*, *α₁-антитрипсин*.

Цитокины. Многие продукты бактерий активируют клетки системы мононуклеарных фагоцитов и лимфоциты; эти клетки отвечают выделением комплекса БАВ. Такие факторы относят к двум крупным классам - цитокины (подклассы: ИЛ, ИФН, факторы роста, колониестимулирующие факторы гемопоэзов) и хемокины (хемоаттрактанты). Так, известно не менее 18 ИЛ. Большинство из них - также медиаторы иммунных реакций. В воспалительных реакциях основную роль играет *ИЛ-1*, стимулирующий лихорадочные реакции, повышающий проницаемость сосудов и адгезивные свойства эндотелия, а также активирующий моно- и полиморфноядерные фагоциты.

Большинство реакций острого воспаления резко изменяет лимфо- и кровообращение в очаге воспаления. Вазодилатация и повышение проницаемости капилляров облегчают выход из просвета капилляров макромолекул (например, компонентов комплемента) и полиморфноядерных фагоцитов, то есть сопровождается образованием экссудата. При умеренной воспалительной реакции экссудат содержит небольшое количество белка (серозный экссудат); при более интенсивной реакции содержание белков (например, фибриногена) резко возрастает (фибринозный экссудат). Механизмы свёртывания направлены на образование фибриновых

сгустков, предупреждающих диссеминирование возбудителя с кровью и лимфой. Полиморфноядерные фагоциты, покинувшие кровеносное русло, устремляются в направлении хемотаксического стимула и поглощают проникшие микроорганизмы. Фагоцитоз заканчивается внутриклеточным их перевариванием. Важный фактор - снижение рН в тканях при воспалении, обусловленное секрецией

молочной кислоты фагоцитами. Снижение рН оказывает губительное действие на бактерии и снижает резистентность к антимикробным химиопрепаратам. Закисление среды активирует клеточные протеазы, индуцирующие лизис полиморфноядерных фагоцитов. Им на смену в очаг воспаления мигрируют мононуклеарные фагоциты, поглощающие фрагменты лейкоцитов и микроорганизмов, завершая тем самым местную острую воспалительную реакцию.

Индукцибельные факторы защиты организма (иммунная система)

Иммунная система - совокупность органов, тканей и клеток, обеспечивающих структурное и генетическое постоянство клеток организма; образует вторую линию защиты организма. Функции первого барьера на пути чужеродных агентов выполняют кожа и слизистые оболочки, жирные кислоты (входящие в состав секрета сальных желёз кожи) и высокая кислотность желудочного сока, нормальная микрофлора организма, а также клетки, выполняющие функции неспецифической защиты от инфекционных агентов. Иммунная система способна распознавать миллионы разнообразных веществ, выявлять тонкие различия даже между близкими по структуре молекулами. Оптимальное функционирование системы обеспечивают тонкие механизмы взаимодействия лимфоидных клеток и макрофагов, осуществляемые при прямых контактах и с участием растворимых посредников (медиаторов иммунной системы). Система обладает иммунной памятью, сохраняя информацию о предыдущих антигенных воздействиях. Принципы поддержания структурного постоянства организма («антигенной чистоты») основаны на распознавании «своего-чужого». Для этого на поверхности клеток организма имеются гликопротеиновые рецепторы (Аг), составляющие *главный комплекс гистосовместимости* - МНС [от англ. *major histocompatibility complex*]. При нарушении структуры этих Аг, то есть изменении «своего» иммунная система расценивает их как «чужое». *Спектр молекул МНС уникален для каждого организма и определяет его биологическую индивидуальность*; это и позволяет отличать «своё» (гистосовместимое) от «чужого» (несовместимого). Выделяют гены и Аг двух основных классов МНС.

Молекулы I и II классов контролируют иммунный ответ. Они сочетанно распознаются поверхностными дифференцировочными CD-Аг клеток-мишеней и участвуют в реакциях клеточной цитотоксичности, осуществляемой цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ).

- Гены I класса определяют тканевые Аг; Аг класса МНС I представлены на поверхности всех ядродержащих клеток.

- Гены II класса контролируют ответ к тимусзависимым Аг; Аг класса II экспрессируются преимущественно на мембранах иммунокомпетентных клеток, включая макрофаги, моноциты, В-лимфоциты и активированные Т-клетки.

ОРГАНИЗАЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Органы иммунной системы человека подразделяют на *центральные* (костный мозг, вилочково-вая железа) и *периферические* (селезёнка, лимфатические узлы, скопления лимфоидной ткани в собственном слое слизистой оболочки ЖКТ).

- В центральных органах происходит лимфопоэз [от греч. *lymph*, прозрачная жидкость и *poiesis*, производить] - дифференцировка из клеток-предшественниц, размножение и созревание иммунокомпетентных клеток. В ходе дифференцировки лимфоциты начинают экспрессировать

рецепторы, в дальнейшем способные связываться с Аг. В центральных органах отбираются и выживают те лимфоциты, которые толерантны к собственным Аг.

• В периферических органах иммунной системы зрелые лимфоциты взаимодействуют между собой, со вспомогательными клетками и Аг. Здесь макрофаги и зрелые Т- и В-лимфоциты участвуют в иммунном ответе, появляются эффекторные клетки и клетки памяти. Иммунные реакции с участием циркулирующих в крови Аг протекают в селезёнке. Клетки лимфатических узлов реагируют с Аг, циркулирующим в лимфе.

Клетки иммунной системы

Иммунокомпетентные клетки (лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки) по функциям подразделяют на *эффекторные* и *регуляторные* (табл. 10-6). Взаимодействия иммунокомпетентных клеток с другими регулируют цитокины (табл. 10-7), известные также как *медиаторы иммунного ответа*. *Лимфоциты выполняют основную функцию иммунной системы - вы-*

сокоспецифичное распознавание чужеродных и изменённых собственных Аг. В организме лимфоциты постоянно рециркулируют между зонами скопления лимфоидной ткани. Распределение лимфоцитов в лимфоидных органах и их миграция по кровеносному и лимфатическому руслам упорядочены и отражают функции конкретных клеток. При изучении в световом микроскопе *лимфоциты имеют одинаковую морфологию, но их функции, поверхностно-клеточные маркёры, индивидуальное (клональное) развитие и судьба различны.* Все лимфоциты происходят из единой стволовой клетки костного мозга, но популяции лимфоцитов и других клеток крови развиваются под влиянием различных дифференцирующих факторов. По наличию специфических поверхностных маркёров лимфоциты разделяют на функционально различные популяции и субпопуляции. У млекопитающих основные популяции: Т-лимфоциты, созревающие в вилочко-вой железе [лат. *thymus*]; В-лимфоциты, созревающие в аналоге сумки [лат. *bursa*] *Фабрициуса* у птиц (у человека - костный мозг или лимфоидная ткань кишечника).

Т-лимфоциты

Т-лимфоциты (Т-клетки) выполняют различные функции, в связи с чем их подразделяют на субпопуляции. Т-клетки распознают Аг, в том числе переработанные Аг-представляющими клетками, обеспечивают реализацию клеточных иммунных реакций. Кроме того, Т-лимфоциты взаимодействуют с В-лимфоцитами в ходе выработки последними гуморальных иммунных реакций. Активация Т-клеток происходит под действием макрофагов.

Созревание Т-клеток. Предшественники Т-клеток (тимоциты) созревают в вилочковой железе. Их дифференцировку регулируют взаимодействия с эпителиальными и дендритными клетками стромы тимуса, а также гормоноподобные полипептидные факторы эпителиальных клеток тимуса (например, тимозины, тимопоэтины).

Маркёры Т-клеток. Т-клетки обладают маркёрами - специфическими поверхностными белковыми молекулами, присущими тем или иным субпопуляциям этих клеток. CD-маркёры. При дифференцировке Т-лимфоцитов на их плазмолемме появляются специфические Аг, выступающие в роли маркёров. Эти так называемые «кластеры дифференцировки» - CD-маркёры [от англ. *cluster of differentiation*] - указывают на функциональные способности лимфоцитов и некоторых других клеток. CD-маркёры идентифицируют с помощью моноклональных АТ. После выхода зрелых клеток из тимуса они экспрессируют CD4 или CD8, а также CD3. При некоторых иммунодефицитах обнаруживают нарушения нормального содержания клеток с тем или иным маркёром (например, CD4⁺-клеток при СПИДе). Т-клетки подразделяют на субпопуляции в соответствии с их функцией и профилем мембранных маркёров, в частности CD-Аг (см. табл. 10-6). Рецептор Т-клеток. Т-клетки распознают Аг с помощью двух типов мембранных гликопротеинов - *Т-клеточных рецепторов* и CD3. Т-клеточный рецептор - гетеродимер, содержащий α- и р-

цепи (примерно 98% всех Т-клеток) или 5-цепи (около 1,5-2% клеток) с молекулярной массой 40-50 кД. Т-клеточный рецептор входит в суперсемейство Ig-подобных молекул клеточной поверхности, участвующих в реакциях распознавания. Механизмы трансмембранной передачи с рецептора Т-клетки остаются неизвестными; предположительно они обусловлены CD3, нековалентно связанными с рецепторами Т-лимфоцитов.

Активация Т-клеток. Для активации Т-клеток необходимо два сигнала от макрофагов. Первый сигнал - представление Аг, второй - секреция активирующего фактора (ИЛ-1). Последний стимулирует синтез Т-лимфоцитами ИЛ-2, активирующего эти клетки (аутокринная регуляция). Одновременно на мембранах Т-клеток повышается экспрессия рецепторов к ИЛ-2 (CD25).

Субпопуляции Т-лимфоцитов. На основании поверхностных маркёров различают несколько субпопуляций Т-лимфоцитов, выполняющих различные функции. Для дифференцировки Т-клеток применяют набор моноклональных АТ, выявляющих поверхностные маркёрные CD-Аг [от англ. *cluster of differentiation*, кластер дифференцировки]. Все зрелые Т-клетки экспрессируют поверхностный CD3-Аг помимо него субпопуляции Т-лимфоцитов также экспрессируют и другие CD-Аг.

CD4⁺-лимфоциты. Мембранные молекулы CD4 несут различные популяции клеток, условно разделяемые на регуляторные (хелперы) и эффекторные (Т⁺).

Т-хелперы [от англ. *to help*, помогать] специфически распознают Аг и взаимодействуют с макрофагами и В-клетками в ходе индукции гуморального иммунного ответа. *Отношение CD4⁺/CD8⁺-клеток - важный параметр оценки иммунного статуса; в нормальных условиях отношение CD4⁺/CD8⁺ приблизительно равно двум* и отражает доминирующее влияние на иммунный ответ стимулирующих факторов. При некоторых иммунодефицитных состояниях отношение обратное (менее 1, то есть CD8⁺-клетки доминируют), указывая на преимущественное влияние иммуносупрессорных эффектов; лежит в основе патогенеза многих иммунодефицитов (например, СПИДа). Аг-распознающие Т-лимфоциты «узнают» чужеродный эпитоп вирусного или опухолевого Аг в комплексе с молекулой МНС на плазматической мембране клетки-мишени.

Т_{ГЗТ} [Т-эффекторы реакций гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)] опосредуют реакции ГЗТ.

CD8⁺-лимфоциты. Мембранные Аг CD8 экспрессируют субпопуляции Т-клеток, разделяемые на регуляторные (супрессоры) и эффекторные (цитотоксические Т-лимфоциты). Т-супрессоры [от англ. *to suppress*, подавлять] регулируют интенсивность иммунного ответа, подавляя активность CD4⁺-клеток. Т-супрессоры предотвращают развитие аутоиммунных реакций, защищают организм от нежелательных последствий иммунных реакций. Эти клетки обеспечивают толерантность матери к чужеродным Аг, представленным на клетках вынашиваемого плода. Это даёт возможность развиваться чужеродному в иммунном отношении плоду в организме матери. Т-супрессоры дифференцируются из предшественников в результате антигенной стимуляции. По-видимому, активация супрессоров находится вне контроля МНС, и представления Аг макрофагом не требуется. *Аутоантигены могут стимулировать развитие ауторегуляторных Т-супрессоров.* Чужеродные Аг в неиммуногенной форме (гаптены) или иммуногенные Аг в очень высокой концентрации также способны индуцировать специфическую супрессорную активность клеток. После распознавания Аг зрелые лимфоциты препятствуют развитию иммунного ответа, действуя непосредственно на клетки или секретируя *супрессорные факторы*. Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ), или Т-киллеры [от англ. *to kill*, убивать] лизируют клетки-мишени, несущие чужеродные или видоизменённые аутоантигены (например, клетки опухолей, трансплантатов, инфицированные вирусами, клетки, несущие поверхностные вирусные Аг). В большинстве случаев функция ЦТЛ также *МНС-рестригирована* - ЦТЛ распознаёт чужеродный вирусный, опухолевый или трансплантационный Аг в комплексе с молекулой МНС I на мембране клетки-мишени. Индукция цитотоксических свойств клетки-

предшественницы Т-киллера происходит под действием двух сигналов. Первый сигнал включает взаимодействие между двумя комплексами: поверхностной молекулой CD8 лимфоцита и комплексом эпитоп-молекула МНС I на клетке-мишени. Второй сигнал - ИЛ, секретируемые близлежащими макрофагами и Т-клетками. Т-хелпер играет ключевую роль в стимуляции ЦТЛ в качестве источника необходимых цитокинов, усиливающих их пролиферацию и созревание до функционально активных ЦТЛ. Цитотоксический эффект Т-киллеров реализуется через образование в клетках-мишенях пор под действием особых белков - *перфоринов*. Нарушение осмотического баланса с внеклеточной средой приводит к гибели клетки. Т-клетки памяти образуются при первичном иммунном ответе. Специфически распознают Аг и участвуют в иммунном ответе при вторичном попадании Аг. Большинство клеток памяти обладает функциями Т-клеток, экспрессируют CD4 и рестригированы по молекулам МНС II, то есть узнают Аг только на Аг-представляющих клетках в связи с молекулой МНС II.

В-лимфоциты

Известны субпопуляции В-клеток: *предшественники антителообразующих (плазматических) клеток и В-клетки памяти* (эффекторы вторичных иммунных реакций). Доминирующую субпопуляцию составляют предшественники антителообразующих клеток, дифференцирующиеся после антигенной стимуляции в плазматические клетки (плазмоциты), синтезирующие Ig.

Созревание В-лимфоцитов

Из костного мозга пре-В-клетки мигрируют в *стимулнезависимые зоны* лимфоидных органов. Так, в физиологических условиях в селезёнке В-лимфоциты располагаются в краевой зоне белой пульпы, в лимфатических узлах - в наружной зоне кортикального слоя, где они формируют зародышевые центры фолликулов. Сигналы, определяющие судьбу и дифференцировку этих иммунокомпетентных клеток, поступают из красного костного мозга, стромальных клеток и других клеток иммунной системы. На периферии (вне костного мозга) В-лимфоциты приобретают характерные для них поверхностно-клеточные маркёры. Продолжительность жизни В-лимфоцитов различна - от многих лет (В-клетки памяти) до нескольких недель (клоны плазматических клеток).

После антигенной стимуляции В-лимфоциты дифференцируются в *плазматические клетки* (интенсивно синтезирующие и секретирующие АТ) и *В-клетки памяти*. Плазматические клетки синтезируют Ig того же класса, что и мембранный Ig В-лимфоцита-предшественника.

Маркёры В-клеток. Основные маркёры В-лимфоцитов - *мембранные Ig*; при этом клетки одного клона (быстро формирующегося в результате серии последовательных делений потомства одной В-клетки) экспрессируют молекулы Ig, специфически связывающие только один эпитоп Аг. Такие клетки синтезируют моноклональные АТ, способные распознавать и связывать только один Аг. *Аг-связывающий участок мембранного Ig В-лимфоцита играет роль клеточного Аг-распознающего рецептора*. Помимо мембранных Ig, В-лимфоцит несёт другие маркёры: рецепторы Fc-фрагмента Ig, CD10 (на незрелых В-клетках), CD19, CD20, CD21, CD22, CD23 (вероятно, участвуют в клеточной активации), рецепторы к C3b и C3d, молекулы МНС классов I и II.

Естественные киллеры

Популяцию естественных киллеров [НК-клеток (от англ. *natural killer*, естественный киллер)] составляют *большие зернистые лимфоциты*, уничтожающие ауто-, алло- и ксеногенные опухолевые клетки, а также клетки, инфицированные вирусами, бактериями и простейшими. НК-клетки не имеют основных маркёров Т- или В-лимфоцитов (поэтому их также называют *нулевыми лимфоцитами*), но экспрессируют дифференцировочные CD2, CD56 и CD16 (рецептор Fc-фрагмента

АТ) Аг. В отличие от цитотоксических лимфоцитов, способность НК-клеток к цитолизу связана со самостоятельным распознаванием «свое-чужое» на поверхности мишени. НК-клетки уничтожают клетку-мишень после установления с ней прямого контакта при помощи специальных белков - перфоринов. Перфорины встраиваются в мембрану чужеродной или трансформированной клетки, образуя в ней «дыру», приводящую к необратимому и губительному выравниванию ионного состава между цитоплазмой и внешней средой. Активность НК-клеток регулируют цитокины (γ -ИФН и ИЛ-2 усиливают их цитолитическую активность). Наряду с макрофагами, нейтрофилами и эозинофилами, они также участвуют в антителозависимом клеточно-опосредованном цитолизе. Для этого НК-клетки экспрессируют на своей поверхности рецептор Fc-фрагмента IgG (CD16). Реакция зависит от присутствия АТ, узнающих клетку-мишень и связывающихся с ней. Fc-фрагмент связанных с клеткой-мишенью АТ взаимодействует с рецептором Fc-фрагмента, встроенным в плазматическую мембрану НК-клетки. Природа агента, убивающего клетку-мишень в этом случае, не известна.

Аг-представляющие клетки

Важную роль в индукции и регуляции иммунного ответа играют мононуклеарные фагоциты. Участие макрофагов в иммунных реакциях включает *неспецифическое поглощение Аг, их «переработку»* (то есть расщепление на меньшие фрагменты) и *представление Аг Т-лимфоцитам, образование ИЛ-1, а также других цитокинов* (см. табл. 10-7). Помимо макрофагов, представлять Аг способны В-лимфоциты, фолликулярные клетки лимфатических узлов и селезенки, клетки Лангерханса кожи и воздухоносных путей, М-клетки лимфатических фолликулов пищеварительного тракта, дендритные эпителиальные клетки вилочковой железы. Наряду с нейтрофилами и эозинофилами, макрофаги участвуют в антителозависимом клеточно-опосредованном цитолизе (имеют поверхностный рецептор к Fc-фрагменту IgG, представляющий CD16).

Иммунные реакции

Большинство иммунных реакций требует взаимодействия Аг-распознающих, Аг-представляющих, эффекторных и регуляторных клеток. Иммунные реакции традиционно разделяют на гуморальные (реализуются циркулирующими в средах организма АТ) и клеточные (реализуются при непосредственном контакте иммунокомпетентных клеток). Вместе с тем все иммунокомпетентные клетки - компоненты единой иммунной системы. Поэтому такое разделение носит условный характер, тем более, что АТ синтезируются клетками (плазмócитами), а Т-лимфоциты проявляют свою активность через различные растворимые факторы (цитокины и хемокины).

антигены

Аг - вещества различного происхождения, несущие признаки генетической чужеродности и вызывающие развитие иммунных реакций (гуморальных, клеточных, состояние иммунной толерантности, индуцирование иммунной памяти). Свойства Аг определяются комплексом признаков: иммуногенность, антигенность, специфичность, чужеродность.

- Иммуногенность - способность индуцировать иммунный ответ.

- Антигенность - способность Аг избирательно реагировать со специфичными к нему АТ или Аг-распознающими рецепторами лимфоцитов. С понятием «антигенность» связан другой термин «чужеродность»: без чужеродности нет антигенности применительно к конкретному организму. Например, альбумины мыши не проявляют антигенные свойства по отношению к другим мышам, но являются Аг для морской свинки.

- Специфичность - структурные особенности, отличающие один Аг от другого.

Способностью вызывать развитие иммунного ответа и определять его специфичность обладает фрагмент молекулы Аг - антигенная детерминанта (эпитоп), избирательно реагирующая с Аг-распознающими рецепторами и АТ. Антигенные детерминанты располагаются в областях Аг, обращённых к его микроокружению. Эпитоп - наименьшая распознаваемая единица Аг; молекула Аг может иметь несколько эпитопов, то есть быть поливалентной. Чем сложнее молекула Аг и чем больше у неё эпитопов, тем больше вероятность развития иммунного ответа. Структура многих антигенных детерминант известна. Например, в полипептидной последовательности эпитопом может быть фрагмент из 7-8 аминокислотных остатков; свойства анти-генности и специфичности определяются также пространственной конфигурацией фрагмента.

Моноклональные АТ специфически распознают только одну Аг-детерминанту и связываются с ней. Поликлональные АТ, как правило, распознают несколько антигенных детерминант в составе Аг.

Валентность Аг. Белки содержат несколько Аг-детерминант. Количество молекул АТ, связывающих все эпитопы, определяет валентность Аг (возрастает пропорционально увеличению молекулярной массы белковой молекулы).

Классификация Аг

Аг разделяют на иммуногены, гаптены и толерогены. Иммуногены

Большая часть Аг способна запускать иммунные реакции, выступая в последующем в качестве мишени, в отношении которой эти реакции реализуются. Иначе иммуногены известны как полные Аг. Часть Аг имеют малые размеры и простое строение, тогда как другие представляют крупные и сложные молекулы, содержат множество эпитопов, каждый из которых распознают различные рецепторы лимфоцитов и/или АТ.

Гаптены

Гаптены [от греч. *hapto*, прикрепляться] обладают антигенностью (то есть взаимодействуют со специфическими АТ), но не иммуногенны (то есть не способны запускать иммунные реакции). Иначе гаптены известны как неполные Аг. Как правило, они имеют небольшую молекулярную массу и не распознаются иммунокомпетентными клетками. Гаптены могут быть простыми и сложными: простые гаптены взаимодействуют с АТ в организме, но не способны реагировать с ними *in vitro*; сложные гаптены взаимодействуют с АТ *in vivo* и *in vitro*. Гаптены могут стать иммуногенными при связывании с высокомолекулярным носителем, обладающим собственной иммуногенностью. Например, хром и никель, связываясь с белками кожи, способны вызвать аллергический контактный дерматит, развивающийся при повторных соприкосновениях кожи с хромированными или никелированными предметами. При этом антигенные детерминанты гаптена полностью маскируют аналогичные структуры носителя. Непреципитирующие гаптены взаимодействуют с АТ, блокируют их, но не образуют видимых преципитатов. АТ, связавшиеся с такими гаптенами, не реагируют с полными Аг, вызывающими образование АТ. Преципитирующие гаптены образуют видимые преципитаты при взаимодействии со специфическими АТ. Свойствами преципитирующих гаптенных обладают полисахариды энтеробактерий и пневмококков.

Полугаптены - неорганические вещества (например, йод или хром), присоединение которых к молекуле белка меняет его иммуногенные свойства. Образующиеся АТ специфичны к йоду или хрому, т.е. к детерминантам на поверхности полного Аг, но не к белку-носителю.

Проантигены - гаптены, способные присоединяться к белкам организма и сенсibilизировать его как аутоантигены. Например, метаболиты грибов пенициллов или

продукты распада пенициллинов могут связывать белки и вызывать развитие к ним иммунных реакций.

Адьюванты

Адьюванты [от лат. *adjuvans*, помогать] - вещества, введение которых одновременно с Аг (или гаптеном) усиливает иммунный ответ. Другими словами, адьювант - носитель, повышающий иммуногенность различных Аг и гаптенон. Распространённые адьюванты - суспензии неорганических веществ, на которых адсорбируется Аг. Классический пример - коллоидная суспензия из убитых туберкулёзных палочек, вазелина, ланолина, известная также как *полный адьювант Фройнда*.

Толерогены

Особую группу составляют Аг, способные подавлять иммунные реакции с развитием специфической неспособности отвечать на них. Это состояние известно как *иммунная толерантность*. Благодаря генетическому разнообразию индивидуумов, вещество-иммуноген для одного из них, может быть толерогеном для другого. Действуя как иммуноген при парентеральном введении (например, внутримышечно), то же вещество может быть толерогеном при введении другим путём (например, пероральным).

Природа и специфичность Аг

В роли Аг выступают белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты; эти соединения могут образовывать комбинации между собой или с липидами. Сами липиды неиммуногенны, что определяется недостаточной жёсткостью структуры этих молекул и преимущественно линейной конфигурацией. Наибольшей иммуногенностью обладают белковые Аг. Чем дальше от человека в эволюционном отношении отстоят организмы, тем большую иммуногенность проявляют их белки. Примеры сильных иммуногенов - бактериальные экзотоксины, вирусная нейраминидаза и гемолизины, Н-Аг бактерий.

Молекулярная масса Аг имеет существенное значение. Вещества с массой более 5-10 кД - сильные иммуногены. Исключение - нуклеиновые кислоты, обладающие большой молекулярной массой, но слабой (по сравнению с белками) иммуногенностью.

Растворимость - важное условие для проявления иммуногенности Аг. Нерастворимые белки (например, кератины) не могут находиться в коллоидной фазе и не вызывают развития иммунных реакций.

Специфичность Аг

По способности специфично взаимодействовать с АТ выделяют несколько типов Аг: видовые, групповые, гетерогенные, аллоантигены.

Видовые Аг представлены антигенными детерминантами, присутствующими у особей одного вида. Отдельные штаммы микроорганизмов могут содержать внутривидовые Аг, по которым их разделяют на серологические варианты (серовары).

Групповые Аг представлены антигенными детерминантами, обуславливающими внутривидовые различия у особей одного вида, что позволяет разделять их на группы.

Гетерогенные (перекрёстно реагирующие) Аг представлены антигенными детерминантами, общими для организмов разных таксономических групп. Характерный представитель - *полисахаридный Аг Форссмана*, присутствующий в эритроцитах кошек, собак, овец и почке морских свинок. У человека типичные перекрёстные Аг является Rh-система эритроцитов: Rh-Аг человека

перекрёстно агглютинируют АТ к эритроцитам обезьян *Macacus rhesus*. Известны общие Аг эритроцитов человека и палочки чумы, вирусов оспы и гриппа. *Перекрёстно реагирующие Аг могут блокировать способность Аг-распознающих клеток идентифицировать чужеродные структуры.* Например, сходство Аг эритроцитов группы 0 и чумной палочки затрудняет распознавание последних иммунной системой; во многом это обуславливает высокую смертность от чумы.

Аллоантигены (изоантигены) - Аг конкретного индивидуума, обладающие иммуногенностью по отношению к другим представителям этого вида, но не к организму-донору трансплантата. Яркий пример изоантигенов - групповые Аг крови, присутствующие на мембранах эритроцитов и других клеток. Поскольку человек обладает естественными АТ к групповым Аг крови, последние приобретают свойства сильных трансплантационных Аг. Поэтому перед трансплантацией и гемотрансфузией необходимо определить группы крови донора и реципиента. У микроорганизмов имеются собственные изоантигены, также известные как типоспецифичные Аг. Например, по составу полисахаридных Аг пневмококки подразделяют на типы I, II, III и т.д., а возбудителей ботулизма - на типы А, В, С, D и т.д.

Органо- и тканеспецифические Аг

Многие ткани организма человека имеют большое количество собственных Аг. Их идентификация позволяет различать клетки отдельных тканей, а также определять изменения в клетках при дифференцировке и трансформации.

Патологические Аг

Некоторые воздействия могут вызывать изменения клеточных молекул (в первую очередь белков), придавая им антигенные свойства. Например, под действием излучения или высокой температуры в организме образуются так называемые лучевые или ожоговые Аг. Нормальный набор клеточных Аг может изменяться в результате злокачественного перерождения, что приводит к появлению аномальных Аг. Такие опухолевые Аг (или онкоантигены) - важные маркёры злокачественного роста; их выявление - один из важных методов диагностики опухолей.

Аутоантигены

Некоторые Аг при определённых условиях способны проявлять аутоантигенные свойства и индуцировать синтез аутоантител. Такие аутоантигены разделяют на врождённые и приобретённые.

Врождённые аутоантигены. Некоторые ткани организма обладают антигенными свойствами и запускают иммунные реакции в собственном организме. К ним относятся головной мозг, глаз (передняя камера, роговица, хрусталик, сетчатка, стекловидное тело), семенные канальцы яичек, фолликулы щитовидные железы, подкожная жировая клетчатка, волосные луковицы, рубцовая ткань. В норме Аг этих органов находятся вне иммунного надзора (так называемые *иммунно-привилегированные* области организма). При повреждении этих органов возможен контакт ауто-антигенов с иммунокомпетентными клетками и развитие аутоиммунных реакций.

Приобретённые аутоантигены. Способностью запускать аутоиммунные реакции обладают ткани, находящиеся в зоне иммунного надзора, и изменяющие свои антигенные свойства под различными воздействиями (ЛС, переохлаждение, вирусные и бактериальные инфекции).

Суперантигены

Суперантигены - Аг, способные непосредственно и без предварительной «переработки» Аг-представляющими клетками взаимодействовать с молекулами МНС. В подобных ситуациях

распознавание Аг теряет строгую избирательность, перестаёт быть «правом» Аг-специфических лимфоцитов и вовлекает большие группы Т-клеток. Их активация сопровождается избыточной продукцией различных медиаторов иммунного ответа, что приводит к ряду нежелательных реакций. Избыток цитокинов вызывает интоксикацию организма. В поликлональную активацию могут быть вовлечены Т-клетки, способные распознавать аутоантигены, что может привести к развитию аутоиммунных реакций. Свойства суперантигены проявляют Аг микоплазм, стрептококков, кампилобактеров и др.

Аг микроорганизмов

Большинство возбудителей инфекционных заболеваний человека, их структуры и токсины - полноценные Аг, вызывающие развитие иммунных реакций.

Аг бактерий. По расположению в бактериальной клетке выделяют Аг: *капсульные* (К- Аг; у видов, образующих капсулу), *соматические* (О-Аг) и *жгутиковые* (Н-Аг) (рис. 10-6).

О-Аг большинства бактерий представлены термостабильным липополисахаридно-полипептид-ным комплексом; у грамотрицательных бактерий О-Аг представляет эндотоксин. Термолабильные Н-Аг образованы белком флагеллином. Капсульные Аг большинства бактерий имеют поли-сахаридную природу. У сальмонелл также выделен термолабильный Vi-Аг (Аг вирулентности), выявление которого имеет важное значение для серотипирования бактерий.

Особую группу составляют протективные Аг [от лат. *protectio*, защита] - термолабильные белки, иммунизация которыми защищает лабораторных животных от гибели после заражения летальными дозами патогенных микроорганизмов. В настоящее время подобные Аг выделены у возбудителей сибирской язвы, чумы, бруцеллёза, туляремии и коклюша. Нередко протективные

Аг применяют для изготовления вакцин.

Аг вирусов. Заражённые вирусами клетки начинают экспрессировать вирусоспецифические Аг, что изменяет состав мембранных Аг МНС. *Появление мембранных вирусспецифических Аг - характерная особенность и маркер вирусной инфекции.* • Вирусные Аг могут быть структурными и неструктурными. Первые представлены веществами, кодируемыми нуклеиновыми кислотами, а также клеточными метаболитами (ли-пиды, углеводы), захватываемыми вирионами при почковании. Неструктурные Аг не входят в состав вирионов, а образуются в инфицированных клетках на различных этапах репродукции вирусов.

- У вирусов выделяют ядерные (сердцевинные), капсидные и суперкапсидные Аг. У пара- и ортомиксовирусов имеются также поверхностные V-Аг - гемагглютинин и нейраминидаза.

Тимуснезависимые Аг

Большинство иммунных реакций запускает взаимодействие Аг с Аг-распознающими Т-лимфоцитами (Т-хелперами) и Аг-представляющими клетками (обычно макрофагами). Т-лимфоциты стимулируют «переработку» Аг макрофагами и сборку эпитопов, обеспечивающую специфический сигнал эффекторных клеток. Источник второго (неспецифического) сигнала являются Т-хелперы. Поскольку ответ на такие Аг требует участия Т-лимфоцитов, их также обозначают термином «тимусзависимые Аг». Однако существуют Аг, структура которых сама напоминает «обойму», образуемую Аг-представляющими клетками. Таковыми являются поли- и ЛПС бактерий, представляющие жёсткую цепь с густо расположенными, регулярно чередующимися и аналогичными друг другу Аг-детерминантами. Для таких мультигаптенных молекул не нужен неспецифический, Т-клеточный сигнал и их также обозначают как «тимуснезависимые Аг».

гуморальные иммунные реакции

В гуморальных иммунных реакциях участвуют три клеточных типа: макрофаги (Аг-представляющие клетки), Т-хелперы и В-лимфоциты (рис. 10-7).

Аг-представляющие клетки фагоцитируют микроорганизм и перерабатывают его, расщепляя на фрагменты (процессинг Аг). Фрагменты Аг выставляются на поверхности Аг-представляющей клетки вместе с молекулой МНС. Комплекс «Аг-молекула МНС класса II» предъявляется Т-хелперу. Распознавание комплекса Т-хелпером стимулирует секрецию ИЛ-1 макрофагами.

Т-хелпер под действием ИЛ-1 синтезирует ИЛ-2 и рецепторы к ИЛ-2; последний по аутокринному механизму стимулирует пролиферацию Т-хелперов, а также ЦТЛ. Таким образом,

после взаимодействия с Аг-представляющей клеткой Т-хелпер приобретает способность отвечать на действие ИЛ-2 бурным размножением. Биологический смысл этого явления состоит в накоплении Т-хелперов, обеспечивающих образование в лимфоидных органах необходимого пула плазматических клеток, вырабатывающих АТ к данному Аг.

В-лимфоцит. Активация В-лимфоцита предполагает прямое взаимодействие Аг с молекулой Ig на поверхности В-клетки. В этом случае сам В-лимфоцит перерабатывает Аг и представляет его фрагмент в связи с молекулой МНС II на своей поверхности. Этот комплекс распознаёт Т-хелпер, отобранный при помощи того же Аг. Узнавание рецептором Т-хелпера комплекса Аг-молекула МНС класса II на поверхности В-лимфоцита приводит к секреции Т-хелпером ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5 и у-ИФН, под действием которых В-клетка размножается, образуя клон плазматических клеток (плазмоцитов). *Плазмоциты синтезируют АТ.* Секрецию АТ стимулирует ИЛ-6, выделяемый активированными Т-хелперами. Часть зрелых В-лимфоцитов после антиген-зависимой дифференцировки циркулирует в организме в виде клеток памяти.

Антитела

АТ - эффекторные молекулы гуморального иммунитета. Синтез АТ запускают Аг, поступающие в организм извне (при инфекциях, вакцинации, действии ксенобиотиков) или образующиеся эндогенно. Как правило, АТ специфически взаимодействует с комплементарным Аг. Существуют, однако, АТ, взаимодействующие с Аг-детерминантами, общими для различных Аг. Такие АТ известны как перекрёстно реагирующие, или гетероспецифичные. АТ существуют в миллионах разновидностях, и каждая молекула имеет уникальный участок связывания Аг-детерминанты. В большинстве случаев АТ представлены сывороточными гликопротеинами, мигрирующими в составе медленной фракции у-глобулинов при электрофорезе белков сыворотки крови. Поэтому для обозначения сывороточной фракции АТ иногда применяют термин «у-глобулины». АТ также называют «иммуноглобулины». АТ образуют одну из основных фракций белков крови, составляя 20% массы общего белка плазмы. АТ устойчивы к действию слабых кислот и щелочей, а также к нагреванию до 60 °С. Структурная единица АТ - мономер - молекула цилиндрической формы, состоящая из двух идентичных тяжёлых Н-цепей [от англ. *heavy*, тяжёлый] и двух идентичных лёгких L-цепей [от англ. *light*, лёгкий]. Тяжёлые и лёгкие цепи Ig состоят из аминокислотных остатков и соединены дисульфидными (-S-S-) связями (рис. 10-8). В цепях различают переменную область, или V-область [от англ. *variable*, разный], и константную область, или C-область [от англ. *constant*, постоянный]. V-область у разных АТ варьирует. V-области L- и Н-цепей образуют Аг-связывающий центр (активный центр АТ, паратоп), или Fab-фрагмент [от англ. *fragment*, фрагмент, + *antigen binding*, связывающий Аг]. Константная область молекулы называется Fc-фрагмент [от англ. *fragment crystallizable*, фрагмент кристаллизации]. В месте

соединения Fab- и Fc-фрагментов расположена шарнирная область, позволяющая Ag-связывающим фрагментам разворачиваться для более тесного контакта с Ag.

Fab- фрагмент

Fab-фрагменты АТ взаимодействуют с антигенными детерминантами. Ag-связывающий центр комплементарен эпитопу Ag (принцип «ключ-замок»). Связывание Ag с АТ нековалентно и обратимо. Аффинность (сродство) Ag к АТ определяется физико-химическими свойствами взаимодействующих молекул и соотношением концентраций связанных и свободных Ag и АТ. На сродство влияют пространственное соответствие взаимодействующих участков молекул, электростатические, гидрофобные взаимодействия и силы Ван дер Ваальса. Авидность - интегральная характеристика силы связи между Ag и АТ, учитывающая взаимодействие всех активных центров с эпитопами Ag.

Валентность - число активных (Ag-связывающих) центров АТ. Молекула полного Ig как минимум двухвалентна. Такие АТ известны как *полные АТ*; мономеры с меньшей валентностью - *неполные АТ*.

Полные АТ (в частности IgM, IgG) вызывают агрегацию Ag, видимую невооружённым глазом (например, РА бактерий).

Неполные АТ содержат один Ag-связывающий центр и, поэтому, одновалентны (например, АТ, вырабатываемые при бруцеллёзе). Второй Ag-связывающий центр у подобных Ig экранирован различными структурами либо обладает низкой авидностью. *Неполные АТ функционально дефектны*, так как не способны агрегировать Ag. Неполные АТ могут связывать эпитопы Ag, препятствуя контакту с ними полных АТ; поэтому их также называют блокирующими АТ.

Fc-фрагмент

Константные участки тяжёлых цепей определяют характер взаимодействий АТ с клетками и молекулами иммунной системы, в частности, специфичность связывания молекулы Ig с клетками-эффекторами (например, фагоцитами, тучными клетками), несущими на своей поверхности рецепторы к Fc-фрагменту. Fc-фрагмент определяет также эффекторные функции АТ (например, активацию комплемента). Для реализации этих свойств сразу после связывания Ag Fab-фрагментами происходят конформационные изменения структуры Fc-фрагментов. Пространственно изменённые Fc-фрагменты распознают фагоциты, именно они способствуют фиксации C1a-компонента комплемента и запуску комплементарного каскада по классическому пути. В противном случае ни клетки, ни эффекторные молекулы были бы не в состоянии отличить интактные АТ или АТ, связавшие Ag.

Взаимодействие АТ с Ag

Взаимодействие АТ с Ag включает специфическую и неспецифическую фазы.

- Специфическая фаза протекает быстро и представляет специфическое взаимодействие активного центра с Ag.

- Неспецифическая фаза протекает медленнее, зависит от присутствия электролитов и свойств Ag. Корпускулярные Ag агрегируются в крупнодисперсные конгломераты и выпадают в осадок (*феномен агглютинации*). Растворимые Ag образуют мелкодисперсные конгломераты (*феномен преципитации*), проявляющиеся помутнением раствора или образованием колец преципитации либо зон преципитации в гелях.

Классы Ig

Константные участки лёгких цепей бывают двух типов - каппа (κ) и лямбда (λ); константные участки тяжёлых цепей представлены пятью основными формами - мю (μ), гамма (γ), дельта (δ), альфа (α) и эпсилон (ε). Каждая из них ассоциирована с отдельным классом Ig. Выделяют 5 классов АТ: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM (рис. 10-9, табл. 10-8). Молекулы IgG, IgD и IgE представлены мономерами, IgM - пентамерами; молекулы IgA в сыворотке крови - мономеры, а в экскреторируемых жидкостях (слёзная жидкость, слюна, секреты слизистых оболочек) - димеры.

IgM синтезируются при первичном попадании Аг в организм. Пик образования приходится на 4-5-е сутки с последующим снижением титра. Образование IgM к некоторым Аг (например, жгутиковым Аг бактерий) осуществляется постоянно. К IgM относят значительную часть АТ, вырабатываемых к Аг грамотрицательных бактерий. *Наличие IgM к Аг конкретного возбудителя указывает на острый инфекционный процесс.* Молекула IgM - пентамер; пять субъединиц соединены J-цепью [от англ. *joining*, связывающий], в результате чего молекула IgM приобретает 10 Аг-связывающих участков. Молекулы IgM опсонизируют, агглютинируют, преципитируют и лизируют содержащие Аг структуры, а также активируют систему комплемента по классическому пути (для комплементзависимого лизиса бактерии достаточно одной молекулы IgM).

IgG - основной класс АТ (до 75% всех Ig), защищающий организм от бактерий, вирусов и токсинов. После первичного контакта с Аг синтез IgM обычно сменяется образованием IgG. Максимальные титры IgG при первичном ответе наблюдают на 6-8-е сутки. *Обнаружение вы-*

соких титров IgG к Аг конкретного возбудителя указывает на то, что организм находится на стадии реконвалесценции или конкретное заболевание перенесено недавно. В особо больших количествах IgG синтезируется при вторичном ответе. IgG представлены 4 подклассами: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4; их относительное содержание (в %) составляет соответственно 66,70, 23, 7-8 и 2-4. IgG непосредственно участвуют в реакциях иммунного цитолиза, реакциях нейтрализации, а также усиливают фагоцитоз, действуя как опсонины и связывая рецепторы Fc-фрагмента в мембране фагоцитирующих клеток (в результате этого фагоциты эффективнее поглощают и лизируют микроорганизмы). *Только IgG способны проникать через плаценту, что обеспечивает формирование у плода пассивного иммунитета.*

IgA циркулируют в сыворотке крови (составляет 15-20% от всех Ig), а также *секретируются на поверхность эпителиев.* Присутствуют в слюне, слёзной жидкости, молоке и на поверхности слизистых оболочек. АТ класса IgG усиливают защитные свойства слизистых оболочек пищеварительного тракта, дыхательных, половых и мочевыделительных путей. В сыворотке крови IgA циркулируют в виде двухвалентных мономеров; в секретируемых жидкостях преобладают четырёхвалентные димеры, содержащие одну J-цепь и дополнительную полипептидную молекулу (синтезируемый эпителиальными клетками *секреторный компонент*). Эта молекула присоединяется к мономерам IgA в ходе их транспорта через эпителиальные клетки на поверхность слизистых оболочек. Секреторный компонент участвует не только в связывании молекул IgA, но обеспечивает их внутриклеточный транспорт и выделение на поверхность слизистых, а также защищает IgA от переваривания протеолитическими ферментами (рис. 10-10). Молекулы IgA участвуют в реакциях нейтрализации и агглютинации возбудителей. Кроме того, после образования комплекса Аг-АТ они участвуют в активации комплемента по альтернативному пути.

IgE специфически взаимодействуют с тучными клетками и базофильными лейкоцитами, содержащими многочисленные гранулы с БАВ. Их выделение из клетки (дегрануляция) вызывает резкое расширение просвета венул и увеличение проницаемости их стенки. Подобную картину можно наблюдать при аллергических реакциях (например, бронхиальной астме, аллергическом рините, крапивнице). Аг-связывающие Fab-фрагменты молекулы IgE специфически

взаимодействуют с Аг, попавшим в организм. Сформированный иммунный комплекс взаимодействует с рецепторами Fc-фрагментов IgE, встроенных в клеточную мембрану базофила или тучной клетки. Это взаимодействие и является сигналом для дегрануляции с высвобождением гистамина и других БАВ и развёртыванием острой аллергической реакции. Защитные свойства IgE направлены преимущественно против гельминтов (нематод). Синтез IgE увеличивается при паразитарных инвазиях, IgE-моноклональной миеломе, а также первичных иммуно-дефицитах (атаксия-телеангиэктазия, синдромы Вйскотта-Олдрича, Незелофа, Ди Джорджи).

IgD. Биологическая роль этой разновидности АТ не установлена. IgD обнаруживают на поверхности развивающихся В-лимфоцитов; в сыворотке крови здоровых лиц присутствует в очень низкой концентрации. Содержания IgD достигает максимума к 10 годам жизни; некоторое увеличение титров отмечают при беременности, у больных бронхиальной астмой, системной красной волчанкой и лиц с иммунодефицитами.

Генерация разнообразия АТ

Кроме различных классов Ig, между молекулами АТ существуют аллотипические, изотипические и идиотипические отличия. Аллотипы. Аллотипические детерминанты расположены на лёгких и тяжёлых цепях Ig, генетически детерминированы и строго индивидуальны для каждого организма. Их образование обусловлено различиями небольших аминокислотных последовательностей константных участков тяжёлых и лёгких цепей в результате незначительного полиморфизма генов, кодирующих их синтез. Аллотипические различия не влияют на функциональные свойства молекул АТ и характеризуются моногенным (менделевским) наследованием.

Изотипы. Изотипические детерминанты носят видовые признаки и идентичны у всех представителей одного вида. По их структуре различают классы и подклассы тяжёлых цепей и варианты лёгких цепей. Образование изотипических детерминант обусловлено более существенными структурными различиями в составе цепей, влияющими на функциональные свойства АТ.

Идиотипы. Идиотипические детерминанты определяют индивидуальную характеристику конкретного АТ и соответствуют его Аг-связывающим участкам. Все молекулы Ig, продуцируемые отдельным лимфоцитом и его потомками (то есть клоном плазматических клеток), несут один и тот же идиотип и обозначаются термином «моноклональные АТ».

Основные типы АТ

АТ обычно разделяют в соответствии с типом их реакций с Аг.

- Антитоксические АТ к токсинам и анатоксинам нейтрализуют или флоккулируют Аг.
- Агглютинирующие АТ агрегируют Аг. Их выявляют в реакциях с корпускулярными Аг и растворимыми Аг, сорбированными на поверхности видимых частиц (эритроциты, частицы латекса).
- Преципитирующие АТ образуют комплекс Аг-АТ с растворимыми Аг только в растворах или гелях.
- Лизирующие АТ вызывают разрушение клеток-мишеней (обычно взаимодействуя с комплементом).
- Опсонизирующие АТ взаимодействуют с поверхностными структурами клеток микробов или заражённых клеток организма, способствуя поглощению их фагоцитами.

- Нейтрализующие АТ инактивируют Аг (токсины, микроорганизмы), лишая их возможности проявлять патогенное действие.

Основные функции АТ

АТ через Аг-связывающие центры взаимодействуют с различными Аг. Тем самым АТ предотвращают инфицирование или элиминируют возбудитель либо блокируют развитие патологических реакций, активируя при этом все системы специфической защиты.

Опсонизация (иммунный фагоцитоз). АТ (через Fab-фрагменты) связываются с клеточной стенкой микроорганизма; Fc-фрагментом АТ взаимодействует с соответствующим рецептором фагоцита. Это опосредует последующее эффективное поглощение фагоцитом образовавшегося комплекса.

Антитоксический эффект. АТ могут связывать и, тем самым, инактивировать бактериальные токсины.

Активация комплемента. АТ (IgM и IgG) после связывания с Аг (микроорганизм, опухолевая клетка и др.) активируют систему комплемента, что приводит к уничтожению этой клетки путём перфорации её клеточной стенки, усиления хемотаксиса, хемокинеза и иммунного фагоцитоза.

Нейтрализация. Взаимодействуя с рецепторами клетки, связывающими бактерии или вирусы, АТ могут препятствовать адгезии и проникновению микроорганизмов в клетки организма-хозяина.

Циркулирующие иммунные комплексы. АТ связывают растворимые Аг и образуют циркулирующие комплексы, с помощью которых Аг выводится из организма, преимущественно с мочой и жёлчью.

Антителозависимая цитотоксичность. Опсонизируя Аг, АТ стимулируют их разрушение цитотоксическими клетками. Аппарат, обеспечивающий распознавание мишеней, - рецепторы к Fc-фрагментам АТ. Разрушать опсонизированные мишени способны макрофаги и гранулоциты (например, нейтрофилы).

Динамика антителообразования

На скорость образования АТ влияет ряд факторов: доза Аг (сила Аг-воздействия), частота Аг-стимуляции и состояние иммунной системы индивида (то есть его иммунный статус). Если организм впервые встречается с Аг, то развивается первичный иммунный ответ, а при повторном контакте - вторичный ответ (рис. 10-11).

Первичный ответ. Появлению АТ предшествует *латентный период* продолжительностью 3-5 сут. В это время происходит распознавание Аг и образование клонов плазматических клеток. Затем наступает *логарифмическая фаза*, соответствующая поступлению АТ в кровь; её продолжительность - 7-15 сут. Постепенно титры АТ достигают пика и наступает *стационарная фаза*, продолжительностью 15-30 сут. Её сменяет *фаза снижения* титров АТ, длящаяся 1-6 мес. В основу пролиферации клеток-продуцентов АТ заложен принцип селекции. В динамике антителообразования титры высокоаффинных АТ постепенно нарастают: *после иммунизации аффинность АТ к Аг постоянно увеличивается*. Первоначально образуются IgM, но постепенно их образование уменьшается и начинает преобладать синтез IgG. Так как переключение синтезов от IgM к IgG не меняет идиотипа АТ (то есть его специфичность по отношению к конкретному Аг), то оно не связано с клональной селекцией. *Особенности первичного ответа - низкая скорость антителообразования и появление сравнительно невысоких титров АТ.*

Вторичный ответ. После антигенной стимуляции часть В- и Т-лимфоцитов циркулирует в виде клеток памяти. *Особенности вторичного иммунного ответа - высокая скорость антителообразования, появление максимальных титров АТ и длительное (иногда многолетнее) их циркулирование.* Основные характеристики вторичного ответа: • образование АТ индуцируется значительно меньшими дозами Аг; • индуктивная фаза сокращается до 5-6 ч; • среди АТ доминируют IgG с большой аффинностью, пик их образования наступает раньше (3-5 сут); • АТ образуются в более высоких титрах и циркулируют в организме длительное время.

клеточные иммунные реакции

Помимо образования АТ, реализующих гуморальные реакции иммунитета, иммунная система в ряде случаев связывает и элиминирует Аг при непосредственном участии эффекторных иммунокомпетентных клеток (клеточно-опосредованный иммунный ответ). При этом иммунокомпетентные клетки, как и при гуморальных иммунных реакциях, сначала должны распознать Аг, а затем мобилизовать другие клетки для элиминации Аг и несущих их клеток. При клеточно-опосредованном иммунном ответе Аг-распознающие рецепторы остаются связанными с мембраной Т-лимфоцита. Подобно гуморальному, клеточный иммунный ответ специфичен: Т-клетки распознают и реагируют с Аг либо в комплексе с молекулой МНС I на поверхности чужеродных клеток, либо распознают и реагируют с эндогенными иммуногенами в комплексе с молекулой МНС класса I на поверхности собственных вирус-инфицированных и опухолевых клеток.

Эффекторы клеточных иммунных реакций - цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) и Т-клетки ГЗТ (Тгзт). Ключевое различие в функциональной активности состоит в том, что ЦТЛ обладают прямой цитотоксичностью, в то время как Тгзт преимущественно вовлекают в ответ клетки других типов. Тгзт отличаются от ЦТЛ и по мембранным CD-Аг: первые имеют CD4, вторые - CD8.

Индукция Т-клеточно-опосредованных реакций. Развитие Т-клеточно-опосредованных реакций имеет много общего с опосредованными АТ гуморальными реакциями и также начинается с поглощения и процессинга Аг Аг-представляющими клетками (макрофаги, дендритные клетки, клетки Лангерханса). *Обязательное условие взаимодействия Аг-представляющей клетки и Т-лимфоцита - идентичность молекул МНС* (то есть Аг распознаётся, будучи представленным Т-лимфоциту только в контексте собственного аллельного варианта молекулы МНС на поверхности макрофага). *СВ4⁺-клетки распознают Аг в сочетании с молекулами МНСII, а*

СВ8⁺-клетки - в сочетании с молекулами МНСI. Другими словами, Аг-реактивные (сенсibilизированные) Тгзт и ЦТЛ образуются только при взаимодействии процессированного Аг и экспрессированных гликопротеинов комплекса МНС.

Уничтожение клетки-мишени цитотоксическими Т-лимфоцитами. Представленный на поверхности клетки-мишени Аг в комплексе с молекулой МНС I связывается с рецептором ЦТЛ. В этом процессе участвует молекула CD8 клеточной мембраны Т-клетки. Секретируемый Т-хелперами ИЛ-2 стимулирует пролиферацию ЦТЛ. ЦТЛ распознаёт клетку-мишень и прикрепляется к ней. В цитоплазме активированного ЦТЛ присутствуют мелкие гранулы, концентрирующиеся в той части ЦТЛ, которая расположена в области контакта с клеткой-мишенью. Параллельно происходит переориентация цитоскелета, смещение в эту область комплекса Гольджи, в котором и формируются эти гранулы. Гранулы содержат белок перфорин. Выделяемые ЦТЛ молекулы перфорина полимеризуются в мембране клетки-мишени в присутствии Ca²⁺ и формируют перфориновые поры, пропускающие воду и ионы, но не молекулы белка. В результате клетка-мишень погибает вследствие быстрого выравнивания ионного состава клетки и межклеточного пространства. Сам лимфоцит защищён от

цитотоксического действия перфорина. Механизмы подобной самозащиты остаются неизвестными.

Альтернативный механизм уничтожения клетки-мишени. Нашло подтверждение представление о другом механизме цитотоксического действия, согласно которому ЦТЛ и НК-клетки - источники сигнала, запускающего уже предсуществующую суицидальную программу в клетке-мишени. Действие этого сигнала усиливают глюкокортикоиды. Реакции ГЗТ. Тгзт-клетки распознают чужеродные Аг (преимущественно микроорганизмы), секретируют у-ИФН и другие лимфокины, стимулируя тем самым цитотоксичность макрофагов и усиливая другие Т- и В-клеточные ответы. *ГЗТ - местный клеточно-опосредованный иммунный ответ.* Реакции ГЗТ могут развиваться в любой ткани, но исторически их рассматривают в контексте кожного тестирования (например, проба с туберкулином). Кожная реакция ГЗТ развивается только у сенсибилизированного индивидуума приблизительно через 24-48 ч после внутри-кожного введения Аг. В месте инъекции возникают эритема, уплотнение или, как крайняя степень реакции, некроз. Развитием ГЗТ на вводимый Аг отвечают только организмы с предсуществующей сенсибилизацией. Гистологически реакция ГЗТ характеризуется инфильтрацией очага: сначала нейтрофилами, затем лимфоцитами и макрофагами. Развитие реакции ГЗТ включает комплекс межклеточных взаимодействий, ведущих к активации макрофагов. Сенсибилизированные Тгзт распознают эпитопы (чаще внутриклеточных патогенов), представленные на мембране дендритных клеток, и секретируют цитокины, активирующие макрофаги и привлекающие другие провос-палительные клетки. Активированные макрофаги в свою очередь секретируют множество БАВ, вызывающих воспаление и уничтожающих бактерии, опухоли и другие чужеродные клетки. К этим БАВ относят цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО α), активные метаболиты кислорода (О \cdot , ОН \cdot , ОС \cdot , H $_2$ O $_2$ и др.), протеазы, катионные белки, лизоцим и лактоферрин.

ИММУННАЯ ПАМЯТЬ

Иммунная память - способность иммунной системы отвечать на вторичное проникновение Аг быстрым развитием специфических реакций по типу вторичного иммунного ответа. Реализацию этого эффекта обеспечивают стимулированные Т- и В-лимфоциты, не выполняющие эффекторные функции. Феномен иммунной памяти проявляется как в гуморальных, так и в клеточных реакциях. Клетки памяти циркулируют в покоем состоянии, а при повторном контакте с Аг образуют обширный пул «Аг-представляющих» клеток (не следует путать с клетками макрофагально-моноцитарной системы, задействованных в первичном ответе). Иммунная память может сохраняться долгое время, поддерживаясь преимущественно Т-клетками памяти.

Бустер-эффект - феномен интенсивного развития иммунного ответа на вторичное попадание Аг [от англ. *to boost*, усиливать]. Его используют для получения лечебных и диагностических сывороток с высокими титрами АТ (гипериммунные сыворотки) от иммунизированных животных. Для этого животных иммунизируют Аг, а затем проводят повторное, бустерное его введение. Иногда повторную иммунизацию проводят несколько раз. Бустер-эффект также применяют для быстрого создания невосприимчивости при повторных вакцинациях (например, для профилактики туберкулёза).

Вакцинопрофилактика. Эффект иммунной памяти составляет основу вакцинопрофилактики многих инфекционных болезней. Для этого человека вакцинируют, а затем (через определённый временной интервал) ревакцинируют. Например, вакцинопрофилактика дифтерии включает повторные ревакцинации с интервалом 5-7 лет.

иммунное реагирование при различных инфекциях

Иммунный ответ при вирусных инфекциях

Исход вирусных инфекций зависит от функциональной активности защитных факторов, ограничивающих диссеминирование либо элиминирующих инфекционный агент из поражённых тканей. В то же время, *выздоровление при острых вирусных инфекциях в значительной степени обусловлено действием неиммунных механизмов*, таких как лихорадочная реакция, синтез ИФН и активность естественных киллеров (NK-клетки). Это связано с тем, что вирусные инфекции имеют короткий инкубационный период, а быстрая репродукция в первичном очаге и разнос возбудителя с кровотоком осуществляются до образования значимых титров вируснейтрализующих АТ и формирования цитотоксических механизмов. Определённую роль в удалении вирусов играют фагоциты, поглощающие возбудитель, изолирующие и разрушающие инфицированные клетки. В ходе вирусных инфекций вырабатываются Ig классов M, G и A, но внутриклеточное персистирование часто защищает вирусы от нейтрализующего действия АТ. Выздоровление при хронических инфекциях в значительной степени обусловлено активностью цитотоксических иммунных механизмов, разрушающих инфицированные клетки (рис. 10-12).

Гуморальные иммунные реакции

Вирусоспецифические АТ появляются после распознавания иммуногенных структурных компонентов вирусов - капсидных белков безоболочечных и поверхностных гликопротеинов оболочечных вирусов. Особо важную роль АТ играют в поддержании невосприимчивости к вирусным инфекциям. Их появление при повторном проникновении инфекционного агента или ревакцинации опосредовано активностью клеток памяти. Противовирусные АТ взаимодействуют с вирусными Аг на мембранах заражённых клеток, что ведёт к комплементзависимому цитолизу, анти-телозависимой цитотоксичности и проявлению активности ЦТЛ. При вирусных инфекциях образуются нейтрализующие и комплементсвязывающие АТ.

Нейтрализующие АТ оказывают защитное действие, препятствуя проникновению возбудителя в клетки. Эти АТ *взаимодействуют с капсидными белками «голых» и поверхностными гликопротеинами «одетых» вирусое*.

Одна молекула АТ одновременно реагирует с двумя эпитопами капсидных белков, вызывая пространственную перестройку всей структуры капсида. Это нарушает взаимодействие вируса с клеточным рецептором или блокирует высвобождение вирусного генома после проникновения нуклеокапсида в цитоплазму.

Взаимодействие АТ с поверхностными гликопротеинами также ингибирует слияние оболочки с клеточной мембраной или мембранами эндосом, препятствуя высвобождению нуклеокапсида в цитоплазму.

Комплементсвязывающие АТ имеют важное значение при серологической диагностике вирусных инфекций. Противовирусный эффект реализуется через участие в комплементзависимом цитолизе заражённых клеток и комплементзависимом разрушении структуры вирусных оболочек. Последнее обусловлено необратимыми изменениями структуры поверхностных шипов, представленных гликопротеинами; такой механизм нейтрализации (вирилизис) реализуется в отношении вирусов, имеющих суперкапсиды.

Клеточные иммунные реакции

Клеточные иммунные реакции - основная система уничтожения и удаления патогенных вирусов. Нарушения свойств иммунокомпетентных клеток значительно осложняют течение вирусных заболеваний: возбудители обычно лёгких и самоограничивающихся поражений могут вызывать тяжёлые, трудно излечиваемые инфекции. Важнейшую роль в разрушении инфицированных клеток играют цитотоксические Т-лимфоциты. После появления достаточных титров АТ способность убивать заражённые вирусами клетки приобретают макрофаги и гранулоциты.

Иммунный ответ при бактериальных инфекциях

Первую ступень защиты от патогенных бактерий образуют факторы неспецифической резистентности - кожные и слизистые барьеры, а после их преодоления - фагоцитирующие клетки. Действие факторов неспецифической резистентности направлено не на Аг бактерий, а на бактериальную клетку в целом. Вторую ступень защиты образуют факторы специфической защиты, среди которых наиболее значимую роль играют антибактериальные АТ. Характер специфических защитных реакций определяется особенностями патогенеза того или иного заболевания. Если возбудитель продуцирует экзотоксины, то доминируют механизмы их нейтрализации; при этом сам возбудитель может выживать и длительно сохраняться в организме реконвалесцентов и здоровых лиц (например, возбудитель дифтерии). Ig различных классов нейтрализуют (агглютинируют или пре-ципитируют) бактерии и их токсины; опосредуют разрушение бактерий (преимущественно через комплементзависимый цитолиз); опсонизируют их, стимулируя фагоцитоз бактерий, а также экранируют рецепторы чувствительных клеток. Проникновение бактерий, способных к внутриклеточному паразитированию, увеличивает значимость клеточных реакций, уничтожающих заражённые клетки. Следует упомянуть о реакциях ГЗТ, практически постоянно встречающихся при многих бактериальных инфекциях с длительным инкубационным периодом (туберкулёз, бруцеллёз). В некоторых случаях иммунные механизмы не в состоянии обеспечить полное удаление возбудителя, что приводит к развитию носительства или хронизации инфекции.

Иммунный ответ при грибковых инфекциях

Грибковые клетки и их продукты - сильные иммуногены. Их распознавание иммунной системой проявляется в виде клеточных и гуморальных реакций. Многие грибковые Аг проявляют сенсибилизирующее действие, поэтому аллергический компонент - важное звено патогенеза микозов. Однако при микозах сенсибилизация не строго специфична, не отражает уровня иммунного реагирования и нередко не имеет прогностическое значение. Патогенные грибы содержат большой набор Аг.

Гуморальные реакции

Большинство грибковых поражений сопровождается образованием высоких титров АТ. Вид АТ и нарастание концентрации отражают статус и прогрессирование инфекции. При микозах образуются высокие титры АТ классов IgM, IgG и IgA; при сенсибилизирующем действии грибковых Аг дополнительно образуются IgE. Значение цитотоксического действия АТ в комплементзависимом цитолизе невелика, так как комплемент непосредственно действует на грибковую клетку, активирующую его по классическому и альтернативному пути. Сложность антигенной структуры возбудителей микозов приводит к появлению значительного пула АТ, не участвующих напрямую в уничтожении возбудителя и не проявляющих строгой видоспецифичности.

Клеточные реакции

Клеточные реакции играют основную роль в элиминации патогенных грибов. Исключая поверхностные микозы (где нет контакта между Аг и иммунокомпетентными клетками), у заражённых лиц развивается реакция ГЗТ, обнаруживаемая уже через 10-14 сут. Предполагается, что основная роль в формировании резистентности принадлежит именно клеточным реакциям, но клинических данных, подтверждающих это положение, нет. В эксперименте показана важная роль ЦТЛ, так как их перенос сингенным реципиентам (клетки или организмы с идентичным набором Аг МНС) приводит к состоянию резистентности; участие Т-хелперов реализуется в активации клеток макрофагально-моноцитарной системы и полиморфноядерных клеток (при респираторных микозах) и стимуляции их фагоцитарной активности.

В ряде случаев иммунные реакции не только не препятствуют, но и способствуют развитию патологических реакций (гиперчувствительность, аутоиммунные поражения), что приводит к хроническому, рецидивирующему течению многих микозов.

Иммунные реакции при протозойных инфекциях

Аг патогенных простейших вызывают развитие гуморальных и клеточных реакций, но их роль в защите организма неравноценна. Это связано с паразитированием некоторых простейших в областях пониженного иммунного надзора (например, в СМЖ, головном мозге), тогда как другие паразитируют в сосудистом русле (в этом случае роль защитных реакций в их уничтожении высока). Величина паразитов, сложность их организации и наличие систем устойчивости позволяют им более или менее эффективно избегать действия защитных механизмов. Весьма важно и то, что на Аг или группу близкородственных Аг простейших организм человека формирует два типа АТ с противоположными эффектами - паразитоцидные и индуцирующие изменчивость паразита. В результате иммунные реакции начинают играть роль экологического фактора, регулирующего взаимоотношения в системе «паразит-хозяин» и поддерживающего длительное её существование.

Простейшие, обитающие в кровотоке (африканские трипаносомы, малярийные плазмодии) избегают действия иммунных механизмов за счёт изменения основных Аг у дочерних популяций. Другими словами, очередная популяция антигенно и иммуногенно обособлена, что резко снижает эффективность иммунных реакций.

Полостные паразиты (гиардии, амёбы, трихомонады) контактируют с иммунокомпетентными клетками, что приводит к ограниченной индукции иммунных реакций. Эти реакции имеют некоторую значимость: известно, что у лиц с иммунодефицитами гиардиоз наблюдают часто.

Прочие патогенные простейшие (американские трипаносомы, лейшмании и токсоплазмы) вызывают развитие гуморальных и клеточных реакций, но полному удалению патогенов из организма препятствует их способность длительно паразитировать в разнообразных клетках организма.

толерантность и аутоиммунитет

В этом разделе рассмотрены толерантность [от лат. *tolerantia*, устойчивость, терпимость], иммунодепрессивное состояние и аутоиммунные реакции.

толерантность

Иммунная система должна различать «свое» и «чужое», атаковать чужеродные Аг, не повреждая при этом собственные. Подсчитано, что иммунокомпетентные клетки могут распознать не менее 10^6 - 10^7 разных Аг. Иммунный ответ против собственных тканей организма в нормальных условиях не развивается, то есть *иммунная система толерантна к собственным Аг и не толерантна к чужеродным*. Иммунная толерантность представляет явление, противоположное обычным иммунным реакциям; при этом *состояние толерантности вызывают толерогены - вещества, имеющие свойства Аг*. Толерантность обеспечивается удалением или подавлением иммунокомпетентных клеток, способных реагировать с Аг собственных тканей.

Механизмы поддержания

Толерантность - активный процесс, подобно прочим иммунным реакциям, тщательно контролирующийся. При истинной толерантности (в отличие от иммунодефицитов) ответ на соответствующий Аг подавлен, а на другие Аг сохранён, то есть *иммунная толерантность специфична и распространяется только на Аг, которые её индуцировали*. Состояние толерантности поддерживают разнообразные механизмы: Т-супрессоры, уничтожение клонов Т- и

В-клеток, экспрессирующих соответствующие рецепторы, ограничение взаимодействия Ag-представляющих клеток и лимфоцитов. Врождённую толерантность обеспечивает отсутствие клона лимфоцитов, контактировавших с Ag плода в антенатальном периоде. Приобретённую толерантность опосредует активация Т-супрессоров, а также АТ, блокирующие Ag.

Естественная толерантность развивается по отношению к аутоантигенам. Состояние естественной толерантности развивается до рождения. Поскольку в это время лимфоциты функционально незрелы, то *для развития толерантности необходимо длительное присутствие Ag в организме*. Природа этих Ag может быть различной, ими могут быть даже микробные продукты. Попав в организм в период иммунной некомпетентности, они впоследствии воспринимаются как собственные Ag. Этим объясняется трудность развития естественной толерантности во взрослом состоянии.

Искусственная толерантность может индуцироваться различными веществами, попавшими в организм в начальном периоде постнатального развития. Такие вещества называют толерогенами. Толерогенами могут быть практически любые Ag, но толерантность легче развивается при попадании в организм растворимых и низкомолекулярных Ag. *Высокоиммуногенные Ag реже вызывают состояние толерантности, по сравнению с малоиммуногенными*. Чем больше генетических различий между реципиентом и толерогеном, тем труднее формируется толерантность.

Иммунный паралич - близкое к толерантности состояние, развивающееся после введения очень больших доз Ag. При этом повторное введение Ag в возрастающих количествах через короткие промежутки более эффективно, чем однократная иммунизация. В этом имеется определённая аналогия с десенсibilизацией организма по А.М. Безредке. При этом дозы Ag могут быть более низкими (так называемая толерантность «низкой дозы»), чем однократное введение больших количеств Ag.

Расщеплённая толерантность. При введении гаптенов может развиваться расщеплённая толерантность: АТ при сохранении клеточных реакций иммунитета не образуются или наоборот, имеются АТ при отсутствии клеточных реакций.

Нарушения толерантности. Если естественная толерантность сохраняется годами, то искусственная - не более нескольких месяцев. Толерантность может развиваться при некоторых заболеваниях, но значительно чаще она нарушается по отношению к собственным Ag, результате чего развиваются аутоиммунные заболевания. Это состояние впервые наблюдал П. Эрлих и назвал его *horror autotoxicus* (дословно «самоотравляющий ужас»). Действительно, в большинстве случаев аутоиммунный процесс вызывает гораздо больше повреждений, чем провоцирующее его заболевание (например, ревматоидный артрит или гломерулонефрит после стрептококковой инфекции).

Иммунодепрессивное состояние

Не следует путать иммунную толерантность и неспецифическое подавление иммунной реактивности, отличающиеся механизмом развития и направленностью. Если толерантность достигается введением толерогена, то иммунодепрессивное состояние носит неспецифическое действие, вовлекая все фазы иммунного ответа и основные популяции иммунокомпетентных клеток. Иммунодепрессивные состояния обычно приводят к нежелательным последствиям; в частности они являются основной причиной развития инфекций, вызываемых условно-патогенной и оппортунистической микрофлорой, а также создают предпосылки для развития болезней злокачественного роста. Искусственное создание иммунодепрессивного состояния проводят в целях предотвращения отторжения трансплантата и для лечения аутоиммунных заболеваний. Состояние иммунодепрессии могут вызывать различные физические, химические и наследственные факторы. Врождённые иммунодефициты - как правило редкие генетические

заболевания, характеризующиеся изолированным Т- или В-клеточным дефицитом или комбинированным (Т- и В-) расстройством.

Гиперкортицизм (синдром *Кушинга*) возникает в результате значительного повышения содержания глюкокортикоидов в крови.

Двусторонняя гиперплазия коры надпочечников (болезнь Иценко-Кушинга) - наиболее частая причина развития синдрома. *Эктопическое производство адренокортикотропного гормона* опухолями (например, овсяно-кле-точная карцинома лёгкого, карцинома поджелудочной железы) также вызывает гиперплазию надпочечников и синдром *Кушинга*. *Ятрогенный синдром Кушинга* обычно развивается у больных, длительное время получающих глюкокортикоиды по поводу бронхиальной астмы, артрита и других заболеваний. Ионизирующая радиация повреждает пролиферирующие иммунокомпетентные клетки. Антилимфоцитарная сыворотка. Иммунодепрессивный эффект основан на феномене антители-зависимого цитолиза иммунокомпетентных клеток (феномен впервые установил И.И. Мечников в 1899 г.).

Химические иммунодепрессанты: глюкокортикостероиды, цитостатики (антиметаболиты и алкилирующие агенты), а также антибиотики. Инфекционные заболевания. Многие вирусные инфекции (например, грипп, корь и др.) вызывают развитие транзиторных иммунодепрессивных состояний, длящихся недели и месяцы. Иммунодепрессивные свойства вирусов создают предпосылки для развития бактериальных суперинфекций, столь характерных для многих ОРВИ. Особую группу составляют так называемые лимфотропные вирусы семейства *Retroviridae*, вызывающие Т-клеточные иммунодефициты, в дальнейшем приводящие к тотальной иммунодепрессии (СПИД; см. главу 33).

Аутоиммунные реакции

Аутоиммунные реакции могут быть результатом формирования новых Аг-детерминант в составе носителя Аг или повреждения существующих аутоантигенных детерминант.

- Толерантность к аутоантигенам может быть нарушена при самом незначительном их повреждении (например, изменении нормальной структуры Аг клеточных мембран при вирусных инфекциях).

- Отмена толерантности к собственным Аг может развиваться при взаимодействии с Аг, эпитопы которого близки по структуре к нормальным эпитопам аутоантигена (например, перекрёстная реактивность между белками клеточной стенки стрептококка и тканевыми Аг сердца приводит к развитию ревматоидного эндокардита и патологии клапанов).

- Если чужеродные Аг-детерминанты связываются с клетками организма, толерантность нарушается. Иммунный ответ на такие Аг приводит к разрушению собственных клеток (например, индуцированные ЛС гемолитические анемии).

- Острая травма тканей может привести к освобождению Аг, обычно изолированных от иммунной системы гисто-гематическими барьерами. В таких обстоятельствах аутоантигены распознаются как чужеродные. Один из примеров - симпатическая офтальмия - первичное повреждение глаза, вызывающее несостоятельность офтальмо-гематического барьера. Контакт клеток иммунной системы с тканевыми Аг глаза с последующим развитием иммунного ответа может вызвать полную потерю глаза, даже если провоцирующее повреждение уже разрешилось.

- Аутоиммунная реакция может быть результатом поликлональной активации В-клеток митогенами (например, бактериальными ЛПС) или секреции лимфокинов Т-клетками, стимулированными митогеном.

- Аутоиммунная реакция может возникнуть вследствие расстройств регуляции иммунной системы. Формы нарушения регуляции - дефицит или функциональная недостаточность супрессорных клеток, атипичная экспрессия молекул МНС II на клетках, не экспрессирующих эти Аг в нормальных условиях (например, тиреоциты при аутоиммунном тиреоидите).

реакции гиперчувствительности

При инфекционной патологии связывание Аг АТ обеспечивает пониженную чувствительность к действию различных микроорганизмов и их токсинов. Повторный контакт с Аг вызывает развитие вторичного ответа, протекающего намного интенсивнее. Аг не всегда стимулируют выработку АТ, понижающих чувствительность к ним. В определённых условиях вырабатываются АТ, взаимодействие которых с Аг повышает чувствительность организма к его повторному проникновению (реакции гиперчувствительности). Такую повышенную чувствительность, обусловленную иммунными механизмами, обозначают термином «аллергия», а вещества вызывающие её, - «аллергены». Изучением реакций повышенной чувствительности и обусловленных ими заболеваний занимается отдельная наука - аллергология. Аллергические реакции могут существенно отличаться друг от друга, в первую очередь, по времени их проявления после повторного контакта с аллергеном. В соответствии с этим выделяют реакции гиперчувствительности немедленного типа (развиваются через несколько минут) и реакции ГЗТ (развиваются через 6-10 ч и позднее). По классификации Джелла и Кумбса все аллергические реакции в зависимости от механизмов развития разделяют на четыре типа. Это классификация условна, поскольку различные типы повреждения тканей могут возникать одновременно или сменять друг друга.

Типы реакция гиперчувствительности

Реакции гиперчувствительности I типа

Реакции гиперчувствительности I типа обусловлены взаимодействием аллергена с IgE, сорбированным на мембранах тучных клеток и базофилов (поэтому эти реакции также называют IgE-опосредованными). Из-за цитофильных свойств (способности реагировать с поверхностью тучных клеток и базофилов) IgE также обозначают как реагины. Цитофильность IgE обусловлена наличием особых рецепторных структур в области Fc-фрагмента молекулы АТ. Иначе способность связываться с собственными клетками называется гомоцитотропность. Именно это свойство выражено у IgE, тогда как другие АТ (например, IgG) взаимодействуют и с чужеродными клетками (то есть они гетероцитотропны). Взаимодействие аллергена с IgE, сорбированным на тучных клетках и базофилах, приводит к высвобождению БАВ (гистамин, серото-нин, эозинофильный и нейтрофильный хемотаксические факторы, протеазы). Эти вещества (так называемые преформированные медиаторы) образуются ещё до контакта с аллергеном. После взаимодействия последнего с IgE синтезируются новые медиаторы - фактор активации тромбоцитов (PAF), медленно реагирующее вещество анафилаксии (лейкотриены B₄, C₄, D₄) и другие продукты метаболизма фосфолипидов клеточных мембран (простагландины и тромбоксаны). Медиаторы взаимодействуют с рецепторами мышечных, секреторных и многих других клеток, что приводит к сокращению гладкой мускулатуры (например, бронхов), повышению проницаемости сосудов и отёку. Клинически реакции первого типа проявляются преимущественно анафилаксией и атопическими заболеваниями. Реже наблюдают острую крапивницу и ангионев-ротические отёки. Развитие анафилаксии могут блокировать циркулирующие АТ (IgM, IgG), способные, в отличие от сорбированного IgE, быстрее связывать Аг. Но обычно они образуются в незначительных количествах, что даёт аллергену возможность беспрепятственно достигать поверхности тучных клеток и базофилов с фиксированными на их поверхности IgE. *Анафилактические реакции иммунно специфичны и развиваются после попадания аллергена, к которому организм был предварительно сенсibilизирован.* Состояние гиперчувствительности формируется через 7-14 сут после первого контакта с Аг и сохраняется

годами. Реакции могут быть системными или местными. Системные проявления в виде анафилактического шока могут развиваться после попадания аллергена практически любым путём (подкожно, парентерально, ин-галяционно). Проявления местных реакций - атопии [от греч. *atopia*, странность]. Их развитие обусловлено образованием IgE в ответ на длительное воздействие аллергенов. Клинически проявляются ринитами, конъюнктивитами, бронхиальной астмой, отёком Квинке.

Реакции гиперчувствительности II типа

Ведущий механизм - цитотоксическое повреждение. Образующиеся АТ (обычно IgG или IgM) связывают чужеродные Аг, фиксированные на клетках индивидуума. Формирование иммунных комплексов на клеточной поверхности активирует систему комплемента. Активирован-

ные компоненты образуют мембраноповреждающий комплекс и стимулируют фагоцитарные реакции. В реакции могут вовлекаться различные популяции клеток (ЦТЛ, гранулоциты, макрофаги), несущие Fc-рецепторы для IgG. Благодаря взаимодействию с IgG они вовлекаются в реакции антителозависимой цитотоксичности. Клинически реакции типа II проявляются поражениями крови (иммунные цитопении), поражениями лёгких и почек при синдроме Гудпасчера, острыми отторжениями трансплантатов, гемолитической болезнью новорождённых.

Реакции гиперчувствительности III типа

Реакции гиперчувствительности III типа также называют иммунокомплексными. *Они обусловлены образованием иммунных комплексов, фиксирующихся в тканях и вызывающих их повреждение.* В норме образующиеся комплексы Аг-АТ эффективно элиминируются фагоцитами. Иногда концентрация иммунных комплексов может достигать высоких значений, и они легко преципитируют (выпадают в осадок). Комплексы задерживаются в тканях (часто не имеющих отношения к источнику Аг) и запускают местные или системные воспалительные реакции. Связывая и активируя компоненты комплемента, они привлекают фагоцитирующие клетки (макрофаги, нейтрофилы). Последние не способны поглощать такие большие структуры и выделяют протеолитических ферменты и другие медиаторы воспаления, повреждающие ткани, в которых фиксирован комплекс. Типичное проявление реакций третьего типа - феномен Артюса. Клинические примеры реакций III типа - сывороточная болезнь (после попадания чужеродных белков или медикаментов в кровоток), экзогенный аллергический альвеолит (после фиксирования комплексов в лёгочных капиллярах), системная красная волчанка, ревматоидный артрит (после фиксирования комплексов в синовиальных оболочках суставов), васкулиты (при поражениях эндотелия кровеносных сосудов), гломерулонефрит (при фиксации комплексов в фильтрующем аппарате почек).

Реакции гиперчувствительности IV типа

Реакции гиперчувствительности IV типа также называют ГЗТ. *Они обусловлены клеточными иммунными реакциями.* В отличие от реакций немедленного типа, они развиваются не ранее чем через 24-48 ч после повторного введения Аг. Развитие реакций ГЗТ индуцируют продукты микроорганизмов и гельминтов, природные и неприродные Аг и гаптены (лекарства, косметические красители). Классические примеры ГЗТ - туберкулиновая проба и контактный дерматит. Распознавание Аг, связанного с белками организма, иммунокомпетентными клетками вызывает активацию Т-хелперов, что приводит к клональной пролиферации Т-эффекторов ГЗТ. Сенсибилизированные лимфоциты секретируют цитокины, привлекающие другие лимфоциты и макрофаги в очаг аллергической реакции. На более поздних этапах в реакцию включаются полиморфноядерные фагоциты, стимулирующие воспалительный ответ.

- Гаптены приобретают способность инициировать реакции ГЗТ после взаимодействия с высокомолекулярными соединениями, в частности с белками. В свою очередь белки вызывают ГЗТ при длительной иммунизации малыми дозами в сочетании с адьювантами. Многие низкомолекулярные органические вещества или неорганические вещества (например, хром), связываясь с белками кожи, выполняют роль гаптен и сенсibiliзируют организм при длительном контакте. В результате развивается контактная аллергия, клинически проявляющаяся контактными дерматитами.

- Способность отвечать развитием ГЗТ на различные микробные продукты (например, Аг возбудителей туберкулёза, бруцеллёза) применяют при постановке кожных проб для диагностики инфекционного процесса или установления возможного контакта организма с возбудителем.

трансплантационный иммунитет

С давних пор врачей привлекала идея замены повреждённого органа здоровым донорским органом. Многочисленные, но неудачные попытки показали, что итоги подобных операций зависят не от искусства врача, а представляют следствие активного иммунного по природе отторжения пересаженного органа. П. Медавэр (1945) выяснил, что отторжение чужеродных тканей и органов - следствием распознавания их поверхностных клеточных Аг иммунными механизмами.

Типы трансплантатов

Аутооттрансплантация - пересадка ткани в пределах одного организма - почти всегда проходит успешно. Свойство аутооттрансплантатов легко приживаться применяют при лечении ожогов - на поражённые участки тела проводят пересадку собственной кожи. Практически всегда

приживаются и сингенные трансплантаты - ткани, генетически близкородственные донорским (например, полученные от однояйцовых близнецов или инбредных животных). Аллогенные трансплантаты (аллотрансплантаты; ткани, пересаженные от одной особи другой генетически чужеродной особи того же вида) и ксеногенные трансплантаты (ксенотрансплантаты; ткани, пересаженные от особи другого вида) обычно подвергаются отторжению.

Главный комплекс гистосовместимости

В основе неудач по приживлению алло- и ксенотрансплантатов - распознавание «своего» и «чужого» - основополагающий принцип функционирования иммунной системы. Узнавание «своих» клеток обеспечивает система мембранных гликопротеиновых рецепторов, присутствующих на поверхности всех клеток организма. Эти гликопротеины составляют главный комплекс гистосовместимости - МНС [от англ. *major histocompatibility complex*]. Несовпадение этих гликопротеинов между трансплантатами и клетками организма-реципиента приводит к развитию иммунного ответа, то есть молекулы МНС проявляют свойства Аг. Поэтому их называют Аг гистосовместимости, а кодирующие их гены - генами гистосовместимости. Система МНС обеспечивает биологическую индивидуальность каждого организма и строго контролируется генами гистосовместимости. У человека комплекс МНС иногда называют HLA [от англ. *human leucocyte antigens*, Аг лейкоцитов человека]. В системе HLA известно более 100 Аг, сгруппированных в регионы HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D, HLA-DR. Их образование контролирует локус HLA, состоящий из ряда сублокусов, расположенных в хромосоме 6. Экспрессия Аг HLA в различных органах сильно варьирует: она наиболее выражена на лимфоцитах и клетках кожи, меньше - в лёгких, печени, почках, кишках, сердце и сосудах, а в наименьших количествах такие Аг присутствуют на мембранах клеток ЦНС.

Интенсивность, продолжительность и исход реакций отторжения определяются степенью антигенных различий между донором и реципиентом; уровнем реактивности реципиента;

характером трансплантата, наличием в нём лимфоидной ткани, удельным содержанием Ag гистосовместимости и т.д. Все гены гистосовместимости разделяют на две категории. Гены главного комплекса гистосовместимости кодируют «сильные» Ag, вызывающие у реципиентов быстрое отторжение трансплантатов. При трансплантации тканей (органа) от индивидуума, несовместимого по «сильным» Ag МНС, трансплантат отторгается в течение 12 нед. Повторная трансплантация ткани от того же донора сопровождается ускоренным разрушением трансплантата. Формирование иммунной памяти к данному набору трансплантационных Ag происходит за 4-5 сут и сохраняется на протяжении многих лет. Гены минорного комплекса гистосовместимости кодируют «слабые» Ag, вызывающие более медленное отторжение трансплантатов.

Реакция отторжения трансплантата

Большинство случаев отторжения трансплантата обусловлено Т-клеточными реакциями организма-реципиента. Повторная иммунизация Ag МНС в большинстве случаев вызывает образование аллоантител.

Клеточные реакции. Ведущая роль клеточных реакций была установлена при изучении кожных и опухолевых трансплантатов в эксперименте. Оказалось, что они резистентны к действию АТ, но подвержены повреждающему действию цитотоксических клеток. Более того, цитотоксические реакции против трансплантата можно индуцировать переносом сенсibilизированных лимфоцитов. Аллоантитела (агглютинины или цитотоксины) обуславливают цитотоксический эффект в отношении эндотелия сосудов донорских органов. АТ вызывают повреждение эндотелия за счёт активации комплемента и реакций антителозависимой клеточной цитотоксичности. Реакции отторжения также можно индуцировать введением антисыворотки к Ag трансплантата. Антигенный барьер - важнейшее препятствие для развития клинической трансплантологии и основной фактор, ограничивающий её успехи. Наибольшее значение в приживлении трансплантата имеют антигенные различия между донором и реципиентом.

Типирование Ag. Основной метод определения спектра трансплантационных Ag - постановка микролимфоцитотоксической реакции с лимфоцитами обследуемых и набором антисывороток к отдельным антигенным детерминантам (в присутствии комплемента). Наборы антисывороток получают отбором сывороток лиц, содержащих анти-НБА-АТ, образовавшиеся

вследствие переливаний крови или повторных беременностей резус-несовместимым плодом. Каждая сыворотка содержит АТ к нескольким Ag. Поэтому для установления антигенной характеристики клеток нужно использовать несколько сывороток, выявляющих данный Ag. В последнее время проводятся попытки получения моноспецифических сывороток иммунизацией людей лимфоцитами, отличающимися от собственных лишь по одному трансплантационному Ag. При учёте результатов используют упрощённую классификацию степени несовместимости донора и реципиента, в которой группа А обозначает полное их соответствие, В - несовместимость по одному Ag, С - по двум и D - по трём и более основным Ag.

Методы подавления отторжения трансплантатов

Для подавления отторжения трансплантата применяют два принципиально различных подхода: создание специфической толерантности реципиента к трансплантату и применение средств, неспецифически подавляющих иммунный ответ организма на чужеродные Ag.

Создание толерантности. Этот подход имеет несомненное преимущество, поскольку не препятствует нормальному развитию иммунных реакций на другие, в первую очередь инфекционные, Ag. При развитии толерантности иммунный конфликт не развивается и

происходит стойкое приживание трансплантата. В настоящее время подобные исследования не вышли за рамки эксперимента, а успехи клинической трансплантологии в первую очередь связаны с совершенствованием методов неспецифической иммунодепрессивной терапии.

Иммунодепрессанты. Основа эффекта иммунодепрессантов - подавление метаболизма иммунокомпетентных клеток. Иммунодепрессанты часто оказывают цитостатическое действие и на клетки других тканей. Современный арсенал трансплантологии содержит химические и биологические иммунодепрессанты. В некоторых случаях, главным образом при пересадке костного мозга, их применение дополняют ионизирующим облучением. Возможно общее облучение в низких дозах, локальное облучение селезёнки и тимуса, облучение трансплантата, а также экстракорпоральное облучение крови и лимфы реципиента.

Стероидные гормоны (преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон) подавляют пролиферацию лимфоцитов в лимфатических узлах и селезёнке и уменьшают количество лимфоцитов в крови.

Антиметаболиты включают аналоги пуриновых (например, имуран или азатиоприн) и пирими-диновых оснований (5-фторурацил, 5-бромоксиридин и др.), антагонисты фолиевой кислоты (аметоптерин, метотрексат) и алкилирующие агенты.

- Аналог пуриновых и пиримидиновых оснований. Пролиферация иммунокомпетентных клеток при антигенной стимуляции связана с синтезом в них нуклеиновых кислот. Ассимиляция клетками аналогов исходных продуктов синтеза нуклеиновых кислот (пуриновых и пиримидиновых оснований) приводит к блокаде этого процесса и угнетению пролиферации иммунокомпетентных клеток.

- Антагонисты фолиевой кислоты блокируют редуктазу дегидрофолиевой кислоты и подавляют образование тетрагидрофолиевой кислоты, участвующей в биосинтезе пуринов.

- Алкилирующие агенты, взаимодействуя с ДНК, блокируют деление клеток. *Антибиотики.* Фармакологический эффект многих антибиотиков основан на подавлении синтеза РНК. Подобными свойствами обладают циклоспорин, актиномицины D и C, пуромицин, хлорамфеникол.

противоопухольный иммунитет

Изучение противоракового иммунитета и причин его нарушения, лечение и профилактика новообразований посредством иммунизации и иммуномодуляции - важные проблемы современной медицины.

Опухоли

Постоянство содержания клеток в организме реализуется таким образом, что пролиферация клеток находится в зависимости от скорости их отмирания. Этот баланс поддерживает постоянный размер органов. Некоторые клетки не подчиняются такой регуляции, бесконечно пролиферируют, что может привести к возникновению крупных образований - опухолей. *Опухоли (неоплазии, или новообразования), вызваны избыточной пролиферацией клеток.* Если пролиферация

клеток носит неконтролируемый характер, такие опухоли известны как злокачественные. Развитие злокачественных опухолей обусловлено пролиферацией клеток, лишённых признаков тканевой дифференцировки (клеточная атипия). Злокачественные опухоли могут происходить из эпителиальных клеток (карцинома, или рак) или из клеток мезенхимного генеза (саркомы).

Из основного очага в другие органы злокачественные клетки могут распространяться путём метастазирования (например, по лимфатическим путям или через кровоток). Свойства метастазов обусловлены природой первичного очага. Злокачественные опухоли как правило прорастают в окружающие ткани и метастазируют по всему организму. Доброкачественные новообразования не прорастают и не метастазируют в другие органы.

Известны многочисленные теории злокачественного роста. В основе всех теорий - изменение клеточного генома. Озлокачествление нормальной клетки (то есть злокачественное перерождение) связано с генетическими изменениями. К озлокачествлению могут приводить мутации, изменяющие генетический материал, либо избирательная активация латентных генов, приводящая к бесконтрольному росту.

Канцерогенные факторы

Злокачественное перерождение могут вызывать различные химические, физические и биологические факторы.

Химические факторы

Индуцировать канцерогенез способны многие химические агенты, условно разделяемые на канцерогены и промоторы.

Канцерогены (например, бензпирены, афлатоксин В₁) быстро действуют на клетки-мишени, что необходимо, но не всегда достаточно для опухолевой трансформации. Механизм трансформирующего действия канцерогенов изучен мало; все канцерогены обладают мутагенным эффектом. Для его выявления используют тест Эймса, определяющего способность повышать частоту мутаций у бактерий (например, рода *Salmonella*).

Промоторы (например, форболмиристат ацетат, гормоны яичников) стимулируют деление клеток. Для злокачественной трансформации, вызванной канцерогеном, требуются по крайней мере два цикла их деления. Действие промотора обратимо и само не является канцерогенным. Чтобы вызвать трансформацию, он должен действовать после обработки клеток канцерогеном.

Физические агенты

Трансформирующее действие, основанное на мутагенном эффекте, проявляют УФ- и ионизирующее излучение. В частности, широко известно, что избыточное солнечное излучение - этиологический фактор развития злокачественной меланомы. Мишень такого воздействия - нуклеиновые кислоты. Излучение приводит к появлению дефектов в геноме.

Онкогенные вирусы

Способностью трансформировать инфицированные клетки обладают некоторые ДНК- и РНК-содержащие вирусы - онкогенные, или онковирусы.

ДНК-содержащие онкогенные вирусы. Трансформацию способны вызывать папова-, герпес- и аденовирусы. Злокачественной трансформации подвергается небольшая часть заражённых клеток, что обусловлено развитием abortивной вирусной инфекции клеток. Трансформированные клетки сохраняют один или несколько вирусных геномов, встроенных в геном клетки-хозяина.

РНК-содержащие онкогенные вирусы. Среди РНК-геномных вирусов трансформирующими свойствами обладают только ретровирусы. Под действием обратной транскриптазы, закодированных в геноме вирусов, в инфицированной клетке синтезируются двухцепочечные замкнутые ДНК-копии генома вируса (см. также главу 5). Последний встраивается в клеточный

геном хозяина, нарушая контроль над пролиферацией. В подобных ситуациях провирусы играют роль носителей онкогенов. В геномах только ретровирусов выделено до 35 онкогенов; каждый из них имеет клеточный гомолог (протоонкоген).

Опухолевые Аг

В 1908 г. Пауль Эрлих сформулировал положение о том, что раковые клетки возникают часто и их мембраны изменены таким образом, что могут быть распознаны организмом хозяина как чужеродные Аг. Действительно, на мембранах опухолевых клеток обычно выявляют структуры,

отличающиеся по антигенным свойствам от аналогичных структур интактных клеток. Опухолевые Аг запускают клеточные и гуморальные реакции, направленные против них. Анализ противоопухолевых иммунных реакций позволил обнаружить опухоли с перекрёстно-реагирующими Аг, опухолеспецифичными Аг и Аг, общими для части нормальных клеток. В настоящее время выделяют четыре класса опухолевых Аг.

Опухолево-эмбриональные Аг присутствуют на поверхности злокачественных клеток, а также выявляются в эмбриональном и плодном периодах развития. Пример - канцероэмбриональные Аг прямой кишки, обнаруживаемые на опухолевых клетках, происходящих из энтодермального эпителия кишечной трубки или органов, развивающихся из эпителия энтодермы (поджелудочная железа, печень и жёлчный пузырь). Эти Аг присутствуют только на небольшой части нормальных взрослых клеток, и в здоровом организме общая концентрация канцероэмбриональных Аг прямой кишки низка.

Аг, индуцированные химическими канцерогенами. Каждая индуцированная канцерогеном опухоль имеет присущие только ей поверхностные Аг; такие Аг идентичны для всех клеток конкретной опухоли, но отличаются от Аг других опухолей.

Аг, индуцированные онкогенными ДНК-содержащими вирусами. Вирусная трансформация клеток сопровождается появлением уникальных Аг. При этом определённый вирус индуцирует одинаковые Аг, вне зависимости от ткани и биологического вида, в которых произошла трансформация. У человека с наибольшей вероятностью ДНК-овые вирусы вызывают лимфому Бёркитта, назофарингеальную карциному и рак шейки матки.

Аг, индуцированные онкогенными РНК-содержащими вирусами. При трансформации инфицированных клеток онкогенными РНК-содержащими вирусами также появляются специфические Аг, одинаковые для всех трансформированных клеток. В отличие от ДНК-овых вирусов, большинство из них представляют собой вирусные белковые Аг. Эти Аг могут проявлять групповую (например, вирусы лейкоза мышей), типовую (например, вирусы лейкоза Гросса), а также видовую специфичность.

Противоопухолевые иммунные реакции

В реакциях противоопухолевого иммунитета задействованы практически все субпопуляции иммунокомпетентных клеток.

Распознавание трансформированных клеток. Аг-распознающие CD4⁺-лимфоциты идентифицируют опухолевые Аг и индуцируют начало иммунной реакции. В механизме распознавания важную роль играет несовпадение трансформированных Аг МНС клеток опухоли и молекул МНС на мембранах распознающих Т-лимфоцитов. Распознавание Аг стимулирует другие субпопуляции Т-лимфоцитов, а также В-лимфоциты и макрофаги.

Цитотоксические Т-клеточные реакции. Активация предшественников эффекторных Т-клеток приводит к образованию пула ЦТЛ. Действие ЦТЛ на опухолевую клетку реализуется посредством перфоринов.

Эффекторы ГЗТ играют вспомогательную роль в цитотоксических реакциях, продуцируя различные медиаторы. Их действие направлено на активность лимфоцитов, а не на трансформированные Аг МНС клеток-мишеней.

НК-клетки. Естественные киллеры распознают изменённые НБА⁺-Аг комплекса МНС на опухолевых клетках человека и повреждают их, независимо от наличия АТ, комплемента и макрофагов. Основные мишени естественных киллеров -инфицированные или трансформированные онковирусами клетки. Активность естественных киллеров увеличивают Т-лимфоциты, облегчающие контакт НК-клеток с опухолевыми.

В-лимфоциты. Гуморальные иммунные реакции проявляются образованием цитотоксических АТ, направленных против Аг опухолевых клеток. Такие АТ обнаруживают при ряде опухолей человека и животных. Возможность разрушения опухолевых клеток АТ без участия цитотоксических клеток низка.

Макрофаги играют важную роль в разрушении опухолевых клеток. Поэтому большое число макрофагов в опухоли - благоприятный прогностический признак. Если лимфоциты в отсутствие макрофагов в значительной степени утрачивают активность, то изолированные от лимфоцитов макрофаги оказывают ещё более выраженное цитотоксическое действие. Способ-

ность повреждать клетки-мишени обусловлена фагоцитарным потенциалом и цитотоксически-ми свойствами макрофагов. Макрофаги уничтожают трансформированные клетки в реакции антителозависимой цитотоксичности. Они способны уничтожать различные опухолевые клетки, в том числе и не имеющие Аг к цитотоксическим АТ на поверхности макрофагов. Таким образом, трансформация клеток запускает комплекс иммунных реакций, подобных реакциям, наблюдаемым при проникновении в организм экзогенных Аг. При этом роль гуморальных и клеточных реакций не равнозначна. *Большинство опухолей не чувствительны к действию только АТ и комплемента, но чувствительны к воздействию цитотоксических клеток.* В большинстве случаев доминирует ответ ЦТЛ. Трансформированные клетки белой крови достаточно чувствительны к НК-клеткам, АТ и комплементу, а также к антителозависимым цитотоксическим реакциям.

Опухоли и иммунодефициты

Поскольку Т-клеточные цитотоксические реакции играют ведущую роль в уничтожении трансформированных клеток, то у лиц с дефицитом этой системы часто наблюдают спонтанное развитие опухолей.

- У людей с иммунодефицитами болезни злокачественного роста наблюдают чрезвычайно часто. Например, у 10% детей с первичными иммунодефицитами регистрируют неоплазии, в большинстве случаев - опухоли лимфоидной системы.

- Наиболее убедительны примеры повышения частоты возникновения опухолей у лиц, получающих иммунодепрессанты. Риск развития злокачественных заболеваний у этой категории больных повышается в 80 раз, причём около 60% опухолей имеет эпителиальное происхождение, а около 40% - опухоли лимфоидной системы.

- На развитие опухолевого процесса существенное влияние оказывает возрастной дисбаланс иммунной системы. Это проявляется увеличением числа болезней злокачественного роста в пожилом и старческом возрасте.

Эффективность иммунного надзора

Несмотря на признание теории нарушений иммунного надзора в ходе канцерогенеза, к моменту обнаружения опухоли у большинства больных регистрируют как клеточные, так и гуморальные иммунные реакции против опухолевых Аг. Это означает, что иммунологический надзор оказывается неэффективным. В настоящее время известно несколько механизмов «ускользания» трансформированных клеток от реакций иммунного надзора.

Иммунная толерантность. Экспериментальная прививка опухоли до развития полной иммунной компетентности или введение опухолевых Аг в высокой концентрации вызывает развитие специфической ареактивности (если эти Аг им позднее пересаживают). Кроме того, в областях, лежащих за пределами иммунного надзора (например, в головном мозге) опухоли не подвергаются действию иммунных механизмов.

Иммунный отбор. В крупных популяциях опухолевых клеток встречаются клетки, утратившие собственные, присущие данной опухоли поверхностные Аг. В подобной ситуации противоопухолевые реакции не препятствуют пролиферации таких клеток и росту опухоли.

Антигенная модуляция. Под действием иммунных реакций некоторые опухолевые Аг могут менять свою структуру, снижая специфичность действующих иммунных механизмов.

Иммуносупрессия. Подавление противоопухолевого иммунитета также негативно сказывается на состоянии больных, активируя развитие неоплазий. Известно несколько механизмов развития иммунодепрессивных состояний.

Ятрогенная иммуносупрессия вызывается физическими и химическими агентами, применяемыми для лечения болезней злокачественного роста. Большинство из них, включая облучение и цитостатики, разрушает иммунокомпетентные клетки.

Иммуносупрессивное действие опухолей. В некоторых случаях опухолевые клетки сами выделяют факторы, угнетающие активность защитных механизмов. Например, при лимфогранулематозе опухолевые клетки в единичном лимфатическом узле выделяют или стимулируют секрецию факторов (макрофагами, Т-клетками), подавляющих клеточные иммунные реакции.

Иммунодиагностика и иммунотерапия опухолей

Диагностика

Методы выявления опухолевых Аг принципиально аналогичны применяемым в отношении других Аг. Наиболее часто для их идентификации применяют иммуноферментный метод и иммуно-флюоресцентную микроскопию. Распространение получили непрямые методы, позволяющие обнаружить незначительные количества опухолевых Аг на поверхности клеток. Также применяют цитотоксические тесты, учитывающие гибель опухолевых клеток под действием сыворотки крови больного и комплемента. Для подсчёта содержания онкоантигенов и определения места их фиксации применяют иммуноферментный анализ (ИФА) и РИА. Большое прогностическое значение имеет оценка иммунного статуса пациента, особенно реактивности Т-лимфоцитов.

Терапия

Методы иммунотерапии при болезнях злокачественного роста не получили достаточного теоретического обоснования, хотя история их применения насчитывает более 50 лет. Широкому внедрению иммунотерапии мешает отсутствие чётких показаний к её назначению и критериев эффективности. Избежать многих побочных эффектов иммунотерапии можно путём

рационального использования и прогнозирования её действия. Попытки переноса пациенту иммунокомпетентных клеток, сенсibilизированных антигенами опухоли, наталкиваются на развитие реакций отторжения трансплантата. Большие перспективы имеет применение препаратов, оказывающих стимулирующий эффект на активность защитных факторов. Способностью воздействовать на активность иммунокомпетентных клеток при антигенной стимуляции обладают различные химические агенты (алюминий, латекс), вещества растительного происхождения (лектины, сапонины), микроорганизмы и их метаболиты, митогены (фитогемагглютинин, митоген лаконоса), витамины (ретинол, токоферол), нуклеиновые кислоты, синтетические полинуклеотиды, ИФН, гормоны (тимозин, эстрогены) и другие вещества. Для иммунотерапии опухолей возможно применение нескольких групп препаратов.

Адьюванты. Каждый адьювант имеет свои эффекты и клетки-мишени. Молекулы адьюванта сорбируются на клетках-мишенях, запуская их пролиферацию, дифференцировку, изменение мембранных функций и секрецию медиаторов. Основное действие большинства адьювантов - увеличение цитотоксического эффекта. На практике наибольшее распространение нашли различные микроорганизмы и их продукты (БЦЖ, ЛПС грамотрицательных палочек, протидиозан и др.).

Иммуномодуляторы - группа природных и синтетических веществ, восстанавливающих утраченные или подавленные функции иммунокомпетентных клеток. К природным продуктам относят экстракты вилочковой железы, тимозин и различные медиаторы иммунных реакций (тимопоэтин, миелопид). Синтетические вещества - большая группа соединений; в терапии болезней злокачественного роста наиболее длительно применяют левамизол и изопринозин (инозиплекс). Эти вещества повышают функциональную активность периферических Т-лимфоцитов, фагоцитов, стимулируют предшественники Т-лимфоцитов, вызывая их дифференцировку и созревание. Левамизол и изопринозин входят в особую группу препаратов - тимомиметиков; они имитируют действие гормонов тимуса, стимулируя созревание Т-лимфоцитов.

Особенности иммунотерапии опухолей. Введение низких доз иммуномодуляторов часто стимулирует ответ на опухолевые Аг. Высокие дозы препаратов могут подавлять иммунный ответ на опухолевые Аг. Один из критических факторов успешности терапии - степень генетической несовместимости опухолевых Аг и нормальных Аг МНС организма. При слабых антигенных различиях можно наблюдать супрессорное действие иммунотерапевтических препаратов. Таким образом, для эффективного осуществления иммунотерапии опухолей необходимо иметь данные о состоянии иммунного статуса больного.

- Иммунотерапию назначают после химиотерапии и других видов противоопухолевого лечения через определённый срок, необходимый для восстановления иммунной реактивности. Проведение иммунотерапии перед химиотерапией нецелесообразно, поскольку возможно взаимное усиление супрессорного эффекта.

- Для проведения иммунотерапии объём опухоли должен быть сокращен до минимального предела всеми видами противоопухолевой терапии. Иммунотерапия при больших опухолях обычно бесперспективна.

- Восстановление иммунной реактивности после хирургического удаления опухоли или химиотерапии у больных с иммуносупрессией - прогностически благоприятный признак. Появление признаков иммунодефицита может быть сигналом рецидива опухоли.

ИММУННЫЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА

Иммунная система играет важнейшую роль в выздоровлении от многих, особенно инфекционных болезней. Её состояние (то есть иммунный статус) на момент развития и течения патологического процесса представляет исключительный интерес. Нарушения иммунного статуса

делают организм восприимчивым к различным возбудителям, в том числе к условно-патогенным. Кроме того, существенно возрастает риск развития аутоиммунных процессов и болезней злокачественного роста. Распознавание дефектного звена иммунного статуса - актуальная задача клинической медицины. Состояние иммунной системы можно оценить комплексом показателей.

- Состояние факторов неспецифической резистентности определяют по содержанию в сыворотке крови комплемента, лизоцима, ИФН; также определяют фагоцитарную способность макрофагов и цитотоксическую активность естественных киллеров.

- Об активности иммунной системы судят по уровню различных классов Ig и цитокинов в сыворотке крови, содержанию субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, их способности отвечать на Ag и митогены, кожным реакциям ГЗТ. Основные параметры, определяемые при оценке иммунного статуса человека, приведены в табл. 10-9.

Возрастные особенности иммунной системы

Подобно другим системам, организация защитных факторов претерпевает возрастные изменения. Полностью система защитных факторов развивается к 15-16 годам. По мере старения организма функции иммунной системы ослабевают.

В период внутриутробного развития у плода формируется система Ag МНС, органы иммунной системы, популяции иммунокомпетентных клеток и система комплемента. Иммунная система матери толерантна к аллоантигенам плода, поскольку их число относительно невелико, а также в силу избирательной проницаемости плаценты и наличия в крови матери и плода различных иммуносупрессивных факторов (а-фетопротеина, эстрогенов, прогестерона, простагландинов и т.д.).

У новорождённых иммунная система структурно организована, но функционально несостоятельна. Снижено содержание компонентов комплемента, IgG, IgA и основных популяций иммунокомпетентных клеток. На проникновение инфекционных агентов лимфоидные органы отвечают гиперплазией, проявляющейся лимфаденопатией.

В развитии ребёнка выделяют критические периоды, во время которых на антигенный стимул иммунная система даёт неадекватные или парадоксальные реакции.

- Первый критический период - первые 30 сут жизни. Отмечают низкую активность фагоцитов. Лимфоциты способны отвечать на Ag и митогены; гуморальные реакции обусловлены материнскими IgG.

- Второй критический период - 3-6 мес. Материнские АТ исчезают из кровотока; в ответ на попадание Ag образуются преимущественно IgM. Дефицит IgA приводит к высокой чувствительности к респираторным вирусным инфекциям (аденовирусы, вирусы парагриппа и др.). Иммунокомпетентные клетки характеризуются низкой активностью. В этот период проявляются ранние наследственные дефекты иммунной системы.

- Третий критический период - 2-й год жизни. Иммунная система полноценно функционирует, появляются значимые количества IgG, но по-прежнему сохраняется дефицит местных защитных факторов, что проявляется в сохранении высокой восприимчивости к бактериальным и вирусным возбудителям.

- Четвёртый критический период - 4-6-й года жизни. Синтез АТ, исключая IgA, достигает величин, характерных для взрослых; одновременно повышается содержание IgE. Активность

факторов местной защиты остаётся низкой. В этот период проявляются поздние наследственные дефекты иммунной системы.

- Пятый критический период - подростковый возраст. Половые гормоны, синтезируемые в этот период, угнетают иммунные реакции. Как следствие, возможно развитие аутоиммунных и лимфопролиферативных заболеваний, также повышается восприимчивость к микробам. Иммунная система в пожилом возрасте. Ослабление свойств иммунокомпетентных

клеток проявляется нарушениями распознавания клеток, несущих изменённые Ag МНС и снижением специфичности иммунных реакций. В этот период возрастает риск развития аутоиммунных и иммунодефицитных состояний, а также злокачественных опухолей.

Нарушения иммунного статуса

Функции иммунной системы снижают различные факторы - несбалансированное питание, инфекции, ионизирующее излучение, химические вещества. Подобные нарушения - иммунодефициты - разделяют на первичные (врождённые) и вторичные (приобретённые). Врождённые дефекты иммунной системы встречаются сравнительно редко и обусловлены генными дефектами. Вторичные нарушения часто представляют звенья патогенеза многих патологических состояний (например, болезней злокачественного роста, эндокринных расстройств). Особенно часто вторичные расстройства развиваются при бактериальных и вирусных инфекциях, обычно нося временный характер (транзиторные иммунодефициты). Дефекты могут затрагивать различные компоненты иммунной системы. Выделяют Т-клеточные, В-клеточные и комбинированные (Т-В-клеточные) иммунодефициты. Также возможны расстройства гуморальных и клеточных факторов неспецифической защиты организма.

Дефекты системы комплемента

Дефекты системы комплемента обусловлены нарушениями синтеза или функциональных свойств компонентов комплемента либо механизмов регуляции системы. Этиология, клинические особенности и диагностика этих синдромов представлены в табл. 10-10.

Расстройства функций фагоцитов

Нарушения фагоцитарной активности (табл. 10-11) могут быть стойкими или транзиторными и проявляться на любом этапе фагоцитоза. При патологии неинфекционной природы чаще наблюдают изменения хемотаксиса и метаболизма клеток, на фоне различных инфекций - нарушения внутриклеточного уничтожения возбудителей. *Нарушения, обусловленные действием инфекционных агентов, практически всегда носят транзиторный (временный) характер.* Клинические проявления врождённых дефектов схожи. Обычно это рецидивирующие кожные, лёгочные инфекции и хроническое воспаление полости рта. Для первичных иммунодефицитов

типичны рецидивирующие, часто угрожающие жизни инфекции, вызванные *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* и бактериями рода *Aspergillus*.

Синдромы гуморальной недостаточности

Синдромы недостаточности гуморального иммунитета связаны со утратой способности к синтезу АТ. Заболевания могут быть вызваны множеством причин, в том числе нарушениями структуры генов тяжёлой цепи IgA, врождёнными инфекциями и приёмом лекарств. Наиболее распространённые гуморальные иммунодефициты перечислены в табл. 10-12. У большинства

пациентов развиваются рецидивирующие инфекции, вызванные *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и другими возбудителями.

Клеточные иммунодефициты

Различают Т-клеточные, В-клеточные и комбинированные иммунодефициты (табл. 10-13, 10-14 и 10-15).

Т-клеточная недостаточность (частичная или полная) приводит к более тяжёлым рецидивирующим инфекциям, чем гуморальная недостаточность (типичны инфекции с внутриклеточной локализацией возбудителя).

Диагностика клеточных иммунодефицитов основывается на регистрации снижения функциональной активности и/или количества Т-клеток. У здоровых лиц 80-85% циркулирующих лимфоцитов составляют Т-клетки. Значения ниже 1500 клеток/мкл ($1,5 \times 10^9/\text{л}$) рассматривают как дефицит Т-лимфоцитов.

Транзиторные иммунодефициты

Многие инфекционные заболевания сопровождаются дефектами иммунной реактивности. Подобные нарушения известны ещё со времён фон Пиркё (начало XX в.), однако в большинстве

случаев они носят временный характер и исчезают после выздоровления. Основопологающий механизм развития транзиторных иммунодефицитов - повреждение или инфицирование имму-нокомпетентных клеток с последующим нарушением их функций. Особенно часто транзитор-ные иммунодефициты наблюдают на фоне вирусных инфекций, что обусловлено облигатным внутриклеточным паразитизмом возбудителей. Наиболее яркий пример - ВИЧ, избирательно инфицирующий Т-хелперы. В результате развивается прогрессирующее разрушение иммунной системы - синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД).

иммунотерапия и иммунопрофилактика инфекционных заболеваний

Иммунотерапия - введение с лечебными целями иммунных препаратов (например, АТ, ИФН, цитокинов и др.). Иммунопрофилактика - введение иммунных препаратов с целью предотвращения развития инфекционных заболеваний (вакцины, сыворотки). На протяжении столетий практическая медицина применяла эмпирические методы искусственной защиты от инфекционных болезней (например, от оспы). Научные основы иммунопрофилактики были заложены исследованиями Пастера, открывшего феномен аттенуации (ослабления) микробов и создавшего вакцины против сибирской язвы и бешенства. Все средства, применяемые для воздействия на иммунную систему, известны как иммунобиологические препараты. К ним относят разнообразные по природе и происхождению вещества.

Виды препаратов

- Профилактические и лечебные препараты микробного происхождения (например, вакцины, бактериофаги, эубиотики, анатоксины)
- Лечебные иммунные препараты (например, Ig, цитокины)
- Диагностические иммунные препараты (например, антисыворотки), а также диагностические бактериофаги и аллергены
- Иммуномодуляторы (различные синтетические препараты, биостимуляторы природного происхождения).

Эффекты препаратов

Иммунобиологические препараты могут проявлять активное или пассивное, специфическое или неспецифическое действие.

Активное действие состоит в индуцировании препаратами иммунных реакций. Такими эффектами обладают вакцинные препараты, изготавливаемые на основе живых ослабленных или убитых микроорганизмов, а также продуктов их жизнедеятельности.

Пассивное действие - эффекты препаратов, представляющих собой эффекторные продукты иммунокомпетентных клеток. Такими эффектами обладают Ig, цитокины и другие иммунобиологические препараты.

Специфическое действие проявляют препараты, обеспечивающие защиту от конкретного возбудителя (например, противокоревая вакцина, столбнячный анатоксин).

Неспецифическое действие оказывают препараты, неизбирательно стимулирующие функции иммунокомпетентных клеток. Такой эффект оказывают иммуномодуляторы, многие биостимуляторы и другие препараты.

Вакцины

Вакцины - иммунобиологические препараты, предназначенные для активной иммунопрофилактики, то есть для создания активной специфической невосприимчивости организма к конкретному возбудителю. Вакцинация признана ВОЗ идеальным методом профилактики инфекционных заболеваний человека. Высокая эффективность, простота, возможность широкого охвата вакцинируемых лиц с целью массового предупреждения заболевания вывели активную иммунопрофилактику в большинстве стран мира в разряд государственных приоритетов. Комплекс мероприятий по вакцинации включает отбор лиц, подлежащих вакцинации, выбор вакцинного препарата и определение схемы его использования, а также (при необходимости) контроль эффективности, купирование возможных патологических реакций и осложнений. В качестве Ag в вакцинных препаратах выступают:

- цельные микробные тела (живые или убитые);
- отдельные Ag микроорганизмов (наиболее часто протективные Ag);
- токсины микроорганизмов;
- искусственно созданные Ag микроорганизмов;
- Ag, полученные методами генной инженерии.

Большинство вакцин разделяют на живые, инактивированные (убитые, неживые), молекулярные (анатоксины) генноинженерные и химические; по наличию полного или неполного набора Ag - на корпускулярные и компонентные, а по способности вырабатывать невосприимчивость к одному или нескольким возбудителям - на моно- и ассоциированные.

Живые вакцины

Живые вакцины - препараты из аттенуированных (ослабленных) либо генетически изменённых патогенных микроорганизмов, а также близкородственных микробов, способных индуцировать невосприимчивость к патогенному виду (в последнем случае речь идёт о так называемых дивергентных вакцинах). Поскольку все живые вакцины содержат микробные тела, то их относят к группе корпускулярных вакцинных препаратов. Иммунизация живой вакциной приводит к развитию вакцинального процесса, протекающего у большинства привитых без

видимых клинических проявлений. *Основное достоинство живых вакцин - полностью сохранённый набор Ag возбудителя, что обеспечивает развитие длительной невосприимчивости даже после однократной иммунизации.* Живые вакцины обладают и рядом недостатков. Наиболее характерный - риск развития манифестной инфекции в результате снижения аттенуации вакцинного штамма. Подобные явления более типичны для противовирусных вакцин (например, живая полиомиелитная вакцина в редких случаях может вызвать полиомиелит вплоть до развития поражения спинного мозга и паралича).

Ослабленные (аттенуированные) вакцины изготавливают из микроорганизмов с пониженной патогенностью, но выраженной иммуногенностью. Введение вакцинного штамма в организм имитирует инфекционный процесс: микроорганизм размножается, вызывая развитие иммунных реакций. Наиболее известны вакцины для профилактики сибирской язвы, бруцеллёза, Ку-лихорадки, брюшного тифа. Однако большая часть живых вакцин - противовирусные. Наиболее известны вакцина против возбудителя жёлтой лихорадки, противополомиелитная вакцина Сэйбина, вакцины против гриппа, кори, краснухи, паротита и аденовирусных инфекций.

Дивергентные вакцины. В качестве вакцинных штаммов используют микроорганизмы, находящиеся в близком родстве с возбудителями инфекционных болезней. *Ag таких микроорганизмов индуцируют иммунный ответ, перекрёстно направленный на Ag возбудителя.* Наиболее известны и длительно применяются вакцина против натуральной оспы (из вируса коровьей оспы) и БЦЖ для профилактики туберкулёза (из микобактерий бычьего туберкулёза).

Инактивированные вакцины

В настоящее время также применяют вакцины, изготовленные из убитых микробных тел либо метаболитов, а также из отдельных Ag, полученных биосинтетическим или химическим путём. Вакцины, содержащие убитые микроорганизмы и их структурные компоненты, относят к группе корпускулярных вакцинных препаратов. Неживые вакцины обычно проявляют меньшую (по сравнению с живыми вакцинами) иммуногенность, что диктует необходимость многократной иммунизации. В то же время, неживые вакцины лишены балластных веществ, что значительно уменьшает частоту побочных эффектов, часто развивающихся после иммунизации живыми вакцинами.

Корпускулярные (цельновирионные) вакцины. Для их приготовления вирулентные микроорганизмы убивают либо термической обработкой, либо воздействием химических агентов (например, формалина или ацетона). Подобные вакцины содержат полный набор Ag. Спектр возбудителей, используемых для приготовления неживых вакцин, разнообразен; наибольшее распространение получили бактериальные (например, противочумная) и вирусные (например, антирабическая) вакцины.

Компонентные (субъединичные) вакцины - разновидность корпускулярных неживых вакцин; они состоят из отдельных (главных, или мажорных) антигенных компонентов, способных обеспечить развитие невосприимчивости. В качестве Ag применяют иммуногенные компоненты возбудителя. Для их выделения используют различные физико-химические методы, поэтому препараты получаемые из них также известны как химические вакцины. В настоящее время разработаны субъединичные вакцины против пневмококков (на основе полисахаридов капсул), брюшного тифа (O-, H- и Vi-Ag), сибирской язвы (полисахариды и полипептиды капсул), гриппа (вирусные нейраминидазы и гемагглютинин). Для придания более высокой иммуногенности компонентные вакцины нередко сочетают с адъювантами (например, сорбируют на гидроксиде алюминия).

Генноинженерные (рекомбинантные) вакцины

Генноинженерные вакцины содержат Аг возбудителей, полученные с использованием методов генной инженерии, и включают только высоко иммуногенные компоненты, способствующие формированию защитного иммунитета (более подробно см. главу 7). Возможны несколько вариантов создания генноинженерных вакцин.

- Внесение генов вирулентности в авирулентные или слабовирулентные микроорганизмы.
- Внесение генов вирулентности в неродственные микроорганизмы с последующим выделением Аг и его использованием в качестве иммуногена.
- Искусственное удаление генов вирулентности и использование модифицированных организмов в виде корпускулярных вакцин.

Ряд современных противовирусных вакцин сконструирован путём введения генов, кодирующих основные Аг патогенных вирусов и бактерий в геном вируса осповакцины (НВ Аг вируса гепатита В) и непатогенных для человека сальмонелл (НВ_sАг вируса гепатита В и Аг токсина столбнячной палочки). Другим примером служит введение генов возбудителя туберкулёза в вакцинный штамм БЦЖ, что придаёт ему большую активность в качестве дивергентной вакцины. Такие препараты известны как векторные вакцины.

Для активной иммунопрофилактики гепатита В также предложена вакцина, представляющая собой НВ_sАг вируса. Его получают из дрожжевых клеток, в которые введён вирусный ген (в форме плазмиды), кодирующий синтез НВ_sАг. Препарат очищают от дрожжевых белков и используют для иммунизации. В качестве метода более быстрой и дешёвой наработки бактериальных экзотоксинов в настоящее время разработаны методы их получения при помощи неприхотливых микроорганизмов, в геном которых искусственно внесены гены токсинообразования (например, в виде плазмид).

Селективное удаление генов вирулентности открывает широкие перспективы для получения стойко аттенуированных штаммов шигелл, токсигенных кишечных палочек, возбудителей брюшного тифа, холеры и других диареогенных бактерий. Возникает возможность создания поливалентных вакцин для профилактики кишечных инфекций, вводимых внутрь. Другим важным направлением выступает возможность получения аттенуированных штаммов возбудителя туберкулёза человека и их использования в качестве вакцин.

Синтетические вакцины

Принцип их конструирования включает синтез или выделение нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей, образующих Аг-детерминанты, распознаваемых нейтрализующими АТ. Непременные компоненты таких вакцин - сам Аг, высокомолекулярный носитель (винилпирролидон или декстран) и адъювант (повышающий иммуногенность вакцин). Подобные препараты наиболее безопасны в плане возможных поствакцинальных осложнений, но их разработке мешают две проблемы. Во-первых, не всегда имеется информация об идентичности синтетических эпитопов естественным Аг. Во-вторых, низкомолекулярные синтетические пептиды обладают низкой иммуногенностью, что приводит к необходимости подбора соответствующих адъювантов. С другой стороны, введение синтетических вакцин в комбинации с адъюванта-ми и иммуномодуляторами перспективно у лиц с нарушениями иммунного статуса. Особые перспективы имеет использование нуклеиновых кислот для иммунопрофилактики инфекций, вызываемых внутриклеточными паразитами. В эксперименте показано, что иммунизация организма РНК и ДНК многих вирусов, малярийного плазмодия или возбудителя туберкулёза приводит к развитию стойкой невосприимчивости к заражению.

Молекулярные вакцины (анатоксины)

В подобных препаратах Аг служат молекулы метаболитов патогенных микроорганизмов. Наиболее часто в этом качестве выступают молекулы бактериальных экзотоксинов. Анатоксины используют для активной иммунопрофилактики токсинемических инфекций (дифтерии, столбняка, ботулизма, газовой гангрены, стафилококковых инфекций и др.). *Цель их применения - индукция иммунных реакций, направленных на нейтрализацию токсинов; в результате иммунизации синтезируются нейтрализующие АТ* (антитоксины). Обычный источник токсинов - промышленно культивируемые естественные штаммы-продуценты (например, возбудители дифтерии, ботулизма, столбняка). Полученные токсины инактивируют термической обработкой либо формалином, в результате чего образуются анатоксины (токсоиды), лишённые токсических свойств, но сохранившие иммуногенность. Анатоксины очищают, концентрируют и для усиления иммуно-генных свойств адсорбируют на адьюванте (обычно, гидроксид алюминия). Адсорбция анатоксинов значительно повышает их иммуногенную активность. С одной стороны, образуется «депо» препарата в месте его введения с постепенным поступлением в кровоток, с другой - действие адьюванта стимулирует развитие иммунного ответа, в том числе и в регионарных лимфатических узлах. Анатоксины выпускают в форме моно- (дифтерийный, столбнячный, стафилококковый) и ассоциированных (дифтерийно-столбнячный, ботулинический трианатоксин) препаратов.

В некоторых случаях для иммунизации применяют конъюгированные вакцины, представляющие собой комплексы бактериальных полисахаридов и токсинов. Подобные комбинации значительно усиливают иммуногенность компонентов вакцин, особенно полисахаридной фракции (например, сочетание Аг *Haemophilus influenzae* и дифтерийного анатоксина). В этой ситуации последний играет роль носителя, и в ответ на введение Аг полисахаридов формируется пул длительно циркулирующих клеток памяти. Предпринимаются попытки создать смешанные бесклеточные вакцины, включающие анатоксины и некоторые другие факторы пато-генности, например адгезины. В настоящее время такие вакцины проходят клинические испытания для профилактики коклюша.

Моно- и ассоциированные вакцины

В большинстве случаев вакцины и анатоксины применяют для создания невосприимчивости к одному возбудителю (так называемые моновалентные препараты). Путём одномоментной иммунизации возможно и достижение множественной невосприимчивости. Для этого создают ассоциированные (поливалентные) препараты, совмещая Аг нескольких микроорганизмов. Для приготовления ассоциированных вакцин обычно используют убитые микробы или их компоненты. Их применение определяют эпидемическая обоснованность (против детских или раневых инфекций), иммунная совместимость и технологическая возможность комбинирования нескольких Аг. Наиболее известные ассоциированные препараты: адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина (АКДС-вакцина), тетравакцина (вакцины против брюшного тифа, паратифов А и В, а также столбнячный анатоксин) и АДС-вакцина (дифтерийно-столб-нячный анатоксин).

Методы вакцинопрофилактики

Вакцинные препараты вводят внутрь, подкожно и внутрикожно, парентерально, интраназально и ингаляционно. Способ введения определяют свойства препарата. Живые вакцины можно вводить на кожу (скарификацией), интраназально или перорально; анатоксины вводят подкожно, а неживые корпускулярные вакцины - парентерально. При массовых иммунизациях выбирают наиболее экономичный способ, обеспечивающий быстрое и эффективное создание иммунной прослойки (невосприимчивых лиц) в популяции, особенно в эпидемический период. Например, интраназальная вакцинация против гриппа в период перед предполагаемой эпидемией или пандемией позволяет быстро и экономически эффективно создать иммунную прослойку в популяции. По степени необходимости выделяют плановую

(обязательную) вакцинацию и вакцинацию по эпидемиологическим показаниям. Первую проводят в соответствии с регламентированным календарём иммунопрофилактики наиболее распространённых или опасных инфекций. Вакцинацию по эпидемиологическим показаниям проводят для срочного создания иммунитета у лиц, подвергающихся риску развития инфекции. Например, у декретированного контингента (персонал инфекционных больниц), при вспышке инфекционного заболевания в населённом пункте или предполагаемой поездке в эндемичные районы (жёлтая лихорадка, гепатит А).

Эффективность вакцин

Способность вакцин вызывать состояние невосприимчивости проверяют биологическим (заражая патогенными микробами предварительно иммунизированных лабораторных животных) и эпидемиологическим (отслеживая заболеваемость среди иммунизированных лиц) способами.

В первом случае основным показателем является индекс защиты - частное от деления числа заболевших или погибших неиммунизированных животных на такой же показатель иммунизированных животных. Для эпидемиологической оценки используют аналогично рассчитываемый индекс эффективности. Высокие значения индексов соответствуют большей эффективности вакцинного препарата.

По аналогии с лекарственными препаратами, одним из условий эффективной вакцинации является доставка вакцинного материала до иммунокомпетентных клеток, так как он может подвергаться различным ферментативным воздействиям. Для этого в вакцины вносят различные стабилизирующие агенты, но более предпочтительно использование различных носителей, например липосом или моноклональных АТ. Применение моноклональных АТ ограничивают их свойство перекрёстно реагировать с различными тканевыми Аг макроорганизма. Большие перспективы имеют липосомы - микроскопические пузырьки, стенки которых образованы двойным слоем фосфолипидов. Благодаря этому сходству с биологическими мембранами липосомы не распознаются как чужеродные, не проявляют токсических свойств, легко адсорбируются на клетках, а также длительно сохраняют своё содержимое в крови и различных тканевых жидкостях. При поглощении липосом макрофагами их стенки постепенно растворяются, выделяя заключённые в них Аг в цитоплазму фагоцитов, вызывая более интенсивное развитие иммунных реакций, в сотни и тысячи раз превосходящее эффект от парентерального введения Аг. При этом, Аг, фиксированные на мембранах липосом проявляют свойства адьювантов, усиливающих развитие иммунного ответа.

Сывороточные иммунные препараты

К сывороточным иммунным препаратам относят иммунные сыворотки и Ig. *Эти препараты обеспечивают пассивную невосприимчивость к возбудителям инфекционных болезней.* Действующее начало таких препаратов - специфические АТ. Другими словами, в организм человека вводят готовые эффекторные молекулы. Поэтому *их можно использовать для профилактики и лечения инфекций.* Содержание АТ в сывороточных иммунных препаратах (активность) выражают в титрах АТ. По механизму действия АТ сывороточных препаратов проявляют агглютинирующий, преципитирующий, комплементсвязывающий, нейтрализующий и другие эффекты. Обычно сывороточные препараты вводят парентерально; при этом *состояние невосприимчивости развивается быстро, но длится недолго* (в пределах 2-6 нед).

Иммунные сыворотки

Иммунные сыворотки получают из крови искусственно иммунизированных животных и людей-доноров (в этих целях используют периферическую, плацентарную и абортную кровь). Для получения высоких титров АТ лошадей и кроликов иммунизируют дробным введением соответствующих Аг в больших дозах. Препараты, изготавливаемые из крови животных,

содержат гетерологичные АТ, поэтому человеку такие гетерологичные (чужеродные) сыворотки вводят при соблюдении мер предосторожности. Например, столбнячную антисыворотку (получаемую из крови иммунизированных лошадей) вводят после постановки кожных проб на чувствительность, дробно по Безредке на фоне приёма десенсибилизирующих средств. Препараты, изготовляемые из крови иммунизированных доноров, содержат гомологичные АТ; гомологичные сыворотки лишены многих побочных эффектов гетерологичных сывороток. Гомологичные сыворотки применяют для профилактики и лечения вирусных гепатитов, кори, столбняка, ботулизма и др. После введения гетерологичных сывороток состояние невосприимчивости длится 2-3 нед, эффект гомологичных АТ сохраняется 4-6 нед.

Ig

Ig получают осаждением из сыворотки крови, что освобождает их от балластных компонентов. Затем препараты очищают и концентрируют. Ig применяют для лечения и профилактики кори, клещевого энцефалита, стафилококковых инфекций, столбняка и других инфекций.

Иммуномодуляторы

Известно большое количество иммуномодуляторов, разделяемых на три основных класса (табл. 10-16). Их объединяет одно свойство - *иммуномодуляторы имеют «иммунные точки действия», то есть мишени среди иммунокомпетентных клеток.*

Таблица 10-16. Основные группы иммуномодуляторов

ИЛ, ИФН, колониестимулирующие факторы, ФНО, эритро-поэтины и др.

ГЛАВА 11. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

В этой главе рассмотрены вопросы организации лабораторной микробиологической службы, принципы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний, методы выделения и идентификации бактерий, обнаружения вирусов, грибов и простейших.

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ

В этом разделе приведена классификация патогенных биологических агентов (ПБА), рассмотрены типы микробиологических лабораторий (в том числе лабораторий с разными группами риска), требования к организации микробиологических лабораторий для работы с ПБА III и ПБА IV.

Организация лабораторной микробиологической службы

Объект изучения медицинских микробиологических лабораторий - патогенные биологические агенты (ПБА) - патогенные для человека микроорганизмы (вирусы, бактерии, грибы, простейшие), генно-инженерно модифицированные микроорганизмы, яды биологического происхождения (токсины), гельминты, а также материал (включая кровь, биологические жидкости и экскременты организма человека), подозрительный на содержание ПБА. В зависимости от выполняемых исследований, микробиологические лаборатории подразделяют на диагностические, производственные и научно-исследовательские. В соответствии с типами микроорганизмов, изучаемых в них, выделяют бактериологические, вирусологические, микологические и протозоологические лаборатории. *С возбудителями инфекционных заболеваний работают только в специализированных лабораториях, обеспечивающих безопасность её персонала и невозможность «утечки» патогенных микроорганизмов за пределы лаборатории.*

Группы возбудителей инфекционных заболеваний

Регламентация условий работы с возбудителями инфекционных заболеваний произведена в соответствии со степенью опасности микроорганизмов для человека. По этому признаку выделено четыре группы возбудителей.

Группа I: возбудители особо опасных инфекций: чума, натуральная оспа, лихорадки Ласса, Эбола и др. (см. также главу 8).

Группа II: возбудители высококонтагиозных бактериальных, грибковых и вирусных инфекций: сибирская язва, холера, лихорадка

Скалистых гор, сыпной тиф, бластомикоз, бешенство и др. (см. также главу 8). В эту группу также включён ботулотоксин (но не сам возбудитель ботулизма).

Группа III: возбудители бактериальных, грибковых, вирусных и протозойных инфекций, выделенных в отдельные нозологические формы (возбудители коклюша, столбняка, ботулизма, туберкулёза, кандидоза, малярии, лейшманиоза, гриппа, полиомиелита и др.). В эту группу также включены аттенуированные штаммы бактерий групп I, II и III.

Группа IV: возбудители бактериальных, вирусных, грибковых септицемий, менингитов, пневмоний, энтеритов, токсикоинфекций и острых отравлений (возбудители анаэробных газовых инфекций, синегнойной инфекции, аспергиллёза, амебиаза, аденовирусы, герпесвирусы и др.).

Лаборатории разных групп риска

В зависимости от уровня безопасности работы с микроорганизмами лаборатории подразделяют на четыре группы риска.

Первая группа риска: лаборатории особого режима (максимально изолированные) с высоким индивидуальным и общественным риском.

Вторая группа риска: режимные лаборатории (изолированные) с высоким индивидуальным и низким общественным риском.

Третья группа риска: базовые (основные) лаборатории с умеренным индивидуальным и ограниченным общественным риском.

Четвёртая группа риска: базовые (основные) лаборатории с низким индивидуальным и общественным риском.

Бактериологические лаборатории

В системе Министерства Здравоохранения и Государственного комитета санитарно-эпидемиологического надзора РФ наиболее разветвлена сеть бактериологических лабораторий. В соответствии с выполняемыми задачами выделяют:

- бактериологические лаборатории в составе ЛПУ;
- бактериологические лаборатории в составе комитетов Госсанэпиднадзора;
- учебные бактериологические лаборатории вузов;
- проблемные и отраслевые бактериологические лаборатории научно-исследовательских институтов и предприятий по выпуску бактериальных препаратов;

- специализированные бактериологические лаборатории по контролю за особо опасными инфекциями;
- специализированные бактериологические лаборатории по контролю за отдельными группами бактерий: микобактериями, риккетсиями, лептоспирами и др.

Большая часть микробиологических лабораторий работает с ПБА групп III и IV, а изучением возбудителей особо опасных инфекций (группы I и II) занимаются только специализированные лаборатории.

Требования к организации работы с ПБА групп опасности III и IV

Базовые лаборатории, работающие с ПБА групп III и IV, должны располагаться в отдельном здании или в изолированной части здания. Они должны иметь два выхода: один для сотрудников, другой - для доставки материала для исследований (допускается передача материала через передаточное окно). В лабораториях вузов, научно-исследовательских институтов и на предприятиях по выпуску бактериальных препаратов допускается наличие одного входа. Лаборатории должны иметь необходимый набор помещений в соответствии с производственной мощностью и номенклатурой выполняемых исследований. В них должны быть проведены водопровод, электричество, отопление и вентиляция. В системе водоснабжения должны быть предусмотрены отдельные сети подачи воды для лабораторных исследований и бытовых нужд (сеть питьевой воды). Последняя должна быть защищена от обратного тока воды из лабораторной сети. Вентиляция должна быть приточно-вытяжной, при этом наиболее низкое давление вытяжной вентиляции должно быть в помещениях с наибольшей опасностью инфицирования. При необходимости вентиляцию следует оснастить фильтрами тонкой очистки воздуха. Помещения должны иметь естественное и искусственное освещение. Каждая лаборатория должна иметь «чистую» и «грязную» зоны. *Их планировка и размещение оборудования должны обеспечивать «проточность» продвижения ПБА по «грязной зоне».*

«Грязная» зона включает помещения для приёма и регистрации материала, боксы и комнаты для проведения микробиологических исследований, помещения для проведения серологических исследований, комната для проведения люминесцентной микроскопии, термостатная, автоклавная для обеззараживания материала. Окна и двери всех помещений должны герметично закрываться. Приточно-вытяжная вентиляция «грязной» зоны должна быть оборудована фильтрами тонкой очистки выбрасываемого воздуха. Помещения для проведения работ с живыми ПБА должны быть оборудованы бактерицидными лампами. Обязательна маркировка автоклавов, столов, стеллажей для чистого и инфицированного материала. Покрытие лабораторной мебели, поверхность пола, стен и потолка должны быть гладкими и устойчивыми к действию моющих и дезинфицирующих средств.

Из правил работы в «грязной зоне» базовой лаборатории: Использование спецодежды и средств индивидуальной защиты. Перед работой следует проверить качество посуды, пипеток, шприцев и другого оборудования. При пипетировании необходимо пользоваться только резиновыми грушами или автоматическими устройствами. Строго запрещено пипетировать материал ртом, переливать его через край сосуда (пробирки, колбы), а также оставлять без надзора рабочее место во время выполнения любых работ с ПБА. В грязной зоне запрещается курить, пить воду, хранить верхнюю одежду, головные уборы, обувь, пищевые продукты. В помещения зоны нельзя приводить детей и домашних животных.

После окончания работы все объекты, содержащие ПБА, должны быть убраны в хранилища (холодильники, термостаты, шкафы) с обязательной дезинфекцией столов. Использованные пипетки полностью (вертикально) погружают в дезинфицирующий раствор, избегая образования пузырьков в каналах. Остатки ПБА, использованную посуду и оборудование собирают в закрывающиеся ёмкости и передают в автоклавную. Категорически запрещено сливать

отходы с ПБА в канализацию без предварительного обеззараживания. После окончания работы с ПБА и заражёнными животными, а также после ухода из лаборатории следует тщательно вымыть руки.

ПРИНЦИПЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Цель микробиологических исследований - установить факт наличия или отсутствия возбудителя в организме больного и на объектах окружающей среды.

Задачи микробиологических исследований - идентифицировать микроорганизмы в исследуемом материале, определить их видовую принадлежность, морфологические, биохимические, токсигенные и антигенные свойства, а также установить чувствительность выделенных микроорганизмов к антимикробным препаратам. Несмотря на то, что проведение микробиологических исследований относится к компетенции микробиологов, каждый врач, имеющий дело с инфекционными заболеваниями, должен знать, как и когда необходимо отбирать материал для исследований, на какие исследования его направлять и как интерпретировать полученные результаты.

Отбор материала

Первый этап любого микробиологического исследования составляет правильный выбор материала для исследования. Его определяют свойства возбудителя и патогенез вызываемого им заболевания. При поражениях отдельных органов и систем целесообразно отбирать материал соответствующей локализации. При отсутствии поражений исследуют кровь, а затем отбирают образцы с учётом клинической картины заболевания и доступности материала для исследования. Так при лихорадке неясного генеза первоначально проводят посев крови; затем, при появлении симптомов более конкретных проявлений, например, пневмонии, проводят забор мокроты.

- Образцы следует забирать до назначения антимикробной терапии, с соблюдением правил асептики для предупреждения загрязнения материала. Каждый образец следует рассматривать как потенциально опасный. При заборе, транспортировке, хранении и работе с ним необходимо соблюдать правила биологической безопасности. Материал собирают в объёме, достаточном для всего комплекса исследований. Микробиологические исследования следует начинать немедленно после поступления образца в лабораторию.

- Выбор материала для исследования должен соответствовать характеру инфекционного процесса. Так, например, при установлении этиологии пневмонии материалом должна быть мокрота, а не слюна, а при раневых инфекциях отделяемое следует забирать из глубины раны, а не с её поверхности.

Выбор лабораторных исследований

Основу микробиологической диагностики инфекционных заболеваний составляют микроскопические, микробиологические, биологические, серологические и аллергологические методы.

Микроскопические методы

Микроскопические методы включают приготовление мазков и препаратов для микроскопирования. *В большинстве случаев результаты микроскопических исследований носят ориентировочный характер* (например, определяют отношение возбудителей к окраске), так как многие микроорганизмы лишены морфологических и тинкториальных особенностей. Тем не менее, микроскопией материала можно определить некоторые морфологические признаки

возбудителей (наличие ядер, жгутиков, внутриклеточных включений и т.д.), а также установить факт наличия или отсутствия микроорганизмов в присланных образцах.

Микробиологические методы

Микробиологические методы - «золотой стандарт» микробиологической диагностики, так как *результаты микробиологических исследований позволяют точно установить факт наличия возбудителя в исследуемом материале.* Идентификацию чистых культур (до вида микроорганизма) проводят с учётом морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, токсигенных и антигенных свойств микроорганизма. Большинство исследований включает определение чувствительности к антимикробным препаратам у выделенного возбудителя. Для эпидемиологической оценки роли микроорганизма проводят внутривидовую идентификацию определением фаговаров, биоваров, резистентваров и т.д.

Биологические методы

Биологические методы направлены на определение наличия токсинов возбудителя в исследуемом материале и на обнаружение возбудителя (особенно при незначительном исходном содержании в исследуемом образце). Методы включают заражение лабораторных животных исследуемым материалом с последующим выделением чистой культуры патогена либо установлением факта присутствия микробного токсина и его природы. Моделирование экспериментальных инфекций у чувствительных животных - важный инструмент изучения патогенеза заболевания и характера взаимодействий внутри системы микроорганизм-макроорганизм. Для проведения биологических проб используют только здоровых животных определённых массы тела и возраста. Инфекционный материал вводят внутрь, в дыхательные пути, внутрибрюшинно, внутривенно, внутримышечно, внутрикожно и подкожно, в переднюю камеру глаза, через трепана-ционное отверстие черепа, субокципитально (в большую цистерну головного мозга). У животных прижизненно забирают кровь, экссудат из брюшины, после гибели - кровь, кусочки различных органов, СМЖ, экссудат из различных полостей.

Серологические методы

Серологические методы выявления специфических АТ и Аг возбудителя - важный инструмент в диагностике инфекционных заболеваний. Особую ценность они имеют в тех случаях, когда выделить возбудитель не представляется возможным. При этом необходимо выявить повышение титров АТ, в связи с чем исследуют парные образцы сыворотки, взятые в интервале 10-20 сут (иногда этот интервал может быть более длительным). АТ обычно появляются в крови на 1-2-ю неделю заболевания и циркулируют в организме относительно долго, что позволяет использовать их выявление для ретроспективных эпидемиологических исследований. Определение классов Ig чётко характеризует этапы инфекционного процесса, а также может служить косвенным прогностическим критерием. Особое значение имеют методы выявления микробных Аг. В значимых количествах они появляются уже на самых ранних сроках, что делает их идентификацию важным инструментом экспресс-диагностики инфекционных заболеваний, а количественное их определение в динамике инфекционного процесса служит критерием эффективности проводимой антимикробной терапии.

Аллергологические методы

Аг многих возбудителей обладают сенсibiliзирующим действием, что используют для диагностики инфекционных заболеваний, а также при проведении эпидемиологических исследований. Наибольшее распространение нашли кожно-аллергические пробы, включающие внутри-кожное введение Аг (аллергена) с развитием реакции ГЗТ. Кожные пробы нашли

применение в диагностике таких заболеваний как скарлатина, мелиоидоз, бруцеллёз. Наиболее известна проба Манту, используемая как для диагностики туберкулёза, так и для оценки невосприимчивости организма к возбудителю.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ

В этом разделе рассмотрены следующие вопросы: подготовка материала для микроскопии и виды микроскопии, питательные среды для культивирования бактерий, посев и культивирование бактерий, изучение особенностей роста бактерий для их первичной идентификации, а также биохимические, серологические, аллергологические и биологические методы идентификации бактерий.

Микроскопия материала

Любое бактериологическое исследование начинается с микроскопии материала и его последующего посева на питательные среды. Эффективность выделения возбудителя в значительной степени обусловлена правильной техникой отбора образцов клинического материала, своевременностью их доставки в лабораторию и правильным хранением образцов.

Светооптическая микроскопия

Для световой микроскопии применяют микроскоп - оптический прибор, позволяющий наблюдать мелкие объекты (рис. 11-1). Увеличение изображения достигают системой линз конденсора, объектива и окуляра. Конденсор, расположенный между источником света и изучаемым объектом, собирает лучи света в поле микроскопа. Объектив создаёт изображение поля микроскопа внутри тубуса. Окуляр увеличивает это изображение и делает возможным его восприятие глазом. Предел разрешения микроскопа (минимальное расстояние, на котором различимы два объекта) определяется длиной световой волны и апертурой линз. Теоретически возможный предел разрешения светового микроскопа равен 0,2 мкм; реальное разрешение можно повысить за счёт увеличения апертуры оптической системы, например, путём увеличения коэффициента преломления. Коэффициент преломления (иммерсии) жидких сред больше коэффициента преломления воздуха ($n = 1,0$), при микроскопировании применяют несколько иммерсионных сред: масляную, глицериновую, водную. Механическая часть микроскопа включает штатив, предметный столик, макро- и микрометрический винты, тубус, тубусодержатель.

Темнопольная микроскопия позволяет наблюдать живые бактерии. Для этого используют темнопольный конденсор, выделяющий контрастирующие структуры неокрашенного материала. Перед началом работы свет устанавливают и центрируют по светлomu полю, затем светлoпольный конденсор удаляют и заменяют соответствующей системой (например, «ОИ-10» или «ОИ-21»). Препарат готовят по методу «раздавленной капли», делая его как можно более тонким (толщина покровного стекла не должна быть толще 1 мм). Наблюдаемый объект выглядит как освещённый на тёмном поле. При этом лучи от осветителя падают на объект сбоку, а в линзы микроскопа поступают только рассеянные лучи (рис. 11-2). В качестве иммерсионной жидкости пригодно вазелиновое масло.

Фазово-контрастная микроскопия позволяет изучать живые и неокрашенные объекты за счёт повышения их контрастности. При прохождении света через окрашенные объекты происходит изменение амплитуды световой волны, а при прохождении через неокрашенные - фазы световой волны, что используют для получения высококонтрастного изображения в фазово-контрастной (рис. 11-3) и интерференционной микроскопии. Для повышения контрастности фазовые кольца покрывают металлом, поглощающим прямой свет, не влияя на сдвиг фазы. В оптической системе микроскопа применяют специальный конденсор с револьвером диафрагм и центрирующим устройством; объективы заменяют на иммерсионные объективы-апохроматы.

Поляризационная микроскопия позволяет получать изображения неокрашенных анизотропных структур (например, коллагеновых волокон, миофибрилл или клеток микроорганизмов). Принцип метода основан на изучении объекта в свете, образованном двумя лучами, поляризованными во взаимно перпендикулярных плоскостях.

Интерференционная микроскопия объединяет принципы фазово-контрастной и поляризационной микроскопии. Метод применяют для получения контрастного трёхмерного изображения неокрашенных объектов. Принцип метода основан на раздвоении светового потока в микроскопе; один луч проходит через объект, другой - мимо него. Оба луча соединяются в окуляре и интерферируют между собой.

Люминесцентная микроскопия. Метод основан на способности некоторых веществ светиться при воздействии коротковолнового излучения. При этом испускаемые световые волны длиннее волны, вызывающей свечение. Иными словами, флюоресцирующие объекты поглощают свет одной длины волны и излучают в другой области спектра (рис. 11-4). Например, если индуцирующее излучение синее, то образующееся свечение может быть красным или жёлтым. Эти вещества (флюоресцеин изоцианат, акридиновый оранжевый, родамин и др.) используют как флюоресцирующие красители для наблюдения флюоресцирующих (люми-несцирующих) объектов. В люминесцентном микроскопе свет от источника (ртутная лампа сверхвысокого давления) проходит через два фильтра. Первый (синий) фильтр задерживает свет перед образцом и пропускает свет длины волны, возбуждающей флюоресценцию образца. Второй (жёлтый) задерживает синий свет, но пропускает жёлтый, красный, зелёный свет, излучаемый флюоресцирующим объектом и воспринимаемый глазом. Обычно исследуемые микроорганизмы окрашивают непосредственно либо с помощью АТ или лектинов, помеченных флюорох-ромами. Препараты взаимодействуют с Ag или другими связывающими лиганд структурами объекта. Люминесцентная микроскопия нашла широкое применение для визуализации результатов иммунохимических реакций, основанных на специфическом взаимодействии меченных флюоресцирующими красителями АТ с Ag изучаемого объекта. Варианты иммунофлюоресцентных реакций представлены на рис. 11-5 и 11-6.

Электронная микроскопия

Теоретически разрешение просвечивающего электронного микроскопа составляет 0,002 нм; реальное разрешение современных микроскопов приближается к 0,1 нм. На практике разрешение для биологических объектов достигает 2 нм.

Просвечивающий электронный микроскоп (рис. 11-7) состоит из колонны, через которую в вакууме проходят электроны, излучаемые катодной нитью. Пучок электронов, фокусируемый кольцевыми магнитами, проходит через подготовленный образец. Характер рассеивания электронов зависит от плотности образца. Проходящие через образец электроны наблюдают на флюоресцирующем экране и регистрируют при помощи фотопластинки.

Сканирующий электронный микроскоп применяют для получения трёхмерного изображения поверхности исследуемого объекта.

Подготовка материала к микроскопии

В бактериологической практике микроскопически исследуют неокрашенные образцы (нативный материал) и окрашенные препараты (мазки или мазки-отпечатки), приготовленные из клинического материала или колоний выросших микроорганизмов.

Нативные препараты

Нативные препараты готовят для исследования живых неокрашенных бактерий. Наибольшее распространение получили метод висячей капли, микрокамеры с плотными средами и негативные

методы исследования живых бактерий. Для прижизненного исследования также часто применяются исследование в тёмном поле и фазово-контрастная микроскопия. Подобные приёмы часто используют для диагностики сифилиса и предварительной диагностики диарей, вызванных кампилобактерами, а также для определения подвижности микроорганизмов.

Окрашенные препараты

Для приготовления окрашенных препаратов из исследуемого объекта готовят мазки и фиксируют их.

Отбор материала. Тампоны, содержащие микроорганизмы, прокатывают по предметному стеклу (рис. 11-8, А); с их помощью также готовят мазки из непрозрачных жидкостей, например взвеси испражнений (рис. 11-8, Б). Мазки из материалов со слизистой или грубой консистенцией готовят их растиранием между двумя предметными стёклами (рис. 11-9). Прозрачные жидкости (например, мочу или СМЖ) можно нанести в виде капли на предметное стекло (рис. 11-10, А), при этом границы капли желательно обвести маркёром. Лучшие результаты даёт предварительное центрифугирование; затем осадок наносят на стекло; если он густой, его можно распределить с помощью стеклянной палочки (рис. 11-10, Б).

Фиксация. В практической бактериологии наиболее распространена термическая фиксация (над пламенем горелки) - метод грубый, но сохраняющий морфологию и отношение к красителям у бактерий. Для более детального изучения структуры клеток применяют фиксирующие растворы, предотвращающие ферментативный аутолиз бактерий и стабилизирующие макромолекулы путём химического их сшивания. Для светооптической микроскопии используют формалин, спирты, глутараль-дегид, жидкость Карнуа, ацетон, пары осмиевой кислоты и др. Мазки фиксируют, помещая их в раствор фиксатора или нанося фиксаж на мазок. Для электронной микроскопии применяют глутаральдегид и тетраоксид осмия.

Окрашивание. Стандартные красители, используемые для окраски бактерий, - карболовый фуксин Цйля, фуксин Пфайф-фера и метиленовый синий по Лёффлеру. Для получения более информативных результатов в светооптической микроскопии используют специальные и дифференцирующие методы окраски.

Специальные методы окраски бактерий. Наибольшее распространение нашли методы Грама и Цйля-Нильсе-на (рис. 11-11).

Дифференцирующие методы обычно применяют для окрашивания различных морфологических структур.

Капсулы. Для окраски капсул бактерий применяют методы Хйсса, Лёйфсона и Антони; последний метод наиболее прост и включает окраску кристаллическим фиолетовым с последующей обработкой 20% водным раствором CuSO_4 .

Жгутики. Для окраски жгутиков предложены методы Лёф-флера, Бёйли, Грёя и др. Для этих методов характерны первоначальное протравливание препарата [обычно растворами таннина, $\text{KA}1^0_4$), HgCl_2] и последующая окраска (чаще карболовый фуксин Цйля). *Споры.* Окраску спор бактерий проводят после предварительной обработки их стенок. Наиболее прост *метод Пешкова*, включающий кипячение мазка с синькой Лёффлера на предметном стекле с последующей докраской нейтральным красным. Споры окрашиваются в синий цвет, вегетативные клетки - в розовый.

Питательные среды для культивирования бактерий

Для выделения чистых культур патогенных бактерий применяют оптимальные для их роста питательные среды с фиксированным рН. Большинство бактерий способно расти на различных питательных средах; исключения составляют хламидии и риккетсии, не растущие *in vitro* вне клеточных культур. Используемая среда должна содержать вещества, утилизируемые бактериями для различных биосинтетических процессов. Универсальные источники азота и углерода - белковые гидролизаты (содержат полный набор аминокислот), пептиды и пептоны. Универсальные источники витаминов и микроэлементов - экстракты белков животного или растительного происхождения и белковые гидролизаты.

рН среды. В некоторых случаях жизнедеятельность бактерий сопровождается сдвигом рН в кислую или щелочную сторону, что требует внесения в среды различных буферных систем (обычно применяют фосфатный буфер). Сбалансированные среды отличаются высокой буферностью и стабильным оптимумом рН. Важно также создание оптимальной концентрации O_2 и CO_2 .

Классификации сред

Среды классифицируют по консистенции, составу, происхождению, назначению и загрязнённости материала.

По консистенции питательные среды разделяют на *плотные* (твёрдые), *полужидкие* и *жидкие*.

По составу выделяют *белковые*, *безбелковые* и *минеральные* среды.

По происхождению среды разделяют на искусственные и естественные (природные). Искусственные среды разделяют на *животные* [например, мясо-пептонный агар (МПА) или мясо-пептонный бульон (МПБ)] и *растительные* (например, настои сена и соломы, отвары злаков, дрожжей или фруктов, пивное сусло и др.).

Рис. 11 -11. Схема окраски бактерий по Граму и Цилю-Нильсену.

Естественные среды могут содержать *компоненты животного* (например, кровь, сыворотка, жёлчь) или *растительного* (например, кусочки овощей и фруктов) происхождения.

По назначению выделяют *консервирующие среды* (для первичного посева и транспортировки), *среды обогащения* (для накопления определённой группы бактерий), *среды для культивирования* (универсальные простые, сложные специальные и для токсинообразования), *среды для выделения и накопления* (консервирующие, обогащения и селективные) и *среды для идентификации* (дифференциальные и селективно-дифференциальные).

По загрязнённости материала. Если материал слабо загрязнён посторонней микрофлорой, то для выделения чистых культур применяют *простые* (по составу) *среды*. При обильной контаминации сапрофитами используют *специальные* или *селективные* (для отдельных видов), *селективные* (только для отдельных бактерий), *дифференциально-диагностические* (для облегчения идентификации) *среды*.

Характеристики сред

Консервирующие среды предупреждают отмирание патогенов и подавляют рост сапрофитов. Наибольшее применение нашли глицериновая смесь (среда Тйга), гипертонический раствор, глицериновый консервант с $LiCl_2$, раствор цитрата натрия и дезоксихолата натрия (среда Бенгсанга-Эллиота).

Среды обогащения (например, среда Кйтта-Тароцци, селенитовый бульон, тиогликолят-ная среда) применяют для накопления определённой группы бактерий за счёт создания условий, оптимальных для одних видов и неблагоприятных для других. Наиболее часто в качестве подобных агентов используют различные красители и химические вещества - соли жёлчных кислот, тетраионат Na^+ , теллурит K^+ , антибиотики, фуксин, генциановый фиолетовый, бриллиантовый зелёный и др.

Элективные и селективные среды (например, среды Уйлсона-Блэра, Эндо, Плоскирева, Мак-Конки) предназначены для первичного посева материала или для пересева с консервирующих сред или сред обогащения с целью получения чистой культуры. Среды готовят с учётом биохимических и энергетических потребностей микроорганизмов. Соответственно, выделяют кровяные и сывороточные среды (например, Лёффлера, Бордё-Жангу), яичные среды (например, Лёвенштайна-Иёнсена) и др.

Дифференциально-диагностические среды (например, среды Хйсса, Кларка) применяют для изучения и идентификации отдельных типов, видов и групп бактерий. В качестве основы применяют различные органические и неорганические соединения, гидролизаты казеина, пептонную воду, бульон Хоттйнгера-Мартёна, дополненные углеводами, спиртами, мочевиной и другими веществами; при их расщеплении происходит сдвиг рН в кислую (углеводы, спирты, липиды) или щелочную (белки) сторону. Соответственно, выделяют *среды с углеводами и спиртами, среды с мочевиной, среды для определения индолообразования, среды для определения протеолитической активности и комбинированные (политропные) среды*. В такие среды также часто вносят различные индикаторы (например, бромтимоловый синий, индикатор Андраде, бромкрезоловый пурпурный и крезоловый красный), помогающие визуально определить изменение рН, характерное для различных микроорганизмов. В частности, *сдвиг в кислую сторону вызывает покраснение среды с реактивом Андраде или пожелтение при использовании среды с бромтимоловым синим*, тогда как *при защелачивании реактив Андраде и индикатор бромтимоловый синий не меняют цвет среды*. Все дифференциально-диагностические среды разделяют на четыре основные группы.

Среды, содержащие белки, дающие характерные изменения под действием бактериальных ферментов (кровь, желатина, молоко и др.), применяют для определения гемолитических или протеолитических свойств. Наиболее распространены мясо-пептонная желатина (МПЖ), свернувшаяся лошадиная сыворотка, молоко и кровяной агар (КА).

Среды, содержащие углеводы или многоатомные спирты. Ферментативное расщепление субстратов приводит к сдвигу рН и изменению окраски среды, а иногда и образованию газа. Наиболее распространены цветные среды с различными углеводами (например, с бромтимоловым синим, индикатором ВР), лакмусовое молоко (среда Минкёвича) и среды Хйсса. Из углеводов наиболее часто используют моносахариды (ксилозу, арабинозу, глюкозу, фруктозу, маннозу, галактозу), дисахариды (лактозу, мальтозу, сахарозу), полисахариды (крахмал, гликоген, инулин, декстрин), спирты (дульцит, маннит, сорбит, глицерин) и гликозиды (адонит, инозит, салицин, амигдалин).

Среды для определения редуцирующей способности. В эту группу входят среды с красками, обесцвечивающимися при восстановлении (например, метиленовый голубой, нейтральный красный, индигокармйн), а также среды с нитратами для определения денитрифицирующей активности бактерий (при положительном результате среды окрашиваются в синий цвет).

Среды, включающие вещества, ассимилируемые только определённой группой бактерий. Наиболее известны цитратный агар Сйммонса и цитратная среда Козера.

Посев и культивирование

При достаточном содержании патогенных бактерий в образце проводят посев на плотные питательные среды (для получения изолированных колоний). Если в исследуемом материале бактерий мало, то посев проводят на жидкие среды обогащения. На практике выделение относительно неприхотливых бактерий обычно проводят на простых средах (например, на КА, агаре Плоскире-ва, тиогликолевом бульоне, агаре Сабуро и т.д.). Для выделения прихотливых видов в среды вносят питательные вещества (кровь, сыворотку, дрожжевой экстракт и др.), а также поглотители токсических метаболитов, образующихся при росте бактерий (например, древесный уголь). Для посевов применяют микробиологические петли, реже иглы и шпатели.

Получение изолированных колоний

Для получения изолированных колоний на практике наиболее часто используют модификацию посева по Дригальски. Для этого материал наносят на поверхность плотной питательной среды ближе к краю и делают «бляшку». Затем из неё материал распределяют по четырём квадратам, проводя петлёй штрихи, как показано на рис.11-12, обжигая петлю после засева каждого квадрата. Подобный метод позволяет получить изолированные колонии и изучать их. Исключение составляет техника посева при бактериологическом исследовании мочи (техника штрихового засева показана на рис. 11-13). Указанные методы пригодны для посева аэробных и факультативно анаэробных бактерий, а также нестрогих анаэробов.

Температура культивирования

Патогенные бактерии вариабельны в отношении температур, оптимальных для их роста, но большинство из них неплохо развивается при 35-37 °С. Исключение составляют некоторые атипичные микобактерии, возбудитель чумы, листерии и лептоспиры (температурный оптимум 20-30 °С), а также *Campylobacter jejuni* (температурный оптимум 42 °С).

Состав газовой среды

Бактерии чётко разделяют по отношению к содержанию кислорода в атмосфере культивирования.

Аэробы. Посевы аэробных бактерий культивируют в простых термостатах. Некоторые факультативно анаэробные виды также можно культивировать при атмосферном воздухе, но более оптимально помещение посевов в термостаты с дозированной подачей кислорода. На практике их чаще помещают в эксикаторы, куда вносят горящую свечу; после её выгорания в атмосфере снижается содержание кислорода и повышается содержание CO₂.

Анаэробы. Посевы анаэробных бактерий в жидких средах заливают вазелиновым или другим маслом. При использовании плотных сред посевы культивируют в специальных устройствах - анаэростатах (откуда откачивают воздух) либо заливают посевы тонким слоем агара. Анаэробные условия можно создать химическим путём, поместив посевы в эксикаторы, на дно которых заливают щелочной раствор пирогаллола, поглощающего кислород. Также можно использовать методы Фортнера, Цейссlera и Вейнберга.

Метод Фортнера. Посевы проводят на чашку Пётри с толстым слоем среды, разделённым пополам узкой канавкой, вырезанной в агаре. На одну половину засевают культуру аэробных бактерий, на другую - анаэробных. Края чашки заливают парафином и инкубируют в термостате. Первоначально наблюдают рост аэробов, а затем (после поглощения кислорода) - рост анаэробов.

Метод Цейссlera используют для выделения чистых культур спорообразующих анаэробов. Для этого проводят посев на среду Кйтта-Тарбци, прогревают 15 мин при 80 °С (для уничтожения вегетативных форм), заливают вазелиновым маслом и инкубируют 24 ч. Затем проводят посев на сахарно-кровоной агар для получения чистых культур. После 24-часового

культивирования подозрительные колонии изучают и отсевают на среду Кйтта-Тароцци (с последующим контролем чистоты выделенной культуры).

Метод Вейнберга используют для получения чистых культур строгих анаэробов. Культуры, выращенные на среде Кйтта-Тароцци, вносят в сахарный бульон. Затем пастеровской пипеткой с запаянным концом материал переносят в узкие пробирки (трубки Виньяля) с сахарным МПА, погружая пастерку до дна пробирки. Засеянные пробирки быстро охлаждаются холодной водой, что позволяет зафиксировать отдельные бактериальные клетки в толще затвердевшего агара. Пробирки инкубируют, и изучают выросшие колонии. При обнаружении подозрительной колонии на её месте делают распил, колонию быстро отбирают и засевают на среду Кйтта-Тароцци (с последующим контролем чистоты выделенной культуры).

Методы культивирования

При выращивании бактерий применяют стационарный способ, способ глубинного культивирования с аэрацией и метод проточных питательных сред. В соответствии со способами выращивания бактериальные культуры разделяют на *периодические* (при стационарном и глубинном культивировании) и *непрерывные* (при проточном культивировании).

Стационарный способ - наиболее часто используемый на практике. Состав сред остаётся постоянным, с ними не проводят никаких дополнительных манипуляций.

Способ глубинного культивирования применяют при промышленном выращивании бактериальной биомассы, для чего используют специальные котлы-реакторы. Они снабжены системами поддержания температуры, подачи в бульон различных питательных веществ, перемешивания биомассы и постоянной подачи кислорода. Создание аэробных условий по всей толще среды способствует протеканию энергетических процессов по аэробному пути, что способствует максимальной утилизации энергетического потенциала глюкозы и, следовательно, максимальному выходу биомассы.

Метод проточных сред (промышленный способ культивирования) позволяет постоянно поддерживать бактериальную культуру в экспоненциальной фазе роста, что достигается постоянным внесением питательных веществ и удалением определённого числа бактериальных клеток. Пребывание бактерий в экспоненциальной стадии роста обеспечивает максимальный выход различных БАВ (витамины, антибиотики и др.).

Первичная идентификация бактерий

В большинстве случаев изучение особенностей роста для первичной идентификации возбудителей проводят на колониях, выросших в течение 18-24 ч. Характер роста бактерий на различных средах может дать много полезной информации. На практике используют сравнительно небольшой набор критериев. В жидких средах обычно учитывают характер поверхностного (образование плёнки) или придонного роста (вид осадка) и общее помутнение среды. На твёрдых средах бактерии формируют колонии *-изолированные структуры, образующиеся в результате роста и накопления бактерий*. Колонии возникают как следствие роста и размножения одной или нескольких клеток. Таким образом, *пересев из колонии в дальнейшем даёт возможность оперировать с чистой культурой возбудителя*. Рост бактерий на плотных средах имеет больше характерных особенностей.

Гемолиз

Некоторые бактерии выделяют гемолизины - вещества, разрушающие эритроциты. На КА их колонии окружают зоны просветления. Образование гемолизина (и соответственно - размеры зон гемолиза) может быть переменным, и для адекватного определения гемолитической активности следует просматривать чашки с посевами против источника света (рис. 11-

14). Активность гемолизинов может проявляться в полном или неполном разрушении эритроцитов. α-Гемолиз. Разрушение эритроцитов может быть неполным, с сохранением клеточной структуры. Подобный феномен называют α-гемолиз. Просветление среды вокруг колоний обычно незначительно, позднее среда вокруг колоний может приобретать зеленоватую окраску. Подобный рост характерен для пневмококка, а также для группы так называемых зеленающих стрептококков.

β-Гемолиз. Гораздо большая группа бактерий вызывает полное разрушение эритроцитов, или β-гемолиз. Их колонии окружены прозрачными зонами различного размера. Например, *Streptococcus pyogenes* и *Staphylococcus aureus* образуют большие зоны гемолиза, а *Listeria monocytogenes* или *Streptococcus agalactiae* - небольшие, диффузные зоны. Для определения гемолитической активности не следует применять шоколадный агар (ША, так как образующиеся зоны α- или β-гемолиза не имеют характерных особенностей и вызывают одинаковое позеленение среды.

Размеры и форма колоний

Важные признаки колоний - их размеры и форма. Колонии могут быть большими или мелкими. Величина колоний - признак, позволяющий различать различные виды, роды и даже

типы бактерий. В большинстве случаев колонии грамположительных бактерий мельче колоний грамотрицательных бактерий. Колонии бактерий могут быть плоскими, приподнятыми, выпуклыми, иметь вдавленный или приподнятый центр (рис. 11-15). Другой важный признак - форма краёв колоний (рис. 11-16). При изучении формы колоний учитывают характер её поверхности: матовый, блестящий, гладкий или шероховатый. Края колоний могут быть ровными, волнистыми, дольчатыми (глубоко изрезанными), зубчатыми, эрозированными, бахромчатыми и т.д. Размеры и формы колоний часто могут изменяться. Подобные изменения известны как диссоциации. Наиболее часто обнаруживают S- и R-диссоциации. S-колонии круглые, гладкие и выпуклые, с ровными краями и блестящей поверхностью. R-колонии - неправильной формы, шероховатые, с зубчатыми краями.

Цвет колоний

При просмотре посевов также обращают внимание на цвет колоний. Чаще они бесцветные, белые, голубоватые, жёлтые или бежевые; реже - красные, фиолетовые, зелёные или чёрные. Иногда колонии ирризируют, то есть переливаются всеми цветами радуги [от греч. *iris*, радуга]. Окрашивание возникает в результате способности бактерий к пигментообразованию. На специальных дифференцирующих средах, включающих специальные ингредиенты или красители, колонии могут приобретать разнообразную окраску (чёрную, синюю и др.) за счёт включения красителей либо их восстановления из бесцветной формы. В данном случае их окраска не связана с образованием каких-либо пигментов

Консистенция колоний и особенности роста на среде

Полезную информацию могут дать консистенция колоний и особенности роста на среде. Обычно эту информацию можно получить при прикосновении к колониям петлёй. Колонии могут легко сниматься со среды, вращать в неё или вызывать её коррозию (образуя трещины и неровности). Консистенция колоний может быть твёрдой или мягкой.

Мягкие колонии - маслянистые или сливкообразные; могут быть слизистыми (прилипают к петле) или вязкими (тянущимися за петлёй).

Твёрдые колонии - сухие, восковидные, волокнистые или крошковатые; могут быть хрупкими и ломаться при прикосновении петлёй.

Запах

Запах - менее важный признак колоний, поскольку вызываемые им ассоциации носят субъективный характер. В частности, культуры синегнойной палочки имеют запах карамели, культуры листерий - молочной сыворотки, протеев - гнилостный запах, нокардий - свежескопанной земли.

Биохимические методы идентификации бактерий

Методов, используемых для идентификации особенностей метаболизма бактерий, очень много, но на практике применяют небольшое их количество. Большинство способов основано на использовании дифференциально-диагностических сред, включающих различные индикаторы.

Способность к ферментации углеводов

Способность к ферментации углеводов оценивают по изменению окраски среды вследствие образования органических кислот (соответственно, происходит уменьшение рН), вызывающих изменение окраски индикатора.

«Пёстрый» ряд. Для определения сахаролитической активности применяют среды Хйсса; в их состав входят 1% пептонная вода (или МПБ), индикатор Андраде и один из углеводов. При расщеплении углевода происходит изменение цвета среды с жёлтого на красный. Поскольку бактерии различают по способности ферментировать те или иные углеводы, то ряды пробирок приобретают пёстрый вид. Поэтому этот набор сред и называют «пёстрый» (или цветной) ряд.

Стеклянные поплавки. Для определения способности микроорганизмов ферментировать углеводы с образованием кислоты и газа в сосуды со средами вносят стеклянные поплавки (запаянные с одного конца короткие трубочки), всплывающие после наполнения их газом.

Расщепление белков

Некоторые бактерии проявляют протеолитическую активность, выделяя протеазы, катализирующие расщепление белков. Наличие протеолитических ферментов из группы коллагеназ определяют при посеве уколом в МПЖ. При положительном результате наблюдают его разжижение в виде воронки либо послойно сверху вниз. Способность к расщеплению белков и аминокислот также можно оценивать по изменению окраски среды, так как образующиеся продукты - аммиак, индол и сероводород - сдвигают рН в щелочную сторону, вызывая изменение окраски индикатора.

Образование аммиака. Для определения способности к образованию NH_3 проводят посев в МПБ, и между его поверхностью и пробкой закрепляют полоску лакмусовой бумаги. *При положительном результате бумажка синееет.*

Образование индола и H_2S . Обычно для определения способности к образованию индола и сероводорода также проводят посев в МПБ, между его поверхностью и пробкой закрепляют бумажки: в первом случае пропитанные раствором щавелевой кислоты (при образовании индола бумажка краснеет), во втором - раствором ацетата свинца (при образовании H_2S бумажка чернеет). Также используют специальные среды, содержащие индикаторы (например, среда Клейгера), либо их вносят непосредственно в среду после регистрации видимого роста бактерий (см. также рис. 18-2, А).

Тест на нитратредуктазную активность

Этот тест используют для идентификации отдельных видов бактерий. Он позволяет определить способность восстанавливать нитраты в нитриты. Способность к восстановлению NO_3 в NO_2 определяют культивированием в МПБ, содержащем 1% раствор KNO_3 . Для определения

нитритов в среду добавляют несколько капель реактива Грйсса. При положительном результате наблюдают появление красного кольца (см. также рис. 18-2, Б).

Хроматография

Хроматографические методы используют для идентификации бактерий и установления их систематического положения. Объекты для исследования - жирные кислоты клеточной стенки, уникальные интермедиаты и конечные метаболиты жизнедеятельности бактерий. Хроматографические системы обычно сопрягают с компьютерами, что значительно упрощает учёт результатов. Наиболее распространена идентификация короткоцепочечных жирных и тейхоевых кислот методом газожидкостной хроматографии. Жидкостной хроматографией под высоким давлением идентифицируют миколовую кислоту в клеточных стенках микобактерий. Тонкослойную хроматографию используют для идентификации изопреноидных хинонов клеточной стенки бактерий. У различных родов их содержание и набор различны, но постоянны, что позволяет установить систематическое положение каждого конкретного вида.

Индикаторные бумажки

Для изучения биохимической активности бактерий широко применяют системы индикаторных бумажек (СИБ) или наборы мультимикротестов.

Система индикаторных бумажек (СИБ) - набор дисков, пропитанных различными субстратами. Их можно непосредственно вносить в пробирки со взвесью бактерий либо предварительно поместить в лунки пластиковых планшетов, куда будут внесены исследуемые бактерии. Так, на практике применяют наборы Minitек *Enterobacteriaceae* III и Minitек *Neisseria* для дифференциальной диагностики энтеробактерий (четырнадцать субстратов) и нейссерий (четыре субстрата), позволяющие получить результаты через 4 ч инкубации при 37 °С.

Наборы мультимикротестов - пластиковые планшеты, в лунки которых помещены различные субстраты и индикаторы. В лунки вносят различные разведения бактерий и инкубируют при 37 °С. На практике используют тесты RapID NH для идентификации нейссерий и гемофилов, RapID E для энтеробактерий и др., позволяющие получить результаты не позднее 4-8 ч.

Автоматические системы идентификации бактерий

Автоматические системы идентификации бактерий позволяют быстро (на 24-48 ч быстрее обычных методов) получить информацию о виде возбудителя заболевания и его чувствительности к антимикробным препаратам. В настоящее время наибольшее распространение получили системы типа Microscan и Vitek.

Системы Microscan. Используют турбидометрические, колориметрические и флюоресцентные методы идентификации бактерий. Система состоит из комплектов пластиковых планшетов, содержащих различные субстраты. Грамположительные и грамотрицательные бактерии дифференцируют с помощью флюоресцирующих субстратов (время анализа - 2 ч). Для идентификации гемофилов, анаэробов и дрожжей используют хромогенные субстраты, изменяющие свою окраску (время анализа - 4-6 ч). Минимальные ингибирующие концентрации различных антибиотиков определяют по изменению оптической плотности. Система компьютеризирована и автоматически проводит все необходимые расчёты.

Системы Vitek. В этой системе применяют один тип планшетов с тридцатью лунками. В каждую лунку автоматически вносится суспензия бактерий с известной концентрацией микробных тел. Идентификация микроорганизмов (гемофилы, нейссерии, дрожжи и анаэробы) основана на турбидометрии реакционной среды в лунке. В зависимости от свойств

микроорганизма время, необходимое для его идентификации, варьирует от 4-8 ч до 18 ч. Система полностью компьютеризирована и работает автоматически.

Методы идентификации нуклеиновых кислот

Методы выявления РНК и ДНК возбудителей нашли применение в основном при диагностике вирусных инфекций. Тем не менее, разработаны тест-системы для идентификации некоторых прихотливых бактерий (например, легионелл, хламидий), а также для идентификации колоний *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* типа b, стрептококков группы В, энтерококков и микобактерий.

Гибридизация нуклеиновых кислот

Наиболее распространены методы гибридизации нуклеиновых кислот (рис. 11-17). Принцип методов обусловлен способностью ДНК (и РНК) специфически соединяться (гибридизировать-ся) с комплементарными фрагментами искусственно созданных нитей ДНК (и РНК), меченных изотопами или ферментами (пероксидазой или щелочной фосфатазой). В дальнейшем образцы исследуют различными методами (например, ИФА).

Рис. 11 -17. Схема гибридизации нуклеиновых кислот.

Метод гибридизации в растворах даёт наиболее быстрые результаты (рис. 11-18, А). Широкому внедрению метода препятствует проблема удаления несвязавшихся нитей нуклеиновых кислот.

Метод гибридизации на твёрдой основе (рис. 11-18, Б) и его сэндвич-модификация

(рис. 11-18, В) распространён больше. В качестве твёрдой основы служат мембраны из нитроцеллюлозы или нейлона. Несвязавшиеся реагенты удаляют многократным отмыванием.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Основу метода ПЦР составляет катализируемое ДНК-полимеразой многократное образование копий определённого участка ДНК. Первоначально проводят отжиг - термическое разделение двухнитевой молекулы ДНК на отдельные цепочки. Затем среду охлаждают и вносят праймеры (затравки), комплементарные нуклеотидным последовательностям обеих цепочек. Для запуска реакции применяют синтетические праймеры - олигонуклеотиды, состоящие из 10-20 нуклеотидов (например, дезоксинуклеотидтрифосфат), взаимодействующие с окончаниями последовательностей и образующие последовательности в 50-1000 оснований. Затем в среду вносят термостабильную таq-полимеразу (по названию бактерии *Thermus aquaticus*), что запускает образование вторичных копий цепей ДНК, после чего образующиеся двухнитевые молекулы ДНК снова

Рис. 11 -19. Схема ПЦР. дНТФ - дезоксинуклеотидтрифосфат. Пояснения в тексте.

подогревают. Образующиеся отдельные цепочки остужают, вносят праймеры и снова повторяют процедуру подогрева и охлаждения; поскольку таq-полимераза термостабильна, то необходимость в её повторном внесении отсутствует (рис. 11-19). ПЦР позволяет получить большие количества изучаемого фрагмента ДНК даже в том случае, если в распоряжении исследователя имеется всего лишь одна исходная молекула геномной ДНК. Идентификацию копий ДНК проводят методом электрофореза. Метод ПЦР лежит также в основе ДНК-идентификации личности, установления родства людей, выявления генов наследственных болезней и пр.

Серологические методы

Для выявления бактериальных Аг и АТ к ним используют большинство методов, рассмотренных в главе 10. Классические серологические реакции применяют для выявления бактериальных АТ, а также для выявления Аг, особенно для идентификации бактериальных Аг. Среди современных методов наибольшее распространение нашли методы твердофазного ИФА и латекс-агглютинации.

Аллергологические методы

Сенсибилизирующей активностью обладает ограниченное количество бактериальных Аг. Поэтому метод кожных проб применяют лишь при диагностике туберкулёза, сапа, мелиоидоза, бруцеллёза и туляремии.

Биологические методы

Выделение патогенных бактерий от заражённых животных имеет большую диагностическую ценность, особенно при контрольном применении иммунных сывороток. Цель подобных манипуляций - уменьшение времени проведения бактериологических исследований.

- При диагностике инфекций, вызванных эффектами токсина (например, ботулизма или сибирской язвы), материал, предположительно содержащий возбудитель и токсин, помещают в физиологический раствор, а затем фильтруют через бумажные фильтры, натёртые тальком (последний хорошо адсорбирует токсин). Смывами с фильтров заражают чувствительных животных.

- При диагностике инфекций, обусловленных различными патогенными свойствами самого возбудителя, лабораторных животных заражают микробной взвесью.

- Для диагностики бактериальных инфекций используют различных животных, так как они проявляют видовую восприимчивость к различным этиологическим агентам.

Мыши чувствительны к пневмококкам, нейссериям, пастереллам, клостридиям, листериям, возбудителям сибирской язвы, туляремии, чумы, ботулизма, столбняка, коклюша и мелиоидоза.

Крысы чувствительны к возбудителям туберкулёза (бычьего типа), мелиоидоза и др.

Морские свинки чувствительны к возбудителям туберкулёза (человеческого типа), дифтерии, сапа, чумы, бруцеллёза, туляремии, холеры, газовой гангрены, ботулизма, псевдотуберкулёза и др.

Кролики чувствительны к стафилококкам, стрептококкам, нейссериям, *Mycobacterium bovis*, возбудителям газовой гангрены, сибирской язвы, ботулизма, столбняка и др.

Кошки. Животных заражают стафилококками, возбудителями сапа, коклюша и др.

Обезьяны. Их заражают шигеллами, листериями, сальмонеллами, возбудителями мелиоидоза, коклюша и др.

Птицы. Кур и голубей используют для диагностики туберкулёза (птичьего типа), пастереллёза, риносклеромы и др.

методы обнаружения вирусов

Лабораторные методы при диагностике вирусных инфекций включают:

- выделение и идентификацию возбудителя;
- обнаружение и определение титров противовирусных АТ;

- обнаружение Аг вирусов в образцах исследуемого материала;
- микроскопическое исследование препаратов исследуемого материала.

Забор материала. При заборе материала для исследований необходимо выполнять следующие условия:

- образцы следует отбирать как можно раньше либо с учётом ритма циркуляции возбудителя;
- материал следует обирать в объёме, достаточном для всего комплекса исследований;
- образцы следует доставлять в лабораторию незамедлительно (!), при относительно кратковременной транспортировке (не более 5 сут) образцы сохраняют на льду, при более длительной - при температуре -50 °С.

Выделение и культивирование вирусов

Выделение и идентификация возбудителя - «золотой стандарт» в диагностике вирусных инфекций.

Культуры клеток

Вирусы размножаются только в живых клетках, и выделение возбудителя в заражённой культуре клеток - один из основных методов диагностики вирусных инфекций. Поскольку большинство патогенных вирусов отличает тканевая и типовая специфичность, то почти к каждому вирусу можно подобрать соответствующие клеточные или тканевые культуры, а также создать стандартные условия культивирования (наличие клеток одного типа). Размножение вируса обеспечивают чувствительные (пермиссивные) клетки. Поэтому при выделении неизвестного возбудителя проводят одномоментное заражение 3-4 культур клеток, предполагая, что одна из них может оказаться пермиссивной. Культуры клеток получают диспергированием соответствующих органов и тканей, но чаще используют эмбриональные ткани (человека и животных) либо трансформированные опухолевые клетки. При помещении на соответствующую плоскую поверхность клеточные культуры обычно растут в виде монослоя.

Первично-трипсинизированные культуры. Суспензии клеток получают гомогенизированием соответствующих тканей, предварительно обработанных трипсином. Культуры часто представлены клетками смешанного типа и не подлежат повторному культивированию. Жизнеспособность таких культур составляет 2-3 нед. Полуперевиваемые линии клеток представлены диплоидными клетками человека и животных. Культуры ограничено пригодны к повторному диспергированию и росту (как правило, не более 20-30 пересевов), сохраняя при этом жизнеспособность и не подвергаясь спонтанной трансформации.

Перевиваемые линии клеток (гетероплоидные культуры) представлены клетками, подвергнутыми длительному культивированию и спонтанным трансформациям. Культуры способны к многократному диспергированию и перевиванию. Работа с ними менее трудоёмка по сравнению с приготовлениями первичных культур; перевиваемые клетки относительно одинаковы по своей морфологии и стабильны по свойствам.

Культуры органов

Не все виды клеток способны расти в виде монослоя, в некоторых случаях поддержание дифференцированных клеток возможно только в культуре органа. Обычно это суспензия ткани, обладающей специализированной функцией, также обозначаемая как культура переживающей ткани.

Куриные эмбрионы

Куриные эмбрионы (рис. 11-20) - практически идеальные модели для культивирования некоторых вирусов (например, гриппа и кори). Замкнутая полость эмбриона препятствует проникновению микроорганизмов извне, а также развитию спонтанных вирусных инфекций. Эмбрионы применяют для первичного выделения вирусов из патологического материала; для пассирования и сохранения их, а также для получения необходимых количеств вируса. Некоторые возбудители (например, герпесвирусы) вызывают характерные изменения (по ним можно распознавать заболевание). Заражение проводят на хорион-аллантаоисную оболочку, в амниотическую или аллантаоисную полость либо в желточный мешок.

Заражение на хорион-аллантаоисную мембрану. Обычно используют 10-12-суточные эмбрионы. Яйца просматривают в проходящем свете, отмечают локализацию воздушного мешка и выбирают область без сосудов. Осторожно удаляют фрагмент скорлупы, освобождают наружную оболочку и отслаивают её осторожным надавливанием. Затем делают отверстие у края воздушного мешка. При отсоединении через это отверстие хорион-аллантаоисная оболочка отслаивается от наружной оболочки. На неё наносят исследуемый материал, свободный от бактерий и простейших (пропущенный через бактериальные фильтры и обработанный бактерицидами). Заражение в амниотическую полость. Обычно используют 7-14-суточные эмбрионы, у которых после отслоения хорион-аллантаоисной оболочки (см. выше) расширяют отверстие, захватывают пинцетом амниотическую оболочку и выводят через хорион-аллантаоисную оболочку. Через неё в амниотическую полость вводят исследуемый материал.

Заражение в аллантаоисную полость. 10-суточные эмбрионы заражают через отверстия, сделанные в скорлупе и подлежащих оболочках (см. выше). Заражение в желточный мешок. Используют 3-8-суточные эмбрионы, у которых в этом возрасте желточный мешок занимает почти всю полость яйца. Заражение проводят через отверстие, сделанное в воздушном мешке.

Рис. 11 -20. Схематическое изображение развивающегося куриного эмбриона.

Наблюдение и учёт результатов. В качестве вирусосодержащего материала можно использовать содержимое желточного мешка, аллантаоисную и амниотическую жидкости либо весь эмбрион, нарезанный вместе с окружающими тканями на кусочки. Для выявления характерных поражений на хорион-аллантаоисной мембране удаляют скорлупу и наружную оболочку. Затем мембрану извлекают и помещают в стерильную воду. Характер поражений изучают на тёмном фоне.

Животные модели

При невозможности выделить и идентифицировать вирус стандартными методами *in vitro* инфекционный материал вводят чувствительным к возбудителю животным, и после развития типичного инфекционного процесса проводят повторное заражение чувствительных клеточных культур. Наиболее часто используют мышей, кроликов и обезьян; для выделения некоторых вирусов (например, вирусов Коксаки) заражают мышат-сосунков. Вследствие дороговизны и сложности содержания лабораторных животных, практически повсеместно их вытеснили клеточные культуры. Тем не менее, животные модели активно используют для изучения особенностей патогенеза и формирования иммунных реакций при вирусных инфекциях.

Идентификация вирусов

Качественное определение

Наличие и биологическую активность вирусов определяют по эффектам, наблюдаемым на животных моделях (повышение температуры тела, появление характерных клинических

признаков, гибель и т.д.), куриных эмбрионах и на клетках (в культурах). Под воздействием конкретных вирусов возможно изменение морфологии, роста, репродукции клеток либо их разрушение. Факт размножения вирусов в чувствительных клетках *in vitro* определяют по цитопатическим эффектам (в том числе бляшкообразованию, тельцам включений), феномену гемадсорбции, «цветной реакции».

Цитопатические эффекты оценивают при микроскопии клеточных культур. По степени поражения клеток выделяют вирусы с высокой или умеренной цитопатогенностью. Размножение вирусов в культурах клеток сопровождается нарушениями морфологии клеток монослоя. Некоторые вирусы вызывают характерные цитопатические изменения, что (с учётом клинической картины заболевания) позволяет быстро поставить предварительный диагноз. Например, размножение парамиксовирусов (вирусы кори, паротита, РС-вирус) сопровождается появлением характерных гигантских многоядерных клеток; аденовирусы вызывают образование скоплений больших круглых клеток, а при репродукции герпесвирусов клетки округлой формы диффузно располагаются по всему монослою.

Бляшкообразование. «Бляшками» называют негативные колонии - участки разрушенных клеток, выглядящие как зоны просветления на монослоях клеток, покрытых слоем агара. В некоторых случаях дозу и цитопатогенность вируса выражают в бляшкообразующих единицах (БОЕ).

Тельца включений. Многие вирусы вызывают появление в заражённых клетках характерных образований - скоплений вирусных белков или частиц, видимых в световой микроскоп. Тельца включений могут располагаться как в цитоплазме (тельца Гварнери при оспе), так и в ядрах клеток (аденовирусы).

Отсутствие цитопатического эффекта. Некоторые вирусы (например, вирус краснухи) не проявляют цитопатического эффекта. Их можно выявлять по интерференции другого вируса (см. главу 5), способного вызывать дегенерацию заражённых клеток.

Феномен гемадсорбции. Многие заражённые вирусами клетки приобретают способность сорбировать на своей поверхности различные эритроциты. Феномен гемадсорбции имеет общие механизмы с гемагглютинацией и проявляется на ранних сроках, до проявления цитопатического эффекта, при его отсутствии либо слабой выраженности.

«Цветная реакция». В культуральную среду, используемую для поддержания клеток, вносят индикатор. Рост клеток сопровождается накоплением метаболитов, сдвигом pH среды и изменением окраски индикатора. Заражение культур вирусом резко ингибирует клеточный метаболизм, и среда сохраняет первоначальный цвет.

Экспресс-диагностика. Для быстрой идентификации вирусной инфекции разработаны многочисленные методы экспресс-диагностики, основанные на обнаружении вирусных Аг. Например, для ранней диагностики ВИЧ-инфекции широко используют ИФА, выявляющий поверхностные Аг вируса.

Количественное определение

Количественное определение вирусов проводят двумя путями - изучением инфекционности и количественным определением вирусных Аг. Определение титра инфекционности вирусов в значительной степени зависит от метода количественного исследования; у бактериофагов отношение *инфекционность/частица* составляет приблизительно 1 (то есть каждая вирусная частица способна вызвать инфекцию), для вирусов животных данное отношение составляет 1:10 (иногда выше из-за вирус-ингибирующего действия факторов резистентности).

Определение инфекционности вирусов. Наиболее доступная форма количественного определения - подсчёт числа вирусных «бляшек». Прямые тесты на инфекционность применяют для установления инфекционной дозы (ИД) или летальной дозы (ЛД) изучаемого вируса (обычно выражают в lg). ИД₅₀ - *разведение, инфицирующее 50% клеток*; ЛД₅₀ - *разведение, убивающее 50% поражённых клеток или животных*.

Выявление вирусных Аг и вирусных частиц. Наиболее распространённый метод - реакция количественной гемагглютинации. Метод основан на способности вирусов сорбироваться на поверхности эритроцитов животных и человека. Количественную электронную микроскопию применяют для подсчёта общего числа вирусных (но не инфекционных) частиц в исследуемом объекте (например, культуральной жидкости).

Морфология вирусов

Изучение морфологии вирусов возможно лишь при помощи электронной микроскопии, однако чаще всего этот метод недоступен из-за отсутствия столь дорогого и сложного прибора. Более того, многие возбудители морфологически сходны, что снижает ценность этого метода. Наиболее распространён метод микроскопии содержимого везикул и тканевых экстрактов, обработанных красителями (негативное контрастирование), с последующим подсчётом ДНК или РНК-содержащих вирусов. Электронная микроскопия позволяет быстро обнаружить орто- и парамиксовирусы в отделяемом дыхательных путей, герпесвирусы в жидкости везикул и ротавирусы в фекалиях.

Серологические методы идентификации

При большинстве вирусных инфекций развиваются иммунные реакции, применяемые для диагностики. Клеточные реакции обычно оценивают в тестах цитотоксичности лимфоцитов в отношении инфекционных агентов или заражённых ими клеток-мишеней либо определяют способность лимфоцитов отвечать на различные Аг и митогены. В работе практических лабораторий выраженность клеточных реакций определяют редко. Большее распространение нашли методы идентификации противовирусных АТ.

РН основана на подавлении цитопатогенного эффекта после смешивания вируса со специфичными АТ. Неизвестный вирус смешивают с известными коммерческими антисыворотками и после соответствующей инкубации вносят в монослой клеток. *Отсутствие гибели клеток указывает на несоответствие инфекционного агента и известных АТ.*

Торможение гемагглютинации. РТГА применяют для идентификации вирусов, способных агглютинировать различные эритроциты. Для этого смешивают культуральную среду, содержащую возбудитель, с известной коммерческой антисывороткой и вносят в культуру клеток. После инкубации определяют способность культуры к гемагглютинации и при её отсутствии делают заключение о несоответствии вируса антисыворотке.

Торможение цитопатического эффекта интерференцией вирусов. Реакцию торможения цитопатического эффекта за счёт интерференции вирусов применяют для идентификации возбудителя, интерферирующего с известным цитопатогенным вирусом в культуре чувствительных клеток. Для этого в культуральную среду, содержащую изучаемый вирус, вносят коммерческую сыворотку (например, к вирусу краснухи при подозрении на неё), инкубируют и заражают вторую культуру; через 1-2 дня в неё вносят известный цитопатогенный вирус (например, любой ЕСНО-вирус). При наличии цитопатогенного эффекта делают вывод о том, что первая культура была заражена вирусом, соответствовавшим применённому АТ.

Прямая иммунофлюоресценция. Среди прочих тестов наибольшее распространение нашла реакция прямой иммунофлюоресценции (наиболее быстрая, чувствительная и воспроизводимая).

Например, идентификация ЦМВ по цитопатогенному эффекту требует не менее 2-3 нед, а при использовании меченых моноклональных АТ идентификация возможна уже через 24 ч. Имея набор подобных реагентов, их можно вносить в культуры, заражённые вирусом, инкубировать, отмывать несвязавшийся реагент и исследовать с помощью люминесцентной микроскопии (позволяет выявить наличие флюоресценции заражённых клеток).

Иммуно-электронная микроскопия (аналог предыдущего метода) позволяет идентифицировать различные виды вирусов, выявленные электронной микроскопией (например, различные виды герпесвирусов), что невозможно сделать, основываясь на морфологических особенностях. Вместо антисывороток для идентификации используют помеченные разными способами АТ, но сложность и дороговизна метода ограничивают его применение.

Выявление противовирусных АТ в сыворотке

Более простой и доступный подход - выявление противовирусных АТ в сыворотке. *Образцы крови необходимо отбирать дважды: немедленно после появления клинических признаков и через 2-3 нед. Чрезвычайно важно исследовать именно два образца сыворотки.* Результаты однократного исследования нельзя считать окончательными из-за невозможности связать появление АТ с настоящим случаем. Вполне возможно, что эти АТ циркулируют после предшествующей инфекции. В подобной ситуации роль исследования сыворотки, полученной в период реконвалесценции, трудно переоценить. На наличие заболевания в период отбора первой пробы указывает *не менее чем четырёхкратное увеличение титра АТ*, выявленное при исследовании второй пробы.

Перечисленные ниже методы не позволяют дифференцировать АТ, образующиеся во время болезни и циркулирующие после выздоровления (продолжительность этого периода вариабельна для различных инфекций). Поскольку для адекватной диагностики необходимо подтвердить достоверное увеличение титров АТ в двух пробах, то первую пробу исследуют в острой фазе, а вторую - в период выздоровления (через 2-3 нед). *Полученные результаты носят ретроспективный характер и более пригодны для проведения эпидемиологических обследований.* РТГА выявляет АТ, синтезируемые против гемагглютининов вирусов (например, вируса гриппа). Метод позволяет легко выявлять подобные АТ в сыворотке больного. РСК - основной метод серодиагностики вирусных инфекций (среди доступных). Реакция выявляет комплементсвязывающие IgM и IgG, но не дифференцирует их; для оптимизации получаемых результатов постановка реакции требует определённых навыков персонала. РИФ. При возможности получить биоптат инфицированной ткани и доступности коммерческих наборов АТ, меченных флюоресцеином, диагноз может подтвердить реакция прямой иммуно-флюоресценции. Постановка реакции включает инкубацию исследуемой ткани с АТ, их последующее удаление и люминесцентную микроскопию образца.

Иммуносорбционные методы (например, ИФА и РИА) более информативны, поскольку выявляют IgM и IgG по отдельности, что позволяет делать определённые выводы о динамике инфекционного процесса или состоянии реконвалесценции. Для выявления АТ известный Ag сорбируют на твёрдом субстрате (например на стенках пробирок, пластиковых микропланшетах, чашках Петри) и вносят различные разведения сыворотки пациента. После соответствующей инкубации несвязавшиеся АТ удаляют, вносят антисыворотку к Ig человека, меченную ферментом, повторяют процедуру инкубирования и отмывания несвязанных АТ и вносят какой-либо хромогенный субстрат (чувствительный к действию фермента). Поскольку изменение окраски пропорционально содержанию специфических АТ, то вполне возможно определение их титра спектрофотометрическим способом. В диагностике ВИЧ-инфекции наибольшее распространение нашёл метод иммуноблоттинга.

Выявление вирусных Ag

ИФА. В настоящее время уже появились коммерческие наборы для выявления Ag некоторых возбудителей, позволяющие их идентифицировать в течение 5-10 мин. Для выявления Ag на твёрдой фазе сорбируют известные AT и добавляют сыворотку, содержащую Ag; после инкубирования несвязанный Ag декантируют, систему промывают и вносят меченые AT, специфичные к сорбированным AT. Повторяют процедуру инкубирования и отмывания, вносят хромогенный субстрат, положительный результат фиксируют при изменении окраски системы.

Гибридизация ДНК - высокоспецифичный метод, позволяющий идентифицировать геном вируса после его гибридизации комплементарными молекулами ДНК. В качестве маркера применяют ферменты и изотопы. Метод определяет способность вирусной ДНК гибридизоваться с меченой комплементарной ДНК; специфичность метода прямо пропорциональна длине комплементарной цепочки. Перспективен метод гибридизации нуклеиновых кислот *in situ*. Для постановки реакции меченую ДНК наносят на биоптаты тканей (в том числе на фиксированные формалином или заключённые в парафиновые блоки) и регистрируют взаимодействие с комплементарной ДНК. Метод используют для выявления вирусов простого герпеса, папилломы человека, Эпштейна-Барр и др.

ПЦР. Метод значительно увеличивает чувствительность метода гибридизации, повышая содержание вирусной ДНК в материале, полученном от больного, а также ускоряет время получения результата.

Методы диагностики грибковых инфекций

Микроскопия

Микроскопия - один из основных методов выявления возбудителей микозов. Позволяет проводить экспресс-диагностику микозов и получать результат в течение 1-2 ч, тогда как для выделения культуры возбудителя необходимы недели. Для экспресс-диагностики препараты часто необходимо окрашивать специальными красителями, так как простая окраска гематоксилин-эозином часто не позволяет выявить клетки грибов.

Неокрашенные препараты

Микроскопия методом висячей или раздавленной капли. Метод позволяет выявить структуры грибов в клинических образцах без предварительного окрашивания.

Обработка 10% едким кали (КОН). Метод используют в первую очередь для визуализации структур возбудителей во фрагментах кожи и её придатках (ногти, волосы), отделяемом очагов поражения и влагища. В указанных образцах содержится большое количество клеток, в которых КОН разрушает кератин, оставляя неизменёнными клетки грибов.

Окрашенные препараты

- *Окраска по Граму*. В мазках из клинического материала грибы представлены грамположительными клетками. Клетки *Cryptococcus neoformans* плохо воспринимают красители, что можно использовать как дифференциально-диагностический признак при микроскопии окрашенных мазков СМЖ.

- *Окраска нигрозином или тушью по Бурри* мазков СМЖ позволяет выявить капсулированные клетки *Cryptococcus neoformans*. Для идентификации этого микроорганизма можно использовать муцикармин или конго красный.

- *Окраска по Романовскому-Гимзе или Райту* мазков крови и костного мозга позволяет выявить дрожжевую форму *Histoplasma capsulatum* в цитоплазме фагоцитов.

- *Окраска метенаминовым серебряным по Гбмори.* Метод включает предварительную обработку гистологических препаратов хромовой кислотой с последующим нанесением красителя (клетки грибов тёмно-серые или чёрные).

- *Окраска по Грйдли.* Метод включает предварительную обработку препаратов хроматом лейко-фуксина с последующим нанесением фуксинового альдегида и метанилового жёлтого (клетки грибов розово-пурпурные на жёлтом фоне).

- *Окрашивание периодной кислотой и реактивом Шйффа* (по Мак-Манусу). 1,2-Гликольные группировки полисахаридов клеточных стенок грибов сначала окисляются периодной кислотой до альдегидов, реагирующих с сульфитом лейкофуксина реактива Шйффа; клетки окрашиваются в насыщенно розовый или красный цвет.

Иммунофлюоресцентная микроскопия

Наибольшее распространение нашла РИФ. Применяют АТ, меченные флюоресцеинами; для выявления грибковых Аг реagent наносят на гистологический препарат, инкубируют и проводят люминесцентную микроскопию.

Выделение грибов

Культуральные условия и потребности роста у патогенных грибов отличаются от таковых у возбудителей бактериальных инфекций. Большинство патогенных грибов не требовательно к питательным средам и хорошо растёт в аэробных условиях. Для роста грибов среды могут включать какой-либо органический источник углерода, неорганического азота в виде нитратов или аммонийных солей. рН питательных сред кислый (около 4,0-6,5), большинство бактерий не способно расти в подобных условиях. Среди витаминов большинство грибов нуждается в водорастворимых (например, биотине, рибофлавине, тиамине и др.). Большинство патогенных видов мезофилы и растёт в интервале температур 20-45 °С. При выделении обычно делают парные посева, один из которых инкубируют при 25 а второй - при 37 °С; подобная манипуляция позволяет выявить возможный диморфизм. Идентификацию возбудителя проводят по морфологическим и биохимическим признакам. В практической работе обычно используют два типа сред - неселективные и селективные.

Неселективные среды

Наиболее распространён агар Сабурб - пептонный агар с мальтозой (или глюкозой). Его отличает высокое содержание углеводов, ингибирующее размножение бактерий. Также используют МПА, картофельно-декстрозный агар, агар Чапека-Дбкса, дрожжевой агар, суло-агар и др. Нередко среды модифицируют добавлением антибиотиков, циклогексимида или хлоргексидина. Для выделения прихотливых патогенов (например *Blastomyces dermatitidis* и *Histoplasma capsulatum*) в качестве обогащённых сред применяют 5-10% КА, дополненный сердечным и мозговым экстрактом, либо асцитический агар. После образования колоний следует делать пересев на более простые среды, например картофельно-декстрозный агар или среду Сабуро, на которых можно быстрее выявить споруляцию возбудителей.

Селективные среды

Селективные среды обычно получают на основе неселективных, с добавлением пенициллина (20 ЕД/мл), стрептомицина (40 ЕД/мл) или гентамицина (0,5 мкг/мл), левомицетина (16 мкг/мл). Для ингибирования бурного роста плесеней, подавляющих медленно растущие диморфные грибы, в среды вносят циклогексимид (0,5 мкг/мл). Следует помнить, что препарат подавляет рост некоторых патогенных грибов (например, *Cryptococcus neoformans* и *Aspergillus fumigatus*).

Выявление противогрибковых АТ и грибковых Аг

Наиболее часто применяют реакцию латекс-агглютинации (выявляет IgM), РСК (выявляет IgG) и ИФА. Результаты реакций часто могут быть сомнительными вследствие перекрёстного реагирования с Аг различных грибов. Тем не менее, идентификация АТ или циркулирующих Аг в крови, СМЖ и моче позволяет установить диагноз до получения результатов посевов.

Кожные пробы ранее были одним из популярных методов диагностики микозов, однако их неспецифичность ограничивает диагностическую ценность. В настоящее время их чаще используют для изучения иммунной прослойки в популяции при эпидемиологических исследованиях.

Гибридизация нуклеиновых кислот - новый метод идентификации патогенных грибов, разработанный для определения основных возбудителей системных микозов - бласто-, крипто- и кокцидиоидомикозов, а также гистоплазмоза. Для постановки реакции проводят экстракцию РНК из культуры и вносят одноцепочечные молекулы ДНК, меченные флюоресцеином. При наличии в культуре одного из четырёх указанных возбудителей происходит гибридизация соответствующей ДНК с РНК патогена с образованием легко обнаруживаемого комплекса. Основное достоинство метода - возможность применения на ранних сроках (5 сут) в культурах, содержащих мицелиальные и дрожжевые формы.

Методы обнаружения простейших

Выявление патогенных простейших основано на идентификации морфологических особенностей возбудителя и в значительной степени зависит от правильного взятия клинического материала и адекватной фиксации. Ошибки при проведении этих мероприятий могут привести к получению ошибочных результатов.

Микроскопия

Поиск патогенных простейших обычно проводят в субстратах, являющихся средой их обитания - испражнениях, крови.

Испражнения

Для адекватного выявления паразитов в ЖКТ необходимо исследовать не менее трёх проб, полученных в течение 10 сут. Для диагностики амебиаза этого может оказаться недостаточным, и при подозрении на это заболевание необходимо исследовать шесть проб, полученных в течение 14 сут. Следует избегать попадания в материал воды или мочи, губительно действующих на простейших. Если больному в диагностических целях вводили внутрь сульфат бария, минеральное масло, препараты висмута или проводили специфическую терапию, то забор испражнений следует проводить не ранее 8-х суток после последнего введения. Для выявления трофозоитов (подвижных форм) жидкие испражнения необходимо исследовать в течение 30 мин после получения; при более оформленном стуле эти исследования можно провести в течение часа; на более поздних сроках трофозоиты обычно разрушаются. При невозможности своевременного обследования в образцы вносят фиксирующие растворы, сохраняющие морфологию взрослых особей.

Макроскопическое исследование может выявить примесь крови и слизи (частый диагностический признак амебиаза). Выявление же самих паразитов проводят при светооптической микроскопии влажных нативных препаратов либо в окрашенных мазках.

Микроскопия нативных препаратов. Небольшое количество испражнений наносят на предметное стекло, диспергируют в капле физиологического раствора, накладывают покровное стекло и исследуют под микроскопом на наличие трофозоитов (в жидкие испражнения физиологический раствор не вносят). Нативные препараты можно слегка докрасивать раствором

Люголя, что облегчает выявление цист. Особенно внимательно необходимо исследовать кровь и слизь; желательны отдельные препараты, не контаминированные (по возможности) фекальными массами.

Методы накопления. Для выявления паразитов, присутствующих в незначительных количествах, применяют различные методы накопления. При исследовании кала наиболее часто используют седиментационный метод. Для исследования забирают каплю надосадочной жидкости, наносят на предметное стекло, где смешивают с равным объёмом физиологического раствора, накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Смесь на предметном стекле можно подкрашивать раствором Люголя, раствор разрушает трофозоиты, но позволяет хорошо визуализировать ядра и включения гликогена в цистах.

Микроскопия окрашенных мазков позволяет не только выявлять, но и дифференцировать простейших; окраску наиболее часто проводят гематоксилин-эозином по Хайденхайну.

Кровь

Капиллярную или венозную кровь помещают в пробирку с антикоагулянтом (например, с этилендиаминтетрауксусной кислотой); исследования необходимо проводить по возможности быстро. Обнаружение простейших проводят микроскопией толстых и тонких мазков. Толстые мазки готовят из больших объёмов крови, нанесённых на предметное стекло; их обычно окрашивают по Романовскому-Гимзе, чего обычно бывает вполне достаточно для выявления паразитов.

Тонкие мазки готовят для облегчения морфологической дифференцировки паразитов крови, мазки обычно окрашивают по Романовскому-Гимзе или Райту.

Образцы различных тканей

Образцы различных тканей отбирают, учитывая биологию паразита и его типичную локализацию. Образцы кожных покровов окрашивают обычными гистологическими красителями и микроскопируют. Биоптаты лимфатических узлов, селезёнки, печени, аспираты костного мозга и СМЖ забирают при подозрении на трипаносомозы или лейшманиозы. Часть образцов микроскопируют в виде нативных мазков, часть окрашивают по Романовскому-Гимзе или Райту. Также возможно окрашивание образцов различными гистологическими красителями, наиболее употребляемыми для изготовления препаратов из исследуемых тканей.

Выделение возбудителей

Выделение возбудителей проводят только в специализированных лабораториях, институтах и центрах; *проводить эти мероприятия в обычных бактериологических лабораториях недопустимо*. На специальных средах и культурах тканей можно выделять и культивировать практически все патогенные простейшие.

Серологические исследования

Серологические исследования - наиболее распространённые и доступные диагностические методы. Их часто проводят при подозрении на токсоплазмоз, амебиаз (РНГА, латекс-агглютинация), лейшманиозы (РНГА), трипаносомозы (РНГА, РСК) и т.д.

ГЛАВА 12. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КОККИ

Грамположительные кокки представлены стафилококками и стрептококками - основными возбудителями гнойно-воспалительных поражений у человека. Отличительные особенности стафилококков и стрептококков:

- отсутствие способности к спорообразованию;
- сферическая форма;
- положительная окраска по Граму.

СТАФИЛОКОККИ

Стафилококки относят к отряду *Firmicutes*, семейству *Micrococcaceae*, роду *Staphylococcus*. Бактерии распространены повсеместно; колонизируют кожные покровы и поверхности слизистых оболочек человека и животных. Первых представителей рода выделили Кох (1878) и Пастёр (1880) из очагов гнойных поражений у человека. Представлены неподвижными клетками диаметром 0,5-1,5 мкм (рис. 12-1). В мазках расположены одиночно, парами или гроздьями (рис. 12-2). Свойство образовывать скопления, напоминающие гроздья винограда в результате деления во взаимно перпендикулярных плоскостях, определило их название [от греч. *staphyle*, виноградная гроздь, + *kokkos*, зерно, ягода]. *Основные дифференцировочные признаки стафилококков - характерная морфология и положительная окраска по Граму.* Температурный оптимум 30-37 °С. Стафилококки устойчивы к повышенному содержанию хлорида натрия и хорошо растут на средах с содержанием 5-10% NaCl (что и учитывают при приготовлении дифференциально-диагностических сред). На плотных средах через 18-24 ч культивирования в аэробных условиях бактерии формируют мутные круглые ровные колонии кремового, жёлтого или оранжевого цвета. Образующиеся липохромные пигменты защищают бактерии от действия токсических кислородных радикалов. Стафилококки каталаза-положительны; содержат цитохромы, но обычно ок-сидаза-отрицательны. Бактерии проявляют высокую биохимическую активность: восстанавливают нитраты, вырабатывают H₂S, разлагают мочевины и ферментируют многие углеводы с образованием кислоты. *У стафилококков выделяют более 50 антигенных субстанций, разделяемых на родовые, видовые и типовые Ag. Многие стафилококки признаны аллергенами.* Родовые Ag нередко способны перекрёстно реагировать с изоантигенами клеток организма человека (эритроцитов, почек и др.), что может привести к развитию аутоиммунной патологии. *Видоспецифичными Ag стафилококков могут служить тейхоевые кислоты. Для S. aureus видоспецифичным Ag также является белок А.* Стафилококки хорошо переносят высушивание, сохраняя вирулентность; погибают при прямом воздействии солнечного света в течение 10-12 ч. Они довольно устойчивы к нагреванию - при 70-80 °С погибают за 20-30 мин, при 150 °С - мгновенно; сухой жар убивает их за 1,5 ч. Бактерии менее устойчивы к действию дезинфицирующих средств, но резистентны к чистому этанолу. *По наличию коагулазы все стафилококки разделяют на две группы.* Среди коагулаза-положительных стафилококков поражения у человека вызывает лишь *S. aureus*; среди коагулаза-отрицательных видов - *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* (табл. 12-1).

Золотистый стафилококк (*S. aureus*)

Эпидемиология

Бактерии колонизируют слизистые оболочки носовой полости и носоглотки, кожные покровы (особенно подмышечных областей и промежности). Золотистый стафилококк также обитает в толстой кишке и влагалище. *В соответствии с носителем бактерии разделяют на 10 экологических вариантов (эковаров) - hominis, bovis, ovis, equi и др.* *S. aureus* часто выявляют у

новорождённых, но в течение нескольких месяцев количество носителей резко сокращается, и основную группу составляют лица старшего возраста (микроорганизм выделяют у 15-50% клинически здоровых взрослых лиц). Временное носительство отмечают у 60% людей, но в большинстве случаев оно продолжается несколько недель или месяцев. Как правило, повторно организм инфицируется другим штаммом. Хроническое носительство типично для персонала медицинских учреждений; пациентов, страдающих атопическими дерматитами, а также лиц, регулярно получающих инъекции различных препаратов (наркоманы, больные сахарным диабетом и т.п.). Для эпидемиологии госпитальных поражений характерен весь комплекс факторов, типичный для любого нозокомиального патогена: увеличение количества носителей среди медицинского персонала, формирование специфических «госпитальных штаммов» (эковаров), увеличение числа пациентов с повышенной восприимчивостью, появление новых «ворот» для инфицирования за счёт широкого внедрения в практику инвазивных диагностических методов и др.

- Эпидемическую опасность представляет наличие 10 млн микробных тел в 1 мл носового отделяемого.

- *Подавляющее большинство инфекционных заболеваний, вызываемых стафилококками, носит эндогенный характер.* Механизм инфицирования обычно связан с переносом возбудителя из участков колонизации на травмированную поверхность; существенную роль играют также тесные контакты с носителями и лицами, страдающими стафилококковыми поражениями.

Патогенез поражений

Факторы патогенности возбудителя - адгезины, капсула, компоненты клеточной стенки, ферменты и токсины. Учитывая высокую частоту носительства *S. aureus* среди практически здоровых лиц, его следует считать не патогенным, а скорее условно-патогенным микроорганизмом. Другими словами, *стафилококковые инфекции носят, как правило, вторичный характер и протекают в виде гнойно-воспалительных поражений.*

Адгезины - поверхностные белки, взаимодействующие с различными веществами: муцином слизистых оболочек, протеогликанами соединительной ткани, белками внеклеточного мат-рикса и др.

Капсула защищает бактерии от комплемент-опосредованного поглощения полиморфноядерными фагоцитами, способствует адгезии микроорганизмов и их распространению по тканям. *При выращивании in vitro капсула обычно не образуется.*

Компоненты клеточной стенки стимулируют развитие воспалительных реакций: усиливают синтез ИЛ-1 макрофагами, активируют систему комплемента и служат мощными хемоаттрактантами для нейтрофилов.

- Тейхоевые кислоты активируют систему комплемента по альтернативному пути, свёртывающую и калликреин-кининовую системы, а также облегчают адгезию бактерий к эпителиальным поверхностям. Тейхоевые кислоты способны ингибировать поглотительную активность фагоцитов.

- Белок А (агглютиноген А) неспецифически связывает Fc-фрагменты молекул IgG (что активирует систему комплемента по классическому и альтернативному путям) и усиливает активность естественных киллеров. Белок А проявляет свойства суперантигена, что совместно с активацией комплемента приводит к проявлению различных местных и системных реакций (например, анафилаксии, феномена Артюса, угнетению активности фагоцитов и т.д.). Ферменты проявляют разнонаправленное действие, часто не связанное непосредственно с

патогенным эффектом.

Каталаза разрушает H_2O_2 , защищая бактерии от действия токсических кислородных радикалов.

р-Лактамазы разрушают молекулы р-лактамных антибиотиков; синтез ферментов кодируют плазмидные гены. Поскольку гены резистентности часто входят в состав транспозонов, они быстро распространяются в популяции. Особое значение имеют метициллин-резистентные штаммы, содержащие дополнительный ген, кодирующий синтез пептидогликановой транс-пептидазы, что обеспечивает повышенную устойчивость к [-лактамным антибиотикам (см. также главу. 9).

Липазы облегчают адгезию и проникновение в ткани. В частности, ферменты способны разрушать сальные «пробки», облегчая проникновение стафилококков в волосяные фолликулы.

Коагулаза вызывает свёртывание плазмы крови. Сам фермент не взаимодействует с фибриногеном, а образует тромбиноподобное вещество, предположительно взаимодействующее с протромбином. Образующаяся фибриновая плёнка играет роль своеобразной дополнительной капсулы, защищающей бактерию.

Среди прочих ферментов в патогенезе стафилококковых инфекций принимают участие гиалуро-нидаза, дезоксирибонуклеаза, фибринолизин, стафилокиназа, лецитиназа и др. Токсины

- Мембранотоксины (стафилолизины, или гемолизины). *Выделяют токсины четырёх антигенных типов; бактерии способны одновременно синтезировать несколько подобных продуктов.* Стафилолизины обуславливают гемолитическую активность стафилококков на средах с кровью.

g-Токсин имеет наибольшее значение, его часто выявляют у бактерий, выделенных из клинических образцов. Он взаимодействует с клеточной мембраной и вызывает локальный протео-лиз. К его действию чувствительны эндотелиоциты, полиморфноядерные лейкоциты, фиброб-ласты, гепатоциты, тромбоциты и др. При введении лабораторным животным а-токсин вызывает кожные некротические реакции, после внутривенного введения - гибель животных.

р-Токсин (сфингомиелиназа) выявляют у 20% изолятов. Он проявляет выраженные свойства холодого гемолизина, то есть его активность максимальна при низкой температуре.

у-Токсин - двухкомпонентный гемолизин с умеренной активностью в отношении эритроцитов человека. Гемолитическую активность на кровяных средах он обычно не проявляет, так как серосодержащие полимеры, присутствующие в агаре, инактивируют один из его компонентов.

8-Токсин - агрегат низкомолекулярных соединений, проявляющих детергентные свойства; последние обуславливают цитотоксичность широкого спектра.

- Эксфолиатины А и В выделяют у 3-5% клинических изолятов (обычно II фагогруппы). Эксфолиатины вызывают разрушение десмосом зернистого слоя эпидермиса и отслойку рогового слоя. Синтез токсина А (термостабильного) контролируют хромосомные, а токсина В (термолабильного) - плазмидные гены. Эти токсины действуют как местно, так и системно, обуславливая в последнем случае развитие синдрома «ошпаренной кожи». Эксфолиатины проявляют свойства суперантигена.

- Токсин синдрома токсического шока (TSST-1 [от англ. *Toxic Shock Syndrome Toxin*], ранее - энтеротоксин F) - экзотоксин, обуславливающий развитие специфического симп-томокомплекса (предположительно за счёт стимулирования выделения ФНО). Синтез TSST-1 кодируют гены

умеренных фагов; основные продуценты - стафилококки I фагогруппы, однако способностью к его образованию обладает незначительное количество штаммов.

- Лейкоцидин (токсин Пантона-Валентайна). Мишени действия TSST-1 - нейтрофилы и, возможно, макрофаги. Он нарушает водно-электролитный баланс в клетке, повышает внутриклеточное содержание циклического АМФ (одно из звеньев патогенеза стафилококковых диарей).

- Энтеротоксины А, В, С₁₋₂, D, Е - термостабильные низкомолекулярные белки. Основные продуценты - бактерии III фагогруппы. Именно эти токсины ответственны за развитие пищевых отравлений. Наиболее часто регистрируют интоксикации, вызываемые энтеротоксинами А и D. Энтеротоксины В и С способны также вызывать развитие синдрома токсического шока в случаях, не связанных с менструациями. Проявляют свойства суперантигена. Сенсибилизирующий эффект. Многие компоненты бактериальных клеток и их метаболиты проявляют сенсибилизирующее действие, выражающееся в реакциях немедленного и замедленного типов. Клинически сенсибилизация бактериальными аллергенами характеризуется дерматитами, бронхоспастическим синдромом и т.д.

Клинические проявления

Бактерии способны поражать практически любые ткани организма человека. Инфекции, вызываемые *S. aureus*, включают более 100 нозологических форм (табл. 12-1).

- Внебольничные пневмонии, вызванные *S. aureus*, регистрируют достаточно редко, но в стационарах этот микроорганизм - второй по значимости возбудитель после синегнойной палочки.

- Стафилококковые бактериемии у госпитализированных больных развиваются при проникновении *S. aureus* через катетеры, из ран или очагов кожных поражений (в 20% случаев причи-

ну бактериемии установить не удаётся). Циркуляция возбудителя в кровотоке приводит к развитию метастатических поражений различных органов.

- Золотистый стафилококк - основной возбудитель инфекций опорно-двигательного аппарата (остеомиелиты, артриты и др.); в частности, он вызывает 70-80% септических артритов у подростков, реже у взрослых (особенно страдающих ревматизмом или с протезированными суставами). Обычно процесс начинается с гнойного поражения кожи и мягких тканей, затем возбудитель гематогенно диссеминирует в костную ткань (не случайно Пастер назвал остеомиелит «фурункулом костного мозга»).

- Приблизительно у 10% больных с бактериемией может развиваться эндокардит. В результате инфекций придаточных пазух носа, носоглотки, уха и сосцевидного отростка, а также бактериемии возбудитель может проникать в ЦНС и вызывать образование эпидуральных абсцессов и гнойных внутричерепных флебитов. Следствием эндокардита и бактериемии также считают поражения органов мочевыводящей системы (абсцессы, пиелонефриты и др.).

- Среди патологии, обусловленной *S. aureus*, особое место занимают поражения, вызванные действием токсинов, - синдромы токсического шока, «ошпаренной кожи» и пищевые отравления. Синдром «ошпаренных младенцев» (болезнь Риттера фон Риттерштайна) регистрируют у новорождённых, инфицированных штаммами золотистого стафилококка, выделяющими эксфолиатину. Заболевание начинается бурно; характерно формирование больших очагов эритемы на коже с последующим образованием (через 2-3 сут) больших пузырей (как при термических ожогах) и обнажением мокнущих эрозированных участков.

Синдром «ошпаренной кожи» (синдром Лайелла) возникает у более старших детей и взрослых. Характерны очаги эритемы, пузыри, тяжёлая интоксикация и отхождение субэпидермального слоя. При проведении профилактики вторичных инфекций происходит ограничение очагов поражения.

Синдром токсического шока - эндотоксиновая инфекция, развивающаяся при заражении штаммами, синтезирующими токсин TSST-1 и энтеротоксины В и С (реже). Поражения зарегистрированы у женщин, использующих сорбирующие внутривлагалищные тампоны в период менструаций. В настоящее время установлено, что синдром может также развиваться после родов либо как осложнение хирургического вмешательства (особенно на носовой полости и придаточных пазухах носа). Клинически синдром проявляется высокой температурой тела (38,8 °С и выше), рвотой, диареей, скарлатиноподобной сыпью (чаще на ладонях и подошвах) с последующей десквамацией эпителия через 1-2 нед, а также снижением АД с развитием шока, часто приводящего к фатальным последствиям. После появления тампонов с пониженными сорбирующими свойствами и без полиакриловых наполнителей частота случаев развития шока резко сократилась.

Пищевые отравления проявляются рвотой, болями в животе и водянистой диареей уже через 2-6 ч после употребления в пищу инфицированных продуктов, обычно кондитерских изделий с кремом, консервов, мясных и овощных салатов и т.д. Высокая устойчивость стафилококков к высоким концентрациям NaCl позволяет им длительно сохраняться в различных пищевых концентратах. Патогенез поражений обусловлен способностью энтеротоксинов индуцировать избыточное образование ИЛ-2 (с проявлениями общих симптомов интоксикации и возбуждением гладкой мускулатуры кишечника).

Микробиологическая диагностика

Микроскопия. Выявление скоплений грамположительных кокков и полиморфнонуклеарных лейкоцитов при исследовании окрашенных мазков клинического материала может служить основанием для предварительного диагноза. *Следует помнить, что результаты микроскопии нельзя считать достаточными для выдачи окончательного заключения.*

Выделение возбудителя. Посев проводят на ЖСА, МПА и КА. Если существует риск контаминации образца, применяют дифференциально-диагностические среды. Наиболее часто используют молочно-солевой (или молочно-желточно-солевой) агар и солевой агар с маннитом, на них рост контаминирующей микрофлоры угнетает высокая концентрация NaCl. Кроме того, на молочно-солевом агаре (МСА) хорошо проявляется способность к пигментообразованию и разложению лецитина (лецитовителизная активность). В последнее время широкое распространение в качестве дифференциально-диагностической среды нашёл агар с колистином и налидик-совой кислотой.

Через 18-24 ч *S. aureus* образует гладкие выпуклые мутные колонии диаметром около 4 мм. Бактерии синтезируют жёлтый пигмент, цвет колоний варьирует от белого до оранжевого. На КА колонии *S. aureus* окружены зоной полного гемолиза (рис. 1 вклейки).

Стафилококки хорошо растут на бульоне, сначала вызывая его равномерное помутнение, а затем образуя рыхлый хлопьевидный осадок. Они дают весьма характерный рост в желатине: через 24-28 ч (наряду с обильным ростом по ходу укола микробиологической иглы) наблюдают начальное разжижение среды, а на 4-5-е сутки образуется открытая вниз воронка, заполненная разжиженной средой.

Для внутривидовой дифференцировки *S. aureus* применяют коагулазный тест (на наличие свёртывающего фактора), положительный у 95% изолятов (рис. 12-3). Существует ещё несколько дифференцирующих признаков.

- Способность ферментировать маннит в анаэробных условиях.
- Лецитовителазная активность - образование перламутрового преципитата-«венчика», окружающего колонии, выросшие на средах с добавлением яичного желтка. Преципитат состоит из фосфорилхолина, образующегося из лецитина яичного желтка под действием фермента.
- Способность синтезировать термостабильную ДНКазу.
- Способность агглютинировать сенсibilизированные эритроциты барана (последний тест позволяет выявить белок А, свёртывающий фактор либо оба продукта).

Для экспресс-идентификации применяют тест латекс-агглютинации с использованием коммерческих наборов частиц латекса, нагруженных АТ, например «Staphylatex» (American Microscan).

Серологические исследования (например, ИФА или РПГА для идентификации АТ к тейхоевым кислотам или видоспецифичным Аг) *не имеют принципиального значения*, а результаты часто носят противоречивый характер. Лишь для типовой идентификации энтеротоксинов проводят РП в геле со специфическими антисыворотками.

Идентификация при помощи типовых бактериофагов. Типирование бактериофагами достаточно широко применяют в клинической эпидемиологии. Для фаготипирования используют стандартный набор из 23 бактериофагов, разделённых на 4 группы: 1-я группа включает фаги 29, 52, 52А, 79, 80, 2-я - 3А, 3С, 55, 71, 3-я - 6, 42Е, 47, 53, 54, 75, 77, 83А, 84, 85, 4-я - 94, 95, 96, а также внегрупповой фаг 81. Один штамм бактерий может лизировать один фаг или сразу несколько. Несмотря на это, признак достаточно стабилен, и с помощью соответствующих бактериофагов удаётся типировать 60-80% изолятов. Выявлены особые эпидемические штаммы (например, фаговаров 80 и 77), наиболее часто обнаруживаемые при внутрибольничных вспышках.

Образование энтеротоксинов. Для выявления применяют биологическую пробу - внутривенное заражение котят фильтратом бульонной культуры (2-3мл/кг). При попадании токсинов в кровотоки у котят развиваются рвота и диарея.

Определение чувствительности к антибиотикам. Значительная часть изолятов *S. aureus* либо синтезирует р-лактамазу, либо её синтез индуцируют р-лактамные антибиотики, и 85-90% штаммов может быть резистентно к этим ЛС. Для определения чувствительности используют метод дисков или серийных разведений.

Лечение

Основу терапевтических мероприятий составляет проведение адекватной антибактериальной терапии. При тяжёлом или хроническом течении следует применять антистафилококковый иммуноглобулин.

Иммунопрофилактика

Создание эффективной вакцины для профилактики поражений у человека и животных - актуальная и сложная проблема прикладной иммунологии. Это обусловлено наличием большого количества сероваров бактерий и отсутствием информации о роли всех антигенных субстанций в развитии искусственной невосприимчивости. В настоящее время получены убитые вакцины, обеспечивающие образование высоких титров АТ, но лишь к Аг вакцинных штаммов. Для создания анитоксического иммунитета используют стафилококковый анатоксин, но его

активность ограничена лишь группой бактерий, преимущественно лизируемых фагами 1-й группы.

Эпидермальный стафилококк (*S. epidermidis*)

Бактерии колонизируют гладкую кожу и поверхность слизистых оболочек и обычно слабо вирулентны. Подавляющее большинство инфекций носит госпитальный характер, их чаще выявляют у пациентов с пониженной резистентностью (табл. 12-1). Типичными для эпидермального стафилококка считают поражения, обусловленные инфицированием различных устройств (протезов, катетеров, дренажей) либо гематогенным диссеминированием возбудителя после хирургических вмешательств. Например, он вызывает до 50% эндокардитов у больных с протезированными клапанами сердца. Достаточно часто микроорганизм обуславливает поражения мочевыводящей системы (особенно у лиц старше 50 лет с различными формами урологической патологии в анамнезе) и суставные инфекции, чаще развивающиеся не позднее 1 года после имплантации протеза (50% всех случаев).

Факторы патогенности

Способность вызывать поражения обуславливают гидрофобные свойства поверхности эпидермального стафилококка, облегчающие адгезию к субстратам, и поверхностный полисахаридный слизистый слой, предохраняющий бактерию от действия антибиотиков и цитотоксических агентов. Подобно поражениям, вызываемым *S. aureus*, важное патогенетическое значение имеют компоненты клеточной стенки *S. epidermidis*, стимулирующие развитие воспалительных реакций и оказывающие многостороннее действие на ткани.

Микробиологическая диагностика

Микроскопия окрашенных мазков клинического материала позволяет выявить скопления грам-положительных кокков и полиморфноядерных лейкоцитов. Микроорганизм не проявляет гемолитической активности, на КА образует беловатые гладкие выпуклые колонии (см. рис. 1 вклейки). *Основное отличие от S. aureus - отсутствие коагулазной активности.* Выделенные коагулаза-отрицательные стафилококки следует дифференцировать от других стафилококков, иногда выделяемых из мочи (например, *S. saprophyticus*). Для дифференцировки учитывают их резистентность к новобиоцину (МИК более 1,6 мкг/мл), к которому *S. epidermidis* чувствителен. Следует помнить о появлении и увеличении удельного веса метициллин-резистентных штаммов *S. epidermidis* (MRSE). Они обычно чувствительны к ванкомицину, особенно в комбинации с гентамицином и рифампицином.

Сапрофитический стафилококк (*S. saprophyticus*)

S. saprophyticus колонизирует кожные покровы половых органов и слизистую оболочку мочеиспускательного канала. Колонизацию эпителия мочевыводящих путей обуславливают поверхностные рецепторы, а также выделение ферментативного комплекса, подавляющего рост прочих бактерий. Наиболее часто микроорганизм вызывает циститы и дизурические расстройства у женщин, ведущих активную половую жизнь; реже возникают пиелонефриты и эндокардиты. Выделение проводят аналогично выделению прочих стафилококков, идентификацию - по чувствительности к новобиоцину и бацитрацину (к ним сапрофитический стафилококк чувствителен) и некоторым биохимическим тестам (наличию каротиноидного пигмента у 100% изолятов, способности расти при 15 °С, отсутствию щелочной фосфатазы и др.).

СТРЕПТОКОККИ

Стрептококки паразитируют на коже и слизистых оболочках млекопитающих; поражения у человека представлены в табл. 12-2. В тканях человека стрептококки впервые были обнаружены при роже и раневых инфекциях (Бильрот, 1874), септицемии и гнойных поражениях (Пастер, 1879;

Огстон, 1881). Стрептококки представлены неподвижными сферическими клетками размером 0,5-2,0 мкм. В мазках они располагаются парами или короткими цепочками, особенно при выращивании в жидких питательных средах (рис. 12-4), что и послужило основанием для их названия [от греч. *streptos*, цепочка, +*kok[^]s*, ягода]. Клеточная стенка содержит тейхоевые кислоты, углеводы и пептидогликаны, на её поверхности расположены фимбрии, а у патогенных видов имеется капсула (рис. 12-5). При неблагоприятных воздействиях стрептококки способны образовывать L-формы. *Характерные особенности стрептококков - отсутствие ката-лазной активности (рис. 12-6) и способность большинства видов лизировать эритроциты.*

Все стрептококки разделяют на группы по культуральным особенностям: способности к росту в экстремальных условиях - на средах с рН, равным 9,6; при 10 °С и 45 °С или после прогрева при 60 °С в течение 30 мин; способности к росту на средах, содержащих 6,5% NaCl или 40% солей жёлчных кислот; способности к росту и др. В соответствии с этими критериями *S. pyogenes* (все признаки отрицательны) относят к первой группе.

Стрептококки также можно разделять по гемолитической активности на агаре с кровью барана. Соответственно выделяют α- (дают частичный гемолиз и позеленение среды), β- (полностью гемолизирующие) и γ- (дающие визуально необнаруживаемый гемолиз) стрептококки. Основные возбудители болезней человека - β-гемолитические виды.

Наибольшее распространение получила классификация Ребекки Лэнсфилд (1933), основанная на наличии группоспецифичных углеводов (С-полисахаридов) в клеточной стенке. В соответствии с этим выделяют 17 серогрупп, обозначаемых заглавными латинскими буквами (А-О). Внутри групп стрептококки разделяют на серовары по специфичности белковых М-, Р-, и Т-Аг. Зеленеющие стрептококки и пневмококки лишены групповых Аг и не включены в какую-либо серологическую группу.

Стрептококки группы А

У стрептококков группы А существуют некоторые особенности структуры клеточной стенки, отличающие их от других стрептококков (рис. 12-7). Большинство известных изолятов принадлежит к виду *S. pyogenes*, поэтому оба названия часто рассматривают как синонимы. Заболевания, вызываемые бактериями, известны с глубокой древности, но пика заболеваемости они достигли в XVIII-XIX вв. На этот период приходится известные эпидемии скарлатины, фарингитов, нередко заканчивавшихся пневмониями, ревматизмом и гломерулонефритами. Постоянными спутниками войн были часто фатальные инфекции кожи и мягких тканей. Жертвами послеродового сепсиса, печально известного как «родильная горячка», стали сотни тысяч матерей. Пионером борьбы с этим недугом стал австрийский акушер Земмельвайс, доказавший, что наиболее эффективная мера профилактики этого заболевания - соблюдение элементарных гигиенических норм.

Эпидемиология

Стрептококки группы А обнаруживают повсеместно. Они часто колонизируют кожные покровы и слизистые оболочки человека, а в холодный сезон частота носительства в носоглотке у школьников может достигать 25%. Резервуаром служит больной человек или носитель; основные пути передачи - контактный (с заносом в рот грязными руками) и воздушно-капельный, а также через инфицированные пищевые продукты, хранящиеся при комнатной температуре (например, молоко).

Патогенез поражений

Первый этап инфекционного процесса - адгезия микроорганизма к эпителию слизистых оболочек. Основные адгезины - липотейхоевые кислоты, покрывающие поверхностные фимбрии.

Не менее важную роль в прикреплении к субстратам играют гиалуронидаза, стрептокиназа и стрептодорназа.

Белок М [от англ. *mucoid*, слизистый, так как колонии штаммов-продуцентов имеют слизистую консистенцию] по структуре напоминает фимбрии грамотрицательных бактерий. Белок М - основной фактор вирулентности и типоспецифический Аг. АТ к нему обеспечивают длительную невосприимчивость к повторному заражению, однако выделяют более 80 сероваров белка М, что значительно снижает эффективность гуморальных защитных реакций. Белок М ингибирует фагоцитарные реакции, непосредственно действуя на фагоциты либо маскируя рецепторы для компонентов комплемента и опсонин, адсорбируя на своей поверхности фибриноген, фибрин и продукты его деградации. Белок также проявляет свойства суперантигена, вызывая поликлональную активацию лимфоцитов и образование АТ с низким аффинитетом. Подобные свойства играют существенную роль в нарушении толерантности к тканевым изоантигенам и развитии аутоиммунной патологии.

Капсула - второй по значимости фактор вирулентности. Она защищает бактерии от антимикробного потенциала фагоцитов и облегчает адгезию к эпителию. Капсула образована гиалуроновой кислотой, аналогичной входящей в состав соединительной ткани. Соответственно капсула проявляет минимальную иммуногенную активность и не распознаётся как чужеродный агент. Интерес представляет способность бактерий самостоятельно разрушать капсулу при инвазии в ткани за счёт синтеза гиалуронидазы. Роль гиалуронидазы в патогенезе поражений изучена плохо: с одной стороны, она участвует в разрушении соединительнотканной структуры, с другой - имеет сходство со многими аутоантигенами и, возможно, участвует в запуске аутоиммунных реакций.

С5а-пептидаза - третий фактор патогенности, подавляющий активность фагоцитов. Фермент расщепляет и инактивирует С5а компонент комплемента, выступающий мощным хемотактантом.

Стрептолизин О [от англ. *oxygen sensitive*, чувствительный к кислороду] проявляет свойства гемолизина, разрушая эритроциты в анаэробных условиях. Проявляет иммуногенные свойства, титры АТ к нему имеют прогностическое значение. Стрептолизин S [от англ. *stable*, устойчивый] резистентен кислороду, не несёт антигенной нагрузки и вызывает поверхностный гемолиз на кровяных средах. Оба фермента разрушают не только эритроциты, но и другие клетки; например стрептолизин О вызывает повреждение кардиомиоцитов, а стрептолизин S - фагоцитов, поглотивших бактерии.

Эритрогенные (пирогенные) токсины весьма схожи с токсинами стафилококков. Иммунологически их разделяют на три типа (А, В и С); способность к образованию токсинов детерминирована заражением бактериальной клетки умеренным фагом, несущим ген токсинообразования. Эритрогенные токсины проявляют свойства суперантигенов: оказывают митогенное действие на Т-клетки, а также стимулируют секрецию макрофагами ИЛ-1 и ФНО.

Кардиогепатический токсин синтезируют некоторые штаммы стрептококков группы А. Он вызывает поражения миокарда и диафрагмы, а также образование гигантоклеточных гранулём в печени.

Прочие экзоферменты. Стрептокиназа (фибринолизин) активирует плазминоген, что приводит к образованию плазмина и растворению фибриновых волокон (фермент не проявляет прямой фибринолитической активности). Гиалуронидаза облегчает перемещение бактерий по соединительной ткани. Роль ДНКазы (стрептодорназа) и НАДаз изучена плохо, но выявление АТ к стрептодорназе В используют в диагностике различных осложнений, вызванных стрептококками группы А. Медицинское применение нашла очищенная смесь стрептокиназы, стрептодорназы и

других протеолитических ферментов стрептококков (стрептокиназа-стрептодорназа), используемая для рассасывания тромбов, фибриновых и гнойных экссудатов.

Перекрёстные реакции. Несмотря на способность подавлять или снижать активность фагоцитов, стрептококки инициируют выраженную воспалительную реакцию, во многом обусловленную секрецией более 20 растворимых веществ. Часть из них составляют ферменты (стрептолизины S и O, гиалуронидаза, ДНКазы, НАДазы и стрептокиназа), часть - эритроген-ные токсины. Патогенез ревматических поражений, особенно кардитов, существенно отличается от наблюдаемых при большинстве инфекций, сопровождающихся бактериемией. Основные повреждения вызывают иммунные механизмы, в частности, перекрёстная реакция с миокардиоцитами и белком M возбудителя. Весьма сходны механизмы повреждения почек при острых гломерулонефритах, обусловленные депонированием иммунных комплексов (стрептококк-IgG) на базальной мембране. С одной стороны, они активируют комплементарный каскад, что стимулирует воспалительный ответ, с другой - за счёт нарушения аутоотолерантности и антигенной мимикрии индуцируют клеточные цитотоксические реакции.

Клинические проявления

Фарингит - наиболее типичное проявление стрептококковой инфекции. Характерны боль в горле, лихорадка, регионарная лимфаденопатия.

Скарлатина - острое экзантемное заболевание, обусловленное действием стрептококкового токсина и характеризующееся появлением кожных точечных высыпаний или мелких пятен интенсивного красного цвета, появляющихся сначала на шее и верхней части грудной клетки, а затем принимающих генерализованную форму. Характерны ангина, лимфадениты. Интересная клиническая особенность - эритема языка («малиновый язык»).

Кожные инфекции. Основные кожные инфекции, вызванные стрептококками группы A, - флегмона (целлюлит), рожа и пиодермия-импетиго. В мягких тканях эти бактерии вызывают некротизирующие фасциты и гангренозные поражения (редко); чаще они развиваются на месте предшествующей травмы, и без адекватного лечения могут привести к фатальному исходу.

Синдром токсического шока. Выделенный в отдельную нозологическую форму стрептококковый синдром токсического шока обычно развивается как осложнение целлюлитов, фасци-тов и бактериемии. Клинические проявления аналогичны таковым при септических шоках, а смертность может достигать 30%.

Острая ревматическая лихорадка может развиваться как осложнение носоглоточной инфекции у предрасположенных лиц. Лихорадка сопровождается острым мигрирующим полиартритом, малой хореей («пляской Святого Вита»), появлением подкожных узлов на костных выступах, кардитами. Наиболее серьёзные осложнения - острая сердечная недостаточность и присоединение вторичных бактериальных инфекций (септический эндокардит).

Острый гломерулонефрит - более редкое осложнение, развивающееся у части больных через 10-25 сут после глоточной инфекции или пиодермии. Поражения вызывает ограниченная группа стрептококков (M-серовары). Тяжесть заболевания переменна - от бессимптомных форм (выявляемых только лабораторно) до острой почечной недостаточности.

Микробиологическая диагностика

Основу микробиологической диагностики составляют выделение и идентификация возбудителя. При этом обычно биохимические характеристики изолятов не изучают. Прочие методы диагностики имеют различные ограничения.

Через 24 ч на КА стрептококки группы А образуют блестящие вязкие колонии (рис. 2 вклейки). В жидких средах бактерии дают придонный, иногда поднимающийся вверх рост. Весьма информативные методы раннего выявления стрептококков - определение чувствительности к антимикробным агентам методом дисков. Наиболее часто их используют для идентификации стрептококков в мазках из зева. Для дифференцировки стрептококков группы А от прочих β -гемолитических стрептококков применяют тест чувствительности к бацитрацину. Более чем в 99% случаев изоляты стрептококков группы А чувствительны к бацитрацину, тогда как представители других серогрупп обычно устойчивы (рис. 12-8). Также можно применить тест чувствительности к триметоприм-сульфаметоксазолу. Стрептококки групп А и В обычно чувствительны к действию антимикробного агента.

По сравнению с чувствительностью к бацитрацину более специфичен тест гидролиза пирролидонил- β -нафтиламида (ПИР-тест). *S. pyogenes* - единственный стрептококк, дающий положительную реакцию. Для этого в пробирки вносят полоски фильтровальной бумаги, пропитанные ПИР. Под действием бактериальных пептидаз ПИР расщепляется до β -нафтилами-

да, и после внесения 0,01% раствора p -диметиламиноциннамальдегида полоски окрашиваются в вишнёво-красный цвет.

Стрептококки группы А легко можно выявить в мазках из зева, используя коммерческие наборы; групповой А-Аг экстрагируют химическими реагентами или ферментами и идентифицируют в реакциях латекс-агглютинации, коагглютинации или ИФА. Для экспресс-диагностики ревматического процесса и гломерулонефрита можно определять АТ к стрептолизину О или стрептодорназе; серологические исследования также позволяют выявить носителей. Следует помнить, что АТ к стрептолизину О не образуются при кожных инфекциях, вызываемых стрептококками группы А.

Лечение

Основу лечения составляет адекватная антибактериальная химиотерапия. Лечение ревматизма проводят пеницилинами короткого действия, профилактику - пеницилинами длительного действия (бициллин-5), причём антибиотикопрофилактику предпочтительно проводить круглогодично.

Стрептококки группы В

Стрептококки группы В обычно колонизируют носоглотку, ЖКТ и влагалище; подавляющую часть изолятов составляет *S. agalactiae*. Серологически стрептококки группы В разделяют на серовары Ia, Ib, Ic, II и III. Бактерии сероваров Ia и III тропны к тканям ЦНС и дыхательных путей, они часто вызывают менингиты у новорождённых. Наиболее типичен вертикальный путь заражения - при прохождении плода по родовым путям, инфицированным стрептококками. Подобным образом происходит заражение не менее 50% детей, составляющих группу риска. У детей, родившихся у женщин со значительной колонизацией родовых путей, чаще регистрируют раннее развитие менингита (в течение первых 5 сут), а у детей, инфицированных большим количеством возбудителей, подобные поражения наблюдают позднее (от 6 сут до 3 мес). Горизонтальная передача возбудителя происходит значительно реже. Большинство поражений обусловлено проникновением возбудителя в кровоток (табл. 12-2). Особо необходимо отметить стрептококковые пневмонии, развивающиеся на фоне ОРВИ. «Чистые» бактериальные поражения наблюдают редко, но как осложнения ОРВИ пневмонии отмечают так часто, что создаётся впечатление, что сами стрептококки группы В не способны вызывать поражения лёгких. Подобные пневмонии обусловлены активацией микрофлоры в зеве и носоглотке, реже

регистрируют заражение от больного вирусами в ассоциации с высоковирулентными стрептококками.

Патогенез поражений

Гематогенное диссеминирование возбудителя во многом обусловлено дефицитом специфических АТ, С1q и С4 компонентов комплемента (небольшое содержание последних коррелирует с низкой бактерицидной активностью в целом). Определённую роль играет полисахаридная капсула, снижающая эффективность фагоцитарных реакций. В отличие от бактерий группы А, капсула стрептококков группы В проявляет иммуногенные свойства, и АТ к её А₂ (в достаточном количестве) способны оказывать протективное действие. Как патогенетический фактор следует рассматривать и нейраминидазу, модифицирующую мембрану клеток хозяина, что облегчает адгезию микроорганизмов.

Клинические проявления

Поражения, вызванные стрептококками группы В, отмечают во всех возрастных категориях, но, безусловно, доминирует патология новорождённых. У 30% детей с ранними проявлениями выявляют бактериемию (без конкретного очага первичного инфицирования), у 32-35% - пневмонию, а у остальных - менингит, развивающийся у 50% в течение 24 ч жизни. Заболевания новорождённых протекают тяжело; смертность достигает 37%. У детей с поздними проявлениями диагностируют менингиты и бактериемию; 10-20% детей погибают, а у 50% выживших регистрируют остаточные нарушения. У рожениц стрептококки группы В вызывают послеродовые инфекции: эндометриты, поражения мочевыводящих путей и осложнения хирургических ран после кесарева сечения. Также отмечают способность микроорганизмов приводить к развитию поражений кожных покровов и мягких тканей, пневмоний, эндокардитов и менингитов у взрослых. Бактериемию также диагностируют у лиц старшего возраста, страдающих сахарным диабетом, заболеваниями периферических сосудов, печени и злокачественными новообразованиями.

Рис. 12-9. САМР-тест. На КА взаимно перпендикулярными штрихами посеяны *Streptococcus agalactiae* (А) и *Staphylococcus aureus* (Б). При положительном результате наблюдают взаимное усиление активности бактериальных гемолизин в виде характерной «бабочки» (отмечена стрелкой).

Микробиологическая диагностика

Принципы микробиологической диагностики аналогичны таковым при выделении стрептококков группы А. Колонии, выросшие на КА, через 24 ч после посева прозрачные или мутноватые, выпуклые, диаметром 0,5-1,0 мм, окружены зоной гемолиза (5-15% изолятов может не проявлять гемолитических свойств). *S. agalactiae* обычно не чувствителен к бацитрацину и триметоприм-сульфаметоксазолу, что определяют в тесте с соответствующими дисками.

Весьма специфичен тест гидролиза гипсурата. Обычно его используют для дифференцировки со *S. pyogenes* (даёт отрицательную реакцию). Другая дифференцирующая реакция - САМР-тест, основанный на феномене усиления гемолитического действия золотистого стафилококка в присутствии гемолизин других бактерий (рис. 12-9).

Дальнейшую идентификацию проводят путём серотипирования в реакции латекс-агглютинации или коагглютинации с коммерческими реагентами либо при помощи инкубации мазков с моноклональными АТ, мечеными флюоресцеинами. Микроорганизмы можно быстро идентифицировать в мазках отделяемого влагалища, используя коммерческие наборы, аналогичные применяемым для выявления стрептококков группы А.

Лечение

Подходы и методы терапии инфекций, вызванных стрептококками группы В, аналогичны таковым, применяемым для лечения поражений, обусловленных стрептококками группы А.

Пневмококк (*S. pneumoniae*)

Впервые пневмококк выделил Пастёр (1881) во время работы над антирабической вакциной и первоначально считал его возбудителем бешенства. Этиологическую роль в развитии пневмоний у человека доказали К.Фрэнкель и А.Вайхзельбаум (1884). Бактерии не содержат группового Аг и серологически неоднородны - по Аг капсульных полисахаридов выделяют 84 серова-ра. Известны штаммы, колонизирующие организмы человека и животных.

Эпидемиология

Пневмококк - один из основных возбудителей внебольничных бактериальных пневмоний (2-4 случая на 1000 человек). Ежегодно в мире регистрируют не менее 500 000 случаев пневмококковых пневмоний, причём наиболее подвержены инфекции дети и лица преклонного возраста. Резервуар инфекции - больные и носители (20-50% детей дошкольного возраста и 20-25% взрослых), основной путь передачи - контактный, а в период вспышек также воздушно-капельный. Пик заболеваемости приходится на холодное время года. В подавляющем большинстве случаев клинические формы инфекции развиваются при нарушениях резистентности организма (в том числе вследствие холодовых стрессов), а также на фоне сопутствующей патологии (серповидноклеточной анемии, болезни Хбджкена, ВИЧ-инфекции, миеломы, сахарного диабета, состояний после спленэктомии) или алкоголизма.

Морфология и культуральные свойства

Пневмококки представлены овальными или ланцетовидными кокками диаметром около 1 мкм. В мазках из клинического материала они располагаются парами, каждая пара окружена толстой капсулой (рис. 12-10). Образование капсул стимулирует внесение в среду крови, сыворотки

или асцитической жидкости. На сывороточном агаре пневмококки образуют нежные полупрозрачные, чётко очерченные колонии диаметром около 1 мм; иногда они могут быть плоскими с углублением в центре. Подобно прочим стрептококкам, колонии никогда не сливаются между собой. На КА колонии окружает зона а-ге-молиза в виде зеленоватой зоны.

Патогенез поражений

В большинстве случаев пневмонии развиваются после аспирации слюны, содержащей *S. pneumoniae*. Затем бактерии проникают в нижние отделы дыхательных путей. Существенное значение имеет нарушение защитных дренирующих механизмов - кашлевого толчка и мукоцилиарного клиренса. Формирование мощных воспалительных инфильтратов сопровождается нарушением гомеостаза лёгочной ткани. Инфекции наиболее вирулентным сероваром 3 могут сопровождаться образованием полостей в паренхиме лёгких. Из первичного очага возбудитель может проникать в плевральную полость и перикард либо гематогенно диссеминировать и вызывать менингиты, эндокардиты и суставные поражения. Главными факторами патогенности считают капсулу и субстанцию С.

Капсула - основной фактор вирулентности. Она защищает бактерии от микробицидного потенциала фагоцитов и действия опсонин. Некапсулированные штаммы практически авирулентны, их обнаруживают редко. Большую часть пула противопневмококковых АТ составляют АТ к Аг капсулы.

Субстанция С - тейхоевая кислота клеточной стенки, содержащая холин и специфически взаимодействующая с С-реактивным белком. Следствие подобного реагирования - активация комплементарного каскада и высвобождение медиаторов острой фазы воспаления. Их накопление в лёгочной ткани стимулирует миграцию полиморфноядерных фагоцитов.

Клинические проявления

- Классическая пневмококковая пневмония начинается внезапно с подъёма температуры тела, появления продуктивного кашля и боли в груди. У ослабленных лиц и пожилых заболевание развивается медленно, с невыраженной лихорадочной реакцией, нарушением сознания и признаками лёгочно-сердечной недостаточности.

- Стрептококковые менингиты регистрируют во всех возрастных группах. Они характеризуются бурным началом с повышением температуры тела, ригидностью затылочных мышц, головной болью, тошнотой и рвотой. Поражения сосудов мозговых оболочек часто сопровождаются потерей сознания. Среди детей и лиц преклонного возраста летальность может достигать 80%.

- Довольно часто на фоне иммунодефицита (например, при ВИЧ-инфицировании) или состояния после спленэктомии развиваются гематогенные пневмококковые поражения, а также синуситы, мастоидиты, средние отиты, эндокардиты и перитониты.

Микробиологическая диагностика

Основу микробиологической диагностики составляют выделение и идентификация возбудителя. Материал необходимо исследовать как можно быстрее после его получения, так как бактерии склонны к быстрому аутолизу, обусловленному активностью внутриклеточных ферментов. На пневмококковую инфекцию указывает наличие нейтрофилов и грамположительных ланцетовидных диплококков (не менее 10 в поле зрения) в мазках клинического материала. В противном случае прибегают к выделению возбудителя.

Для дифференцировки от прочих стрептококков наиболее широко используют тест чувствительности к оптохину. Это средство угнетает рост практически 100% клинических изолятов (рис. 12-11).

От зеленеющих стрептококков *S. pneumoniae* отличает способность ферментировать инулин, а также чувствительность к солям жёлчных кислот (дезоксихолатная проба),

в присутствии которых происходит лизис пневмококков (рис. 12-12).

Рис. 12-11. Тест чувствительности к оптохину. Препарат ингибирует рост *Streptococcus pneumoniae*, что проявляется образованием зоны задержки роста.

Выделенные изоляты следует серотипировать, используя коммерческие реагенты для реакций латекс-агглютинации или коагглютинации, выявляющих капсульные Ag.

При сомнительных результатах можно внутрибрюшинно заразить белых мышей материалом, взятым от больного, а затем провести бактериологические и серологические исследования перитонеального экссудата.

Лечение

Терапия аналогична таковой при прочих стрептококковых инфекциях. Однако следует помнить, что среди пневмококков часто обнаруживают штаммы, устойчивые к пенициллинам. Для

профилактики пневмококковых инфекций разработана поливалентная вакцина, включающая капсуль-ные полисахаридные Ag 23 различных сероваров, вызывающих 90% гематогенных инфекций. Иммунизация показана группам повышенного риска; её проводят двукратно с 5-10-летним интервалом.

Негемолитические стрептококки

Негемолитические стрептококки представлены гетерогенной группой бактерий, дающих агемолиз (неполный). Они также лишены групповых Ag, но значительно отличаются от пневмококков. Поскольку большая их часть вызывает позеленение кровяных сред, они также известны как зеленающие стрептококки (рис. 3, см. цветную вклейку). Бактерии входят в состав микробных ценозов полости рта, где составляют 30-60% всей микрофлоры (кариесогенные стрептококки группы *S. mutans*) и кишечника человека.

Патогенез и клинические проявления

Микроорганизмы отличает низкая вирулентность; вызываемые ими системные поражения можно в определённой степени рассматривать как оппортунистические.

Основную их часть составляют бактериальные эндокардиты, развивающиеся после проникновения бактерий в кровоток при травмировании слизистых оболочек (например, после чистки зубов, пережёвывании грубой пищи). Эндокардиты носят злокачественный характер и сопровождаются поражением сердечных клапанов. Способность вызывать эндокардиты обусловлена особенностями структуры гликанов (декстранов) клеточной стенки бактерий, облегчающих адгезию стрептококков к агрегатам тромбоцитов и фибрина на повреж-

дённых клапанах. Для поражений характерны эмболии периферических сосудов: в ЦНС их отмечают в 30% случаев, в селезёнке - в 40% (данные аутопсий), в кожных покровах и глазах - в 20-40%.

Вторая по значимости, но несравненно более частая патология, - кариозное поражение

зубов, вызываемое зеленающими стрептококками био группы *mutans*. Микроорганизмы содержат поверхностный белок, связывающий гликопротеины слюны, и (совместно с другими бактериями) образуют бактериальные бляшки на поверхности зубов. Бактерии разлагают сахарозу, поступающую с пищей, до молочной кислоты, вызывающей деминерализацию зубной эмали.

Микробиологическая диагностика

Микробиологическая диагностика аналогична мероприятиям, проводимым для выделения и идентификации прочих стрептококков. На наличие возбудителей указывает появление мелких (диаметром около 0,5 мм) колоний, окружённых зоной агемолиза. Дальнейшую дифференцировку обычно проводят по отсутствию способности расти в жидких средах, содержащих 6,5% NaCl, и гидролизовать эскулин в присутствии солей жёлчных кислот (могут быть положительны у 10% изолятов); также дифференцирующим признаком считают отсутствие чувствительности к оптохину (последний не ингибирует рост бактерий). Дополнительным признаком служит высокая чувствительность большинства изолятов к пенициллину.

Лечение

Лечение принципиально не отличается от проводимой при других стрептококковых инфекциях.

энтерококки

Энтерококки - овальные бактерии размером 0,6-2,0х0,6-2,5 мкм; в мазках из культур, выращенных в жидких средах, они располагаются парами или короткими цепочками. Энтерококки не образуют капсул; некоторые виды ограниченно подвижны (имеют небольшие жгутики). Бактерии расщепляют углеводы с образованием кислоты без газа; каталаза-отрицатель-

ны, растут при температуре 10-45 °С (оптимум 37 °С), обитатели кишечника различных позвоночных. У человека наиболее часто поражения вызывают *E. faecalis*, *E. faecium* и *E. durans*.

Эпидемиология

Энтерококки входят в состав микробных ценозов полости рта, кишечника и мочеполовой системы взрослых. *Большинство инфекций носит эндогенный характер и обусловлено инвазией микроорганизмов при избыточной колонизации.* Также показана возможность нозокомиальной передачи микроорганизмов; частота подобных инфекций возрастает на фоне широкого применения цефалоспоринов широкого спектра действия.

Клинические проявления

Энтерококки часто вызывают поражения мочеполовой системы у пациентов с установленными на длительный срок катетерами; подобные поражения у клинически здоровых лиц наблюдаются значительно реже. Также энтерококки вызывают 10-20% всех бактериальных эндокардитов и 5% бактериемий. Эндокардиты чаще регистрируют у лиц преклонного возраста с различной патологией, наркоманов и лиц, нуждающихся в регулярных внутривенных инъекциях. Эндокардиты характеризуются вялым течением с постепенным развитием клапанной недостаточности. Бактериемия может развиваться как следствие поражений мочевой системы или внутрибрюшинных абсцессов; в 40% случаев источник проникновения бактерий в кровоток остаётся неизвестным. Гемолизующие энтерококки также способны вызывать пищевые отравления и дис-бактериозы кишечника.

Микробиологическая диагностика

Выделение возбудителя обычно не представляет затруднений, так как энтерококки хорошо растут на простых питательных средах. Через 18-24 ч они образуют сероватые колонии диаметром 0,4-1 мм. На КА энтерококки могут приводить к образованию зоны неполного или полного (редко) гемолиза. Селективно-дифференциальными средами для энтерококков служат Диф-3 и Диф-5.

На среде Диф-3, содержащей теллурид калия, энтерококки образуют характерные чёрные колонии, что обусловлено способностью бактерий восстанавливать теллур (рис. 12-13).

ГЛАВА 13. ФАКУЛЬТАТИВНО АНАЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ

Среди бактерий этой группы заболевания у человека способны вызывать представители рода *Bacillus* семейства *Bacillaceae* (отдел *Firmicutes*). Отличительные особенности бацилл:

- представлены крупными прямыми палочками, положительно окрашивающимися по Граму,
- способны образовывать споры в аэробных условиях,
- единственным патогенным для человека видом выступает *Bacillus anthracis* (палочка сибирской язвы),

- некоторые условно-патогенные виды также способны вызывать пищевые интоксикации и госпитальные инфекции.

Бациллы выделяют из почвы, пресной и морской воды, а также с растений. Они могут расти в интервале температур от 5 до 75 °С, а их выживанию в экстремальных условиях способствует спорообразование. Госпитальные поражения (пневмонии, септицемии, эндокардиты, менингиты и др.) вызывают *B. subtilis* (рис. 13-1), *B. cereus* и *B. megaterium* (рис. 4 вклейки), *B. alvei*, *B. laterosporus*, *B. pumilus*, *B. thuringiensis* и *B. sphaericus*. Поражения регистрируют сравнительно редко, а их развитию у человека способствуют широкая распространённость бактерий и высокая устойчивость их спор к различным воздействиям.

ВОЗБУДИТЕЛЬ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Сибирская язва известна с глубокой древности. Со времён Гиппократ и Гомера, Галёна и Виргиллия болезнь фигурирует под названиями «священный огонь» (*ignis sacer*) или «персидский огонь» (*ignis persicus*). В 1788 г. С.С. Андриевский путём самозаражения установил одинаковую этиологию сибирской язвы у людей и животных, а Ф. Брауэлл доказал возможность заражения животных от человека. Чистую культуру возбудителя получил Кох (1876), а в 1881 г. Пастёр предложил живую вакцину для иммунопрофилактики заболевания. В связи с монополизацией её производства Пастеровским обществом, Л.С. Ценкбвский (независимо от Пастера) разработал отечественную живую вакцину. В 1890 г. профессор Казанского ветеринарного института И.Н. Ланге создал вакцину

из полученного им вакцинного штамма (штамм Ланге), широко применявшегося в дальнейшем для изучения возбудителя. В 1902 г. А. Аскбли разработал диагностическую реакцию термопреципитации, широко применяемую при обследовании сельскохозяйственного сырья.

Сибирская язва - типичный зооноз; среди животных наиболее восприимчивы травоядные. Заболеваемость у человека носит выраженный профессиональный характер (сельскохозяйственные рабочие, работники боен, шерстобиты и щётчики). Эндемичные очаги заболевания находятся в Азии, Южной Африке, Южной Америке и Австралии; спорадические случаи выявляют в Европе, России и США. Ежегодно в мире регистрируют около 1 млн случаев сибирской язвы у животных и 25-100 тыс. случаев заболевания у людей.

Животные заражаются при заглатывании спор во время выпаса или при поедании загрязнённых кормов. У животных преобладают кишечная и септическая формы заболевания, то есть возбудитель проникает через микротравмы полости рта или стенку кишечника. *Больные животные выделяют бактерии с мочой и испражнениями.* Болезнь быстро прогрессирует в течение 2-3 сут, а при молниеносных формах - в течение нескольких часов; летальность достигает 80%. Клинические признаки болезни (судороги, диарея с примесью крови) проявляются непосредственно перед гибелью животного. Значительную эпидемическую опасность представляют скотомогильники, особенно если трупы животных, павших от сибирской язвы, были зарыты без надлежащих предосторожностей. *При оптимальной температуре и влажности почвы споры могут прорасти в ней.* Человек заражается при контакте с инфицированным материалом (уход за больными животными, переработка шерсти, шкур, щетины, кож и костей) либо при употреблении в пищу мяса больных животных. Наиболее характерно проникновение спор *B. anthracis* через дыхательный и желудочно-кишечный тракт, а также через порезы и ссадины кожи. В отличие от спор, палочки сибирской язвы неустойчивы во внешней среде и быстро погибают при высыхании. При 60 °С они погибают в течение 15 мин, при кипячении - за 1-2 мин.

B. anthracis - крупная неподвижная палочка (5-10x1-2 мкм) с закруглёнными концами. При образовании цепочек концы клеток выглядят обрезанными под прямым углом. *Отсутствие подвижности - абсолютный дифференцирующий признак сибиреязвенной палочки, отличающий*

её от других *бацилл*. В клиническом материале бактерии располагаются парами или в виде коротких цепочек. На питательных средах образуют более длинные цепочки; при этом морфология палочек несколько изменяется - они слегка утолщены на концах и образуют сочленения, напоминающие «бамбуковую трость» (рис. 13-2). Эти морфологические изменения ещё более явно проявляются при температурной фиксации при окрашивании. По Граму *сибирской язвенной палочки к пенициллину* (рис. 5 вклейки). Обработка культур приводит к разрушению клеточных стенок и образованию цепочек, состоящих из протопластов, напоминающих «жемчужное ожерелье» (рис. 13-3).

Культуральные свойства

B. anthracis хорошо растёт на обычных питательных средах. Температурный оптимум 35-37 °С; оптимум рН 7,0. В жидких средах растёт в виде ватных хлопьев, не вызывая помутнения среды. При посеве уколом в желатину даёт характерный рост в виде «перевернутой ёлочки» (рис. 13-4). Позднее верхний слой желатины разжижается, образуя воронку. На твёрдых средах возбудитель образует шероховатые, неровные, серовато-белые, волокнистые R-колонии диаметром 2-3 мм. При малом увеличении колонии напоминают «голову Медузы» или «львиную гриву» (рис. 13-5); характерный вид колониям придают переплетающиеся цепочки бактерий.

Спорообразование. В аэробных условиях при 12 °С и 40 °С палочка сибирской язвы образует центрально расположенные споры, размером 0,8-1,0x1,5 мкм (рис. 4-13). В живом организме спорообразования не происходит; также оно отсутствует в нескрытых трупах, что опосредовано поглощением свободного кислорода в процессе гниения. Споры отличает высокая устойчивость к внешним воздействиям: сухой жар убивает бактерии при 140 °С за 2-3 ч, автоклави-рование при 121 °С - за 15-20 мин. В воде они сохраняются до 10 лет, в почве - до 30 лет. Скорость прорастания зависит от температуры (оптимум 37 °С) и возраста спор; молодые споры в оптимальных условиях прорастают за 1-1,5 ч, старые - за 2-10 ч.

Биохимические свойства

Возбудитель образует кислоту без газа на средах с глюкозой, фруктозой, мальтозой и декстрином. Гидролизует крахмал; образует ацетоин и лецитиназу. В отличие от сапрофитов, палочки сибирской язвы лишены фосфатазы и не разлагают фосфаты, содержащиеся в питательной среде. Молоко свёртывают за 3-5 сут. Сгусток медленно пептонизируется и разжижается с выделением аммиака, а также (в связи с окислением тирозина) окрашивается в бурый цвет.

Антигенная структура

Выделяют три группы основных Аг *B. anthracis*, две из них (капсульные Аг и токсин) кодируются плазмидами. Отсутствие одной или обеих групп делает бактерии авирулентными. Капсульные Аг представлены полипептидами, соединёнными с молекулами D-глутаминовой кислоты, что отличает их от прочих кап-сульных Аг бактерий. По антигенным свойствам выделяют один серовар. АТ к капсульным Аг не защищают от развития заболевания. Соматические Аг представлены полисахаридами клеточной стенки. АТ к соматическим Аг не защищают от развития заболевания. Токсин состоит из трёх термолабильных компонентов и включает протективный Аг (взаимодействует с мембранами клеток и опосредует проявление активности других компонентов); летальный фактор (проявляет цитотоксический эффект и вызывает отёк лёгких) и отёчный фактор (вызывает развитие отёков различных тканей). По отдельности компоненты не способны проявлять токсическое действие. Компоненты токсина представлены белками или липопротеинами; их молекулы серологически отличимы и иммуногенны.

Патогенность

Патогенность *V. anthracis* прямо зависит от капсуло- и токсинообразования; штаммы, не проявляющие подобные свойства, обычно авирулентны.

Капсула защищает бактерии от действия вне- и внутриклеточных продуктов фагоцитов и препятствует поглощению бактерий.

Токсин опосредует проявление признаков и симптомов сибирской язвы. Аккумуляция токсина в тканях и его воздействие на ЦНС приводят к летальному исходу на фоне лёгочной недостаточности и гипоксии.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода заболевания составляет 2-6 сут. Клинические проявления зависят от пути заражения. Выделяют кожную, лёгочную и желудочно-кишечную формы сибирской язвы.

Кожная форма. В месте входных ворот инфекции сначала появляется красноватое пятно, быстро трансформирующееся в папулу медно-красного цвета. Через несколько часов на месте папулы образуется везикула диаметром 2-3 мм; её содержимое сначала имеет серозный характер, затем становится тёмным, кровянистым. Из-за сильного зуда больные часто срывают везикулу, либо она лопается сама, и на её месте образуется коричнево-чёрный струп с твёрдой, как бы обгорелой коркой, что определило другое название болезни - углевйки её возбудителя - *V. anthracis* [от греч. *anthrax*, уголь]. Струп окружает инфильтрат в виде багрового вала. Как правило, дополнительно присоединяется отёк, охватывающий большие участки.

Лёгочная форма развивается при ингаляции спор и протекает крайне тяжело. Заболевание носит выраженный профессиональный характер и также известно как «болезнь сортировщиков шерсти» или «болезнь тряпичников». После короткого инкубационного периода на фоне общей разбитости происходит резкий подъём температуры (до 40 °С) и развиваются пневмония и отёк лёгких. При явлениях быстро развивающейся сердечно-сосудистой недостаточности смерть больного наступает на 2-3-и сутки.

Желудочно-кишечная форма характеризуется довольно разнообразной клинической картиной: у одних больных доминируют симптомы поражения ЖКТ, у других - симптомы общей интоксикации. Общие проявления - повышение температуры тела, рвота и диарея с примесью крови, боли в животе; на коже часто появляются гемorragии и вторичные пустулы; смерть больного наступает через 3-4 дня при явлениях прогрессирующей сердечной недостаточности.

Принципы микробиологической диагностики

Для исследования берут содержимое пустулы, гнойное отделяемое из карбункула, кровь, мочу, мокроту, испражнения и рвотные массы. При патологоанатомическом исследовании забирают кусочки органов или целые органы. *Все образцы следует помещать в герметичные сосуды и транспортировать закупоренными в опломбированные боксы или деревянные ящики.* Выделение возбудителя. Проводят окраску материала по Граму и посев на обычные питательные среды. Затем определяют подвижность микроорганизмов из выросших колоний, изучают их биохимические и культуральные свойства. Серологические исследования проводят для распознавания больных и реконвалесцентов. Возбудитель можно выявлять АТ, мечеными флюоресцеинами (особенно в смешанных культурах), диффузией в геле, в РСК, РНГА и ИФА. Кожные пробы применяют для ретроспективной диагностики при эпидемиологических исследованиях. Проводят внутрикожное введение 0,1 мл бактериального аллергена (антраксына). Реакция термопреципитации по Аскблиту имеет большое значение, так как позволяет идентифицировать возбудителей при отрицательных результатах бактериологических

исследований. Для прижизненной же диагностики эта реакция не имеет серьёзных преимуществ перед вышеуказанными бактериологическими и серологическими методами. Фаготипирование. Для дифференциальной диагностики предложены высокоспецифические литические сибиреязвенные бактериофаги «ВА-9» и «Саратов». Биологическая проба. Заражение лабораторных животных проводят одновременно с посевом на питательные среды. Материал можно вводить белым мышам (по 0,1-0,2 мл в спину), кроликам и морским свинкам (по 0,2-0,5 мл в область живота). Обычно мыши погибают через 1-2 сут, морские свинки и кролики - через 2-4 сут. При выживании животных наблюдение за ними продолжают в течение 10 дней. У павших животных исследуют печень, селезёнку, лимфатические узлы, почки, кровь из полостей сердца и места введения заразного материала. Затем проводят посев исследуемого материала на питательные среды.

Лечение

Основа антибактериальной терапии - пенициллин (при непереносимости - тетрациклин) ; внутривенные вливания больших доз антибиотиков дают хороший терапевтический эффект.

Профилактика

Иммунопрофилактика. Для профилактики зоонозов животных иммунизируют живой вакциной СТИ, приготовленной из некапсулированного штамма *B.anthraxis*, или протективным Ag, преципитированным гидроокисью алюминия. Комбинированная вакцинация обоими иммуногенами обеспечивает лучший защитный эффект. Активную иммунизацию лиц, относящихся к группам риска, проводят протективным Ag, не вызывающим выраженных побочных реакций.

Ветеринарно-санитарные меры • Изоляция больных и подозрительных животных • Сжигание трупов погибших животных, заражённых объектов (подстилка, навоз) и обеззараживание мест стоянок больных животных и водопоев • При невозможности сжигания трупов их зарывают на отдалённых сухих и пустынных участках на глубину не менее 2 м. Труп укладывают на слой хлорной извести и ею же засыпают сверху (слоем до 10 см). Все мероприятия по захоронению следует проводить с соблюдением санитарных норм.

Санитарный надзор. Важен санитарный надзор за предприятиями, занятыми переработкой животного сырья. Всё поступающее сырьё проверяют в реакции термопреципитации по Аскбл. Меховые изделия следует изготавливать лишь из сырья, давшего отрицательные результаты в реакции Аскбл.

BACILLUS CEREBUS

B. cereus - почвенная бактерия-сапрофит, широко распространённая в природе. Нередко бактерии обсеменяют пищевые продукты, вызывая пищевые отравления. Явления интоксикации опосредует энтеротоксин. Его образуют бактерии, прорастающие из спор, устойчивых к определённым термическим режимам обработки пищевых продуктов (обычно овощей). Бактерии образуют токсины только *in vivo*, во время прорастания спор. В последние годы также отмечены госпитальные инфекции, спорадически вызываемые *B. cereus*, - бактериемии, эндокардиты и менингиты у лиц с протезированными органами, катетерами, у пациентов с гемодинамическими нарушениями, а также у длительно получавших цитостатики и иммунодепрессанты. Поражения протекают тяжело и часто заканчиваются фатально.

Морфология и культуральные свойства

Морфологически *B. cereus* напоминает сибиреязвенную палочку; основные отличия - подвижность и гемолитическая активность. В мазках бактерии располагаются в виде штакетника. Температурный оптимум роста 30 °С; оптимум рН 7-9,5. На агаре возбудитель образует

«распластанные» колонии с неровными краями; на КА колонии окружены широкой зоной гемолиза (см. рис. 4 вклейки). Со временем колонии приобретают характерный восковидный вид [от лат. *cera*, воск, свеча]. В жидких средах образует нежную плёнку на поверхности, белый хлопьевидный осадок и помутнение бульона. Бактерии проявляют высокую протеолитическую активность и разжижают желатину за 1-4 сут; все штаммы образуют лецитиназу и ацетоин. Образуют кислоту на средах с глюкозой и мальтозой.

Клинические проявления

B. cereus вызывает два типа пищевых отравлений (гастроэнтеритов).

- Отравления первого типа отличает укороченный инкубационный период (около 4-5 ч); характерны изнуряющие диарея и рвота. Заболевание развивается при употреблении пищи, обсеменённой большим количеством микроорганизмов.

- Отравления второго типа отравлений отличает более продолжительный инкубационный период (около 17 ч). Больные жалуются на схваткообразные боли в животе, диарею. Этот комплекс симптомов часто ошибочно принимают за пищевые отравления, вызванные клостридиями.

Принципы микробиологической диагностики

Диагностическим признаком считают обнаружение в подозрительных пищевых продуктах более 10^5 бактерий в 1 г/мл продукта либо 10^2 - 10^3 бактерий в 1 г/мл каловых и рвотных масс или промывных вод. Основные отличия *B. cereus* от *B. anthracis* - гемолитическая активность, подвижность, резистентность к пенициллину, быстрое разжижение желатины и непатогенность для белых мышей.

ГЛАВА 14. ФАКУЛЬТАТИВНО АНАЭРОБНЫЕ СПОРОНЕОБРАЗУЮЩИЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ

Эта группа бактерий включает виды, далёкие друг от друга в систематическом отношении, но такое объединение широко используют в медицинской бактериологии для облегчения решения практических задач. Большинство видов прихотливо и растёт только на сложных питательных средах. *Основной и быстро выявляемый дифференцирующий признак внутри этой группы - морфология бактериальных клеток.* В соответствии с этим выделяют бактерии правильной (листерии и лактобациллы) и неправильной (кори-небактерии и нокардии) формы.

Общие признаки этой группы бактерий:

- способны к росту в присутствии кислорода,
- представлены полиморфными (ветвящимися и неветвящимися) палочками, положительно окрашивающимися по Граму,
- спор не образуют.

БАКТЕРИИ ПРАВИЛЬНОЙ ФОРМЫ

Медицинское значение имеют бактерии родов *Listeria* и *Lactobacillus*. Они представлены палочковидными бактериями, способными образовывать короткие (до кокковидных) либо удлинённые (до нитевидных) формы.

Листерии

Род *Listeria* семейства *Corynebacteriaceae* отдела *Firmicutes* образуют небольшие палочковидные бактерии, образующие короткие цепочки из 3-5 клеток. В мазках из молодых S-колоний располагаются в виде палисадника либо V- и Y-образно. В молодых культурах представлены палочками и коккобациллами 1-2x0,5 мкм; в старых культурах образуют нитевидные формы до 20-200 мкм длиной. Бактерии подвижны (перитрихи) при выращивании при 20-25 °С; совершают характерные «кувыркающиеся» движения. Культивирование при 37 °С приводит к резкому снижению подвижности вплоть до её потери. Медицинское значение имеет *L. monocytogenes*, вызывающая листериоз - полиморфное заболевание, протекающее в большинстве случаев с поражением нервной ткани или в виде анги-нозно-септической формы.

Эпидемиология

Listeria monocytogenes распространена повсеместно. Листериоз - зооноз с природной очаговостью и множественными источниками инфекции. Основным природный резервуар - грызуны, травоядные и птицы, а также большинство сельскохозяйственных и домашних животных. Листерии устойчивы во внешней среде; при умеренных и низких температурах в почве сохраняются (и даже размножаются) в течение месяцев и лет. На фураже жизнеспособны до 3 лет; длительно переживают и размножаются в мясе и молоке при 4-6 °С. При кипячении погибают в течение 3-5 мин; также неустойчивы к действию дезинфицирующих веществ.

Заблеваемость у животных может носить эпизоотический характер (особенно у молодняка). Основные пути заражения - алиментарный и трансмиссивный (через кровососущих членистоногих). Характерный признак заболевания - выраженный моноцитоз в периферической крови, что обусловило видовое название возбудителя. Из организма больного животного возбудитель выделяется с мочой, испражнениями, носовым отделяемым, молоком, околоплодной жидкостью.

Заблеваемость у людей носит преимущественно профессиональный характер. Основные пути заражения - контактный (через кожу и слизистые оболочки), алиментарный, аэрогенный (при работе с кормами) и трансмиссивный. Листериоз регистрируют во всех возрастных группах, чаще у новорождённых, при нарушениях питания, у лиц с иммунодефицитами и сопутствующей патологией.

Бессимптомное носительство. Доказана возможность бессимптомного носительства возбудителя. У женщин листерии можно выделить из влагалища и шейки матки. Особую опасность представляет носительство у беременных, так как возможно заражение плода (трансплацентарно) и новорождённого (при аспирации инфицированных плодных вод).

Культуральные свойства

Листерии растут в интервале температур от 4 до 38 °С (особенно в присутствии небольших количеств глюкозы). Температурный оптимум 30-37 °С; физиологическое развитие происходит при 18-20 °С (температура оптимальна для образования жгутиков, но удлиняет срок выделения и роста культуры). Из биохимических свойств наиболее часто учитывают способность *L. monocytogenes* гидролизовать гиппурат, ферментировать глюкозу и рамнозу с образованием кислоты, а также инертность к манниту и крахмалу.

На твёрдых средах при сплошном посеве листерии образуют сплошной тонкий и голубоватый налёт, иногда с трудом обнаруживаемый. Культуры имеют характерный запах творога или молочной сыворотки, обусловленный накоплением продуктов углеводного обмена. Изолированные 24-48-часовые колонии мелкие (1-2 мм), больших размеров достигают на средах с глюкозой. Образуют S- и R-диссоциаты. S-колонии гладкие, резко очерченные, выпуклые (позднее происходит их уплотнение с центральным возвышением), прозрачные, бесцветные или нежно-голубоватые, в падающем свете серовато-молочные (рис. 6 вклейки). На КА могут быть

окружены зоной р-гемолиза; увеличение гемолитической активности наблюдают при уменьшении содержания O₂. R-колонии шероховатые, с утолщённым зазубренным краем и возвышающейся грубозернистой массой, достигают 1,5-3 мм; S-R-переход сопровождается снижением гемолитической активности и потерей вирулентности.

В жидких средах дают равномерное помутнение, с последующим выпадением осадка; осадок слизистый, трудно диспергируемый, иногда поднимается в виде косички. Культивирование при 21 °С сопровождается характерным помутнением с образованием поверхностного «купола» и спускающегося вниз хвостика (так называемый «зонтик»).

В полужидких средах дают рост по уколу, более обильный у поверхности (факультативный аэроб) с отходящим помутнением (особенно на глубине 3-5 мм). В МПЖ некоторые 10-суточные культуры образуют перпендикулярные выросты; в желатине с глюкозой растут в виде «щёточки» или «вязанки хвороста».

Антигенная структура

У листерий выделяют O- и H-Ag; по структуре пяти термолabileльных жгутиковых (H-) и четырнадцати термостабильных углеводных соматических Ag выделено 16 сероваров. Три серовара (4b, 1/2b, 1/2a) вызывают 90% всех случаев листериоза человека.

Патогенез поражений

Поскольку заболевание развивается только у 20% инфицированных лиц, то *листериоз можно рассматривать как оппортунистическую инфекцию*. Входные ворота для возбудителя - миндалины, слизистые оболочки глаз, дыхательных путей, полости рта и кишечника, а также микротравмы кожных покровов. Возбудитель может диссеминировать по кровеносным и лимфа-

тическим путям и проникать в различные органы и ткани, в том числе мозговые оболочки и ЦНС. Основным фактор патогенности листерий - эндотоксин. Другие факторы патогенности: интерналин, листериолизин O, фосфолипазы.

Интерналин - мембранный белок, облегчающий проникновение бактерий в макрофаги и эндоте-лиоциты. Бактерии способны мигрировать из фаголизосом и вегетировать в цитоплазме клеток.

Листериолизин O - гемолизин, вызывающий повреждение мембран фаголизосом; считается основным фактором вирулентности.

Фосфолипазы вызывают растворение клеточной мембраны и проникновение в клетки, в том числе и макрофаги (что защищает возбудитель от действия АТ). Дочерние популяции связывают и полимеризуют актин инфицированных клеток, что нарушает подвижность макрофагов и приводит к их аккумуляции в кровотоке (моноцитоз).

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода заболевания составляет 2-4 нед; заболевание начинается остро, с подъёмом температуры тела до 38-41 °С, ознобом, головной болью, тошнотой, рвотой и т.д. Нередко наблюдают гриппоподобный комплекс, боль при глотании, лимфадениты и конъюнктивиты. Температура держится 7-14 сут (3-22 сут), затем литически (реже критически) падает. Отмечают инъекцию склер и гиперемии лица. С 1-5-го дня болезни может появиться полиморфная сыпь, исчезающая ко времени окончания лихорадочного периода. *По типу течения выделяют острые, подострые, хронические и abortивные инфекции. По характеру проявлений выделяют следующие формы - ангинозно-септическую (с мононуклеозом), окуло-глангулярную, септико-тифозную, листериоз ЦНС, листериоз беременных, септико-гранулема-тозную (сепсис*

новорождённых) и др. Прогноз заболеваний серьёзный; 30% случаев листериоза взрослых (60% у лиц с иммунодефицитами) заканчивается фатально. Особую опасность представляет внутриутробное заражение плода, обычно приводящее к выкидышам или мертворождениям. У плода или новорождённого наблюдают многочисленные абсцессы и гранулёмы (листериомы), напоминающие таковые при миллиарном туберкулёзе. Особенно много очагов развивается в лёгких, печени и ЦНС. Менингиты возникают в течение 3 нед после рождения; молниеносные формы листериоза новорождённых сопровождаются 54-90% смертностью.

Принципы микробиологической диагностики

Основу распознавания заболевания составляют выделение и идентификация возбудителя.

Бактериологические исследования. Материалы для исследования - кровь, СМЖ, слизь из зева, пунктаты увеличенных лимфатических узлов, у новорождённых дополнительно - меконий, пупочная кровь; секционный материал (кусочки мозга, печени, селезёнки, лимфатические узлы). Посевы рекомендуют делать в первые 7-10 сут болезни. Кровь и СМЖ засевают на плотные среды (глюкозный, глюкозо-печёночный или КА с глюкозой). Выросшие колонии отбирают для дальнейших исследований по наличию гемолитической активности (на средах с кровью) либо по способности приобретать сине-зелёную окраску при косом освещении.

Серологические исследования. Обычно ставят РА с листериозным диагностикумом. Реакция специфична и положительна со второй недели с последующим нарастанием титра АТ; последние сохраняются не менее 1-2 лет после выздоровления (реакция может быть использована для ретроспективного анализа).

Биологическая проба. Лучше всего использовать белых мышей, иммуносупрессированных введением кортизона (4-5 мг в/м за 4 ч до заражения). После гибели животного (обычно на 2-6-е сутки) проводят посев материала из различных органов. Следует помнить, что листерии размножаются в мёртвых тканях, и для избежания диагностических ошибок *часть патологического материала следует поместить в стерильные пробирки и хранить в течение 510 сут при температуре 4-6 °С, а затем подвергнуть повторному исследованию.*

Лечение и профилактика

Основу лечения и профилактики составляет проведение адекватной антибиотикотерапии (цефалоспорины, аминогликозиды). Ведущее значение в профилактике листериоза имеют соответствующие ветеринарно-санитарные мероприятия. Определённый вклад вносят своевременное проведение дератизации и немедленное изъятие и уничтожение продуктов, испорченных грызунами (или подозрительных продуктов!). Больных лиц следует госпитализировать, а за населением неблагополучного пункта устанавливают наблюдение.

Лактобациллы

Род *Lactobacillus* семейства *Lactobacillaceae* отдела *Firmicutes* состоит из палочковидных бактерий размером 1,0-10х0,5-1,2 мкм. Лактобациллы обнаруживают в молочных, зерновых и мясных продуктах, сточных водах, пиве, вине, фруктах и соках, соленьях и маринадах. Они паразитируют в полости рта, кишечном тракте и влагалище многих теплокровных животных и человека, обычно не вызывая развития патологических процессов. *Большинство видов неподвижны.* При окраске по Граму или метиленовым синим у некоторых штаммов выявляют биполярные тельца, цитоплазматическую зернистость и исчерченность. Могут расти на воздухе, но некоторые при выделении оказываются строгими анаэробами; в аэробных условиях лучше растут при внесении в среду тиогликолята и цистеина. Расщепляют углеводы; *при сбраживании глюкозы рН снижается на одну единицу и более;* не менее половины конечных углеродных

метаболизмом составляет лактат. Нитраты не восстанавливают, желатину не разжижают, казеин не расщепляют, индол и H_2S не образуют. Бактерии требовательны к составу питательных сред и нуждаются во внесении в них аминокислот, витаминов, жирных кислот, углеводов и производных нуклеиновых кислот (индивидуальные для каждого вида). На КА образуют сероватые S-колонии, окружённые зоной α -гемолиза. Температурный оптимум 30-40 °С; оптимум pH 5,55,8. Видовую принадлежность определяют по биохимическим свойствам и способности расти при разных температурах.

Образование молочной кислоты. Все лактобациллы разделяют по количественному образованию молочной кислоты при ферментации углеводов: различают строго гомоферментативные (85% лактата), строго гетероферментативные (50% лактата) и факультативно-гетероферментативные (около 65-70% лактата) лактобациллы.

Образование газа. Лактобациллы также можно классифицировать по некоторым фенотипическим признакам. Например, по способности образовывать газ при ферментации глюкозы их разделяют на газонеобразующие и газообразующие.

Газонеобразующие бактерии чаще образуют плоские и узорчатые колонии на плотных средах (например, молочно-печёночный агар с дрожжевым экстрактом); в мазках преимущественно выявляют палочки и нитевидные формы.

Газообразующие бактерии образуют мягкие вязкие беловатые колонии; в мазках доминируют короткие палочки (рис. 7 вклейки).

Роль и распространённость. Лактобациллы используют в пищевой промышленности для получения различных молочнокислых продуктов, хлебобулочных изделий, алкогольных напитков (одновременно они бывают и причиной их порчи). В организме человека лактобациллы - члены микробных сообществ и выделяются с первых месяцев жизни; лактобациллы непосредственно участвуют в поддержании гомеостаза слизистых оболочек и препятствуют колонизации полостей условно-патогенными микроорганизмами. Также они участвуют во многих ферментативных процессах организма человека, продуцируют молочную кислоту, аминокислоты, витамины, H_2O_2 , лизоцим и другие антибиотические субстанции.

Дети. У детей лактобациллам принадлежит важная роль в поддержании нормального пищеварения; в ЖКТ они сбраживают лактозу до молочной кислоты, оказывающей антисептическое действие и трансформирующей кальций, поступающий с пищей, в усвояемый лактат кальция. Также они стимулируют всасывание витаминов и аминокислот; усиливают активность лизоцима и прочих гидролаз (за счёт создания кислой среды).

Видовой состав лактобацилл в различных отделах ЖКТ и влагалище неодинаков.

- В полости рта обитают *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus* (палочка Боаса-Опплера), *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. brevis* и *L. buchneri*.

- В желудке и тонкой кишке лактобацилл нет или их очень мало (от 0 до 10^3 - 10^4 в 1 г фекалий).

- В толстой кишке содержание лактобацилл в 1 г фекалий достигает 10^6 - 10^{10} и более; основные виды - *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. brevis*. Изменения в рационе приводят к варьированию видового состава; растительная диета способствует колонизации лактобацилл, преобладание в рационе мяса подавляет её.

- Во влагалище лактобациллы идентифицируют как влагалищные палочки, или лактобациллы Дёдерляйна; у 80% здоровых женщин их число достигает 10^5 - 10^7 /мл; обычно выделяют 5-6 видов - *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. cellobiosus*.

Свойства лактобацилл используют для коррекции дисбактериозов ЖКТ и влагалища, применяя лактобактерин, ацидофилин, «наринэ», пропионовоацидофильное молоко.

Патогенность. Лактобациллы практически не проявляют патогенных свойств, но в составе микробных ассоциатов они способны вызывать кариес и последующие эндокардиты (*L. plantarum*), язвенные вульвиты и гастриты (у пациентов с болезнями злокачественного роста), а также хориоамниониты. Рост бактерий ингибируют пенициллины, клиндамицин и цефалотин. Для эффективного лечения лактобациллярных эндокардитов рекомендовано сочетание пенициллинов с аминогликозидами.

БАКТЕРИИ НЕПРАВИЛЬНОЙ ФОРМЫ

Группа включает представителей родов *Corynebacterium*, *Actinomyces* и *Nocardia*, представленные неподвижными палочковидными бактериями, способными к ветвлению.

Коринебактерии

Род *Corynebacterium* семейства *Corynebacteriaceae* отдела *Firmicutes* образуют неподвижные прямые или слегка изогнутые палочки, окружённые микрокапсулой. Большинство видов - облигатные паразиты слизистых оболочек - патогенные и условно-патогенные для животных и человека виды.

Возбудитель дифтерии

Дифтерия - острое инфекционное заболевание, вызываемое *Corynebacterium diphtheriae* и её токсином. Бактерии вызывают воспаление воздухоносных путей, реже кожных покровов. Токсин приводит к дегенерации периферических нервов, сердечной мышцы и других тканей. Заболевание известно очень давно; ещё сирийский врач и историограф Аретей Каппадокийский (I век до н.э.) охарактеризовал его как «злокачественные язвы на миндалинах, ведущие к удушью». Последнее настолько характерно, что в Испании дифтерию называли «гаротильо», то есть маленькая гарота (устройство, применяемое для удушения преступников). Возбудитель - *Corynebacterium diphtheriae*; впервые его выделил Э. Клёбс (1883), а чистую культуру возбудителя получил Ф. Лёффлер (1884).

Эпидемиология. Резервуар инфекции - человек (больной, реконвалесцент, бактерионоситель); наибольшую эпидемическую опасность представляют больные лица. Реконвалесцент-ы выделяют дифтерийную палочку в течение 15-20 сут. Основной путь передачи - воздушно-капельный; также возможно заражение через предметы, используемые больным, и инфицированные пищевые продукты (обычно молоко). При комнатной температуре во влажной атмосфере возбудитель сохраняется долго. При 60 °С он отмирает в течение 10 мин; в высушенных плёнках выдерживает температуру 98 °С в течение 1 ч, а при комнатной температуре может сохраняться до 7 мес. На игрушках сохраняется до

2 нед, в пыли - до 5 нед, в воде и молоке - до 6-20 сут, на рассеянном свете остаётся жизнеспособным до 8 ч. Дезинфектанты и антисептики инактивируют бактерии в течение 5-10 мин. Пик заболеваемости приходится на осенне-зимние месяцы.

Морфология и тинкториальные свойства

Дифтерийная палочка (палочка Клёбса-Лёффлера) представлена тонкими, слегка изогнутыми или прямыми палочками 1-12x0,3-0,8 мкм. Часто они утолщены на концах и напоминают булаву [от греч. *coryne*, булава]. Для дифтерийной палочки характерен выраженный полиморфизм. Наряду с типичными формами, можно обнаружить карликовые, кокковидные, толстые с колбовидным утолщением на концах, гигантские, клиновидные, нитевидные,

ветвящиеся и другие формы. На поверхности бактерий имеются фимбрии, облегчающие адгезию к эпителию слизистой оболочки. У *C. diphtheriae* выделяют три биовара - *gravis*, *mitis* и *intermedius*. • Бактерии биовара *gravis* - короткие неправильной формы, с небольшим количеством метакроматических гранул.

- Биовар *mitis* образуют длинные изогнутые полиморфные палочки, содержащие много волютиновых зёрен (тельца Бабеша-Эрнста).

- Бактерии биовара *intermedius* наиболее крупные, с бочковидными очертаниями; для них характерны поперечные перегородки, разделяющие клетку на несколько сегментов. В настоящее время биовар *intermedius* относят в группу *gravis*. *C. diphtheriae* хорошо окрашивается основными анилиновыми красителями, грамположительна (окрашивание не всегда равномерно). Для окраски мазков обычно применяют щелочной метиленовый синий по Лёффлеру либо окрашивают их по Найссеру. Бактерии способны образовывать L- и фильтрующиеся формы. В ющиеся в мазках беспорядочными скоплениями, мазках *C. diphtheriae* располагаются в виде «растопыренных пальцев», «иероглифов», «паркета», латинских букв V, Y, L и т.д. (рис. 14-1).

Культуральные свойства. Дифтерийная палочка хорошо растёт при 36-37 °С; оптимум pH 7,4-8,0. Питательные среды должны содержать аминокислоты, витамины, ионы металлов (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} и др.), играющие роль ростовых факторов. На сывороточных средах (например, среде Лёффлера) дают рост уже через 10-12 ч; за это время контаминирующая микрофлора обычно не успевает развиваться. Наибольшее распространение получили среды с теллуридом, так как возбудитель резистентен к высоким концентрациям теллурида калия или натрия, ингибирующим рост сопутствующей микрофлоры. На таких средах возбудитель образует серовато-чёрные колонии в результате восстановления теллурида до металлического теллура, аккумулирующегося внутри бактерий (рис. 8, см. цветную вклейку). В жидких средах образуют помутнение и осадок; их образование и характер варьируют у различных биоваров.

Биохимическая активность. *C. diphtheriae* сбраживает с образованием кислоты глюкозу, мальтозу, галактозу, декстрин; не разлагает сахарозу, лактозу, маннит. Способность разлагать крахмал и гликоген варьирует у различных штаммов, что используют для внутривидовой дифференцировки. Дифтерийная палочка не гидролизует мочевины и не образует индол. *Отсутствие способности ферментировать сахарозу и разлагать мочевины - дифференцирующий признак, отличающий дифтерийную палочку от других коринебактерий. Другой дифференцирующий признак - способность разлагать цистин.* *C. diphtheriae* продуцирует каталазу, гиалуронидазу, нейраминидазу, ДНКазу и др. Дифтерийная палочка лизирует эритроциты морской свинки и кролика. Биовары возбудителя дифтерии существенно различаются по культуральным (табл. 14-1) и биохимическим свойствам. Среди дифференциально-диагностических биохимических тестов наиболее часто учитывают различия в способности разлагать углеводы и мочевины (рис. 14-2).

Бактериоцины. Дифтерийная палочка образует бактериоцины (корицины), обладающие узким спектром действия. Гены, кодирующие синтез бактериоцинов, передаются плазмидами. Бактериоцины образуют как токсигенные, так и нетоксигенные штаммы.

Токсинообразование

C. diphtheriae продуцирует мощный экзотоксин - основной фактор патогенности. *Нетоксигенные штаммы не вызывают развитие заболевания.* В чистом виде токсин впервые получили Э. Ру и А. Иерсён (1888), что явилось решающим моментом для установления этиологической роли микроорганизма. *Токсин проявляет все свойства экзотоксина* (термолабильный, высокотоксичный, иммуногенный белок, нейтрализуемый антитоксической сывороткой). Нативный токсин - полипептид с M_r около 72 000; его образуют фрагменты А (проявляет ферментативную активность) и В (взаимодействует с клеточными рецепторами, облегчая проникновение фрагмента А). Клетки всех чувствительных организмов способны рецептировать В-фрагмент и поглощать молекулу посредством эндоцитоза. В кислой среде эндосом (фаголизосом) дисульфидные связи, объединяющие оба компонента, разрушаются, фрагмент В взаимодействует с мембраной эндосомы, облегчая проникновение фрагмента А в цитоплазму. Последний устойчив к денатурации и длительно сохраняется в цитозоле. Механизм цитотоксического действия связан с модификацией белков через АТФ-рибозилирование. Подобным свойством обладают многие токсины, но лишь дифтерийный токсин и токсин *A Pseudomonas aeruginosa* имеют специфичную мишень - фактор элонгации 2 - трансферазу, ответственную за наращивание (элонгацию) полипептидной цепи на рибосоме.

Дифтерийный токсин катализирует перенос АТФ-рибозы от цитоплазматического никотинамиддинуклеотида (НАД) к фактору элонгации 2, приводя к АТФ-рибозилированию гистициновых остатков в молекуле фактора с необратимым блокированием элонгации полипептидной цепи (то есть любого белкового синтеза). Немодифицированный фактор элонгации 2 образует комплекс с ГТФ и тРНК, связывающийся с мРНК в эукариотических клетках, после чего возможно встраивание аминокислот в синтезируемую белковую молекулу. Токсин ингибирует белковый синтез, в том числе и в миокарде, приводя к структурным и функциональным нарушениям, способным вызвать смерть больного. Результат действия токсина на нервную ткань - демиелинизация нервных волокон, часто приводящая к параличам и парезам.

Способность к токсинообразованию проявляют лишь лизогенные штаммы *Corynebacterium diphtheriae*, инфицированные бактериофагом (р-фаг), несущим ген *tox*, кодирующий структуру токсина. Образование последнего наиболее выражено при вступлении бактериальной популяции в стадию отмирания. Переход умеренного фага в литическую форму мало влияет на синтез токсина.

Активность токсина. 1 ЕД Dim дифтерийного токсина равна наименьшей концентрации, убивающей морскую свинку массой 250 г на 4-5-е сутки (около 0,25-0,1 мкл). Для получения анатоксина используют штамм PW-8 либо его варианты - «Массачусетс», «Торонто» и др.

Антигенная структура. У *C. diphtheriae* выделяют О- и К-Аг. Липидные и полисахаридные термолабильные фракции О-Аг коринебактерий преимущественно представлены межвидовыми Аг. Поверхностные термолабильные К-Аг (нуклеопротеиды, белки) обеспечивают видовую специфичность и проявляют выраженную иммуногенность. С помощью анти-К-сывороток дифтерийные бактерии разделяют на серологические варианты (около 58). Биовар *mitis* включает 40 сероваров, *gravis* - 14, *intermedius* - 4. В отечественной практике используют диагностические агглютинирующие, неадсорбированные сыворотки; в том числе полигрупповые и к серо-варам для РА на стекле и в пробирках.

Патогенез поражений. *Входные ворота для возбудителя - слизистые оболочки носоглотки, иногда глаз, половых органов (у женщин), повреждённые кожные покровы.* Дифтерийная палочка колонизирует ткани в месте внедрения, вызывая развитие местного фибринозного воспаления.

При этом тип воспаления зависит от строения слизистых оболочек. Например, в однослойном цилиндрическом эпителии дыхательных путей формируется крупозное воспаление, на многослойном плоском эпителии образуется жёлто-серая фибринозная плёнка, плотно спаянная с прилежащими тканями. *Подобный тип поражений известен как дифтеритическое воспаление.* Разрастание плёнок и переход процесса на воздухоносные пути могут вызвать асфиксию. Системные проявления обусловлены действием токсина, поражающего нервную систему (преимущественно периферические симпатические узлы), сердце и сосуды, надпочечники и почки. Ферменты *C. diphtheriae* (гиалуронидаза, нейраминидаза, фибринолизин) обеспечивают проникновение возбудителя в различные ткани, включая кровоток. Однако (в отличие от токсемии) бактериемия клинически не проявляется.

Клинические проявления. Продолжительность инкубационного периода заболевания 2-12 сут. В клинической картине дифтерии выделяют сменяющие друг друга период манифестных проявлений фибринозного процесса и ранних токсических осложнений (первые 5-10 сут), период поздних токсических осложнений (не обязательный, с 10-12 сут до 6 нед), период реконвалесценции (2-3 мес после исчезновения проявлений). В зависимости от локализации процесса выделяют поражения ротоглотки (наиболее часто), дыхательных путей, носа и редкой локализации (глаза, наружные половые органы, кожа, раневые поверхности).

Принципы микробиологической диагностики

С целью раннего выявления заболевания и определения носителей необходимы выделение и идентификация возбудителя, а также определение его способности к токсинообразованию. Материалом для исследования служат дифтеритические плёнки, слизь из носоглотки или отделяемое из подозрительных поражений кожных покровов. Забор материала проводят двумя стерильными тампонами: один используют для посева, с другого делают мазки и окрашивают их по Граму и Нейссеру. Взятый материал следует доставлять в лабораторию не позднее чем через 3 ч. Бактериоскопия. Окраска по Граму не является специфичной, так как бактерии сравнительно плохо воспринимают красители, но позволяет косвенно идентифицировать непатогенные коринебактерии, располагающиеся в виде палисада (параллельно) или в виде китайских иероглифов. Окраска по Нейссеру позволяет выявить характерные зёрна Бабёша-Эрнста и отличить дифтерийную палочку от ложнодифтерийной палочки *C. pseudodiphtheriticum* (*C. hofmannii*), часто обитающей в носоглотке. Культивирование. Бактерии выделяют посевом на селективные среды с теллуридом (например, Клауберга II или Маклеода), *ложнодифтерийная палочка* (палочка Хбфманна) *теллур не восстанавливает* (см. рис. 8 на вклейке). Для выделения чистой культуры часть подозрительной колонии засевают на скошенный сывороточный агар, вторую часть - на твёрдую питательную среду для определения токсигенности и (не обжигая петли) проводят определение цистиназной активности (проба Пизу). *При положительном результате наблюдают образование коричневого облачка вокруг линии укола.* Чистую культуру идентифицируют на средах Хейсса, пользуясь укороченным «пёстрым» рядом (глюкоза, мальтоза, сахароза, мочевины), что позволяет отличить *C. diphtheriae* от непатогенных коринебактерий (рис. 14-3). Для идентификации биоваров используют «длинный» ряд углеводов, включающий крахмал и гликоген. Для полной идентификации можно исследовать способность бактерий расти в анаэробных условиях посевом уколом в столбик 0,5% сахарного агара (растёт только *C. diphtheriae*). Определение токсигенности. Определение *in vivo*. Проводят подкожным или внутрикожным заражением 0,5-1,0 мл бактериальной культуры морских свинок массой 250 г. За 24 ч до заражения одному животному вводят дифтерийный антитоксин. При положительном результате неиммунизированные животные погибают в течение 3-5 сут. Определение *in vitro*. Способность к образованию токсина можно определять заражением куриных эмбрионов или культур клеток с регистрацией последующего цитопатического эффекта. Можно использовать твердофазный ИФА с использованием антитоксинов, меченных пероксидазой. Также предложены ПЦР и ДНК-зонды для обнаружения гена *tox* в бактериальной хромосоме. Однако наибольшее распространение получил тест

иммунодиффузии Илека. На среду с пониженным содержанием Fe^{2+} (для более интенсивного токсинообразования) проводят посев исследуемого изолята и эталонных токсигенного и нетоксигенного штаммов параллельными штрихами. На выросшие колонии накладывают полоску фильтровальной бумаги, пропитанной дифтерийным антитоксином. Образующийся токсин и антитоксин диффундируют в агар и в месте встречи образуют линии преципитации, так называемые «усы» или «стрелы» (рис. 14-4). На практике используют модификацию метода. Полоску бумаги, пропитанную антитоксином (0,25 МЕ), наносят на чашку, а исследуемые культуры засевают бляшками по обе стороны бумажной полоски. Контролем служит заведомо токсигенная культура, также посеянная «бляшкой». В результате встречной диффузии токсина и антитоксина в месте их контакта выпадает линия преципитации, сливающаяся с линией преципитации токсигенного штамма (рис. 14-5). Фаготипирование. Для дифференциальной диагностики возбудителей используют набор из 9 коринефагов. С его помощью можно типировать большинство токсигенных и нетоксигенных штаммов биовара *gravis*.

Лечение. Поскольку патогенез поражений обусловлен действием токсина, то основу специфической терапии составляет противодифтерийная лошадиная сыворотка (антитоксин), содержащая не менее 2000 международных антитоксических единиц активности (МЕ) в 1 мл. Антитоксин вводят внутримышечно или внутривенно в дозах, соответствующих тяжести заболевания (от 20 000 до 100 000 ЕД). Открытие Э. Бёрингом и Ш. Китазато антитоксических свойств сыворотки иммунных животных явилось одним из важных этапов развития микробиологии, а практическая медицина получила возможность противостоять этой высоколетальной инфекции. Параллельно назначают эффективные антимикробные препараты (аминогликози-

ды, цефалоспорины), а также проводят симптоматическую терапию. Выписку больных проводят только после двукратного отрицательного результата бактериологического обследования. Профилактика

Первоначально развитие заболевания предупреждали введением инактивированного антисывороткой дифтерийного токсина. В настоящее время основу профилактики дифтерии составляют плановая или постэкспозиционная вакцинация. Для иммунопрофилактики применяют дифтерийный анатоксин, разработанный Г. Рамоном. Препарат - токсин, лишённый ядовитых свойств обработкой 0,4% раствором формалина и выдержкой в термостате при температуре 40 °С в течение 30 сут, но сохранивший иммуногенность. Очищенный и концентрированный препарат входит в состав комбинированных вакцин -

АКДС, АДС, АДС-М.

- Наличие и содержание АТ к дифтерийному токсину определяют в РПАГ и РНАТ.
- Постинфекционный иммунитет нестойкий, поэтому реконвалесценты подлежат вакцинации в общем порядке.
- При выявлении заболевания в детских коллективах контактировавших с заболевшими детьми лиц следует обследовать бактериологически и изолировать от коллектива на 7 сут.

Дифтероиды

По морфологическим и культуральным свойствам с возбудителями дифтерии сходна большая группа бактерий рода *Corynebacterium*, обозначаемых как коринеформные бактерии, или дифтероиды. Они широко распространены в окружающей среде - в воздухе, почве, пыли, воде, а также в некоторых пищевых продуктах (например, молоке). Нередко их выделяют от клинически здоровых лиц, а также при различных заболеваниях (часто их роль остаётся неясной).

От человека их наиболее часто выделяют со слизистой оболочки носоглотки (где они доминируют наравне со стафилококками), с эпителия влагалища (особенно у детей), а также из различных ран. Большинство видов представлено организмами-комменсалами, например, *S. pseudodiphtheriticum* (палочка Хбфманна) и *S. xerosis*, но также имеются виды, вызывающие спорадические поражения человека (*S. ulcerans*, *S. jeikeium*, *S. urealyticum*, *S. minutissimum* и др.).

Нокардии

Нокардии широко распространены в природе; обычно их выделяют из почвы и с разлагающихся органических субстратов. У человека вызывают оппортунистические инфекции - но-кардибзы. Своё название род получил в честь французского бактериолога Э. Нокара, впервые выделившего бактерии в 1888 г.

Эпидемиология. Большинство заболеваний развивается после различных травм в результате заноса микроорганизмов в рану с почвой и фрагментами органических остатков. Заражения при ингаляции возбудителей либо при проникновении их через повреждённые кожные покровы и слизистые оболочки ЖКТ обычно наблюдают у лиц с хроническими заболеваниями, длительно применяющих глюкокортикоиды, а также с нарушениями иммунного статуса. Поражения у человека вызывают *Nocardia asteroides* (80-90% всех случаев), *N. brasiliensis* (56% случаев) и *N. caviae* (около 3% поражений). Нокардии не входят в состав нормальной микрофлоры человека, хотя их иногда и выделяют от клинически здоровых лиц. Несмотря на то, что нокардиозы - сравнительно редкая патология, ежегодно в мире регистрируют не менее 1500-2000 случаев заболевания.

Морфология и тинкториальные свойства. На ранних стадиях роста нокардии образуют относительно развитый мицелий, растущий по поверхности и проникающий в глубину среды; клетки прямые или изогнутые с частым ветвлением диаметром 0,3-1,3 мкм. С возрастом в нитях образуются перегородки (более выражены в боковых ветвях), и мицелий распадается на отдельные палочковидные или кокковидные элементы; последние размножаются бинарным делением и иногда почкованием. В старых культурах можно обнаружить многоядерные нити, образующиеся в результате неполного разделения мицелия. Бактерии образуют воздушные конидии, часто видимые только в микроскоп. В патологическом материале представлены грамположительными ветвящимися нитями и дифтероидными элементами (рис. 14-6). Относительно кислотоустойчивы, особенно в патологическом материале; окрашиваются по Цилью-Нильсену (вследствие низкой кислотоустойчивости более пригодна окраска по Киньону).

Культуральные свойства

Нокардии хорошо растут на обычных питательных средах (МПА, МПБ с глюкозой, КА, агар Сабурб и др.); температурный оптимум 28-37 °С.

На твёрдых средах на 2-3-и сутки нокардии образуют мелкие гладкие влажные бактериальные колонии тестоватой консистенции; через 72 ч их поверхность становится исчерченной и петливой, а на 10-14-е сутки они приобретают типичный вид с приподнятым и извитым петлистым центром и фестончатыми, неровными краями. Часто образуют воздушный белёсый мицелий. Многие виды, особенно сапрофиты, образуют пигменты от кремового до красного цвета, иногда диффундирующие в среду. В жидких средах нокардии первоначально образуют тонкую прозрачную плёнку, напоминающую растёкшуюся каплю жира. Постепенно плёнка приобретает кремово-жёлтый цвет и достигает краёв пробирки. Также возможен придонный рост в виде «комочков ваты» или плотных «зёрен». Биохимические свойства изучены сравнительно плохо. Нокардии не нуждаются во внесении в среду ростовых факторов. Ферментируют различные углеводы, при этом *N. asteroides* разлагает только глюкозу.

Патогенез и клинические проявления. У нокардий не выявлено сколько-нибудь значимых факторов патогенности. Бактерии синтезируют каталазу и супероксид дисмутазу, защищающие их от O₂-зависимых микробицидных факторов фагоцитов. Они также образуют сидеро-фор - нокобактин, связывающий Fe²⁺ в тканях. Наиболее часто регистрируют лёгочные нокар-диозы, вызванные *N. asteroides*. Ингалированные бактерии поглощают альвеолярные макрофаги, в цитоплазме которых они сохраняют жизнеспособность, блокируя фаголизосомальное слияние и ингибируя синтез лизосомальных ферментов. Циркуляция возбудителя приводит к формированию множественных сливных абсцессов и гранулём в лёгких, органах средостения, мягких тканях грудной клетки и т.д. Безусловную опасность представляют диссеминированные инфекции, часто сопровождающиеся поражениями ЦНС с развитием менингеальных симптомов, параличей и парезов. При диссеминированных формах также отмечают поражения кожных покровов, почек, печени и лимфатических узлов. После травматического занесения возбудителя в рану развиваются инфекции подкожной клетчатки с образованием неглубоких пустул на месте его проникновения. При прогрессировании процесса клинические проявления напоминают ма-дуромикоз или кожный актиномикоз и сопровождаются образованием спонтанно дренирующихся синусов, гранулём и абсцессов. Наиболее часто подкожные нокардиозы вызывает *N. brasiliensis*.

Принципы микробиологической диагностики. Факт инфицирования легко установить микроскопией клинического материала (мокроты, гнойного отделяемого, биоптатов). В отделяемом очагов из поражений находят мягкие, беловато-кремовые гранулы 0,5-1 мм диаметром, содержащие бактерии. Гранулы образованы микроколониями возбудителей. Окончательный диагноз устанавливают на основании выделения и идентификации возбудителя. *Отличительный признак нокардий - высокая чувствительность к рифампицину.*

Лечение. Удовлетворительных результатов можно достичь применением сульфаниламидов; иногда их комбинируют с антибиотиками.

ГЛАВА 15. АНАЭРОБНЫЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ

Эта группа анаэробных бактерий включает виды, далёкие друг от друга в систематическом отношении, но такое объединение широко используют в медицинской бактериологии для облегчения решения практических задач. Большинство видов прихотливо и растёт только на сложных средах. *Основной и быстро выявляемый дифференцирующий признак внутри этой группы - морфология бактериальных клеток.* В соответствии с этим выделяют бактерии правильной (кlostридии) и неправильной (актиномицеты и бифидобактерии) формы.

Общие признаки бактерий этой группы:

- не способны расти в присутствии кислорода,
- представлены полиморфными (ветвящимися и неветвящимися) палочками, положительно окрашивающимися по Граму,
- кlostридии образуют споры.

СПОРООБРАЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ РОДА *CLOSTRIDIUM*

Род *Clostridium* семейства *Bacillaceae* отдела *Firmicutes* образуют подвижные (перитрихи) и (реже) неподвижные палочки. *Отличительная особенность кlostридий - способность образовывать овальные или круглые эндоспоры.* Споры могут располагаться центрально, субтерминально или терминально. У кlostридий, обитающих в почве, споры располагаются центрально, придавая клеткам веретенообразную форму, что определило название рода [от греч. *khster*, веретено]. Кlostридии хемоорганотрофы; одни виды проявляют сахаролитическую, другие - протеолитическую активность (возможно сочетание этих свойств либо их полное отсутствие). *Наиболее характерные признаки кlostридий - способность вызывать масляно-*

кислое брожение и анаэробный распад углеводов с образованием масляной кислоты и газов (СО₂, водород, иногда метан). Большинство видов - строгие анаэробы, но также известны и аэротолерантные виды. Клостридии обитают в почве, на дне пресных и солёных водоёмов, в кишечнике человека и животных. Некоторые виды патогенны для человека и животных, а некоторые нашли применение в промышленном производстве органических кислот и спиртов.

Возбудитель газовой гангрены

Газовая гангрена [от греч. *gangraina*, разъедающая язва] - раневая инфекция, характеризующаяся крепитацией окружающих тканей из-за пузырьков газа (продукта ферментативного действия клостридий), некрозом тканей в результате уменьшения или полного отсутствия кровоснабжения и общими септическими проявлениями. Наиболее часто её вызывают *C. perfringens*, *C. novyi* и *C. septicum*; реже - *C. histolyticum*, *C. bifementans*, *C. ramosum*, *C. sporogenes*, *C. fallax*, *C. sordelli* и др.

Clostridium perfringens

Один из наиболее распространённых патогенных видов. По способности образовывать четыре главных токсина (а-, β-, δ- и ι-) микроорганизмы разделяют на шесть сероваров - А, В, С, D, Е и F. Основной возбудитель заболеваний человека - бактерии типа А. При некротических энтеритах иногда выделяют микроорганизмы типов С и F; возбудители типа D вызывают инфекционные энтеротоксемии. *C. perfringens* типа А открыли американские патологи У. Уэлч и Г. Наттелл (1892). Чистую культуру получили французские бактериологи А. Вейбн и Ж. Жубёр (1893), давшие ему название *perfringens* [от лат. *perfringo*, проламываться].

Эпидемиология. *C. perfringens* распространены повсеместно; бактерии выделяют из воды, почвы и сточных вод. Также они колонизируют кишечник животных и человека (выделяют у 25-35% здоровых лиц). У человека *C. perfringens* вызывает два типа поражений - газовую гангрену и пищевые токсикоинфекции.

Морфология и тинкториальные свойства. Вегетативные клетки (рис. 15-1) представлены короткими крупными палочками с обрубленными под прямым углом концами (0,6-1,0x1-1,5 мкм). Отличительные особенности бактерий - строго положительная окраска по Граму и отсутствие подвижности. *In vivo* образуют капсулы (единственный капсулообразующий вид среди патогенных клостридий). Бактерии хорошо окрашиваются анилиновыми красителями; в старых культурах могут быть грамотрицательными. Споры крупные, овальные, расположены центрально (у *C. perfringens* типа А - также субтерминально). Термоустойчивость спор сероваров В и D относительно невысока (погибают при кипячении в течение 15-30 мин), споры типов А и С более устойчивы и выживают при кипячении и даже автоклавировании в течение 1-6 ч. Спорообразование обычно происходит в почве и кишечнике организма-хозяина.

Культуральные свойства

По сравнению с другими клостридиями *C. perfringens* типа А относительно толерантна к кратковременным кислородным воздействиям и способна расти в высоких столбиках сред без герметизации вазелиновым маслом. На плотных средах бактерии образуют S- и R-колонию. S-колонии круглые, сочные, куполообразные, с гладкими ровными краями. Сначала они прозрачные, позднее становятся мутными, серовато-белыми. R-колонии неправильной формы, бугристые, с неровными шероховатыми краями; в глубине агара напоминают комочки ваты. На агаре Цёйсслера через 12-18 ч образуют гладкие сероватые колонии с ровными краями и плотным возвышением в центре. Колонии окружены зоной гемолиза; гемолиз может быть полным либо частичным. Характерное свойство колоний *C. perfringens* типа А, служащее дифференцирующим признаком, - способность менять серовато-белый цвет на зеленовато-оливковый после кратковременного пребывания в аэробных условиях

(рис. 9 вклейки). На желточном агаре бактерии образуют колонии, окружённые зоной перламутрового преципитата (фосфорилхолин), образующегося из лецитина куриного желтка под действием лецитиназы (рис. 10 вклейки). Рост в жидких и полужидких средах. Культуры *C. perfringens* типа А имеют характерный запах масляной кислоты. Оптимум рН 7,2-7,4, но могут расти в интервале 5,0-8,5. На средах, содержащих глюкозу, рост происходит очень бурно с образованием H_2 и CO_2 и заканчивается через 8-12 ч. Первые признаки роста на среде Кйтта-Тарбци могут проявляться уже через 1-2 ч (особенно при 43 °С) и проявляются помутнением и появлением пузырьков газа из-под кусочков печени при встряхивании (рис. 11 вклейки).

Антигенная структура. Выделяют 6 сероваров (А-Ф) *C. perfringens*, различающихся по антигенным свойствам продуцируемых экзотоксинов. Тип А включает много подтипов, идентифицируемых в РА, что облегчает диагностику в случаях пищевых токсикоинфекций и анаэробных раневых инфекций.

Биохимические свойства. Бактерии ферментируют углеводы с образованием кислоты и газа. От прочих клостридий *C. perfringens* отличает способность восстанавливать нитраты, расщеплять лактозу, образовывать лецитиназу. Протеолитическая активность слабая: разжижает желатину, не разлагает казеин. Интенсивно створаживают молоко с образованием крупнокачистой губчатого сгустка, напоминающего пену на волнах. Этот феномен известен как «штормовая реакция» (рис. 12 вклейки).

Патогенность. *Clostridium perfringens* типов А, С и D вызывают газовую гангрену, некротический энтерит и пищевые токсикоинфекции у человека и животных. Бактерии типов В, С, D и Е вызывают аналогичные заболевания только у животных.

Токсины

C. perfringens образуют как минимум 12 идентифицированных токсинов (ферментов) и энтеро-ротоксин. Для гиалуронидазы и дезоксирибонуклеазы (р- и v-токсины) токсичность не доказана; р-, у-, г)-, 8-, 9- и i-токсины обладают летальным свойством, но их биохимическая активность изучена недостаточно, и только а-, к- и ^-токсины - ферменты с выраженным токсическим действием. Мишени для основных токсинов - биологические мембраны в различных тканях. Поражения обуславливают ферментативные процессы, катализирующие гидролитическое расщепление и нарушение клеточной проницаемости с последующим отёком и аутолизом тканей, характерными для газовой гангрены.

а-Токсин (лецитиназа С). Продуцируют все типы *C. perfringens*, но наиболее интенсивно тип А. Проявляет дерматонекротизирующее, гемолитическое и летальное (убивает лабораторных животных при внутривенном введении) действие.

р-Токсин. Основные продуценты - бактерии типов В и С. Проявляет некротизирующее и летальное действие; гемолитического действия не оказывает. *In vivo* вызывает развитие некротических энтеритов;

5-Токсин. Основные продуценты - бактерии типов В и С. Проявляет летальное действие и гемолитическую активность (лизует эритроциты барана, но не эритроциты кролика или лошади).

9-Токсин. Основной продуцент - *C. perfringens* типа С; бактерии типов А, В, D и Е образуют его в меньших количествах. Проявляет дерматонекротизирующее, летальное действие и гемолитическую активность (разрушает эритроциты барана и лошади).

8- и i-Токсины. 8-Токсин продуцируют бактерии типов В и D, i-токсин - бактерии типа Е. Проявляют летальное и дерматонекротизирующее действие.

к-Токсин (коллагеназа и желатиназа). Продуценты - бактерии типов А, С, Е и некоторые штаммы типа D. Разрушает ретикулярную ткань мышц и коллагеновые волокна соединительной ткани. Оказывает летальное и некротизирующее действие.

Λ-Токсин (протеиназа). Проявляет активность экзоэнзима, обуславливающего некротические свойства. Расщепляет денатурированный коллаген и желатину; во многом напоминает действие фибринолизина.

у- и п-Токсины. Оказывают летальное действие на лабораторных животных; их биохимическая природа остаётся неизвестной.

р- и ν-Токсины (гиалуронидаза и ДНКаза). р-Токсин ответственен за повышение проницаемости тканей. ν-Токсин расщепляет нуклеиновые кислоты, тем самым нарушая реакции белкового синтеза.

Энтеротоксин. Продуценты - бактерии типов А и С, вызывающие пищевые токсикоинфекции. Термолабильный протеин, образующийся при споруляции бактерий в толстой кишке. Вызывает рвоту и диарею, оказывает летальное действие, а также обуславливает появление эритематозной кожной сыпи у лабораторных животных. Диарея развивается вследствие потери воды и электролитов за счёт дилатации и повышения проницаемости капилляров.

Клинические проявления

Газовая гангрена. Развивается при попадании *C. perfringens* на раневые поверхности, где бактерии активно размножаются в условиях пониженного содержания кислорода. Микроорганизмы, а чаще их споры могут быть занесены в рану из внешней среды, а также с кожи или из ЖКТ пациента. Для поражений характерны некроз тканей и образование газа с гнилостным запахом.

Пищевые токсикоинфекции, вызванные сероварами А и С, приобретают всё большую значимость и представляют актуальную проблему для здравоохранения большинства стран мира.

- *C. perfringens* типа А вызывает преимущественно токсикоинфекции лёгкой и средней степени тяжести. Заболевания развиваются остро, с болями в животе, рвотой (иногда с примесью крови) и диареей (до 20 раз в сутки). Симптомы исчезают в последующие 12-24 ч. Летальные исходы наблюдаются редко, обычно у ослабленных пациентов - пожилых лиц, хронических больных и детей с нарушениями питания.

- *C. perfringens* типа С вызывает некротический энтерит. При острых формах болезнь может закончиться смертью пациента в течение 12-24 ч. Симптомы аналогичны поражениям, вызываемым бактериями серовара А, и обусловлены действием р-токсина.

Clostridium novyi

Один из основных возбудителей газовой гангрены. В годы второй Мировой войны инфекции, вызванные *C. novyi*, составляли 42% всех случаев гангрены. Под названием *C. oedematiens* типа А бактерии впервые выделили М.В. Вейнберг и Э. Сэген (1891). Более полно возбудителя

охарактеризовал американский бактериолог Ф. Нови (позднее возбудитель был назван по его имени). Микроорганизм широко распространён в природе, может быть выделен из почвы, а также из органов ЖКТ здоровых животных.

Морфология и культуральные свойства. Вегетативные клетки. Крупные или слегка изогнутые подвижные грамположительные палочки размером 4-10x1-2 мкм; перитрихи (20-25

жгутиков). В молодых культурах похожи на *C. perfringens*, но отличаются подвижностью. Облигатный анаэроб (при пересевах колонии, выросшие на поверхности питательных сред, следует как можно меньше держать на воздухе). Споры. Овальные, расположены субтерминально. Устойчивы к нагреванию (выживают при кипячении в течение 1-2 ч), в костях животных сохраняются до 10 лет. Морфология колоний. На плотных средах через 48 ч образуют круглые сочные сероватые полупрозрачные колонии, иногда с зернистой поверхностью и неровными краями. Бактерии типов А, В и С имеют тенденцию к образованию дочерних и подвижных колоний. На КА возбудитель склонен образовывать шероховатые колонии; у бактерий типов А, В и С они окружены зоной гемолиза. *Бактерии типа D эритроциты не разрушают*. В глубине агара образуются колонии, напоминающие линзы, комочки ваты, снежные хлопья и т.д.; часто окрашены в желтоватый или коричневатый цвет. В жидких средах колонии растут сравнительно медленно и вызывают сдвиг рН в кислую сторону (за счёт образования органических кислот и H₂S).

Антигенная структура. Серологическая идентификация основана на выявлении соматических Аг; у штаммов типов А, В и D антигенная структура представлена 2 одинаковыми соматическими Аг, находящимися в различных соотношениях; антисыворотки к штаммам типа В могут иногда перекрёстно реагировать с Аг других типов.

Биохимические свойства. Бактерии типов А, В и С ферментируют глюкозу, фруктозу и мальтозу, а тип D - только глюкозу; глицерин разлагают все микроорганизмы (кроме нескольких штаммов типа В). Протеолитические свойства у *C. novyi* выражены сравнительно слабо; все штаммы разлагают желатину, свёртывают молоко (медленно), но не разлагают свернувшийся яичный белок (исключая несколько штаммов); *бактерии типа D образуют индол и H₂S*.

Патогенность. *C. novyi* типов А и В вызывают газовую гангрену у человека и животных (наиболее частый возбудитель - тип А). Бактерии вырабатывают 8 токсинов, определяющих их патогенность. Основными из них являются термолабильный некротический α-токсин; летальный; гемолитический, некротический р-токсин (лецитиназа С); некротический, гемолитический у-токсин (лецитиназа); O₂-лабильный гемолитический 5-токсин; O₂-резистентный гемолитический ^-токсин и γ-токсин (тропомиозиназа).

Прочие возбудители газовой гангрены

Помимо *C. perfringens* и *C. novyi*, газовую гангрену у человека могут вызывать и другие клостридии. В 1861 г. Пастёр описал «септический вибрион», а со времени выделения культуры совместно с Жубёром (1977) *Vibrion septique* длительное время оставался единственным идентифицированным патогенным микробом; с его действием связывали многие заболевания. Дальнейшая история открытия возбудителей анаэробных инфекций связана с выделением *C. sporogenes* (И.И. Мёчников, 1908), *C. oedematiens*, *C. fallax* и *C. histolyticum* (Вейнберг и Сэгэн, 1915, 1917), *C. sordelli* (Р. Сордёлли, 1922).

Clostridium histolyticum

Подвижная палочка размером 3-5x0,5-0,8 мкм. В мазках часто образует пары или цепочки. Очень подвижна в молодых культурах, клетки из старых культур неподвижны (также известны изначально неподвижные штаммы). Почти на всех средах быстро образует субтерминальные споры с трёхслойной оболочкой, не деформирующие клетку. Строгий анаэроб, но сохраняет жизнеспособность в аэробных условиях в течение 10 ч. В аэробных условиях возбудитель растёт плохо и не образует спор. В анаэробных условиях на КА он образует прозрачные выпуклые колонии диаметром 0,5-1 мм, окружённые тонкой зоной гемолиза. В толще агара неподвижные штаммы образуют «пушинки» с уплотнённым центром, подвижные - чечевицеобразные колонии

или колонии с протуберанцем. Бактерии вызывают сплошное помутнение жидких сред с протеолизом кусочков мяса и печени на дне. Через 2 сут среда становится прозрачной, а на дне образуется осадок. Бактерии инертны к углеводам; не образуют индол, но *вырабатывают большое количество сероводорода*. Проявляют выраженные протеолитические свойства - разлагают желатину, свернувшуюся сыворотку, яичный белок и коллаген [от греч. *histolyticum*, растворяющий ткани]. *Продуцируют 5 серологически идентифицируемых токсинов*: а-токсин (основной токсин), оказывающий летальное и некротическое действие; р-токсин (коллагеназа), расщепляющий азоколл и желатину; у-токсин (протеиназа), активируемый восстановителями и не разрушающий нативный коллаген, но расщепляющий азоколл, желатину и казеин; 5-токсин (эластаза), проявляющий аналогичную активность; 8-токсин, проявляющий O₂-зависимую гемолитическую активность (лабилен к кислороду, в антигенном отношении близок к стрептолизину O). У человека *C. histolyticum* иногда вызывает газовую гангрену, обычно в ассоциации с прочими анаэробами.

Clostridium septicum

C. septicum (палочка Гона-Сакса) - полиморфные подвижные палочки размером 4-5x0,8 мкм. В тканях способны образовывать нити длиной до 500 мкм; в культурах образуют цепочки. Строгие анаэробы, но сохраняют жизнеспособность при доступе O₂ в течение 10 ч. На поверхности твёрдых сред образуют блестящие полупрозрачные колонии (диаметром до 4 мм) с неровными краями (имеют тенденцию к ползучему росту). На агаре Цейсслера через 48 ч палочки образуют сплошной нежный налёт, окружённый зоной гемолиза. В столбике 1% агара формируют колонии с отходящими переплетающимися нитями, на 2% агаре колонии имеют вид дисков, иногда с протуберанцем. Ферментируют некоторые углеводы и *не разлагают сахарозу*. Продуцируют 4 экзотоксина: а-токсин, проявляющий летальную, некротизирующую и гемолитическую активность; р-токсин, обладающий свойствами ДНКазы; у-токсин (гиалуронидаза); 5-токсин, проявляющий свойства O₂-лабильного гемолизина.

Clostridium sporogenes

C. sporogenes - подвижные палочки размером 3-6x0,5 мкм. *Проявляют протеолитическую активность и инертны в отношении большинства углеводов*. При смешанных анаэробных инфекциях увеличивают вирулентность *C. perfringens* и *C. septicum*. При попадании жизнеспособных спор в мышцы способны вызывать гнойные процессы. Палочка не образует токсинов, участвующих в патогенезе анаэробной раневой инфекции.

Clostridium sordelli

C. sordelli - подвижная палочка размером 2-4x0,6-1 мкм. Факультативный анаэроб.

На плотных средах через 24-48 ч образует выпуклые сероватые колонии с неровными краями. На желточном агаре с лактозой колонии окружают зоны опалесценции. В жидких мясных средах даёт интенсивный рост, часто с образованием слизи. Ферментирует многие углеводы, но не лактозу и сахарозу; проявляет выраженные протеолитические свойства. Вирулентные штаммы продуцируют высоколетальный некротизирующий токсин, напоминающий а-токсин *C. novyi*. Также образует лецитиназу С, серологически сходную с лецитиназой *C. perfringens* типа А, но проявляющую меньшую активность. Продуцирует гемолизин типа 9-токсина *C. perfringens* типа А и 5-токсина *C. novyi* и *C. septicum*.

Clostridium fallax

C. fallax - подвижная прямая палочка с закруглёнными концами, 2-5x0,5 мкм. Строгий анаэроб. На плотных средах через 24-48 ч образует мелкие плоские прозрачные колонии с неровными краями; на КА даёт узкую полоску гемолиза. Ферментирует углеводы; проявляет

умеренную протеолитическую активность, свёртывают молоко с образованием кислоты. Не образует H_2S , индола и не восстанавливает нитраты. По мнению ряда авторов, способна вырабатывать летальный токсин, серологически не идентифицированный до настоящего времени.

Материалом для исследований служат биоптаты поражённых тканей (включая участки, примыкающие к очагам некроза, и отёчную жидкость), перевязочный и шовный материал, одежда, образцы почвы; при пищевых токсикоинфекциях - испражнения и продукты. Основу диагностических мероприятий составляют выделение и идентификация возбудителей и их токсинов.

Микроскопия материала позволяет обнаружить крупные грамположительные палочки.

Выделение и идентификация возбудителей

Для выделения используют жидкие и плотные среды. Идентификацию микроорганизма осуществляют набором стандартных тестов (подвижность, серологические реакции и др.). Жидкие среды (обычно Кйтта-Тароцци). *Используют для накопления возбудителей.* С жидких сред проводят пересев на плотные среды. При подозрении на смешанную флору исследуемый материал разделяют на две части. Одну засевают на жидкие среды без прогревания, а вторую прогревают после посева, что позволяет выделить клостридии из термоустойчивых спор. Плотные среды. Наибольшее распространение нашли агар Цёйсслера, КА с бензидином и среда Уйлсона-Блэра. На КА с бензидином колонии *C. novyi* быстро чернеют на воздухе. На среде Уйлсона-Блэра *C. perfringens* через 4-5 ч вызывает почернение столбика среды за счёт образования сульфида железа из Na_2S и $FeCl_3$, а также её разрывы вследствие образования

Пёретцу. Для этого в расплавленный и охлаждённый сахарный агар вносят культуру бактерий и заливают под стекло, помещённое на пробковых палочках в чашку Пётри (рис. 15-3). Токсинообразование. Для обнаружения токсинов проводят заражение белых мышей вытяжкой из исследуемого материала, фильтрами бульонных культур или кровью больных. Идентификацию токсинов проводят в РН со специфическими антитоксическими антисыворотками.

Возбудитель столбняка

Столбняк - тяжёлое заболевание, опосредованное нейротоксическим действием бактериального экзотоксина. Возбудитель заболевания - *C. tetani*. Практически одновременно возбудитель открыли Н.Д. Монастырский (1883) и А. Николайер (1884). В чистой культуре бактерии впервые выделил Ш. Китазато (1889).

Эпидемиология

Естественный резервуар и источник инфекции - почва. Заражение человека - следствие бытовых и производственных травм, причём наиболее часто поверхностных, когда больной не обращается за медицинской помощью. Повышенную заболеваемость отмечают в регионах с тёплым климатом, создающим условия не только для длительного сохранения спор в почве, но и для их прорастания. *Заболеваемость значительно возрастает во время военных действий.* Основная группа риска в мирное время - работники сельского хозяйства (составляют 80-86% заболевших). Ежегодная смертность от столбняка превышает 100 000 человек.

Морфология и тинкториальные свойства

Вегетативные клетки. Грамположительные палочки с закруглёнными концами длиной 4-8 мкм и толщиной 0,3-0,8 мкм. Подвижны (содержат 20 жгутиков и более, расположенных по периферии клетки). В мазках располагаются одиночно или цепочками.

Споры. Круглые, реже овальные, расположены терминально. Их диаметр в 2-3 раза превышает толщину бактерий, вследствие чего они напоминают «теннисные ракетки» или «барабанные палочки» (рис. 15-4). Споры устойчивы к химическим и физическим воздействиям; они выживают в течение 8-10 ч в 1% растворе сулемы и 5% растворе фенола, а также выдерживают кипячение в течение 0,5-1 ч.

Культуральные свойства

C. tetani - строгий анаэроб, отличается высокой чувствительностью к O_2 . На МПА и

желатине возбудитель растёт медленно и образует тонкие прозрачные колонии двух типов: гладкие, прозрачные S-колонии и серовато-жёлтые, шероховатые R-колонии. S-колонии образуют отростки, придающие им паукообразную форму. Позднее отростки сливаются, образуя «сеточку» на поверхности среды (рис. 15-5). При посеве столбиком в полужидкий агар через 24-48 ч S-колонии имеют вид пушинок с плотным коричневым центром; R-колонии имеют вид чечевичек.

Антигенная структура

У *C. tetani* выявляют O- и H-Аг. По жгутиковым Аг (H-Аг) выделяют 10 сероваров. Все серо-вары продуцируют идентичные по своим антигенным свойствам тетаноспазмин и тетанолизин.

Биохимические свойства

Большинство штаммов инертно к углеводам. *C. tetani* проявляет слабые протеолитические свойства и медленно расщепляет белки и пептоны до аминокислот. Последние разлагаются до угольной кислоты, водорода, аммиака, летучих кислот и индола. Бактерии образуют желатиназу и рениноподобный фермент, опосредующий появление затемнённых зон вокруг колоний *C. tetani* на молочном агаре.

Патогенез поражений

Основные факторы патогенности - тетаноспазмин и тетанолизин. Действие этих токсинов на организм, в особенности тетаноспазмина, обуславливает развитие столбняка у человека и животных.

Тетаноспазмин - полипептид с дистантным механизмом действия, так как бактерии редко покидают пределы первичного очага инфицирования. Токсин фиксируется на поверхности отростков нервных клеток, проникает в них (за счёт лигандопосредованного эндоцитоза) и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС.

- Механизм действия связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов (в частности, глицина и у-аминомасляной кислоты) в синапсах (токсин связывается с синаптическими белками синаптотренином и целлюбренином).

- Первоначально токсин действует на периферические нервы, вызывая местные тетанические сокращения мышц. Токсин появляется в культурах на 2-е сутки, достигая пика образования к 5-7 дню. Тетанолизин (тетаногемолизин) проявляет гемолитическое, кардиотоксическое и летальное действие. В патогенезе заболевания играет менее важную роль. Максимальное накопление токсина в культуре наблюдают уже через 20-30 ч; процессы его образования не связаны с синтезом тетаноспазмина.

Клинические проявления

Ведущие проявления - судорожный синдром, включающий болезненные сокращения мышц (тетанус) и длительное напряжение мышц. К характерным признакам столбняка относят опи-стотбнус - тетанический спазм, когда позвоночник и конечности согнуты, больной лежит на спине и опирается на затылок и пятки (рис. 15-б) и *risus sardonicus (risus caninus)* - подобие оскала, вызванного спазмом лицевых мышц.

Лёгкая форма (локальный столбняк) характеризуется периодическими спазмами в поражённой области.

Генерализованная форма (генерализованный столбняк). Наиболее частая форма с характерными мышечными спазмами. Характерны тонические спазмы лица и глотки, разбитость, тахикардия, аритмии, менингит, гипокальциемия.

После выздоровления невосприимчивость к последующим заражениям не вырабатывается.

Принципы микробиологической диагностики

При развитии типичной клинической картины выделения возбудителя и его идентификации может не потребоваться. Бактерии обычно обнаруживают в месте проникновения в организм больного. Поэтому наиболее рационально исследование различного материала, взятого в месте ранения. В тех случаях, когда входные ворота неизвестны, следует тщательно осмотреть больного для выявления ссадин, царапин, катаральных и воспалительных процессов. *Особо следует обратить внимание на старые рубцы после ранений, так как возбудитель может долго в них сохраняться.* В некоторых случаях исследуют слизистое отделяемое из носа, бронхов, глотки, налёт с миндалин, а также выделения из влагалища и матки (при послеродовом столбняке или аборте). При бактериологическом исследовании трупов также принимают во внимание возможность генерализации инфекции. Для анализа забирают кровь (10 мл) и кусочки печени и селезёнки (20-30 г).

Выделение возбудителя. Исследованию подлежит материал от больного или трупа, перевязочный и шовный хирургический материал, а также почва, пыль и воздух.

Биологическая проба. При исследовании материала от больного или трупа вместе с проведением бактериологического анализа проводят обнаружение столбнячного анатоксина в биологической пробе на мышах. Для этого материал измельчают, добавляют двойной объём физиологического раствора, инкубируют в течение часа при комнатной температуре, фильтруют; часть фильтрата смешивают с противостолбнячной сывороткой из расчёта 0,5 мл (200АЕ/мл) сыворотки на 1 мл экстракта и инкубируют в течение 40 мин. Затем одной группе животных вводят экстракт без предварительной инкубации с сывороткой, а другой группе - проинкубированную смесь; при наличии *S. tetani* у животных первой группы развиваются симптомы столбняка.

Лечение

Для специфической терапии используют иммуноглобулин противостолбнячный человека (курс - 2 инъекции; в тяжёлых случаях - 3 инъекции дробно) либо противостолбнячную лошадиную очищенную сыворотку, применяемую из расчёта 350МЕ/кг; перед введением проводят десенсибилизацию (внутримышечно или внутривенно). Введение начинают при появлении первых симптомов и продолжают до исчезновения судорог. Одновременно проводят антибиотикотерапию.

Иммунопрофилактика

Проводят плановые и экстренные мероприятия:

Плановая иммунизация. Начинают с 3-5-месячного возраста столбнячным анатоксином, чаще всего в комбинации с другими микробными Аг - в составе АКДС-вакцины (содержит столбнячный и дифтерийный анатоксины и коклюшные палочки). Иммунизацию проводят по стандартной схеме, а затем проводят ревакцинацию каждые 5-10 лет.

Экстренная иммунизация. Проводят при травмах, ранениях. В зависимости от предшествующей вакцинации проводится либо пассивная иммунизация (однократное введение 3000 МЕ анитоксической сыворотки) либо активно-пассивная иммунизация (вводят столбнячный анатоксин и через 30 мин в другое место вводят 3000 МЕ антисыворотки или 950 МЕ иммуноглобулина). Если пострадавшему лицу провели полный курс плановой иммунизации, то при инфицировании ему необходима лишь экстренная ревакцинация анатоксином. При неполном проведении курса или при полном отсутствии предшествующих прививок проводят активно-пассивную иммунизацию.

Возбудитель ботулизма

Ботулизм [от лат. *botulus*, колбаса] - тяжёлая, часто фатально заканчивающаяся пищевая токсикоинфекция. Под названиями аллантиазис [от греч. *allantiksa*, колбаса], ихтиоизм [от греч. *ichtis*, рыба] заболевание известно с XVIII в., когда были зарегистрированы случаи отравления рыбой и кровяной колбасой. Возбудитель ботулизма (*C. botulinum*) открыл бельгийский бактериолог Э. ван Эрменген (1869).

Эпидемиология

Возбудитель ботулизма широко распространён в почве. Заболевание регистрируют повсеместно, исключая районы вечной мерзлоты. Основные возбудители - бактерии типов А и В; тип Е более распространён в регионах с большими естественными водоёмами. Бактерии обильно колонизируют придонный ил и инфицируют рыб; периодическое пересыхание водоёмов стимулирует рост *C. botulinum*. Наибольшую опасность представляют мясные, рыбные и овощные консервы домашнего приготовления. *Естественный резервуар и источник инфекции - почва и различные животные.* Повышенную заболеваемость регистрируют в регионах с тёплым климатом, создающим условия не только для длительного сохранения спор в почве, но и для их прорастания и размножения вегетативных форм.

Морфология и тинкториальные свойства

C. botulinum - подвижная палочка с закруглёнными концами размером 4-8x0,6-0,8 мкм. Хорошо окрашивается анилиновыми красителями. В мазках располагается одиночно, иногда в виде коротких цепочек (рис. 15-7). Строгий анаэроб. При неблагоприятных условиях образует эндоспоры, расположенные терминально и субтерминально. Оптимум рН для роста 7,37,6, для прорастания спор 6,0-7,2.

Морфология колоний. На КА с глюкозой палочки образуют очень мелкие сероватые или желтоватые мутные колонии линзообразной формы. Вокруг колоний образуются зоны гемолиза различной ширины. На печёночном агаре образуют полиморфные звёздчатые колонии, в желатине - сероватые, окружённые зоной разжиженной желатины. Хорошо растут в жидких средах (обычно на среде Кйтга-Тарбци) при условии предварительного удаления O₂ из среды кипячением в течение 15-20 мин с быстрым последующим охлаждением. Вызывают помутнение среды и газообразование; иногда отмечают запах прогорклого масла, но этот признак непостоянен.

Антигенная структура

Антигенная структура бактерий мало изучена. Доказано наличие жгутиковых группоспецифических (Н-) и соматических типоспецифических (О-) Аг, не проявляющих токсических свойств. Серологическая идентификация *C. botulinum* основана на выявлении токсинов. В зависимости от

структуры выделяют 8 сероваров - А, В, С_{1(a)}, С₂[^], D, E, F и G. Оптимальная температура для токсинообразования переменна: для бактерий типов А, В, С и D - 35 °С, для бактерий типов E и F - 28-30 °С.

Биохимические свойства

В зависимости от биохимических свойств выделяют четыре группы бактерий.

- Бактерии I группы проявляют выраженные протеолитические свойства, гидролизуют желатину и эскулин, ферментируют глюкозу и мальтозу; проявляют липазную активность на яичном агаре.

- Бактерии II группы проявляют сахаролитическую активность (глюкоза, мальтоза), но лишены протеолитической.

- Бактерии III группы проявляют липазную активность и гидролизуют желатину.

- Бактерии IV группы гидролизуют желатину, но, в отличие от прочих возбудителей ботулизма, не проявляют сахаролитических свойств.

Патогенез поражений

Патогенность *C. botulinum* для разных теплокровных различна. Заболевания у человека вызывают бактерии типов А, В, E и F; бактерии типов С и D вызывают заболевания животных и

птиц (в редких случаях от больных животных выделяют бактерии типов А и В). Патогенность типа G для человека и животных не доказана. *Главные факторы патогенности C. botulinum* - *экзотоксины*, так как в организме возбудитель практически не размножается.

Экзотоксины - 2^п⁺-зависимые эндопептидазы, оказывающие нейротоксическое действие. При протеолизе молекула токсина разлагается на 2 связанных дисульфидной связью фрагмента (L- и H-цепи). Токсин разрушается при кипячении; легко кристаллизуется в белый хлопьевидный порошок. Токсины всех типов также оказывают гемолизирующее действие. Между собой токсины различаются по антигенной структуре и молекулярной массе (в соответствии со скоростью седиментации выделяют 12S-, 16S- и 19B-токсины).

- 12S-токсины (M-токсины) состоят из молекулы нейротоксина (H-цепь) и молекулы нетоксичного и не гемагглютинирующего белка (L-цепь);

- 16S-токсины (L-токсины) состоят из молекулы нейротоксина и гемагглютинирующего нетоксичного белка;

- 19S-токсины (LL-токсины) имеют аналогичное строение, но большую молекулярную массу.

Фармакокинетическая активность токсинов различных типов *C. botulinum* практически одинакова: все они сорбируются на клетках слизистой оболочки кишечника, проникают в кровь (где их можно выявить серологически) и в периферические нервные окончания.

Фармакологическое действие токсинов включает связывание H-цепи с мембраной, поглощение токсина и формирование пор в синаптических пузырьках (каждую пору формируют 4 молекулы токсина), что приводит к блокированию слияния синаптических пузырьков с мембраной; мишень для действия - интегральные синаптические белки. В частности, токсины сероваров В, D и F расщепляют синаптобrevин, А и E - SNAP-25, С - синтаксин, D и F -

целлюбревин. Избирательно поражают а-моторные нейроны передних рогов спинного мозга, что обуславливает характерные параличи мышц. Токсины термолабильны, но *для полной инактивации необходимо кипячение в течение 20 мин.*

Клинические проявления

Классическая пищевая токсикоинфекция, более распространённая под названиями «ботулизм», раневой ботулизм (возникает при загрязнении некротизированных тканей почвой), ботулизм новорождённых (развивается у детей от 3 до 20 нед при заглатывании спор с последующим развитием вегетативных форм), неопределённо классифицируемый ботулизм (у детей старше 1 года и взрослых), не связанный с указанными факторами риска (пища, рана). Временной интервал между попаданием токсина в организм и появлением первых признаков ботулизма обычно не превышает 24 ч, но может варьировать от 4-6 до 96 ч и более. *Проявления заболевания зависят от природы пищевого продукта, ставшего причиной отравления, количества токсина, поступившего в организм, и состояния больного.*

- Первые, но непостоянные признаки - желудочно-кишечные расстройства (тошнота, рвота, боли в животе). Часто больные жалуются на сухость во рту или гиперсаливацию. Одновременно развиваются головная боль и нервно-паралитические явления - нарушения глотания, дисфагия и офтальмоплегический синдром. Часто наступают односторонний или двусторонний блефароптоз и анизокория - результат поражения сфинктера зрачка. Циркуляция токсина в кровотоке приводит к уменьшению притока крови к правому предсердию.

- Кроме поражения ЦНС, ботулотоксин вызывает периферические поражения нервно-мышечной передачи, проявляющиеся сначала вялостью движений или полной адинамией с последующим развитием парезов и/или параличей глазных, глоточных и гортанных мышц, а также мышц шеи и конечностей.

- Перенесённое заболевание не оставляет антитоксического иммунитета. У выздоровевших пациентов в сыворотке определяют АТ к токсину и микробным клеткам, что свидетельствует о комплексном характере иммунного ответа, направленного как на связывание токсина, так и на элиминацию возбудителя. Следовательно, ботулизм можно рассматривать не только как интоксикацию, но и как токсикоинфекцию (не отрицая ведущей роли токсина в патогенезе заболевания).

Принципы микробиологической диагностики

Цель исследования - обнаружение и идентификация токсина; выделение возбудителя - вторичный этап. Лабораторному исследованию подлежат остатки пищевых продуктов, материал, полученный от больного (кровь, испражнения, моча, промывные воды желудка, рвотные массы), и секционный материал. Кровь берут из вены пациента в количестве 5-10 мл; промывные воды из желудка забирают в объёме 50-100 мл, кал - 50-60 г. На секции забирают кусочки печени (50-60 г), отрезки кишечника и желудка и их содержимое. До поступления в лабораторию *образцы хранят на холоде.* • Кровь исследуют только на наличие токсина (для чего проводят биологическую пробу); испражнения - только на наличие возбудителя (проводят посев на питательные среды), весь остальной материал - на наличие возбудителя и его токсина.

- Банки с консервами выдерживают в термостате 10-12 сут, стерильно отбирают 50-100 г, растирают и центрифугируют. В надосадочной жидкости определяют наличие токсина, в осадке - возбудителя.

- Мясо и рыбу обрабатывают спиртом и забирают пробы из внутренних частей (пробы рыбы рекомендуют брать от хребта и внутренних органов). Пробы изучают аналогично исследованиям консервированных продуктов.

Идентификация токсинов. Классический метод - биологическая проба на мышах. Для опыта отбирают партию из 5 животных. Первое заражают только исследуемым материалом, остальных - исследуемым материалом с введением 2 мл 200 АЕ антитоксической сыворотки типов А, В, С и Е. При наличии в материале токсина выживает животное, получившее антисыворотку, нейтрализовавшую токсин соответствующего типа. Для идентификации токсинов также используют РПГА с антительным диагностикумом (эритроциты, сенсibilизированные антитоксинами соответствующих типов).

Выделение возбудителя. Методы получения культур возбудителя ботулизма принципиально сходны с таковыми, используемыми для прочих патогенных клостридий.

Серологических исследований не проводят, так как заболевание не сопровождается выработкой выраженных титров АТ, что связано с незначительной (с точки зрения иммуногенных свойств) дозой токсина, вызвавшей поражение.

Лечение

Наиболее эффективно раннее применение соответствующей антитоксической сыворотки. До установления типа токсина используется поливалентная (типов А, В, С, Е) лошадиная антисыворотка. После десенсибилизации больному внутривенно вводят одну международную лечебную дозу, содержащую по 10 000 МЕ сывороток типов А, С, Е и 5000 МЕ типа В. Обычно однократного введения бывает недостаточно, поэтому её вводят ежедневно до достижения клинического эффекта. После лабораторного выявления типа возбудителя вводят сыворотку только против данного типа. С профилактической целью лицам, употреблявшим инфицированные продукты, но не заболевшим, вводят антисыворотки (по 2000 МЕ тех же типов). Применение антисывороток дополняют назначением симптоматической и антимикробной терапии.

Профилактика

Для специфической профилактики ботулизма применяют ботулинический полианатоксин, входящий в состав комплексной вакцины для профилактики анаэробных инфекций. Однако в силу спорадичности заболевания иммунопрофилактика ботулизма не нашла широкого применения.

Основу предупреждения случаев ботулизма составляет неукоснительное соблюдение санитарно-гигиенических правил при производстве пищевых продуктов. В частности, консервы в течение некоторого времени выдерживают при 37 °С. Если они содержат споры возбудителя, то они вздуваются (бомбаж), а при вскрытии издадут запах прогорклого масла. Также в консервы вносят различные ингибиторы (например, нитриты в мясные изделия). Следует избегать употребления консервов домашнего приготовления.

Возбудитель псевдомембранозного энтероколита

Псевдомембранозный энтероколит - воспаление слизистой оболочки тонкой и толстой кишки, характеризующееся образованием и выделением с калом плёнчатого материала (структур, представленных фибрином и слизью). Заболевание является типичной госпитальной инфекцией, доминирующей среди прочих госпитальных кишечных поражений. Возбудитель (*C. difficile*) открыли И. Холл и Э. О'Тул (1935). *C. difficile* - представитель нормальной микрофлоры кишечника. Носительство *C. difficile* особенно распространено у новорождённых (до 50%), однако у них самый низкий уровень заболеваемости. Среди новорождённых возможна контактная передача от ребёнка к ребёнку или с руками персонала (при пеленании, кормлении и купании). По мере развития нормальной микрофлоры (6-12 мес) число носителей уменьшается и среди взрослых лиц не превышает 3%. Среди взрослых доминируют контактно-бытовые пути госпитального распространения. *C. difficile* вызывает псевдомембранозный энтероколит на фоне

нерациональной терапии антибиотиками и цитостатиками, вызывающими глубокий дисбаланс микрофлоры кишечника. Изредка бактерии выделяют при анаэробных инфекционных осложнениях огнестрельных и хирургических ран, абсцессах и т.д. *C. difficile* - подвижная палочка, имеющая размеры 3-6,4x1,3-1,6 мкм; образует субтерминальные споры. Температурный оптимум 35-37 °С. На плотных средах образует круглые, выпуклые, серовато-белые колонии диаметром 3-5 мм с ровными краями. На средах с кровью гемолиза не даёт. В жидких средах образует зернистый осадок.

Патогенез поражений. Бактерии высокорезистентны к антибиотикам широкого спектра действия, что создаёт предпосылки для обширной колонизации кишечника на фоне антибиотикотерапии. *C. difficile* продуцирует два экзотоксина: токсин А (энтеротоксин) оказывает диареегенное и летальное действие (стимулирует гуанилатциклазу), а токсин В (цитотоксин) ингибирует синтез белка и оказывает летальное действие, значительно превосходящее действие токсина А (нарушает функции мембран с потерей K⁺).

Лечение. Основу лечения составляет рациональная антибиотикотерапия. Несмотря на высокую антибиотикорезистентность, *C. difficile* чувствительна к действию ванкомицина.

споронеобразующие анаэробы

Актиномицеты

Длительное время актиномицеты считали грибами, однако изучение морфологии и биологических свойств позволило отнести их к бактериям семейства *Actinomycetaceae* отдела *Firmicutes*.

- В отличие от грибов, актиномицеты не содержат в клеточной стенке хитина или целлюлозы; они не способны к фотосинтезу, а образуемый ими мицелий достаточно примитивен. Также они резистентны к противогрибковым средствам.

- С бактериями актиномицеты объединяют отсутствие чётко выраженного ядра, сходство строения клеточной стенки, а также чувствительность к бактериофагам и антибиотикам. Для их роста также оптимальны слабощелочные, но не кислые значения pH среды. Большинство актиномицетов - обитатели поверхности слизистых оболочек у млекопитающих; некоторые виды - почвенные сапрофиты. У человека актиномицеты колонизируют слизистые оболочки полости рта и ЖКТ. Способность вызывать специфические поражения выражена сравнительно слабо. В соответствии с этим их следует рассматривать как условно-патогенные микроорганизмы. Бактерии вызывают актиномикозы - хронические гнойные гранулематозные поражения различных органов. Впервые актиномикозы крупного рогатого скота детально изучил О. Бллинггер (1877). Первое описание поражений у человека привёл Д. Изравль (1878). Актиномицеты представлены тонкими, прямыми или слегка изогнутыми палочками размером 0,2-1,0x2,5 мкм, но часто образуют нити длиной до 10-50 мкм. Характерная особенность актиномицетов - способность образовывать хорошо развитый мицелий. Палочковидные формы часто имеют утолщённые концы, в мазках располагаются одиночно, парами, V- или Y-образно (рис. 15-8). Окраску по Граму фиксируют плохо; часто образуют зернистые либо чёткообразные формы. Кислотонеустойчивы. Факультативные анаэробы; для хорошего роста нуждаются в повышенном содержании CO₂. Актиномикозы у людей отмечают редко; подавляющее большинство случаев вызывает *A. israelii*, лишь в редких случаях выделяют *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. bovis* и *A. viscosus*.

Эпидемиология

Актиномикозы регистрируют практически во всех странах мира. Они составляют до 2,5-10% всех хронических гнойных процессов различной локализации. Основные предрасполагающие

факторы - травмы полости рта, периодонтиты, различные медицинские манипуляции; реже актиномикозы бывают осложнениями аппендэктоми, холецистэктомии, ранений кишечника или язв двенадцатиперстной кишки.

Морфология и культуральные свойства

A. israelii склонны образовывать длинный ветвящийся мицелий (средние размеры нитей 3-10x0,6 мкм), со временем распадающийся на полиморфные (кокковидные, колбовидные и др.) элементы. Все актиномицеты растут медленно, и посевы следует культивировать в течение 714 сут (особенно при подозрении на инфекцию *A. israelii*). *A. israelii* хорошо растёт на белковых средах, дополненных сывороткой. Образует прозрачные, бесцветные, пастообразные, обычно гладкие колонии, плотно срастающиеся со средой; воздушный мицелий скудный. На КА формируют белые бугристые колонии, напоминающие коренные зубы. *A. odontolyticus* на КА образует красные колонии, окружённые зоной р-гемолиза.

Патогенез поражений

Актиномицеты, особенно *A. israelii*, проявляют выраженную адгезивную активность на слизистых оболочках и способность к быстрой их колонизации. Поражения могут носить эндогенный (например, воспалительные процессы или травмы полости рта) и экзогенный (при имплантации возбудителя в рану) характер. Основной предрасполагающий фактор - снижение сопротивляемости организма, обусловленное сопутствующей патологией (туберкулёз, сахарный диабет), беременностью и др. *Особое значение имеет сопутствующая микрофлора, способная значительно усугублять тяжесть поражений.* Возбудитель диссеминирует лимфогенно; наиболее часто в ткани с низким содержанием O₂. Вокруг внедрившегося в подслизистую оболочку возбудителя происходит формирование специфической гранулёмы (актиномикомы), содержащей колонии возбудителя (друзы). Позднее очаг распадается с развитием гнойного и фиброзного процессов.

Клинические проявления

Наиболее частое поражение - актиномикоз лица, наблюдаемый у 55-60% всех больных актиномикозами и у 6-10% лиц, страдающих воспалительными поражениями челюстей и лица. Заболевание протекает хронически, но часто осложняется присоединением вторичных бактериальных инфекций; возможны поражения кожи, мышц, лимфатических узлов, языка, слюнных желёз и костных тканей. Реже наблюдают торакальный актиномикоз; наиболее часто отмечают поражения лёгких, плевры, реже - мягких тканей грудной клетки. У 25-30% пациентов наблюдают абдоминальный актиномикоз. В большинстве случаев первичный очаг локализован в слепой кишке и червеобразном отростке. Сравнительно редкие поражения - актино-микоз мочеполовой системы (наиболее часто связывают с применением внутриматочных контрацептивов), актиномикоз костей (возникает как контактно, так и гематогенно), акти-номикоз ЦНС (с развитием менингитов и менингоэнцефалитов) и генерализованный актиномикоз (типа метастазирующего сепсиса).

Принципы микробиологической диагностики

Наиболее распространённый метод лабораторной диагностики - обнаружение друз *A. israelii* в экссудате или гнойном отделяемом из очагов поражения. Последние могут достигать значительных размеров, образуя так называемые серные гранулы или тельца Ббллингера размером в среднем 0,3-2 мм. Для поиска более мелких друз исследуемый материал (гнойное отделяемое, мокрота, биоптаты и СМЖ) помещают на предметное стекло в каплю 10-20% раствора КОН или NaOH, подогревают, покрывают покровным стеклом и микроскопируют. Друзы актиномицетов имеют плотную, каменистую консистенцию и скрипят как песок при надавливании на покровное стекло. Друзы также можно исследовать методом «раздавленной» капли либо в препаратах,

окрашенных по Романовскому-Гймзе или Граму. Они образованы агрегатами мицелия, имеющими вид округлых или овальных базофильных масс с эозинофильными включениями (очевидно, что это АТ) на поверхности.

- Для выделения чистых культур проводят посев на кровяной и сыровоточный агары, среды Са-буро или Чапека. Посевы инкубируют в аэробных и анаэробных условиях в течение 1-2 нед.

- Важное значение имеют иммунологические исследования: кожная проба с актинолизатом, оценка ответа иммунокомпетентных клеток на актинолизат *in vitro*.

Лечение

Актиномикозы хорошо поддаются терапии пеницилинами. Следует помнить, что антибиотики необходимо применять в высоких дозах и на протяжении не менее 4-6 нед. При необходимости проводят хирургическое иссечение очагов поражения и наложение дренажа. В некоторых случаях проводят специфическую терапию актинолизатом (лучше из аутоштамма).

Бифидобактерии

Род *Bifidobacterium* семейства *Actinomycetaceae* отдела *Firmicutes* образован неподвижными палочками размером 0,5-1,3x1,5-8 мкм. Палочки могут быть утолщёнными на концах или ветвиться. В мазках они располагаются одиночно, парно, в виде палисады или римской цифры «V», что делает их похожими на дифтероиды. По Граму бифидобактерии окрашиваются неравномерно; кислотнеустойчивы. Оптимум pH 6,0; температурный оптимум 37-40 °С. Бифидобактерии ферментируют с образованием кислот (преимущественно уксусной и молочной) глюкозу, лактозу, сахарозу и маннит. Они хорошо растут на обычных мясо-пептонных сахарных средах, но нуждаются во внесении в среду витаминов. Бифидобактерии обитают в полости рта и кишечнике млекопитающих; составляют более 40-50% всей микрофлоры кишечника. *Бифидобактерии вырабатывают витамины группы В и антибиотические субстанции, подавляющие рост условно-патогенных микроорганизмов. Другой механизм подавления условно-патогенной микрофлоры обусловлен их способностью связывать рецепторные структуры эпителиальных клеток (с ними взаимодействует большинство бактерий).*

ГЛАВА 16. АЭРОБНЫЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ КОККИ И КОККОБАКТЕРИИ

Аэробные грамотрицательные кокки и коккобактерии включены в семейство *Neisseriaceae* отдела *Gracilicutes*. Его образуют роды *Neisseria*, *Acinetobacter*, *Moraxella* и *Kingella*. Все виды семейства являются обитателями слизистых оболочек теплокровных. Каждый род включает бактерии, выделяемые у человека при различных поражениях, а также сапрофитические виды. Общие признаки бактерий этой группы:

- способны расти в присутствии кислорода,
- представлены неподвижными диплококками и короткими палочками, отрицательно окрашивающимися по Граму,
- спор не образуют.

НЕЙССЕРИИ

Род назван в честь немецкого дерматовенеролога А. Найссера, открывшего возбудителя гонореи. Род *Neisseria* образуют неподвижные аэробные или факультативно анаэробные споронеобразующие грамотрицательные диплококки. Некоторые виды имеют капсулу и микроворсинки. Нейссерии - каталаза-, цитохром- и оксидаза-положительны, некоторые виды

синтезируют жёлтые каротиноидные пигменты. Большинство нейссерий неприхотливы, но некоторые виды непосредственно после посева приобретают сложные пищевые потребности, необходимые для роста (позднее растут на простых средах определённого состава); отдельные виды проявляют гемолитическую активность. Оптимальная температура 35-37 °С; оптимальный рН 6,0-8,0. Патогенными для человека свойствами обладают *N. gonorrhoeae* (гонококк) и *N. meningitidis* (менингококк). У человека также выделяют непатогенные *N. sicca*, *N. flavescens*, *N. perflava*, *N. mucosa* и *N. lactamica*, вызывающие у лиц с иммунодефицитами оппортунистические поражения. На ранних этапах микробиологической диагностики эти виды можно ошибочно принять за патогенные. *Дифференцировка патогенных и непатогенных нейссерий основана на различиях в ферментации углеводов* (табл. 16-1).

Возбудитель гонореи

Гонорея - инфекционное венерическое заболевание, проявляющееся воспалением слизистых оболочек преимущественно мочеполовых путей. Гонококк - возбудитель гонореи, инфекционного венерического заболевания, проявляющегося воспалением слизистых преимущественно мочеполовых путей. Термин «гонорея» [от греч. *gone*, семя, + (-*r*)*rhoia*, истечение] ввёл Клавдий Гален во II в. н.э., хотя заболевание было известно ещё раньше - в вавилонских, ассирийских и греческих мифах упоминается болезнь, представляющая, судя по клинической картине, гонорею. *В настоящее время гонорея - одно из наиболее распространённых инфекционных заболеваний.* Возбудитель гонореи - *Neisseria gonorrhoeae* (гонококк) - впервые обнаружен Нейссером в 1879 г.

Эпидемиология

Источник инфекции - больной человек. Основной путь заражения - половой, возможно инфицирование плода при прохождении через родовые пути матери. Врождённая невосприимчивость отсутствует. После перенесённого заболевания невосприимчивость к вторичным заражениям не вырабатывается; возможны супер- и реинфекции. Животные резистентны к гонококкам, лишь внутрибрюшинное введение микробов вызывает гибель мелких лабораторных животных.

Морфология и тинкториальные свойства

В свежих культурах представляют неподвижные диплококки 1,25-1,0x0,7-0,8 мкм, образующие капсулу (рис. 16-1). Характерен полиморфизм - в мазках встречаются относительно мелкие или крупные клетки, а также палочковидные формы. Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями (метиленовым синим, бриллиантовым зелёным и др.). Образуют L-формы, в том числе под действием пенициллина. Под влиянием химиопрепаратов быстро меняют свойства и образуют грамположительные формы. *Гонококки имеют сложно организованную клеточную стенку* (рис. 16-2); *наличие тех или иных её компонентов обуславливает их внутривидовую дифференцировку.*

По наличию пилей гонококки разделяются на пять типов (Т1-Т5). Бактерии типов Т1 и Т2 снабжены пиями (Р+ и Р++), окружены капсулой и вирулентны, бактерии прочих типов авирулентны.

Белок I составляет до 60% вещества клеточной мембраны и его идентификация составляет основу серотипирования гонококков и распознавания бактерий методом ИФА. Белок II определяет специфические клинические проявления заболевания. Бактерии содержащие белки I и II обычно выделяют при поражениях мочевыводящих путей, а штаммы, содержащие белок I, но лишённые белка II - при диссеминированных поражениях.

Культуральные свойства

Гонококки неустойчивы во внешней среде, поэтому посев следует проводить сразу после забора материала от больного. Эти бактерии хорошо растут на свежеприготовленных влажных питательных средах с добавлением нативных белков крови, сыворотки или асцитической жидкости. Оптимальный рН 7,2-7,4, оптимальная температура 37 °С. На плотных средах гонококки, содержащие в клеточной стенке белок II, образуют слегка мутные бесцветные колонии с ровными краями (рис. 16-3). Бактерии, лишённые белка II, образуют мелкие круглые прозрачные колонии, напоминающие капли росы. Гонококки типов T1 и T2 чаще образуют мелкие колонии, а бактерии типа P⁻ (T3-T5) - более крупные колонии. В жидких питательных средах гонококки растут диффузно и образуют поверхностную плёнку, через несколько дней оседающую на дно. При пересевах на селективные среды вирулентность бактерий типов T1 и T2 может возрастать. Длительное культивирование на неселективных средах может приводить к снижению вирулентности штаммов, потере пилей и увеличению размеров колоний (то есть к переходу в бактерии типа P⁻).

Биохимические свойства

Гонококки ферментируют только глюкозу с образованием кислоты без газа (рис. 16-4). Изменённые формы, в том числе L-формы, могут вообще не ферментировать углеводы. Протеолитическую активность не проявляют, аммиак, сероводород и индол не образуют, не приводят к гемолизу на средах, содержащих кровь. Штаммы, вызывающие диссеминированные инфекции, нуждаются в аргинине, гипоксантине и урациле (так называемые ANU⁺ штаммы). Бактерии отличаются устойчивостью к бактерицидному действию сывороточных IgM и IgG, а также комплемента.

Антигенная структура

Антигенная структура остаётся плохо изученной; она *неоднородна и меняется у дочерних популяций*. Экспрессия некоторых Ag гонококка определяется условиями окружающей среды. Это связано с тем, что основную антигенную нагрузку несут пили и поверхностные белки клеточной стенки, распознаваемые иммунокомпетентными клетками. Изменение антигенной структуры снижает эффективность иммунных реакций. Различают фазовые вариации (проявляются изменением или прекращением образования некоторых антигенных детерминант) и антигенные вариации (проявляются изменением структуры распознаваемых Ag за счёт включения новых детерминант).

Генетические характеристики

N. gonorrhoeae отличаются уникальными генетическими характеристиками. У этих бактерий довольно легко происходит трансформация вида; в отличие от большинства бактерий, этот процесс может происходить на протяжении периода жизни одной популяции. Кроме того, доказана возможность передачи генетической информации посредством конъюгаций.

Плазмиды. У большинства штаммов *N. gonorrhoeae* имеется латентная плазида. Её роль или связь с функциями клетки неизвестна. У некоторых штаммов обнаружены F- и R-плазмиды, стимулирующие конъюгацию бактерий. Также выделена плазида, несущая ген *fi*-лактамазы. Её утрата приводит к потере устойчивости к пенициллину.

Характерной особенностью гонококков считают способность к трансформации в любой период ростового цикла; подобным свойством обладают все выделенные штаммы *N. gonorrhoeae*. Частота генетических трансформаций в колониях типов P⁺ P⁺⁺ в 1000 раз выше, чем в колониях типа P⁻.

Факторы патогенности

Капсула. Практически все бактерии свежeweделенных культур имеют капсулу. На образование капсулы *in vivo* влияет резистентность организма и среда обитания, *in vitro* - качество и состав питательной среды и условия культивирования. *Капсула обладает иммуногенными и антифагоцитарными свойствами, препятствует прямому контакту бактерицидных веществ с клеточной стенкой, маскирует её антигенные детерминанты. АТ к капсульным Аг (опсонины) стимулируют фагоцитоз гонококков.*

Пили. Состоят из цепочек белковых субъединиц, остатков сахаров и фосфорной кислоты; нарушение последовательности соединения субъединиц изменяет антигенные свойства *in vivo* и *in vitro*. Генетически обусловленная вариабельность строения пилей обеспечивает прикрепление и выживаемость гонококков на клетках эпителия при смене хозяина и воздействии АТ. *Пили обеспечивают адгезию гонококков к клеткам эпителия.* Отделённые от клеток, они так же эффективно прикрепляются к субстратам, как и в условиях инфекционного процесса.

Пили имеются и у непатогенных нейссерий, у авирулентных штаммов *N. gonorrhoeae* они отсутствуют.

ЛПС. Состоит из липида А и центрального ядра (антигенной детерминанты) - олигосахарида, не имеющего боковых цепей. *ЛПС N. gonorrhoeae проявляют сильные иммуногенные свойства. АТ к ним обладают бактерицидной активностью.*

Токсины. Гонококки не продуцируют экзотоксинов. Клеточная стенка содержит термолабильный токсичный компонент (эндотоксин) липополисахаридной природы. *Эндотоксин N. gonorrhoeae проявляет сильные иммуногенные свойства. АТ к ним обладают бактерицидной активностью.*

Белки клеточной стенки. *Проявляют сильные иммуногенные свойства. АТ к ним обуславливают комплементзависимый цитоллиз бактерий.* По составу белков клеточной стенки выделяют 16 сероваров гонококков.

Белок I обуславливает устойчивость к бактерицидным факторам слизистых оболочек, а также инвазивные свойства бактерий и их способность вызывать системные инфекции. *Белок II* образует отдельную белковую фракцию, называемую протеинами мутности или *опа*-протеинами [от англ. *opacity*, мутность]. Их считают первичными факторами вирулентности гонококков, они обуславливают прикрепление к эпителию и ингибируют фагоцитарные реакции. IgA-протеазы. Резистентность слизистых оболочек во многом обусловлена местной секрецией IgA. *Гонококки синтезируют IgA1-протеазу, действующую внеклеточно и разрушающую связи в тяжёлых цепях Ig, а также расщепляющую молекулу IgA в шарнирной области.* Эти свойства облегчают прикрепление гонококков к рецепторам эпителиальных клеток, а также защищают их от фагоцитоза, опосредованного АТ.

Патогенез поражений

Для развития заболевания важное значение имеют вирулентность возбудителя, инфекционная доза, область проникновения, функциональное состояние факторов неспецифической резистентности и скорость развития иммунных реакций. Входными воротами для возбудителя служит эпителий мочеиспускательного канала, шейки матки, конъюнктивы и прямой кишки. Гонококки прикрепляются к эпителию, где мишенью для их цитотоксического действия служат поверхностные структуры клеток. Бактерии вызывают гибель и сливание клеток, что нарушает процесс нормальной регенерации слизистых оболочек. Гонококки активно проникают в клетки слизистой посредством эндоцитоза. В цитоплазме клеток эндосомы сливаются в гигантские вакуоли, где гонококки размножаются, оставаясь недоступными действию АТ, фагоцитов и многих антибиотиков. Вакуоли сливаются с базальной мембраной, и бактерии

попадают в прилегающую соединительную ткань, где вызывают местное воспаление, либо проникают в кровоток с последующим диссеминированием.

Гематогенное распространение инфекции отмечают у 1% заболевших. В патогенезе диссеминирования гонококковой инфекции существенное значение имеет пол больного, обуславливающий характер развивающихся различных синдромов (например, воспаления тазовых органов, артритов, септицемий, менингитов и др.).

Женщины более склонны к диссеминированным поражениям. В то же время заболевание у них часто протекает бессимптомно, а лечение не проводится. Женщины представляют основной резервуар инфекции.

Принципы микробиологической диагностики

При типичной форме острого гонорейного уретрита распознавание возбудителя в условиях лаборатории не представляет особого труда и может быть ограничено бактериоскопическим исследованием мазков гнойного отделяемого. Для этого готовят два мазка: первый окрашивают 1% спиртовым раствором эозина и 1% водным раствором метиленового синего, второй мазок окрашивают по Граму. *Бактериоскопическая диагностика основана на наличии трёх признаков - характерной морфологии, внутриклеточного расположения бактерий и окраски по Граму.* Диагностика гонореи у женщин путём бактериоскопии не всегда даёт положительный результат. У молодых женщин с пиурией (более 10^3 нейтрофилов в поле зрения при отсутствии прочей патогенной микрофлоры) необходимо исключить гонококковую этиологию заболевания. При бактериоскопической диагностике также применяют методы прямой иммунофлюоресценции и реакцию непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ). Для распознавания хронических инфекций, а также после неэффективной химиотерапии, приводящих к изменению характерных морфологических особенностей прибегают к выделению возбудителя.

Материал высеивают на свежеприготовленные твёрдые питательные среды - асцит-агар, среду с аутолизатами и сывороткой, КА. Инкубацию посевов желательно проводить при повышенном содержании CO_2 (10-20%). В зависимости от условий культивирования и качества среды колонии появляются через 1-8 сут после посева. *Характерная особенность - аутолиз колоний от центра к периферии, начинающийся уже через сутки.*

Дифференциальный признак N. gonorrhoeae - оксидаза-положительные колонии, образованные грамтрицательными диплококками. В ходе реакции происходит изменение окраски колоний в течение нескольких секунд с варьированием от розовой до чёрной (рис. 16-5). Видовую принадлежность подтверждают по способности ферментировать углеводы (табл. 16-1).

Лечение и профилактика

Лечение. Основу составляет антимикробная терапия. Препараты выбора - сульфаниламиды и антибиотики, подавляющие жизнедеятельность гонококков (p-лактамы антибиотики, аминогликозиды).

Профилактика. Средства специфической иммунопрофилактики отсутствуют, что обусловлено высокой антигенной изменчивостью гонококков. Гоновакцина, на которую возлагалось много надежд, оказалась неэффективной. В настоящее время её применяют для лечения больных с осложнениями или в диагностических целях (провокационные пробы). Общая профилактика основана на мерах предупреждения венерических заболеваний. Для предупреждения гонобленнорей новорождённым сразу после рождения закапывают в конъюнктивальный мешок (девочкам также в половую щель) 1-2 капли раствора сульфацил натрия.

NEISSERIA MENINGITIDIS (МЕНИНГОКОКК)

Менингококковая инфекция - заболевание, характеризующееся локальным поражением слизистой оболочки носоглотки с последующей генерализацией в виде менингококковой септицемии (менингококцемия) и воспаления мозговых оболочек (менингококковый менингит). Упоминания об эпидемиях цереброспинального менингита встречаются в трудах античных врачей. Первые описания менингококкового менингита сделаны в XVII веке Т. Уйллисом и Т. Сиденхэмом. Возбудитель - *Neisseria meningitidis* (менингококк) - открыл австрийский бактериолог А. Вайхзельбаум (1887).

Эпидемиология

Менингококковая инфекция - строгий антропоноз с воздушно-капельной передачей возбудителя. *Основной источник инфекции - носители, но наиболее опасны больные с признаками генерализованных поражений.* Менингококковая инфекция распространена повсеместно; классический регион эпидемических поражений - центральная экваториальная Африка, так называемый «менингитный пояс». Распространение возбудителя на территории, где заболевание ранее не регистрировали (например, регионы Крайнего Севера), приводит к преобладанию генерализованных форм, охватывающих все возрастные группы. *Природный резервуар менингококка - носоглотка человека.* *N. meningitidis* выделяют у 3-30% здоровых людей. Одновременно с ростом числа носителей, невосприимчивых к менингококку, увеличивается количество людей, выполняющих роль резервуара возбудителя. Во время эпидемии уровень носительства приближается к 95%, однако заболевание развивается у менее 1% инфицированных лиц.

Свойства

Морфологические, культуральные и биохимические свойства (исключая способность ферментировать мальтозу) бактерий аналогичны таковым у гонококков; сходство подтверждает и то, что ДНК обоих микроорганизмов гомологична на 80%. Бактерии отличаются высокой потребностью в ростовых факторах, компенсируемая внесением в питательную среду крови или сыворотки млекопитающих, а также молока и яичного желтка. *Менингококк чувствителен ко внешним воздействиям.* Даже в оптимальных условиях на твердых и в жидких средах бактерии погибают через 48-72 ч. Вне организма человека менингококки довольно быстро погибают, а при низкой температуре быстро теряют способность к образованию колоний. *При доставке материала в лабораторию необходимо исключить его охлаждение.* При температуре -10 °C менингококк погибает через 2 ч, при нагревании до 60 °C - через 10 мин. Кипячение убивает бактерии через 30 с, аналогичный эффект даёт УФ-облучение. Бактерии также чувствительны к дезинфицирующим средствам: 1% раствор фенола вызывает гибель *N. meningitidis* в течение 1 мин; таким же действием обладают 0,5-1% раствор хлорамина, 70% этиловый спирт и 3-5% раствор карболовой кислоты.

Антигенная структура

N. meningitidis имеет сложную антигенную структуру; некоторые компоненты относят к факторам вирулентности, другие индуцируют выработку защитных АТ.

Полисахариды капсулы. Представлены полимерами аминокислот и сиаловых кислот. *Различия в их строении обуславливают разделение менингококков на серогруппы А, В, С, D, H, I, K, L, X, Y, Z, 29E и W-135.* Штаммы серогруппы А вызывают эпидемические вспышки, а В, С и Y - спорадические заболевания. Высокая вирулентность представителей серогруппы А связана, по-видимому, с их высокой инвазивностью. Систематизацию менингококков осложняет высокая изменчивость и лабильность Ag. Лабильность

поверхностного Ag, характерная для штаммов, обитающих в носоглотке, приводит к выделению у одного и того же индивидуума серологически различных штаммов.

Белки клеточной стенки. По составу белков клеточной стенки серогруппы В и С подразделяют на серовары. Менингококки серовара 2 входят в состав серогрупп В или С и представляют наиболее распространённые возбудители заболеваний человека. Белки серовара 2 химически и серологически идентичны у бактерий обеих групп и индуцируют образование АТ, проявляющих комплемент-опосредованную бактерицидность.

Группы Ag

Родовые Ag (белки и полисахариды) - общие для всех нейссерий.

Видовые Ag (по-видимому, белковой природы) до настоящего времени не выделены в чистом виде.

Группоспецифичные Ag (гликопротеиновый комплекс) - детерминанта групповой специфичности (определяют соответствующими антисыворотками). Капсульные Ag групп В и С частично идентичны Ag некоторых штаммов *Escherichia coli*.

Типоспецифичные Ag (белки) разграничивают серовары внутри серогрупп В и С. Их специфичность достаточно ограничена - подобные Ag обнаруживают у представителей различных серогрупп, а также гонококков.

ЛПС клеточной стенки. По показателям токсичности для лабораторных животных *активность ЛПС менингококков сравнима с эндотоксинами энтеробактерий*. Они оказывают сенсibiliзирующее действие и индуцируют феномен Шварцмана в концентрациях, в 5-10 раз меньших, чем ЛПС грамотрицательной кишечной микрофлоры. Для генерализованных форм менингококковой инфекции характерны кожные высыпания, не отличимые от таковых при феномене Шварцмана.

Факторы патогенности

Капсула - *основной фактор патогенности, защищающий бактерии от поглощения фагоцитами*. АТ, синтезируемые к полисахаридам капсулы, проявляют бактерицидные свойства. По сравнению с гонококками, капсула менингококков имеет больший размер и более сложное строение.

Пили. Облегчают адгезию бактерий на слизистой носоглотки и, предположительно, на тканях мозговых оболочек.

Токсины. Менингококки не продуцируют экзотоксинов. Клеточная стенка содержит термолабильный токсичный компонент (эндотоксин) липополисахаридной природы. *Эндотоксин обуславливает токсические проявления менингококковой инфекции и играет ведущую роль в патогенезе поражений сосудов и кровоизлияний во внутренние органы*.

IgA-протеазы. Расщепляют молекулы IgA в шарнирной области, инактивируя их.

Патогенез поражений

Входные ворота инфекции - носоглотка. *В большинстве случаев инфекция протекает субклинически* (менингококконосительство). Патогенез клинически выраженных форм включает проявления токсического и септического характера в сочетании с аллергическими реакциями. Преобладание того или иного компонента проявляется в различных клинических формах. В месте внедрения возбудителя развивается острый назофарингит. Из этой области возбудитель может диссеминировать гематогенным путём. Менингококковую бактериемию (менингококце-мия)

сопровождает массовая гибель возбудителей с выделением эндотоксина. Возбудитель способен преодолевать ГЭБ и вызывать гнойное воспаление оболочек спинного и головного мозга - эпидемический цереброспинальный менингит. Генерализация наиболее часто связана с предшествующими респираторными инфекциями (особенно вирусными), нарушениями иммунного статуса, а также резкой сменой климатических условий. *Перенесённая локализованная или генерализованная менингококковая инфекция формирует стойкую невосприимчивость к повторным инфекциям.* Доказана возможность развития невосприимчивости в результате но-сительства. Специфические АТ могут передаваться трансплацентарно от матери к плоду, однако они циркулируют в крови новорождённого только в течение 2-5 мес и лишь у 50% детей. Развитие иммунных реакций вызывают *капсульные полисахариды* менингококков групп А и С.

На их основе для микроорганизмов этих серогрупп разработаны вакцины с высокими протективными свойствами. Образующиеся АТ циркулируют в течение 5 лет после вакцинации и проявляют комплементзависимую бактерицидность. Полисахариды группы В обладают слабой иммуногенностью и не приводят к образованию АТ.

Принципы микробиологической диагностики

Диагностика менингококковой инфекции основана на бактериоскопическом исследовании, выделении культуры и биохимической идентификации возбудителя. Материалы для исследования - СМЖ, кровь и отделяемое носоглотки.

В окрашенных мазках обнаруживают *грамотрицательные диплококки* или *одиночные кокки*, что значительно облегчает распознавание возбудителя при характерной клинической картине (рис. 16-6). *Следует помнить, что в мазках СМЖ обнаружить менингококки довольно трудно; в этих случаях диагноз подтверждают обнаружением Ag N. meningitidis в реакциях латекс-агглютинации или встречного иммуноэлектрофореза.* В период менингококцемии *грамотрицательные диплококки* могут быть обнаружены в окрашенных мазках из соскобов петехиальных высыпаний, а также в лейкоцитах периферической крови.

Выделение возбудителя. Проводят посев материала на твёрдые или полужидкие питательные среды, содержащие сыворотку, кровь или асцитическую жидкость. Культуры инкубируют при 37 °С и повышенном содержании (8-10%) CO₂. Оксидаза-положительные колонии предположительно рассматривают как принадлежащие к видам

Neisseria. Менингококки образуют мелкие нежные

полупрозрачные колонии диаметром 2-3 мм

(рис. 13 вклейки). Наличие в культуре *N. meningi-*

tidis подтверждает ферментация глюкозы и мальтозы, но не лактозы, сахарозы и фруктозы (рис. 16-7). Принадлежность к серогруппам определяют серологически (РА). Выделение возбудителя не всегда удачно; в диагностике менингококковых инфекций большую роль играет обнаружение Ag *N. meningitidis* и АТ к ним. Ag распознают в реакции коаггули-нации, латекс-агглютинации, встречного электрофореза и ИФА. АТ распознают в РПГА и ИФА с использованием группоспецифичных полисахаридных диагностикумов.

Лечение и профилактика

Лечение. Основу составляет рациональная антимикробная терапия сульфаниламидами и антибиотиками. Её сочетают с симптоматическими средствами, корригирующими водно-солевой и кислотно-щелочной баланс, а также с седативными средствами и глюкокортикоидами.

Профилактика. Средства адекватной специфической иммунопрофилактики отсутствуют. Для создания невосприимчивости разработаны вакцины из капсульных полисахаридов серогрупп А, С, У и W135, однако они обуславливают лишь группоспецифичный иммунитет.

РОД *MORAXELLA*

Бактерии рода *Moraxella* - обитатели слизистых оболочек человека и животных. Интересно, что первого представителя выделили офтальмологи - француз В. Моракс и немец К. Ак-сенфельд (1896). Бактерии могут вызывать респираторные инфекции, острые и хронические конъюнктивиты, септические менингиты, септицемии и негонококковые уретриты. В связи с дополнениями в систематике род разделён на подроды *Moraxella* и *Branhamella*.

Бактерии подрода *Moraxella*

Представлены короткими (1,0-1,5x1,5-2,5 мкм) палочками, окружёнными капсулой. Большинство видов прихотливо к условиям культивирования. Оптимальная температура 37 °С, оптимальный рН 7,0-7,5. На плотных средах образуют два типа колоний: в свежесделанных культурах преобладают шероховатые колонии SC-типа с неровными краями (иногда вызывают коррозию поверхности питательной среды) и N-типа, мелкие (0,2 мм), прозрачные, гладкие, с ровным краем, не вызывающие коррозию среды. При микробиологической диагностике учитывают следующие родовые признаки: *отсутствие подвижности; отсутствие способности окислять глюкозу; отсутствие пигментообразования; оксидаза- и каталаза-положительность, высокая чувствительность к пенициллину.*

Бактерии подрода *Branhamella*

Бактерии подрода *Branhamella* - паразиты слизистых оболочек млекопитающих, названы в честь американского бактериолога С. Брэнем. Ранее в соответствии с морфологическими и метаболическими признаками их рассматривали как представителей рода *Neisseria*. Бранхамеллы - грамтрицательные диплококки окружённые общей капсулой; каталаза- и цитохро-моксидаза-положительны. Восстанавливают нитраты, не ферментируют углеводы, не образуют индол и сероводород. Температурный оптимум 37 °С (могут расти и при 22 °С). Типовой вид рода - *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*. У человека виды *Branhamella* обычно вызывают отиты, гаймориты и респираторные инфекции. Реже регистрируют менингиты, эндокардиты и уретриты. Бранхамеллы требовательны к условиям культивирования и нуждаются в средах, содержащих аминокислоты, минеральные соли, биотин и лактат (или сукцинат) как источник энергии и углерода. На плотных средах образуют характерные мутные колонии с мелкими складками и приподнятым центром (рис. 14 вклейки).

РОД *ACINETOBACTER*

Род образуют мелкие (1,0x1,5 мкм), капсулированные неподвижные палочки, на что прямо указывает их название [от греч. а-, отрицание, + *ki^sis*, движение, + *bacter*, бактерия]. В мазках располагаются парами, короткими цепочками или беспорядочными скоплениями. Жгутиков не имеют, но благодаря наличию полярных фимбрий на плотных средах для бактерий характерна «дёргающаяся» подвижность. Хорошо растут на обычных средах, образуя колонии, напоминающие колонии энтеробактерий. Акинетобактерии широко распространены в природе, их выделяют из воды, почвы, пастеризованного молока, замороженных продуктов, а также из воздуха стационаров и смывов с различного медицинского оборудования, растворов и препаратов (в том числе крови). Они обнаружены на кожных покровах 25% клинически здоровых людей (особенно медицинского персонала), а также на слизистой оболочке носоглотки (более 7% обследованных индивидуумов). Акинетобактерии часто выделяют при поражениях кожных покровов, дыхательных путей (например, положительные результаты получены у 45% пациентов с трахеостомами), мочевыводящего тракта и половых органов, при конъюнктивитах, а также

эндокардитах, менингитах, перитонитах и септицемиях. *Акинетобактеры* - вторые (после псевдомонад) по частоте выделения из клинических образцов неферментирующие грамотрицательные палочки. В последнее время регистрируют увеличение частоты госпитальных инфекций, вызванных акинетобактерами, у пациентов с нарушениями иммунитета, трудно поддающихся лечению (составляют 0,5-2,5% всех нозокомиальных инфекций). Патогенез поражений. Прямо связан с нарушениями иммунитета, поскольку микроорганизм лишён каких-либо факторов патогенности, исключая ЛПС клеточной стенки. Капсула ингибирует эффективность фагоцитарных реакций и облегчает адгезию к эпителию, а способность к секреции бактериоцинов облегчает его колонизацию. Принципы микробиологической диагностики. При распознавании акинетобактеров следует помнить, что в мазках из нативного материала доминируют кокковидные и коккобациллярные, а в мазках из культур - палочковидные формы. Микроорганизмы растут на простых средах, образуя блестящие голубоватые колонии. На КА через 48 ч формируют выпуклые серовато-белые колонии (2-3 мм), иногда окружённые зоной р-гемолиза.

РОД *KINGELLA*

Кингеллы - прямые неподвижные палочки с закруглёнными концами около 1 мкм длиной; при росте на плотных средах способны к «дёргающимся» движениям, выраженным у штаммов, имеющих фимбрии. Названы в честь американского бактериолога Э. Кинг, первой описавшей их. В мазках располагаются парами или короткими цепочками. Капсул не образуют. Комменсалы носоглотки человека. Наибольшее число поражений выявлено у лиц с нарушениями иммунитета. Кингеллы - прямые неподвижные палочки с закруглёнными концами около 1 мкм длиной;

при росте на плотных средах способны к «дёргающимся» движениям, выраженным у штаммов, имеющих фимбрии. В мазках располагаются парами или короткими цепочками. Капсул не образуют. Анилиновыми красителями окрашиваются плохо. Требовательны к источникам питания (на простых средах практически не растут). Нуждаются в факторах роста, компенсируемых внесением в среду крови, сыворотки и экссудатов; некоторые свежевыделенные фимбриальные штаммы могут вызывать коррозию поверхности питательной среды. Температурный оптимум роста 33-37 °С; при 20 °С рост прекращается; при 45 °С погибают в течение 10-15 мин. Ферментируют глюкозу и незначительное число других углеводов с образованием кислоты. Наибольшее медицинское значение имеет *Kingella kingae* - возбудитель эндокардитов, менингитов, септических артритов, бактериемий и кожных поражений у детей. Наиболее часто бактерии выделяют из крови (46% всех штаммов), носоглотки, костей и суставов. Образует шероховатые R-колонии с неровными краями и гладкие, прозрачные S-колонии. На КА дают р-гемолиз.

ГЛАВА 17. АЭРОБНЫЕ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ

Группу аэробных неферментирующих грамотрицательных палочек составляют неприхотливые бактерии, не требовательные к составу культуральных сред, что отличает их от других грамотрицательных бактерий. Из организма человека при различных поражениях выделяют представителей родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes* и *Flavobacterium*. Среди инфекционных заболеваний у человека доминируют поражения, вызванные *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойной палочкой). Физиологические свойства этих бактерий более точно определяет термин «неферментирующие бактерии», так как они разлагают углеводы, не используя их в качестве источника энергии, а окисляют их, что легко установить при помощи теста Хью-Лёйфсона.

Тест Хью-Лёйфсона позволяет выявить способность различных бактерий окислять и/или ферментировать глюкозу. Для этого исследуемый материал засевают в две пробирки со средой, содержащей глюкозу. Первую инкубируют в аэробных условиях для выявления способности к окислению (для окисления необходим кислород), вторую - в анаэробных для выявления

ферментации (рис. 17-1). Тест используют для дифференцировки псевдомонад, окисляющих глюкозу, от ферментирующих её бактерий (например, энтеробактерий).

РОД *PSEUDOMONAS*

Род *Pseudomonas* семейства *Pseudomonadaceae* отдела *Gracilicutes* объединяет аэробные прямые или изогнутые палочки. Псевдомонады подвижны (исключая *P. mallei*), имеют жгутики, расположенные полярно; хемоорганотрофы, оксидаза-положительны. Многие виды свободноживущие, но их относят к растительным и животным патогенам. Медицинское значение имеют *P. aeruginosa*, *P. mallei* и *P. pseudomallei* (табл. 17-1).

Синегнойная палочка (*P. aeruginosa*)

Синегнойная палочка - основной возбудитель инфекционных поражений человека, вызываемых псевдомонадами. Бактерии выделяют из кишечника 5% здоровых лиц и до 30% госпитализированных пациентов. Синегнойную палочку впервые описал А. Люккё (1862), чистую культуру бактерий выделил П. Жессар (1882). Начиная с 70-х гг *P. aeruginosa* - один из основных возбудителей локальных и системных гнойно-воспалительных процессов, особенно в условиях стационара.

Эпидемиология

P. aeruginosa распространена повсеместно; её выделяют из почвы, воды, растений и животных (водных или обитающих в ареалах с высокой влажностью). Бактерии могут оставаться живыми в течение года (при 37 °С) в воде, а также во многих растворах, применяемых в практической медицине, вплоть до жидкости для хранения контактных линз. Иногда синегнойная палочка входит в состав нормальной микрофлоры человека. У здоровых людей её обнаруживают на коже паховых, подмышечных областей и ушных раковин (до 2% лиц), слизистой оболочке полости носа (до 3% лиц) и глотки (до 7%), в ЖКТ (3-24%). Поскольку синегнойная палочка часто инфицирует медицинское оборудование и циркулирует среди персонала и пациентов, госпитализация существенно увеличивает вероятность колонизации организма больного. Риск развития инфекции, вызванной синегнойной палочкой, существенно возрастает у больных с нарушениями барьерных систем и факторов резистентности (табл. 17-2). Синегнойная палочка вызывает до 15-20% всех внут-рибольничных инфекций (ВБИ). Эти бактерии считают одним из основных возбудителей нозо-комиальных пневмоний (до 20%); при ВБИ они вызывают треть всех поражений мочеполовой системы у урологических больных, 20-25% гнойных хирургических инфекций и первичных бактериемий, вызванных грамотрицательными бактериями.

Морфология и тинкториальные свойства

Средние размеры синегнойной палочки 1-3x0,5-1 мкм; в нативных препаратах бактерии подвижны (имеют один или два полярных жгутика). В мазках чистых культур палочки расположены одиночно, попарно либо в виде коротких цепочек. В мазках из патологического материала их чаще можно обнаружить в цитоплазме фагоцитов, при этом палочки могут деформироваться. Поверхность бактерий покрыта микроворсинками; кроме того, *P. aeruginosa* синтезирует слизистое вещество, покрывающее тонким слоем микробную клетку. Более вирулентные, так называемые мукоидные штаммы, секретируют это вещество наиболее интенсивно, что даёт основание рассматривать слизь как фактор патогенности.

Культуральные свойства

Синегнойная палочка растёт в широком диапазоне температур (4-42 °С), что указывает на способность длительно сохраняться в окружающей среде и противостоять защитному действию повышения температуры тела инфицированного человека. *Отличительная особенность микроорганизма - ограниченная потребность в питательных веществах, обеспечивающая*

сохранение жизнеспособности в условиях почти полного отсутствия источников питания. *P. aeruginosa* хорошо растёт на простых питательных средах в аэробных условиях при температуре 30-37 °С, а также и при 42 °С, что можно использовать как дифференциально-диагностический признак. Образование слизи - характерная особенность вирулентных штаммов; слизь придаёт вязкость бульонным культурам и колониям.

В жидких средах синегнойная палочка образует характерную серовато-серебристую плёнку; по мере старения культуры возникает помутнение среды по направлению сверху вниз.

На плотных средах обычно образует небольшие (2-5 мм) выпуклые S-колонии (рис. 17-2). Бактерии также могут формировать плоские, неправильной формы колонии с волнистыми краями либо складчатые колонии с неровной поверхностью («маргаритки»). На плотных средах у многих штаммов синегнойной палочки наблюдают феномен радужного лизиса - появление на поверхности колоний плёнки, переливающейся всеми цветами радуги в отражённом свете. Феномен радужного лизиса обусловлен спонтанным действием бактериофага и характерен только для *P. aeruginosa* (его можно рассматривать как дополнительный таксономический признак).

Рис. 17-2. Колонии *Pseudomonas aeruginosa* на среде Плоскирева. Синегнойная палочка не ферментирует лактозу и образует на среде Плоскирева небольшие беловатые полупрозрачные колонии.

Биохимические свойства

P. aeruginosa - выраженный хемо-органотроф и строгий аэроб. Палочка способна расти на чисто минеральных средах при добавлении подходящего единственного источника углерода. Характерная особенность - образование триметиламина, придающего культурам запах жасмина или карамели. Как и большинство патогенных гноеродных бактерий, синегнойная палочка каталаза-положительна. Подобно прочим аэробам она синтезирует цитохромоксидазу (индолфенолок-сидаза), а оксидазный тест служит одним из ведущих при идентификации бактерий.

- *Протеолитическая активность высокая* - бактерии разжижают желатину, свёртывают сыворотку крови, гидролизуют казеин; утилизируют гемоглобин (большинство патогенных штаммов на КА образует зону (3-гемолиза). Микроорганизмы расщепляют не только белки, но и отдельные аминокислоты (например, валин и аланин).

- *Сахаролитическая активность низкая* - бактерии способны окислять только глюкозу с образованием глюконовой кислоты.

- Ввиду явного преобладания протеолитических свойств над сахаролитической активностью для идентификации синегнойной палочки среды «пёстрого ряда» готовят с малым содержанием пептона (до 0,1%) и высокой концентрацией углеводов (до 2%). Тест Хью-Лёйфсона положителен только с глюкозой (в аэробных условиях).

Образование бактериоцинов. *P. aeruginosa* синтезирует пиоцины - бактериоцины, угнетающие жизнедеятельность грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также проявляющие умеренную фунгицидную активность. Вирулентные штаммы либо активно синтезируют пиоцины, либо подвержены их действию. Способность к синтезу и чувствительность к пиоцинам широко варьируют у разных штаммов, на чём основано пиоцинотипирование псевдомонад. Его обычно используют при эпидемиологической оценке выделенных культур.

Образование пигментов - важный диагностический признак, его наблюдают у 70-80% клинических изолятов. Бактерии образуют водорастворимый пигмент пиоцианин, окрашивающий питательную среду, отделяемое ран и перевязочный материал в сине-зелёный цвет

(рис. 15 вклейки). Более вирулентные штаммы образуют большее количество пигмента. Подавляющее большинство культур также образует зелёный пигмент флюоресцеин (пиовердин), флюоресцирующий при УФ-облучении (с длиной волны 254 нм). Некоторые штаммы могут синтезировать и другие пигменты: пиорубин (красный), пиомеланин (чёрно-коричневый) и L-оксифеназин (жёлтый).

Образование токсинов. *P. aeruginosa* образует комплекс экзотоксинов, а также эндотоксин, высвобождающийся при гибели бактерий.

Экзотоксины представлены метаболитами с широким спектром биологической активности; среди них основное значение имеют следующие экзотоксины.

Экзотоксин А - термолабильный белок, самый токсичный из всех остальных продуктов жизнедеятельности синегнойной палочки. *Механизм действия связан с подавлением синтеза белков через АТФ-рибозилирование и нарушением организации матрицы белкового синтеза.* То есть во многом аналогичен действию дифтерийного токсина, так как его мишенью также является фактор элонгации 2. Действие экзотоксина А проявляется в общем токсическом эффекте, отёках, некрозах, артериальной гипотензии с последующим коллапсом, метаболическом ацидозе, дыхательной недостаточности и т.д.

Экзоэнзим S - термостабильный белок с АДФ-трансферазной активностью. Первоначально он образуется в форме неактивного белка-предшественника. Его действие проявляется развитием патологических процессов в лёгких.

Цитотоксин проявляет выраженное цитотоксическое действие, в том числе и на сегментоядерные нейтрофилы, способствуя развитию нейтропении. Он вызывает ультраструктурные изменения в клетках, нарушение физиологических градиентов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} и глюкозы посредством повышения проницаемости клеточных мембран, что обуславливает набухание клеток и потерю крупных (например, белковых) молекул.

Бактерии образуют две гемолитические субстанции: термолабильный гемолизин с лецитиназной активностью (фосфолипазу С) и термостабильный гемолизин (фосфолипазу). Токсины вызывают солубилизацию и гидролиз фосфолипидов с образованием фосфорилхолинов - источника неорганических фосфатов. Действие гемолизинов проявляется развитием некротических поражений (особенно в печени и лёгких). Действие эндотоксина приводят к развитию пирогенной реакции и стимулирует воспаление, как и эндотоксины прочих грамотрицательных бактерий.

Другие токсичные субстанции

- Энтеротоксический фактор. Его патогенетическое значение оценить трудно, так как инфекции *P. aeruginosa*, сопровождающиеся диареей, регистрируют крайне редко (в частности, при шанхайской, или 5-дневной, лихорадке).

- Вирулентные штаммы синтезируют фактор проницаемости, участвующий в повреждении тканей.

- Нейраминидаза нарушает процессы метаболизма веществ, содержащих нейраминовые кислоты, например в соединительнотканых элементах. Нейраминидаза способна в 2-3 раза усиливать действие других токсинов.

- Протеолитические ферменты. Протеаза II (эластаза) обуславливает 75% протеолитической активности синегнойной палочки. Фермент расщепляет эластин, казеин, гемоглобин, фибрин, Ig, комплемент и другие белки. Протеаза III (щелочная протеаза) гидролизует многие белки (в том

числе у-ИФН). Коллагеназа вызывает гидролиз коллагена в соединительных тканях; её считают основным фактором вирулентности при инфекционных поражениях роговицы.

Антигенная структура

Основные Аг *P. aeruginosa* - соматический, О-Аг, и жгутиковый, Н-Аг. Серологическую идентификацию культур и выявление их принадлежности к определённому серовару проводят по наличию у выделенной культуры сочетания группоспецифического О-Аг и типоспецифического Н-Аг. О-Аг и Н-Аг синегнойной палочки обозначают арабскими цифрами (например, О-1, О-2, Н-1, Н-2 и т.д.), указывающими на принадлежность к определённой серологической группе (или Н-серовару). Сочетание индексов определяет принадлежность к конкретному серовару.

О-антигенный комплекс - сложный макромолекулярный агрегат ЛПС и белков. *Типо-или группоспецифические Аг P. aeruginosa представлены липолисахаридами*; они являются основным структурным компонентами О-Аг, обуславливающими его специфичность. На основе структуры О-Аг проводят серологическое типирование. *Белковый компонент О-Аг - антигенный комплекс, общий для псевдомонад*, то есть родовой О-Аг. По структуре О-Аг выделяют более 20 серогрупп.

Н-антигенный комплекс представлены термолабильными белками низкой специфичности, обусловленной различиями в строении флагеллинов. Выявлено 15 различных типов Н-Аг. Н-Аг обнаруживают лишь у жизнеспособных, подвижных бактерий, не подвергшихся какому-либо воздействию дезинфицирующих или антимикробных средств.

Патогенез поражений

Несмотря на большое количество факторов вирулентности, синегнойную палочку следует рассматривать как оппортунистический патоген, так как инфекционные процессы, вызванные этим микроорганизмом, редко регистрируют у лиц с нормальной резистентностью и неповреждёнными анатомическими барьерами. Поверхностные микроворсинки *P. aeruginosa* обеспечивают адгезию бактерий к эпителию.

Псевдомонады - типичные внеклеточные паразиты, их способность к размножению прямо зависит от возможности противостоять действию факторов резистентности заражённого организма. Слизь и секретлируемые цитотоксины защищают бактерии от действия защитных факторов. Важную роль играет комплекс БАВ, синтезируемых бактериями и обеспечивающих их неорганическим фосфором (фосфолипазы) и железом (сидерофоры, нарушающие связывание железа трансферрином).

Клинические проявления

Для синегнойной палочки характерна низкая инвазивность. Однако при определённых условиях (например, снижение резистентности организма, нарушение целостности анатомических барьеров, долгое пребывание больного в стационаре и т.п.) *P. aeruginosa* становится основным возбудителем раневых инфекций и многих осложнений (см. табл. 17-2).

Микробиологическая диагностика

На наличие синегнойной инфекции может указывать голубовато-зелёное окрашивание краёв и отделяемого ран, перевязочного материала (особенно после обработки H_2O_2), развитие гангренозной эктимы (синевато-багровые пятна на коже, превращающиеся в сливающиеся язвы с фестончатыми краями; патогномоничной для синегнойной септицемии) при ожогах и поражениях мочеполовой системы. В большинстве случаев для диагностики поражений внутренних органов синегнойной палочкой необходимо выделение возбудителя. При взятии материала для исследования следует соблюдать и учитывать следующие важные моменты.

- Материал для бактериологического исследования необходимо забирать непосредственно из очага поражения с соблюдением всех необходимых правил асептики.

- При невозможности взятия материала непосредственно из очага инфекции, а также если очаг сообщается с внешней средой, проводят исследование отделяемого (например, мочи при пиелонефрите, мокроты при пневмонии, отделяемого влагалища или канала шейки матки при поражении половых органов).

- При идентификации выделенных культур учитывают способность к образованию пигментов и биохимические свойства бактерий.

Лечение и профилактика

Инфекции, вызванные синегнойной палочкой, плохо поддаются антибиотикотерапии, что обусловлено множественной резистентностью, в том числе передаваемой R-плазмидами. *Резистентность к антибиотикам обусловлена двумя основными механизмами - блокадой транспорта препарата к внутриклеточной мишени и его инактивацией бактериальными ферментами.* Блокаду транспорта обеспечивает строение клеточной стенки *P. aeruginosa*, инактивация антибиотиков обусловлена способностью синтезировать р-лактамазы, ацетилтрансферазы и нуклео-тидазы, инактивирующие аминогликозиды.

Профилактика синегнойной инфекции особенно сложна, так как возбудитель устойчив к действию многих антисептиков и дезинфицирующих средств. *P. aeruginosa* способна синтезировать факторы, нейтрализующие некоторые дезинфектанты. Однако бактерии чувствительны к действию дезинфицирующих средств, содержащих хлор, и быстро погибают под действием высокой температуры и давления (при кипячении или автоклавировании).

Возбудитель сапа (*P. mallei*)

Сап - зооноз, известный с древнейших времён (ещё Аристотель считал сап заразной болезнью). Возбудитель выделили Лёффлер, Шютц (1882) и Н.П. Васильев (1883).

Эпидемиология

Сапом болеют чувствительные к *P. mallei* животные - лошади, ослы, верблюды, реже козы, собаки и кошки. *Заболевание человека носит выраженный профессиональный характер; основной путь заражения - контактный* (через повреждённую кожу и слизистые оболочки). Также возможно заражение через загрязнённую воду. Благодаря проведённым интенсивным профилактическим мероприятиям в настоящее время сап не представляет серьёзной эпидемической угрозы. Возбудитель слабо устойчив к действию факторов внешней среды - прямой солнечный свет убивает его за 24 ч, однако в выделениях больных на свету он может сохраняться в течение нескольких недель. Бактерии термолабильны - при 100 °С погибают в течение нескольких минут, при 55-60 °С - за 1-2 ч. В воде возбудитель сохраняется до 30 сут. Помещения, использованные для содержания больных животных, сохраняют эпидемическую опасность в течение 6 нед.

Морфология и тинкториальные свойства

P. mallei - тонкие, слегка изогнутые палочки с закруглёнными концами размером 2-3x0,5-1 мкм. *Основной дифференцирующий признак - отсутствие подвижности.*

Культуральные свойства

P. mallei - строгий аэроб, растёт на простых средах, дополненных 4-5% глицерина, при температуре 20-45 °С (оптимум 37 °С); благоприятный рН 6,5-7,2.

- В жидких питательных средах образует мутную взвесь, позднее выпадающую в осадок. При хранении среда полностью не просветляется.

- В полужидких питательных средах наблюдают образование поверхностного сероватого налёта, прорастающего в верхнюю часть линии укола (иногда в месте укола возникает желтоватое окрашивание); возбудитель не разжижает желатину.

- На плотных питательных средах возбудитель образует плоские полупрозрачные колонии, сливающиеся в прозрачный янтарный тягучий налёт. На свёрнутой сыворотке образует мелкие мутные беловатые колонии (среду не разжижает). *P. mallei* даёт характерный рост на картофельных пластинках - через 24 ч образует полупрозрачные колонии, позднее (через 6-8 сут) они сливаются, формируя полупрозрачные массы цвета мёда (пигментирование проявляется только на картофельных средах и варьирует от сероватого до буровато-красного).

Биохимические свойства

Палочки сапа разлагают глюкозу, маннит, левулёзу и глицерин с образованием кислоты без газа. Они не синтезируют индол и не восстанавливают нитраты, образуют H₂S и аммиак в жидких средах, каталаза-положительны. Молоко палочки свёртывают медленно (в течение 10-12 сут), образуя незначительное количество кислоты.

Патогенез поражений

Эндотоксин возбудителя вызывает острое воспаление с формированием очагов гнойного расплавления тканей. Разрушение первичных очагов способствует лимфо- и гематогенному разнесу *P. mallei* по всему организму. Процесс приобретает септико-пиемический характер с образованием абсцессов в мышцах и внутренних органах (наиболее часто в лёгких, печени, селезёнке).

Клинические проявления

Заболевание начинается остро, с подъёмом температуры тела до 38-39 °С, головной болью и артралгиями. В месте проникновения возбудителя последовательно образуются тёмно-красная папула, затем пустула с подрытыми краями и «сальным» дном. Часто формирование очагов сопровождается регионарным лимфангиитом. Через 5-7 сут появляются вторичные множественные изъязвляющиеся папулы. Состояние больного резко ухудшается, обычно развивается тяжёлая плевропневмония с кровохарканьем; реже клиническую картину обуславливают абсцедирующие поражения других органов. Летальность при острой форме достигает 100%.

Хронические поражения протекают в трёх формах: кожной, лёгочной и носоглоточной.

- Наиболее распространена кожная форма, сопровождаемая множественными «холодными» абсцессами. Их самопроизвольное вскрытие ведёт к образованию свищей с обильным отделяемым.

- При носоглоточной форме типичны слизисто-гнойное отделяемое из носоглотки, образование жёлто-зелёных корочек и распространение изъязвлений на зев и трахею.

- Лёгочные поражения проявляются «ползучей» плевропневмонией и деструкцией лёгочной ткани. Прогноз хронической формы также неблагоприятен; летальность может достигать 50% и более.

Микробиологическая диагностика

Микробиологическая диагностика основана на выделении и идентификации возбудителя, а также результатах кожных проб. Все исследования проводят в условиях, необходимых для работы

с возбудителями особо опасных инфекций. Материалом для исследования служат мокрота, гной, кровь и отделяемое вскрывшихся абсцессов или биоптаты закрытых абсцессов. Основные дифференцирующие признаки возбудителя - неподвижность, отсутствие способности образовывать газообразный азот, разжижать желатину и расти при температуре 42 °С. Биологическая проба. При выделении подозрительных колоний проводят биологическую пробу на морских свинках. Смешанную культуру вводят подкожно, чистую - внутрибрюшинно. На месте введения через 2-3 сут образуется опухоль-узелок, вскрывающаяся на 4-5-е сутки с образованием язвы. На 3-10-е сутки у морских свинок-самцов, заражённых внутрибрюшинно, развивается орхит (феномен Штрауса). Кожная проба. При подозрении на сап больному внутрикожно (в кожу внутренней стороны предплечья) вводят маллеин (бактериальный аллерген, полученный из культур *P. mallei*) в разведении 1:100 в количестве 0,1 мл. Всё же реакция имеет больше эпидемиологическое значение, так как у больного положительная воспалительная реакция развивается на 2-3-й неделе заболевания.

Серологические исследования. Наличие АТ в сыворотке больных выявляют при помощи РА со специальным штаммом (ориентировочная концентрация микроорганизмов суспензии не менее 1 млрд/мл), РСК (основная диагностическая реакция) и РНГА.

Лечение и профилактика

Больных помещают в изолированные палаты строгого режима; для их лечения привлекают квалифицированный персонал, соблюдающий все меры предосторожности и пользующийся индивидуальными средствами специальной защиты (комбинезоны, при их отсутствии - перчатки, халаты, маски, очки, марлевые повязки и т.д.). Основу лечения составляет назначение антимикробных ЛС (р-лактамных антибиотиков или хинолонов) в сочетании с хирургическим вскрытием и обработкой абсцессов. Лица, подвергшиеся опасности заражения, освобождаются от карантина при отсутствии клинических проявлений в течение 21 сут, но окончательно свободными от возбудителя их считают при отрицательных результатах повторных кожных проб и РСК с Аг *P. mallei*.

ГЛАВА 18. ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТИРУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ

Эту группу составляют разнообразные бактерии семейств *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae* и *Pasteurellaceae*, обитающие в различных биотопах и предъявляющие различные требования к условиям культивирования. Их физиологические свойства точно определяет термин «ферментирующие бактерии», так как они ферментируют углеводы и утилизируют их в качестве источника энергии, что легко установить в тесте Хью-Лёйфсона (см. главу 17).

БАКТЕРИИ СЕМЕЙСТВА *ENTEROBACTERIACEAE*

Семейство *Enterobacteriaceae* (кишечные бактерии) отдела *Gracilicutes* включает более 20 родов, объединяющих более 100 видов бактерий. Семейство включает небольшие подвижные (перитри-хи) или (реже) неподвижные споронеобразующие палочки.

Некоторые имеют капсулы, особенно при первичной изоляции из клинических образцов. Энтеробактерии аэробы или факультативные анаэробы; большинство из них растёт на простых питательных средах, но некоторые имеют специфические потребности. Энтеробактерии хемоорганотрофы, разлагают углеводы с образованием кислоты и газа, но есть и газонеобразующие виды. Бактерии каталаза-положительны и оксидаза-отрицательны.

Энтеробактерии обитают на растениях и в почве, входят в состав микробных ассоциаций кишечника животных и человека. За последние 20-30 лет существенно увеличилось их значение в патологии человека. Кроме родов, включающих классические патогены, *возрастает роль условно-*

патогенных бактерий, часто вызывающих оппортунистические инфекции. Условно-патогенные энтеробактерии могут вызвать до 50% всех случаев септицемий, до 70% гастроэнтеритов и более 70% инфекций мочевыводящих путей. Поражения у человека вызывают бактерии родов *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Yersinia* и многие другие. В настоящей главе будут рассмотрены возбудители, имеющие наибольшее медицинское значение.

Факторы патогенности энтеробактерий

Патогенез поражений определяют термостабильные и термолабильные энтеротоксины, эндотоксины, сидерофоры, связывающие ионы Fe^{2+} (энтеробактины), факторы инвазивности (жгутики, интегринины) и адгезии (микроворсинки, поверхностные белки, агглютинины различной природы), факторы, обеспечивающие выживание бактерий в цитоплазме фагоцитов и сыворотке крови, гемагглютинины, ферменты и т.д.

Клинические проявления

Клинические проявления большинства поражений обусловлены воздействием липополисахаридного эндотоксина, высвобождающегося при гибели бактерий.

- *Лихорадка.* Повышение температуры тела обычно происходит через 30 мин после попадания эндотоксина в кровотоки.

- *Артериальная гипотензия.* Небольшие дозы эндотоксина вызывают снижение АД у большинства людей в течение 30 мин. Большие дозы могут вызвать выраженную и даже фатальную гипотензию.

- *Внутрисосудистое свёртывание.* При повторном проникновении эндотоксина в кровотоки может развиваться синдром диссеминированного внутрисосудистого свёртывания (типа генерализованного феномена Шварцмана), способный приводить к истощению факторов свёртывания и сильным кровотечениям.

Диагностические подходы

При бактериологическом исследовании материала принадлежность к семейству *Enterobacteriaceae* обычно устанавливают по основным морфологическим признакам, антигенной структуре и наличию (или отсутствию) определённых биохимических признаков (табл. 18-1). Основные идентифицирующие тесты, известные как минимальный дифференцирующий ряд: *оксидазный тест*, *ферментация углеводов* (рис. 16-18, см. цветную вклейку), *восстановление нитратов*, *реакция с метиловым красным* (рис. 19, см. цветную вклейку), *образование ацетона при ферментации глюкозы* (реакция Фбгеса-Проскауэра), *тест с о-нитрофенил- β -галактопиранозидом* (рис. 20, см. цветную вклейку), *образование индола*, *утилизация цитрата* (рис. 21, см. цветную вклейку), *гидролиз мочевины*, *декарбоксилирование и гидролиз аминокислот*, *дезаминирование фенилаланина или триптофана*, *образование H_2S* и *тест на подвижность*.

- Большинство видов ферментирует глюкозу с образованием органических кислот. Некоторые виды также выделяют водород и углекислый газ при ферментации глюкозы.

- По способности сбраживать лактозу энтеробактерии разделяют на ферментирующие и неферментирующие. Для определения отношения к лактозе наиболее часто используют дифференциально-селективные среды Плоскирева, Мак-Кбнки, Эндо, Левина.

- Универсальная дифференциально-селективная среда для энтеробактерий - агар Клейгера (рис. 22, см. цветную вклейку).

Прочие биохимические тесты используют для идентификации отдельных видов.

ЭШЕРИХИИ

Своё название бактерии получили в честь немецкого педиатра Т. Эшериха, впервые выделившего *Escherichia coli* из содержимого кишечника детей. Род образуют подвижные (перитрихи) прямые палочковидные бактерии размерами 1,1-1,5x2,0-6,0 мкм. В мазках они располагаются одиночно или парами. У большинства штаммов существуют капсулы или микрокапсулы. Температурный оптимум для роста 37 °С. Эшерихии ферментируют углеводы с образованием кислоты или кислоты и газа, окси-даза-отрицательны и каталаза-положительны.

Они входят в состав микрофлоры толстой кишки теплокровных, пресмыкающихся, рыб и насекомых. Эшерихии - основная аэробная микрофлора кишечника, вызывающая, однако, обширную группу заболеваний человека, известных как эшерихиозы. Они характеризуются не только клиническим полиморфизмом, но и создают особую эпидемиологическую ситуацию. Основное медицинское значение имеет кишечная палочка (*Escherichia coli*). Кишечные палочки рассматривают как санитарно-показательные микроорганизмы (СПМ) при анализе воды и пищевых продуктов.

Кишечная палочка (*E. coli*)

В настоящее время среди прочих энтеробактерий кишечная палочка - основной возбудитель эшерихиозов у человека.

Морфология и культуральные свойства

E. coli имеют типичную для энтеробактерий форму и представлены короткими подвижными палочками с закруглёнными концами (рис. 18-1).

- На плотных средах бактерии образуют плоские выпуклые мутные S-колонии с ровными или слегка волнистыми краями (3-5 мм в диаметре) либо сухие плоские R-колонии с неровными краями.

- В жидких средах растут диффузно, вызывая помутнение среды и образование осадка (реже формируют поверхностную плёнку или пристеночное кольцо).

- На средах Хйсса кишечная палочка может образовывать газ (рис. 23 вклейки). На селективно-дифференциальных средах колонии принимают цвет, соответствующий окраске среды. На агаре Эндо лактоза-положительные эшерихии образуют фуксиново-красные колонии с металлическим блеском, лактоза-отрицательные - бледно розовые или бесцветные с тёмным центром. На среде Левина бактерии формируют тёмно-синие колонии с металлическим блеском, а лактоза-отрицательные - бесцветные, на среде Плбскирева - соответственно красные с жёлтым оттенком (рис. 24 вклейки) или бесцветные. На КА могут давать полный гемолиз.

Биохимические свойства

Биохимические свойства *E. coli* представлены в табл. 18-1. По способности кишечной палочки ферментировать лактозу разделяют лактоза-отрицательные и лактоза-положительные. Бактерии образуют индол (рис. 18-2, А), восстанавливают нитраты (рис. 18-2, Б) и декарбоксилируют лизин.

Антигенная структура

Поскольку морфологического различия между патогенными и непатогенными кишечными палочками нет, их дифференцировка основана на различиях в структуре Аг. У

E. coli выделяют липополисахаридные (О-), жгутиковые белковые (Н-), капсульные полисахаридные (К) Аг, обозначаемые арабскими цифрами. На практике обычно используют соотношение О:Н (в настоящее время выделено 173 О- и 56 Н-сероваров). *Наиболее информативное исследование - типирование по О-Аг* (табл. 18-2). По К-Аг бактерии разделяют на три группы (L, В и А); по их структуре выделяют 80 сероваров.

Патогенез поражений и клинические проявления

У человека кишечная палочка вызывает кишечные инфекции, поражения мочевыводящих путей, бактериемии, менингиты и др.

Кишечные инфекции (коли-инфекции). *E. coli*, вызывающие диарею, разделяют на пять типов - энтеротоксигенные, энтероинвазивные, энтеропатогенные, энтерогеморрагические и энтероадгезивные. Основной путь распространения эшерихий, вызывающих диарею, - фекально-оральный. Наиболее часто человек заражается при употреблении контаминированной пищи (в том числе молока), воды, а также при контакте с животными. В стационарах и закрытых коллективах большее значение имеет контактный путь передачи. Поскольку эшерихии обитают в кишечнике многих животных, установить природный резервуар патогенных типов не представляется возможным.

Энтеротоксигенные *E. coli*, ЕТЕС [от англ. *enterotoxigenic E. coli*], - возбудители диарей и токсикоинфекций. Факторы патогенности - пили, облегчающие адгезию бактерий на эпителии и способствующие колонизации нижних отделов тонкой кишки. Бактерии выделяют термолabileный и термостабильный энтеротоксины (гены токсинообразования передают умеренные фаги). Низкомолекулярный термостабильный токсин увеличивает содержание циклического гуанин-монофосфата в клетках эпителия, что приводит к нарушению транспорта Fe^{2+} и выходу жидкости из клеток.

Высокомолекулярный термолabileный токсин напоминает по структуре и механизму действия токсин холерного вибриона. Токсин состоит из двух компонентов: компонент В связывается с мембранами клеток эпителия, что позволяет компоненту А проникнуть в них.

Последний увеличивает содержание циклического АМФ (цАМФ), нарушая транспорт электролитов и приводя к потере внутриклеточной жидкости.

Энтероинвазивные *E. coli*, ЕИЕС [от англ. *enteroinvasive E. coli*], - возбудители поражений, весьма напоминающих бактериальную дизентерию. Патогенез также носит черты явного сходства: подобно шигеллам энтероинвазивные кишечные палочки проникают и размножаются в клетках эпителия кишечника. *Как и шигеллы, они неподвижны и не способны ферментировать лактозу.* Поражения характеризуются выраженными болями в животе и профузной водянистой диареей с примесью крови. На инвазивность микроорганизмов указывает большое количество полиморфноядерных лейкоцитов в испражнениях.

Энтеропатогенные *E. coli*, ЕРЕС [от англ. *enteropathogenic E. coli*], - основные возбудители диарей у детей. Патогенез поражений обусловлен адгезией бактерий на эпителии и повреждением микроворсинок кишечника, но не инвазией в его клетки. Практически все серо-вары имеют плазмиду, кодирующую синтез белка, обозначаемого как фактор адгезивности энтеропатогенных *E. coli*. Заболевание протекает тяжело, может продолжаться 2 нед и более.

Энтерогеморрагические *E. coli*, ЕНЕС [от англ. *enterohemorrhagic E. coli*], - возбудители геморрагической диареи (геморрагического колита) и гемолитического уремического синдрома (микроангиопатической гемолитической анемии, сочетающейся с почечной недостаточностью). Наиболее частыми возбудителями бывают серовары 0157:H7 и 026:H11 (реже). Энтерогеморрагические эшерихии выделяют цитотоксин, вызывающий гибель клеток; его

образование кодирует ген, переносимый бактериофагом. Также практически все ЕНЕС образуют шигаподобный токсин 1 (веротоксин 1), аналогичный токсину *Shigella dysenteriae* типа 1, а большинство и шигаподобный токсин 2 (веротоксин 2, цитотоксин).

Энтероадгезивные *E. coli*, EAEC [от англ. *enteroadherence E. coli*], впервые выделены в 1985 г. Бактерии не образуют цитотоксины, не проникают в клетки эпителия и не имеют плазмидного фактора адгезии, существующего у ЕРЕС. Своё название получили за счёт быстрого прикрепления к поверхности клеток.

Инфекции мочевыводящих путей. Уропатогенные эшерихии обычно происходят из микрофлоры кишечника, вызывают около 90% обычных и более 30% госпитальных поражений. Бактерии проникают в мочеиспускательный канал, затем в мочевой пузырь, прикрепляются к переходному эпителию и активно размножаются. Определённую роль играют анатомические и физиологические аномалии, затрудняющие нормальную эвакуацию мочи (например, стеноз мочеиспускательного канала или пузырно-мочеточниковый рефлюкс). Довольно часто риск развития поражений зависит от возраста и пола - среди новорождённых и детей первых 3 мес жизни заболевание преобладает у мальчиков, в подростковый период - у девочек. У молодых женщин поражения нередко ассоциированы с началом половой жизни («цистит медового месяца»). К провоцирующим факторам относят нарушение правил личной гигиены, использование противозачаточных колпачков и диафрагм.

Бактериемия. На сегодняшний день кишечная палочка - один из основных возбудителей бактериемий у детей и взрослых (17-35%). У новорождённых 15-20% случаев обусловлены манипуляциями на мочевыводящих путях. У взрослых лиц первичными источниками бывают мочевыводящие пути (в среднем 40-60%) и кишечник (около 25-30%). *Клинически бактериемия, вызванная E. coli, не имеет патогномоничных признаков.* У новорождённых обычно отмечают нарушение терморегуляции, анорексию, респираторный дистресс-синдром, апноэ, рвоту, диарею, желтуху, гепатомегалию и сонливость. Для взрослых характерны лихорадка, спутанность сознания, судороги, артериальная гипотензия, олиго- и анурия или комбинации этих проявлений.

Менингит. Кишечная палочка - частый возбудитель менингитов у новорождённых (в среднем 1-5:1000 новорождённых, чаще у мальчиков). В большинстве случаев менингиты бывают осложнениями бактериемий и развиваются у 10-40% новорождённых с подобной патологией. Основную группу риска составляют новорождённые с малой массой тела (менее 2500 г). Большинство выделенных изолятов серогрупп 07, 018, 01 и 06 имеют капсульный K1-Ag, химически и антигенно схожий с капсульным полисахаридом менингококков. Основные клинические проявления включают лихорадку, сонливость, рвоту, диарею, желтуху и менингеальные проявления. Летальность достигает 12% у новорождённых после физиологических родов и до 35% у новорождённых, относящихся к группе риска. У 20-50% выживших отмечают остаточные неврологические расстройства.

Респираторные инфекции. Среди прочих поражений, вызываемых *E. coli*, часто встречаются респираторные инфекции, особенно у новорождённых, грудных детей и лиц преклонного возраста. Эпидемиология поражений воздухоносных путей достаточно чётко зависит от биологических свойств возбудителей - изоляты, содержащие K1-Ag, вызывают внебольничные пневмонии (предположительный источник инфекции - мочевыводящие пути); K1-отрицательные штаммы чаще вызывают нозокомиальные поражения в результате аспирации эшерихий (источник инфекции - ЖКТ).

Микробиологическая диагностика

Материал для исследований - кровь, моча, СМЖ, гнойное отделяемое и др. *Цель бактериологического анализа - определение биохимических признаков и установление антигенной структуры возбудителя заболевания.*

- Первоначально проводят посев на селективно-дифференцирующие среды.
- Биохимическую активность определяют с помощью стандартных наборов либо проводят исследования на минимальном дифференцирующем ряду.
- Из изолированных колоний готовят и микроскопируют мазки, ставят оксидазный тест и пробную РА с поливалентными ОК-антисыворотками (ОКА, ОКБ, ОКС, ОКД и ОКЕ). Последовательно используя весь набор ОК-антисывороток, определяют принадлежность живой культуры к ОК-группе. *Культура не подлежит дальнейшему исследованию при наличии агглютинации с несколькими сыворотками.* Затем определяют принадлежность к O-группе в РА с прогретой при 100 °С культурой (для разрушения K-Аг) и адсорбированными O-антисыворотками.
- В клинических лабораториях иногда выделяют практически чистые культуры *E. coli* (например, из мочи), тогда исследования ограничивают определением роста на среде Плоскирева и способности к образованию индола.

Лечение и профилактика

Основу химиотерапии эшерихиозов составляет назначение эффективных антимикробных средств (ампициллин, ко-тримоксазол, норфлоксацин и др.). Для лечения инфекций мочевыводящих путей также используют цефалоспорины и аминогликозиды. Средств специфической иммунопрофилактики нет. Профилактика коли-инфекции направлена на соблюдение санитарно-гигиенических правил, предупреждение инфицирования продуктов питания и размножения в пище микроорганизмов, уничтожение попавших микробов при помощи термической обработки.

ШИГЕЛЛЫ

Бактерии названы в честь японского бактериолога по имени К. Шйга, впервые описавшего возбудителя бактериальной дизентерии. *Шигеллы - кишечные патогены человека и приматов.* Вызываемые ими поражения называют бактериальной дизентерией или шигеллёзом. Заболевание известно с глубокой древности (термин «дизентерия» ввёл Гиппократ). Начало изучения шигеллёзов положили Шантемёсс и Видадь (1888), позднее русский врач А.В. Григбрьев выделил возбудитель в чистом виде (1891), а его расширенное изучение провели Шйга (1898) и Крузе (1900). Исследования Флэкснера (1900), Збнне (1915), Ббйда (1932-1942) и других авторов позволили выявить новые виды шигелл. В соответствии с антигенной структурой O-Аг и биохимическими свойствами известные 39 серо-варов шигелл разделяют на 4 вида: *Shigella dysenteriae* (серогруппа А), *Shigella flexneri* (серогруппа В), *Shigella boydii* (серогруппа С) и *Shigella sonnei* (серогруппа D). Род образуют прямые неподвижные палочки, хемоорганотрофы, оксидаза-отрицательные, каталаза-положительные. Температурный оптимум составляет 37 °С.

Эпидемиология

Бактериальная дизентерия распространена повсеместно.

В некоторых регионах шигеллёз остаётся эндемичным и наиболее часто поражает детей в возрасте от 3 мес до 10 лет. Един-

ственный природный резервуар шигелл - человек. Источник инфекции - больные лица и бактерионосители;

период носительства составляет 1-4 нед, но может удлиняться. Основные механизмы передачи - фекально-оральный и контактно-бытовой (через воду, пищевые продукты).

Определённую роль играют насекомые-переносчики (мухи, тараканы и др.), переносящие возбудитель на пищевые продукты. Дизентерию регистрируют в течение всего года с подъёмом заболеваемости в тёплый сезон. Шигеллы довольно устойчивы во внешней среде: на ткани и бумаге сохраняются до 1 мес, в высохших испражнениях - до 5 мес, в почве - 3-4 мес, в воде - до 15 дней. На овощах и фруктах они остаются живыми не более 2 нед, в молоке и молочных продуктах - несколько недель. При 60 °С погибают в течение 15-20 мин, при кипячении - мгновенно. Бактерии очень чувствительны к действию дезинфицирующих средств, содержащих хлор.

Морфологические и культуральные свойства

По морфологическим признакам шигеллы не отличимы от других представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Бактерии капсул не имеют, на твёрдых средах образуют гладкие (S-) и шероховатые (R-) колонии. S-колонии круглые, куполообразные, гладкие, полупрозрачные в проходящем свете. R-колонии неправильной формы, плоские, тусклые, с шероховатой поверхностью и неровными краями. В жидких средах S-формы дают равномерное помутнение, R-формы образуют придонный осадок, среда остаётся прозрачной.

Биохимические свойства

По сравнению с прочими кишечными бактериями биохимически шигеллы инертны (см. табл. 18-1). Все шигеллы не образуют H₂S и не ферментируют лактозу на агаре Клейгера (см. рис. 23 вклейки). Образование индола вариабельно (его образует более половины штаммов *S. dysenteriae*, *S. flexneri* и *S. boydii*). В некоторых случаях определение свойств бактерий на минимальном дифференцирующем ряду может дать ориентировочные представления и о видовой принадлежности.

- Наименьшей ферментативной активностью обладает *S. dysenteriae* (палочка Григорьева-Шйга-Крузе). Бактерии ферментируют лишь глюкозу без газообразования. Поскольку они не разлагают маннит, а другие виды его ферментируют, они также известны как маннит-негативные шигеллы.

- *S. flexneri* (палочка Флекснера) не ферментирует лактозу, дульцит и ксилозу (см. рис. 17 вклейки); почти все палочки образуют индол. Бактерии 6-й серологической группы (также известные как шигеллы Манчестер и Ньюкасл) образуют небольшое количество газа при ферментации глюкозы и других сбраживаемых углеводов.

- Весьма сходной биохимической активностью обладают и *S. boydii*, но они также ферментируют ксилозу, дульцит и арабинозу (обычно в первые 24 ч). Некоторые шигеллы Бойда также способны ферментировать мальтозу (на 6-20-е сутки), что имеет практическое значение при идентификации культур.

- *S. sonnei* не ферментируют сорбит и дульцит, не образуют индол, но расщепляют ксилозу и арабинозу, что сближает их шигеллами Бойда. Отличительная особенность - способность расти при 45 °С, ферментировать рамнозу, а также лактозу и сахарозу в более поздние сроки.

Антигенная структура

Известны термостабильные и термолабильные Аг. Определение антигенной структуры проводят для окончательной идентификации бактерий.

- Термолабильные Аг (включающие К-Аг, сходный с К-Аг эшерихий) обнаружены у всех шигелл (за исключением бактерий Флекснера и Зонне). Они способны маскировать О-Аг и тем самым блокировать агглютинацию бактерий О-антисыворотками (действие снимают кипячением в течение 1 ч).

- Термостабильные O-Аг разделяют на типовые и групповые. Соответственно шигеллы разделяют на подгруппы (виды). Серовары и подсеровары обозначают арабскими цифрами (к последним добавляют прописные латинские буквы); серовар-специфичные (типовые) Аг обозначают римскими (I-VI), групповые - арабскими цифрами (табл. 18-3).

- Шигеллы Флекснера (подгруппа В) серологически родственны, содержат типоспецифические Аг (I-VI), по которым их разделяют на 6 сероваров. Также они содержат групповые Аг, по их составу бактерии разделяют на 5 подсероваров. Кроме того подгруппа включает два антигенных варианта X и Y, их представители лишены типовых Аг и различаются по групповым Аг. Серовар 6 не имеет подсероваров, но объединяет 3 биовара, разделяющихся по ферментации углеводов.

- *S. sonnei* имеют лишь один серовар, но колонии I и II фаз имеют свои типовые Аг. Для их внутривидового разделения предложено учитывать способность ферментировать мальтозу, рамнозу и ксилозу (выделяют 14 биоваров) либо разделять шигеллы на фаговары по чувствительности к соответствующим бактериофагам.

- Для типирования шигелл Флекснера и Зонне также используют способность к образованию бактериоцинов (колициногенотипирование) либо чувствительность к ним (колицинотипирование). Для определения способности к колициногенности используют набор эталонных типовых и индикаторных штаммов, предложенный Д. Эбботом и Р. Шенноном, а для определения чувствительности к бактериоцинам - набор колициногенных штаммов П. Фредерика.

Патогенез поражений

Важнейшее свойство шигелл, обуславливающее их патогенность, - способность проникать в эпителий слизистой оболочки толстой кишки и размножаться в нём. Массовая гибель эпителиальных клеток приводит к появлению дефектов слизистой оболочки и проникновению бактерий в подлежащие ткани. Воспалительная реакция в подслизистой оболочке сопровождается выходом форменных элементов крови в просвет кишечника. *Патогенность шигелл обуславливают факторы адгезии, инвазии и устойчивости к действию защитных механизмов, а также способность к токсинообразованию.* Гены, кодирующие комплекс вирулентных свойств, расположены в хромосоме и плаزمиде.

Плазмиды. Белки, кодируемые плазмидными генами *ipa*, *inv*, *virF* и *vir G*, обеспечивают взаимодействие бактерий с клеточными мембранами, проникновение внутрь клеток и их последующее повреждение. Эти же белки определяют способность шигелл покидать фагосомы и длительно находиться в цитоплазме фагоцитов.

Цитотоксин (токсин Шйга) состоит из двух компонентов. Компонент А вызывает необратимое нарушение синтеза белка и гибель клетки; компонент В обуславливает связывание токсина с клеточным рецептором на поверхности клеток микроворсинок. *Токсин нарушает синтез белка, всасывание Na⁺ и воды, вызывает гибель клеток и приток жидкости в очаг поражения.* Также он проявляет гемолитическую активность *in vitro*, что иногда используют для его идентификации. Определённая роль принадлежит эндотоксину, проявляющему весь спектр активности, характерный для эндотоксинов грамотрицательных бактерий.

Клинические проявления

Бактериальная дизентерия может протекать вариационно - от бессимптомной инфекции до тяжёлых поражений с лихорадкой, ознобом, болями в животе, тенезмами, диареей с кровью и слизью и т.д. Продолжительность инкубационного периода составляет 1-7 сут (чаще 1-2 дня). Первоначально стул частый (10-25 дефекаций в день), однако вскоре становится более редким. Он содержит большое количество слизи и крови, а в более поздний период и гноя. Характерно

отделение последней порции, состоящей из слизи («ректальный плевок»). Типичны катаральные, катарально-геморрагические, реже катарально-язвенные поражения кишечника. В выраженных случаях происходят нарушения всех видов обмена. Наиболее распространённые осложнения - кишечные кровотечения; реже возникают прободение кишечника, пери- и парапроктиты, выпадение прямой кишки. Ранее тяжёлые случаи сопровождались гибелью 10-15% больных, однако совершенствование методов терапии, а также смена основных возбудителей способствовали снижению летальности - в настоящее время она колеблется в пределах 0-1%.

Микробиологическая диагностика

Материалом для исследований служат испражнения. Цель бактериологического анализа - определение биохимических признаков и установление антигенной структуры возбудителя заболевания.

- Выполняют посев либо на дифференциально-диагностические среды Эндо и Плоскирева, либо на жидкую селенитовую среду накопления с последующим пересевом на дифференциально-диагностические среды. После выделения чистых культур из изолированных колоний определяют их биохимические свойства (то есть видовую принадлежность).

- Определение антигенных свойств имеет эпидемиологическое значение. Об антигенной структуре судят по способности моно- и поливалентных антисывороток агглютинировать бактерии.

- Для быстрого распознавания шигелл можно провести посев на агар Клейгера; бактерии ферментируют только глюкозу, не образуют газ при ферментации глюкозы (исключая газообразующие подвиды *S. flexneri*) и сероводород (см. рис. 23 вклейки).

- Для выявления Ag шигелл в крови, моче и испражнениях используют РПГА, РСК, ИФА и реакцию коагуляции (при исследовании мочи и испражнений). Для определения АТ используют РПГА с соответствующими эритроцитарными диагностикумами и метод непрямой иммунофлюоресценции.

Лечение и профилактика

Основу лечения составляет антимикробная терапия (препараты выбора - ампициллин, котримоксазол, норфлоксацин и др.). При выделении резистентных штаммов лечение следует проводить с учётом их чувствительности. В большинстве случаев необходимы симптоматическая терапия, восполнение потерь жидкости и электролитов. В связи с отсутствием эффективных препаратов вакцинацию не проводят. Основные мероприятия направлены на соблюдение санитарно-гигиенических правил профилактики кишечных инфекций.

сальмонеллы

Бактерии названы в честь американского ветеринарного врача Д. Сэлмона, выделившего совместно с бактериологом Т. Смитом первого представителя рода во время эпидемии холеры свиней (1885). Род включает лишь один вид - *Salmonella enterica* (*S. enteritidis*) и семь подвидов: *S. cholerae-suis*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae*, *S. indica* и *S. bongori*. Патогенностью для теплокровных обладают в основном бактерии подвидов *cholerae-suis* и *salamae*, другие вызывают заболевания чрезвычайно редко. Подвид *cholerae-suis* включает большую часть известных в настоящее время сероваров (1367 из 2324). Для удобства изложения в настоящей главе будет использована не совсем корректная, но исторически сложившаяся таксономия бактерий, рассматривающая серовары как виды (например, *S. typhi* вместо *Salmonella enterica* подвид *choleraesuis* серовар *typhi*). Бактерии паразитируют в ЖКТ человека и животных, также

способны с гематогенному диссеминацию. Заболевания, вызываемые ими, известны как сальмонеллёзы. Их разделяют на три основные группы: брюшной тиф и паратифы, гастроэнтериты и септицемии.

Эпидемиология поражений

Сальмонеллёзы регистрируют повсеместно, природный резервуар большинства возбудителей - человек и различные животные (включая пресмыкающихся, земноводных, рыб и птиц). Основные пути передачи - водный и пищевой, реже контактный. Сальмонеллы долго сохраняют жизнеспособность во внешней среде: в воде открытых водоёмов и питьевой воде живут 11 - 120 сут, в морской воде - 15-27 сут, в почве - 1 - 9 мес, в комнатной пыли - 80-547 сут, в колбасных изделиях - 60-130 сут, в замороженном мясе - 6-13 мес, в яйцах - до 13 мес, в яичном порошке - до 9 мес, на замороженных овощах и фруктах - 0,5-2,5 мес. Наиболее устойчива *S. typhimurium*, остающаяся жизнеспособной на тканях и на бумаге до 1 года. Кипячение убивает сальмонелл мгновенно, но присутствие в воде белковых веществ увеличивает термоустойчивость сальмонелл. При замораживании они могут оставаться жизнеспособными длительное время. Осветлённый 0,3% раствор хлорной извести при 30-минутной экспозиции убивает сальмонеллы через 1 ч. Хлорирование сточных вод снижает их загрязнённость сальмонеллами в 6 раз.

Морфология и культуральные свойства

Род *Salmonella* представлен мелкими бактериями вытянутой формы с закруглёнными концами размером 0,7-1,5x2-5 мкм. Капсул бактерии не имеют. *Большинство изолятов подвижно* (перитрихи), но существуют неподвижные мутанты и серова-ры. Сальмонеллы хемоорганотрофы, оксидаза-отрицательны, каталаза-положительны. Температурный оптимум составляет 35-37 °С, оптимум рН - 7,2-7,4. Рост сальмонелл подавляют или ограничивают высокие концентрации хлорида

натрия и сахара. На питательных средах сальмонеллы образуют типичные для большинства энтеробактерий мелкие (2-4 мм) прозрачные S-колонии. Также они формируют шероховатые и сухие R-колонии. На агаре Эндо S-колонии розоватые и прозрачные, на агаре Плоскирева - бесцветные и выглядят более плотными и мутноватыми, на висмут-сульфитном агаре - чёрно-коричневые, с металлическим блеском, окружены чёрным «галом», среда под колониями окрашивается в чёрный цвет. Исключение составляют *S. paratyphi A*, *S. choleraesuis* и некоторые другие, образующие на висмут-сульфитном агаре коричнево-зеленоватые колонии (рис. 25, см. цветную вклейку). На бульоне S-формы дают равномерное помутнение среды; R-формы - осадок.

Биохимические признаки представлены в табл. 18-1. Характерные свойства сальмонелл - образование H₂S и отсутствие индолообразования (исключая некоторые серовары).

Антигенная структура

У сальмонелл выделяют O-, H- и K-Аг. Их распознавание положено в основу диагностической антигенной схемы Кауфманна-Уайта.

Термостабильные O-Аг выдерживают кипячение в течение 2,5 ч и автоклавирование при 120 °С в течение 30 мин. Специфичность Аг зависит от строения боковых олигосахаридных цепей молекулы ЛПС. В соответствии с содержанием тех или иных O-Аг сальмонеллы разделяют на серологические группы. Известно 67 отдельных антигенных факторов, обозначаемых арабскими цифрами. По O-Аг сальмонеллы разделены на 50 групп от А до Z (факторы 51-67).

Термолабильные H-Аг разрушаются нагреванием при температуре 75-100 °С. Состав H-Аг обуславливает деление сальмонелл на серовары. Выделяют Аг I-й (специфические) фазы и II-й (неспецифической) фазы. Известно более 80 Аг I-й фазы обозначают строчными латинскими

буквами (a-z) и арабскими цифрами (z₁-z₅₉). Аг II-й фазы обозначают арабскими цифрами. Всего известно 9 Аг, присутствующих у различных сероваров. Сальмонеллы, в которых H-Аг представлены двумя фазами, называют двухфазными (в отличие от монофазных, имеющих антигенные факторы только I-й фазы). Прочие термолабильные Аг. У сальмонелл выделяют капсульные K-Аг, поверхностный Vi-Аг (Аг вирулентности) и M-Аг, выявляемый у слизистых штаммов.

Патогенез поражений

Патогенность сальмонелл определяют факторы адгезии и колонизации, факторы инвазии и способность к токсинообразованию.

Проникновение в кровь. Адгезию к клеткам эпителия обеспечивают пили 1-го (манноза-чувствительные), 3-го (агглютинируют эритроциты, обработанные таннином) и 4-го типов. В отличие от шигелл, сальмонеллы не могут самостоятельно проникать в эпителиальные клетки ЖКТ, а попадают в них посредством эндоцитоза. Бактерии мало приспособлены к размножению в эпителии и проникают далее в базальную мембрану, а затем в кровоток.

Воспаление слизистой оболочки. Проникновение и размножение сальмонелл в базальной мембране вызывает развитие местной воспалительной реакции и приток жидкости в очаг поражения. Появление диареи обусловлено синтезом энтеротоксинов.

Термолабильный LT-токсин, сходный с энтеротоксином эшерихий и холерогеном возбудителя холеры, увеличивает содержание цАМФ.

Термостабильный ST-токсин напоминает цитотоксин шигелл и нарушает синтез белков и активирует образование простагландинов.

Генерализация процесса. В отличие от прочих сальмонелл, *возбудители брюшного тифа и паратифов, проникнув в кровоток, способны выживать и размножаться в фагоцитах*, а после гибели последних в большом количестве высвобождаются в кровь. При этом Vi-Аг ингибирует действие сывороточных и фагоцитарных бактерицидных факторов. Погибающие сальмонеллы высвобождают эндотоксин. Эндотоксин угнетает деятельность ЦНС [греч. *ty'phos*, туман, спутанное сознание], а также может вызвать миокардит, миокардиодистрофию и инфекционно-токсический шок. Бактериemia приводит к инфицированию различных органов (жёлчного пузыря, почек, печени, костного мозга, твёрдых мозговых оболочек и др.) и вторичной инвазии эпителия кишечника (особенно пейеровых бляшек). Проникновение сальмонелл в жёлчный пузырь вызывает длительное носительство с выделением возбудителя. Следствием вторичной инвазии бактерий в эпителий кишечника могут быть кровотечения и перфорации, возникающие при повреждениях пейеровых бляшек.

Клинические проявления

Брюшной тиф и паратифы - острые инфекционные заболевания, сопровождающиеся бактериемией, поражением лимфоидной ткани кишечника, лихорадкой и общей интоксикацией. Больной или носитель выделяет возбудитель с испражнениями, мочой и слюной. Основным механизмом передачи - фекально-оральный; наиболее часто возбудитель передаётся через молоко, молочные и мясные продукты. Возбудитель брюшного тифа - *S. typhi* (палочка Эберта-Гаффки); возбудитель паратифа А - *S. paratyphi A* (палочка Бриона-Кайзера); возбудитель паратифа В - *S. schotmulleri* (палочка Шоттмюллера); возбудитель паратифа С - *S. hirschfeldii* (палочка Хйршфельдта). Брюшной тиф и паратиф А - типичные антропонозы (*резервуар инфекции - человек*); возбудители паратифов В и С выделены также от некоторых животных и птиц. Брюшной тиф может протекать типично и атипично (абортивные и стёртые формы). Заболевание начинается постепенно; проявляется симптомами общей интоксикации; температура

тела достигает 39-40 °С к 4-7-м суткам. На 3-5-е сутки увеличиваются печень и селезёнка. В период разгара болезни (на 7-8-е сутки) симптомы интоксикации усиливаются, что проявляется резкой заторможенностью, помрачением сознания; характерна *розеолёзная сыпь*. Живот вздут, выражены симптомы энтерита. В этот период возможно возникновение осложнений: перфорация тонкой кишки и кишечное кровотечение. Другие возможные осложнения - инфекционно-токсический шок, миокардит и пневмония. Паратиф А. Отличительная особенность клинической картины паратифа А - отсутствие поражений ЦНС. Заболевание протекает менее тяжело, сыпь полиморфная (розеоло-папулёзная, кореподобная, петехиальная), появляется на более ранних сроках, в ходе болезни обыч-

но бывает несколько волн подсыпаний. Паратиф А чаще начинается остро, с диспептических расстройств (тошнота, рвота, диарея) и катаральных явлений (кашель, насморк). Возможны гиперемия лица и герпетические высыпания. Паратиф В. Течение переменчиво - от стёртых до тяжёлых форм с симптомами менингита, менингоэнцефалита и септикопиемии. Нередко появляется обильная розеоло-папулёзная сыпь, захватывающая и лицо (на 4-7-е сутки). Кишечные поражения напоминают таковые при сальмонеллёзных гастроэнтеритах. При водном пути передачи чаще регистрируют постепенное начало болезни с abortивным и относительно лёгким течением. Паратиф С как самостоятельное заболевание выявляют редко, обычно у пациентов с иммуно-дефицитами. Характерны симптомы интоксикации, миалгии, желтушность кожи, лихорадка. Гастроэнтериты - группа полиэтиологических острых инфекционных болезней человека, животных и птиц с фекально-оральным механизмом передачи. Бактериальную природу поражений впервые установил немецкий бактериолог А. Гертнер, выделивший в 1888 г. из мяса коровы и селезёнки погибшего человека *S. enteritica* (палочку Гертнера). Затем Ф. Лёффлер (1890), С.С. Мережковский (1893) и Ж. Даниш (1900) выделили возбудитель, также вызывающий аналогичные поражения у человека и у мышей (мышинный тиф).

Основные возбудители - *S. typhimurium*, *S. heidelberg*, *S. enteritica*, *S. derby*. Большинство возбудителей выделяют у человека и различных животных (основной резервуар), но также регистрируют серовары, имеющие только одного или ограниченное количество хозяев (например, *S. sendai* выделяют только у человека, а *S. gallinarum-pullorum* - у птиц).

Основной источник заражения человека (до 50%) - домашняя птица (особенно куры и водоплавающие птицы) и яйца (сальмонеллы способны не только инфицировать скорлупу, но и проникать внутрь). Эпидемиологическую опасность могут представлять инфицированные сальмонеллами крупный рогатый скот, свиньи, овцы и лошади. Инфицированные животные выделяют бактерии с мочой, калом, молоком и слюной. Возбудитель передаётся с мясом и мясными продуктами. Реже выявляют поражения, вызванные употреблением рыбы, овощей и фруктов.

Заболевания регистрируют повсеместно, в тёплый сезон (с мая по октябрь) отмечают подъём заболеваемости. Наряду с ростом заболеваемости, обусловленной увеличением доли мяса птицы и яиц в качестве источников и факторов распространения возбудителей инфекции, в 90-х годах увеличилась частота госпитальных вспышек сальмонеллёза. Патогенез поражений нередко связан с предшествующими медицинскими манипуляциями (фиброзофагогастроудуоденоскопия и др.), а бактерии выделяют из смывов с различных предметов оборудования, вентиляционных решёток и из воздуха палат.

Клинически выделяют *гастроинтестинальные* и *генерализованные формы*. Последние разделяют на *тифоподобные* (с гастроэнтеритом, поражениями ЦНС и сыпью) и *септикопиемические* (сепсис сальмонеллёзной этиологии) *варианты*. Как субклиническую форму сальмонеллёза рассматривают бактерионосительство. Выделяют острое, хроническое и транзиторное носительство. При остром носительстве срок выделения бактерий варьирует от 15 сут до 3 мес. Более длительное выделение (более 3 мес) расценивают как хроническое носитель-

ство. При транзитном носительстве характерно отсутствие клинических симптомов заболевания как на момент обследования, так и в предшествующие 3 мес.

Микробиологическая диагностика

Основу диагностики поражений, выявления носительства и изучения обсеменённости объектов окружающей среды составляют бактериологические исследования. Материалом для исследования служат испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, кровь и мочу. При брюшном тифе также проводят забор проб из кожных высыпаний, жёлчи, содержимого двенадцатиперстной кишки, СМЖ и секционного материала. Дополнительные объекты исследования - остатки пищи, употреблявшейся заболевшими, исходные продукты; суточные пробы готовой пищи; корма животного и растительного происхождения; смывы с различного оборудования и других предметов, подозреваемых в качестве фактора передачи возбудителя. Оптимальным сроком для проведения бактериологических исследований при гастроинтестинальных формах сальмонеллёзов считают первые дни заболевания, при генерализованных формах - конец 2-й и начало 3-й недели. При изучении различных материалов (испражнения, кровь, моча, жёлчь и др.) получение положительных результатов наиболее вероятно при исследовании испражнений.

Выделение возбудителей. *Первоначально материал* (особенно испражнения) *помещают на среды обогащения* (например, на селенитовый или 20% жёлчный бульон). Дифференциально-диагностические среды для высево́в со сред обогащения бывают высокоселективными (например, висмут-сульфитный агар), среднеселективными (среда Плоскирева) и низкоселективными (среды Эндо и Левина). На висмут-сульфитном агаре возбудитель паратифа А образует зеленоватые колонии. Биохимические и культуральные свойства определяют на минимальном дифференцирующем ряду. На плотных средах возбудитель паратифа В может давать феномен валовообразования (рис. 18-3).

- Для дальнейшей работы отбирают бактерии, ферментирующие глюкозу, не ферментирующие сахарозу и образующие H_2S . Культуры пересевают со среды Олькеницкого на среду Хисса с маннитом (см. рис. 18 вклейки), в 1% пептонную воду для определения образования индола и полужидкий агар для определения подвижности.

- В последнее время широко используют дифференциально-селективные среды, наиболее часто - ксилозо-лизино-дезоксихолатный (XLD) агар и среду для сальмонелл и шигелл (SS-агар). На них сальмонеллы образуют колонии красного цвета с чёрным центром за счёт образования H_2S (рис. 18-4).

Определение антигенной структуры. Первоначально ставят РА на стекле с О- и Н-поливалентными, а затем моновалентными антисыворотками. Для ускоренной идентификации можно использовать флюоресцирующие поливалентные сальмонеллёзные антисыворотки.

Серологические исследования проводят для диагностики, а также выявления и дифференциации различных форм носительства.

- Для диагностики брюшного тифа и паратифов наиболее часто применяют линейную РА, разработанную французским врачом Ж. Видалем. В качестве Аг наиболее удобно использовать монодиагностикумы к конкретным возбудителям. Исследования рекомендуют начинать с 7-х суток заболевания (время нарастания титров АТ).

- Для выявления АТ в крови больных и реконвалесцентов применяют РПГА с поливалентными эритроцитарными диагностикумами, содержащими О-Аг серогрупп А, В, С, D и Е.

Лечение

Основу составляет адекватная антимикробная терапия (препараты выбора - ампициллин, аминогликозиды, фторхинолоны и др.). Брюшной тиф и паратифы. Этиотропную терапию проводят в течение всего лихорадочного периода, а также 10 дней после его окончания. Патогенетическое лечение включает ин-фузионно-дезинтоксикационную терапию, экстракорпоральную детоксикацию и др.

Гастроэнтериты. У больных с гастроинтестинальной формой заболевания основной метод лечения - патогенетическая терапия, направленная на дезинтоксикацию и восстановление водно-электролитного баланса и гемодинамики. В первую очередь следует промыть желудок обычной питьевой водой или раствором соды.

Профилактика

Профилактика основана на проведении ветеринарно-санитарных, санитарно-гигиенических и противоэпидемических мероприятий. *Специфическую иммунопрофилактику не проводят*, но для предупреждения брюшного тифа разработано три типа вакцин - убитая (эффективность 50-70%), живая аттенуированная (из штамма Ty 21a), проявляющая большой защитный эффект, но дающая побочные эффекты, и вакцина из Vi-Ag *S. typhi*.

ИЕРСИНИИ

Бактерии названы в честь французского бактериолога А. Иерсёна, выделившего чистую культуру возбудителя чумы. Род *Yersinia* включает подвижные и неподвижные споронеобразующие палочки (иногда коккобациллы) размерами 1-3x0,5-0,8 мкм. Окрашиваются они биполярно, что может служить дифференциальным признаком при выявлении *Y. pestis*. *Иерси-нии неподвижны при 37 °С, но подвижны при температуре ниже 30 °С* (подвижные виды - перитрихи). *Дифференцирующий признак возбудителя чумы - отсутствие подвижности и наличие капсулы, остальные виды образуют лишь капсуль-ное вещество*. Иерсинии хемоорганотрофы, оксидаза-от-рицательны и каталаза-положительны. Широко распространены в природе; некоторые из них - паразиты различных животных (особенно грызунов и птиц) и человека; их также выделяют из почвы, воды и пищевых продуктов. *Для всех иер-синий первичные (основные) хозяева - животные, тогда как человек - вторичный (случайный) хозяин*. У человека *Y. pestis* вызывает чуму, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* - гастроэнтериты, брыжеечный лимфаденит, хроническую диарею и тяжёлые септицемии.

Возбудитель чумы (*Y. pestis*)

Чума - инфекционное заболевание, характеризующееся сильнейшей интоксикацией, лихорадкой, поражением лимфатических узлов с образованием бубонов, развитием септицемии и пневмонии. Чуму относят к группе карантинных (особо опасных) инфекций.

Эпидемии чумы известны с III в. до н.э., иногда они приобретали характер пандемий. Первая достоверная пандемия 527-565 гг. («юстинианова чума»), начавшаяся в Египте и Эфиопии, привела к огромным потерям среди населения Восточной Римской империи. Самой опустошительной была вторая пандемия чумы XIV-XV вв., вошедшая в историю под названием «великой» или «чёрной» смерти и унёсшая около 60 млн жизней. Только в Европе погибло более 25 млн человек. По свидетельству Н.М. Карамзина, целиком вымерло население городов Глу-хов и Белозёрск, а в Смоленске уцелело лишь 5 человек. Третья пандемия началась в Гонконге в 1894 г. и за 20 лет унесла жизни 10 млн человек. В самом её начале были сделаны важные открытия (выделен возбудитель, доказана роль крыс в эпидемиологии чумы), что позволило организовать профилактику на научной основе.

Возбудитель чумы обнаружили Г.Н. Минх (1878) и независимо А. Иерсён и Ш. Китагато (1894). Большой вклад в изучение эпидемиологии чумы внесли исследования Д.С. Самойлб-вича (первые в Европе), В.И. Исаева и Н.Н. Клоднйцкого, а также И.И. Мечникова, руководившего работой противочумных отрядов в Астраханской губернии (1911). В 40-х годах в Северной Африке была отмечена последняя эпидемическая вспышка; тем не менее, с 1958 по 1979 г. в мире зарегистрировано 47 000 случаев чумы. Последнюю вспышку чумы отметили в Индии (вторая половина 90-х годов).

Эпидемиология

Чума - антропозооноз, поражающий грызунов (основной природный резервуар) и проявляющийся спорадическими вспышками или эпидемиями (эпизоотиями). Человеку передаётся через блох, а также контактным, алиментарным и аспирацион-ным путями; опасны вторично загрязнённые объекты и трупы.

Эпизоотии. В эпидемиологическом отношении первое место занимают крысы (как самые распространённые и многочисленные грызуны), основную роль играют три вида - серая крысапасюк (*Rattus norvegicus*), чёрная крыса (*R. rattus*) и египетская крыса (*R. alexandrinus*). Чумные эпизоотии среди крыс обычно предшествуют заболеваниям людей. В степных регионах (где крыс мало) ведущую роль играют суслики, сурки и песчанки; общий список диких грызунов включает около 240 видов и подвидов, не считая синантропных крыс и мышей.

Передача человеку. В передаче чумы человеку ведущую роль играют взрослые особи крысиных блох (*Xenopsylla cheopsis*), пожизненно сохраняющие возбудитель (общий список видов и форм блох, из которых выделяют возбудитель, насчитывает около 100 видов). Человек заражается не столько при укусе блохи, сколько после втирания в кожу её фекалий или масс, срыгиваемых блохой. Бактерии, размножающиеся в кишечнике блохи, выделяют коагулазу, образующую «пробку» в глотке у блохи (чумной блох), препятствующую поступлению крови в её организм. Попытки голодного насекомого к сосанию крови сопровождаются срыгиванием заражённых масс на поверхность кожи в месте укуса. В жилищах человека блохи также могут переносить заболевание от человека к человеку.

Природные очаги чумы прочно связаны с ландшафтно-климатическими условиями, всем им свойственна определённая засушливость климата, приводящая к развитию биоценозов, характерных для пустынь, полупустынь, степей, саванн и высокогорных лугов. В РФ основные переносчики - суслики, песчанки и сурки (тарбаганы). В соответствии с этим на территории РФ выделяют следующие очаги.

- 5 очагов сусликового типа (Северо-Западный Прикаспий, Междуречье Терека и Сунжи, При-эльбруссье, Междуречье Волги и Урала, Зауралье).

- 5 очагов сусликового и сурчиного типа (Забайкальский, Горно-Алтайский, Тувинский, Тянь-Шаньский и Памиро-Алтайский).

Устойчивость возбудителя. В мокроте возбудитель чумы может сохраняться до 10 сут, на одежде и белье - несколько недель, в трупах при низкой температуре окружающей среды - неопределённо долгое время. Возбудитель быстро погибает под воздействием солнца, высыхания и высоких температур, при 60 °С погибает за 1 ч, при кипячении - за несколько минут. Бактерии чувствительны к действию дезинфектантов.

Морфология и тинкториальные свойства

Y. pestis (палочка Китазато) - овоидная палочка размерами 1-2x0,3-0,7 мкм. Окрашивается она биполярно (рис. 18-5). В мазках из клинического материала палочки могут располагаться цепочками, в мазках из бульонных культур - беспорядочно. Для чумной палочки характерны морфологически обособленное ядро (наиболее хорошо видимое у инволюционных гигантских клеток) и отсутствие подвижности. Палочки склонны к полиморфизму, образуя нитевидные, колбовидные или шарообразные инволюционные формы (например, на средах с повышенным содержанием NaCl, в старых культурах и тканях разложившихся трупов).

Культуральные свойства

Температурный оптимум 28-30 °С; оптимум рН 6,9-7,2. Бактерии нетребовательны к питательным средам. На бульоне через 48 ч образуют нежную плёнку на поверхности со спускающимися вниз нитями и хлопьевидный осадок (среда остаётся прозрачной). Также хорошо растут в желатине, не вызывая её разжижения. На плотных средах при 37 °С образуют сероватые слизистые (за счёт капсулообразования) S- или R-колонии. Вирулентные штаммы образуют R-колонии.

Стадии роста. Микроскопическое изучение колоний *Y. pestis* выявляет три стадии роста. Через 10-12 ч культивирования вырастают «молодые» бесцветные микроколонии с неровными краями («битое стекло»). Через 18-24 ч они сливаются, формируя нежные плоские образования с фестончатыми краями и приподнятым центром («кружевные платочки»). Через 40-48 ч наблюдают «зрелые» колонии - крупные, с бурым зернистым центром и неровными краями («ромашки»).

Пигментообразование. Многие, особенно вирулентные штаммы *Y. pestis*, способны образовывать тёмный пигмент и обесцвечивать красители (например, метиленовый синий).

Антигенная структура

Чумная палочка содержит О-Аг (эндотоксин), похожий на Аг многих грамотрицательных бактерий, токсичный для животных и человека. Липополисахаридно-белковые комплексы О-Аг классифицируют на основе химических и антигенных характеристик на «гладкие» (S) и «шероховатые» (R); последние - общие для *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis*. Также выделяют разнообразные (до конца не исследованные) Аг, роль которых как факторов вирулентности неясна. Фракция 1 (И-Аг) представлена поверхностным гликопротеиновым Аг (капсульным Аг). Она предохраняет бактерии от поглощения фагоцитами и, не оказывая токсического действия, проявляет иммуногенные свойства. Активатор плазминогена - протеаза, активирующая лизис фибриновых сгустков, препятствующий диссеминированию возбудителя, и инактивирующая СЗБ и С5а компоненты комплемента. V/W (У1)-Аг состоит из белка (V-фракции) и липопротеина (W-фракции). Он проявляет антифагоцитарные свойства и способствует внутриклеточному размножению бактерий. Штаммы, содержащие только V/W-Аг, вирулентны для мышей. Мышиный токсин - антагонист адренергических рецепторов, представлен белковоподобным веществом, локализованным внутриклеточно; LD₅₀ для мышей менее 1 мг (также токсичен для крыс), вызывает шок и смерть лабораторных животных. Бактериоциногения. *Y. pestis* выделяет бактериоцины (пестицины), обладающие иммуногенными свойствами.

Патогенез поражений

Чумная палочка внедряется в организм в месте укуса блохи. В свою очередь, инфицирование блохи происходит при её питании кровью грызунов в период бактериемии, предшествующей гибели животных. Патогенез заболевания до конца не изучен. Ни один Аг или токсин, синтезируемый *Y. pestis*, в отдельности не в состоянии вызвать заболевание.

Механизм развития заболевания включает три стадии.

1. Ямфогенный перенос от места проникновения до лимфатических барьеров.

2. Распространение бактерий из лимфатических узлов в кровотоки (бактериемия).

3. *Распространение микробов до забарьерных клеточных систем* (генерализованная септицемия). Проникшие бактерии активно поглощаются фагоцитами, однако фагоцитарные реакции носят незавершённый характер и способствуют дальнейшему распространению возбудителя. Одновременно чумная палочка распространяется лимфогенно, вызывая множественный лимфаденит. Затем возбудитель проникает в кровоток и диссеминирует в различные органы и ткани.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода заболевания составляет 3-6 сут (при эпидемиях или септических формах сокращается до 1-2 дней). Заболевание начинается с внезапного подъёма температуры тела, головной боли и чувства разбитости. Характерно образование налёта на языке («натёртый мелом язык»), а также его отёк, в результате чего речь становится невнятной. В тяжёлых случаях возникают галлюцинации. Чумная палочка не вызывает воспалительных изменений кожи и мигрирует в ближайший лимфатический узел, где развивается се-розно-геморрагическое воспаление, и формируется резко болезненный бубон. Патогенетически различают первичные (всегда связаны с местом входных ворот инфекции) и вторичные бубоны (возникают лимфогенно). По клиническим проявлениям выделяют преимущественно локальные (кожную, кожно-бубонную и бубонную), генерализованные или внутренне-септические формы (первично- и вторично-септические), внешне диссеминированные формы (первичную и вторичную лёгочную, кишечную).

Бубонная форма. *Патогномоничный признак* - бубон, чаще локализованный в подмышечной или паховой области. Позднее бубон размягчается, может нагноиться и спонтанно дренироваться. При геморрагическом некрозе лимфатического узла в кровоток поступает большое количество бактерий, что ведёт к вторичной чумной пневмонии и/или генерализованному чумному сепсису. Смертность без лечения при бубонной чуме достигает 75%.

Первично-лёгочная форма. *Молниеносная и чрезвычайно контагиозная форма чумы*. В этом случае возбудитель *распространяется воздушно-капельным путём и эпидемически наиболее опасен*. Больной выделяет с мокротой большое количество чумных микробов; при этом объём мокроты очень велик. Смертность без лечения близка к 100%.

Кишечная форма проявляется профузной диареей с обильным выделением крови и слизи, сильными болями в подложечной области. Обычно эта форма заканчивается смертью больного.

Первично-септическая форма проявляется многочисленными кровоизлияниями в кожу и слизистые оболочки; в тяжёлых случаях развиваются массивные кровотечения из почек, кишечника и желудка. Генерализация процесса происходит без предшествующих местных явлений. Типичны исключительно быстрое распространение возбудителя в организме, массивные интоксикация и бактериемия. Заболевание быстро заканчивается смертью больного.

Микробиологическая диагностика

Принципы микробиологической диагностики включают бактериоскопические, бактериологические, аллергические и биологические методы. Материалом для исследований служат отделяемое бубонов, содержимое язв или других кожных поражений, мокрота и слизь из зева, кровь, фекалии и СМЖ.

Выделение возбудителя. Все мероприятия проводят в специализированных лабораториях с соблюдением условий предохранения от лабораторного заражения (противочумные костюмы, защитные устройства и т.д.). Материал засевают на твёрдые питательные среды и, при необходимости, на жидкую среду накопления. Затем готовят мазки из изолированных колоний.

Для экспресс-диагностики используют метод ускоренного роста на средах обогащения, а также ставят РИФ с мечеными АТ (выявляет *Y. pestis* в различных объектах в течение первых 2 ч исследования).

- Биохимическую идентификацию возбудителя проводят в соответствии с принципами, применяемыми в отношении прочих энтеробактерий. В соответствии со способностью ферментировать глицерин и углевод мелибиозу выделяют биовары *antigua* (+, -) *medievalis* (+, +) и *orientalis* (-, -). Первый биовар выделяют в Центральной Азии и Центральной Африке, второй - в Средней Азии и Иране, третий - повсеместно. Отечественная классификация выделяет подвиды *pestis* (основной подвид), *altaica* (алтайский подвид), *caucasica* (кавказский подвид), *hissarica* (гиссарский подвид) и *udegeica* (удэгейский подвид).

- Аг чумной палочки идентифицируют в РА, РНГА, РП в стандартных агаровых пластинках, РНАТ, ИФА и др.

- Для проведения ускоренной диагностики используют чумной бактериофаг. Его высокая специфичность и вирулентность для чумной палочки позволяют применять его для идентификации чумы путём внесения в исследуемый материал - о положительном результате свидетельствует образование негативных колоний бактериофага либо увеличение титра бактериофага в среде.

Биологическая проба. Её обычно проводят при сильной контаминации материала посторонней микрофлорой. Для пробы используют морских свинок, заражаемых подкожно, внутривенно или внутривенно. Выявление Аг возбудителя в тканях погибших животных проводят при помощи РНГА, ИФА или с использованием АТ, меченных флюоресцеинами. При снижении вирулентности или применении малой заражающей дозы перед заражением животным вводят глюкокортикоиды, что позволяет ослабить защитные силы и ускорить получение результата.

Серологические исследования. АТ в крови больных выявляют посредством РНГА, ИФА и РНАТ.

Аллергическая проба. Для ретроспективной диагностики ставят кожные пробы с пестином (белковый аллерген из культур возбудителя).

Лечение

При диссеминированных и системных заболеваниях необходимо немедленное применение антибактериальных средств. При своевременном начале лечения антибиотиками (стрептомицин, тетрациклин и др.) снижают смертность при бубонной форме почти на 100%, при лёгочной - на 5-10%. При бубонной форме антимицробную терапию можно дополнять введением антисыворотки, получаемой гипериммунизацией лошадей убитыми, а затем и живыми бактериями.

Профилактика

Для надзора за эндемичными очагами чумы и организации мероприятий по предупреждению эпидемий создана специальная противочумная служба (включает сеть противочумных институтов и станций). Для специфической иммунопрофилактики используют живую аттенуированную вакцину из штамма EV. Поствакцинальная невосприимчивость сохраняется до года. Для определения напряжённости иммунитета применяют кожные пробы с пестином. Активную иммунизацию проводят в эндемических очагах, а также охотникам и лицам, занимающимся отловом грызунов и работающим с возбудителем.

Возбудитель иерсиниоза (*Y. enterocolitica*)

Иерсиниоз - инфекционное заболевание, сопровождающееся диареей, энтеритом, псевдоаппендицитом, илеитом, узловой эритемой и (иногда) септициемией или острым артритом. Ведущий симптом заболевания - гастроэнтерит.

Возбудитель (*Yersinia enterocolitica*) широко распространён в природе, его выделяют от насекомых, моллюсков, ракообразных, птиц, грызунов, собак, кошек, домашних сельскохозяйственных животных (основные хозяева). *Y. enterocolitica* также обнаруживают в пресной воде. Инфицирование человека происходит фекально-оральным путём. Точные значения распространённости иерсиниоза до сих пор не установлены, так как высеваемость возбудителя из фекалий при гастроэнтеритах не превышает 3%. Подъём заболеваемости отмечают в осенне-зимний период. В Европе основной резервуар - свиньи, поэтому большинство достоверных случаев заражения связано с употреблением плохо термически обработанной свинины.

Морфология и культуральные свойства

Y. enterocolitica - полиморфные, чаще овоидные палочки. Бактерии подвижны (перитрихи), однако подвижность наблюдают только в культурах, выращенных при 18-20 °С. Температурный оптимум 28-30 °С; оптимум pH 6,9-7,2. Бактерии хорошо растут на простых питательных средах, на плотных средах образуют мелкие блестящие, часто выпуклые S-колонии с голубоватым оттенком в проходящем свете. Образование R-колоний для бактерий нехарактерно. При культивировании на среде Эндо (48 ч при 37 °С) вырастают колонии розоватого оттенка. Бактерии проявляют пектиназную активность, на пектиновом агаре колонии окружены зоной разжижения. При культивировании в жидких питательных средах микроорганизм вызывает их помутнение.

Антигенная структура

У *Y. enterocolitica* выявлен О-Аг (эндотоксин), похожий на Аг многих грамотрицательных бактерий и токсичный для животных и человека. По структуре О-Аг выделяют 34 серовара. Подавляющее большинство поражений вызывают серовары О3 и О9, реже - О5-О8.

Патогенез поражений

Y. enterocolitica вызывает энтероколит с диареей, лихорадкой и болями в животе. Факторами вирулентности считают адгезины и инвазины, облегчающие взаимодействие с кишечным эпителием; низкомолекулярные белки, ингибирующие активность бактерицидных факторов, и энтеротоксин, аналогичный термостабильным токсинам *E. coli*. Инвазивность *Y. enterocolitica* детерминирована генами бактериальной хромосомы. Бактерии проникают в слизистую оболочку тонкой кишки, размножаются в пейеровых бляшках и мигрируют в брыжеечные

лимфатические узлы. Патогенез суставной патологии связан со способностью компонентов клеточной стенки взаимодействовать с молекулами II класса HLA с образованием суперантигенов, активирующих Т-клетки и стимулирующих их пролиферацию.

Клинические проявления

В клинической картине доминирует симптоматика гастроэнтерита. Сопутствующая регионарная лимфаденопатия имитирует острый аппендицит. Диарея обусловлена действием термостабильного энтеротоксина, стимулирующего синтез гуанилатциклазы. Реактивный артрит. Кишечная инфекция может привести к септициемии с поражением внутренних органов и тяжёлыми артритами; поражения обычно возникают через 7-14 сут от начала болезни.

Анкилозирующий спондилит. В связи со способностью вызывать реактивные артриты многие авторы рассматривают *Y. enterocolitica* как причину некоторых форм анкилозирующего спондилита, тем более что бактерии часто выделяют от подобных больных.

Микробиологическая диагностика

Материалом для исследований служат кровь, испражнения, продукты питания и вода. Материал засевают на среды Эндо, Плоскирева и жидкую среду обогащения. Наиболее благоприятная температура для выделения *Y. enterocolitica* 22-29 °С. На средах для изучения подвижности (например, содержащих индол и орнитин) *Y. enterocolitica* неподвижны или малоподвижны при 35 °С и подвижны при 25 °С. После выделения чистой культуры проводят определение основных биохимических свойств. *Дополнительным признаком служит реакция Фбггеса-Проскауэра, положительная при 22-28 °С* (рис. 18-6). Окончательное типирование осуществляют с помощью агглютинирующих О-антисывороток. Для выявления АТ в сыворотке больных используют развёрнутую РА с диагностикумом или РПГА с эритроцитарным диагностикумом. Результат считают положительным при титрах АТ 1:400 и выше.

Возбудитель псевдотуберкулёза

Y. pseudotuberculosis впервые выделили Л. Малласё и А. Виньяль (1883), а позднее детально изучили К. Эберт (1886) и Р. Пфайффер (1886). У человека микроорганизм вызывает острый брыжеечный аденит, или аппендицитоподобный синдром, с патологоанатомическими изменениями, сходными с таковыми при туберкулёзе. У диких и домашних животных заболевание протекает с системными поражениями. Природный резервуар возбудителя - грызуны, олени, домашние животные и птицы. Заболевание у человека наблюдают сравнительно редко. Эпидемиология поражений аналогична таковой у прочих кишечных инфекций. Наиболее часто заражение происходит при употреблении продуктов, долго хранящихся в холодильнике.

Морфология и культуральные свойства

Y. pseudotuberculosis - подвижные овоидные палочки, в молодых культурах имеющие выраженную тенденцию к биполярному окрашиванию. Они образуют нечётко выраженное капсульное вещество. На твёрдых питательных средах бактерии формируют мутные колонии с серовато-желтоватым оттенком в проходящем свете. При культивировании на среде Эндо (48 ч при 37 °С) колонии остаются бесцветными. Часто образуются R-колонии - выпуклые, бугристые, с фестончатой зоной (или без неё), напоминающие колонии *Y. pestis*. При старении колонии увеличиваются в размере и полностью теряют прозрачность. На бульоне *Y. pseudotuberculosis* из R-колоний растут в виде хлопьевидного осадка, оставляя среду прозрачной, а бактерии из S-колоний вызывают её равномерное помутнение. Температурный режим и оптимум рН аналогичны таковым у прочих иерсиний.

Антигенная структура

Возбудитель псевдотуберкулёза по структуре О-Аг разделяют на 8 групп (I-VIII) с 20 факторными Аг (1-20), по структуре Н-Аг - на 5 групп (а-е). По соотношению О- и Н-Аг выделяют 13 сероваров и подсероваров (Ia, Ib, IIa, IIb, IIc, III, IVa, IVb, Va, Vb, VI, VII, VIII).

Клинические проявления

У человека *Y. pseudotuberculosis* вызывает энтероколиты, однако более характерно воспаление брыжеечных лимфатических узлов в подвздошно-слепкишечной области, часто не отличимое от аппендицита. Диссеминирование по кровеносным или лимфатическим сосудам возникает редко.

Микробиологическая диагностика

Материалом для исследований служат кровь, испражнения, продукты питания и вода. Материал засевают на среду Эндо (*Y. pseudotuberculosis* практически не растёт на среде Плоскирева) и жидкую среду обогащения. После выделения чистой культуры проводят

определение основных биохимических свойств. *Дополнительным признаком служит реакция Фогеса-Проскауэ-ра, отрицательная при любых температурных режимах культивирования* Окончательное типирование осуществляют с помощью агглютинирующих О- и Н-антисывороток. Для выявления АТ в сыворотке больных используют развёрнутую РА с диагностикумом или РПГА с эрит-роцитарным диагностикумом.

Клебсиеллы

Бактерии названы в честь немецкого бактериолога Э. Клёбса, обнаружившего бактерии в тканях больных, погибших от пневмонии (1875). Чистую культуру впервые выделил немецкий патолог К. Фридлэндер (1882). Род *Klebsiella* образуют прямые неподвижные палочки размером 0,6-6,0x0,3-1,0 мкм, имеющие выраженную капсулу. В мазках бактерии располагаются одиночно, парами или короткими цепочками. Клебсиеллы хемоорганотрофы; оксидаза-отрицательны и каталаза-положительны. Помимо пневмонии у человека, они вызывают также маститы, септицемии и пневмонии у крупного рогатого скота, свиней, лошадей и обезьян. Основное медицинское значение имеет *K. pneumoniae*.

Эпидемиология

Клебсиеллы широко распространены в природе - их обнаруживают в почве, пресной и морской воде, цветах, зёрнах, фруктах и овощах, промышленных стоках, древесине и т.д. Заболевания, вызываемые клебсиеллами, регистрируют повсеместно. Предположительный источник инфекции - больной человек. *K. pneumoniae* выделяют из ротоглотки и ЖКТ у 5% здоровых лиц.

Морфология и культуральные свойства

Клетки клебсиелл имеют форму неправильного овала. Капсула обычно присутствует у штаммов, непосредственно выделенных от человека и животных (рис. 18-7). После пересевов на питательные среды, под действием низкой температуры, иммунной сыворотки и/или антибиотиков бактерии могут терять способность к капсулообразованию. Под действием антибиотиков они способны в отдельных случаях образовывать L-формы. Температурный оптимум 35-37 °С, оптимум рН 7,2. Бактерии вызывают гомогенное помутнение жидких сред или образуют поверхностную плёнку. На плотных средах клебсиеллы формируют пышные, частично сливающиеся слизистые колонии (рис. 26 вклейки). На средах Эндо и Плоскирева клебсиеллы обычно образуют красные колонии с металлическим блеском, что характерно для бактерий, ферментирующих лактозу.

Антигенная структура

У клебсиелл выделяют капсульные К-Аг и соматические О- и R-Аг. По О-Аг выделяют 11 сероваров, по К-Аг- 82. При идентификации антигенной структуры определяют только К-Аг, обозначаемый арабскими цифрами. *Пробирочную РА с соответствующими антисыворотками проводят только с капсулированными изолятами.*

Патогенез поражений

Основные факторы патогенности - полисахаридная капсула (по составу её Аг выделяют более 70 сероваров), фимбриии (обеспечивают адгезию к эпителию) и токсинообразование. Адгезию к эпителию также опосредуют плазмидные факторы, кодирующие образование поверхностных белков, обуславливающих адгезию. Большой вклад в патогенез поражений вносит сидерофорная система бактерий, связывающая ионы Fe^{2+} и снижающая их содержание в тканях. У клебсиелл выявлены хелаторы железа энтеробактин (энтерохелин) и аэробактин. У различных изолятов выявлены термолabile и термостабильные токсины. Термо- и кислотостабильный токсин обнаружен у изолятов, выделенных от пациентов с тропической спру. По структуре и

механизму действия (активация системы гуанилатциклаза-цГМФ) он аналогичен термостабильному энте-ротоксину *E. coli*.

Термолабильный токсин обнаружен у кап-сулированных штаммов, выделенных от пациентов с ожоговой болезнью. Токсин проявляет цитотоксичность и опосредует проникновение бактерий в кровотоки.

Клинические проявления

• Наиболее известные поражения, вызываемые *K. pneumoniae* подвид *pneumoniae* (палочка Фридлэндера), - долевые пневмонии. Однако пневмонии составляют незначительную часть клебсиеллёзов и обычно развиваются у лиц с поражениями дыхательных путей либо на фоне общего ослабления организма. Пневмонии сопровождается активная деструкция лёгочной паренхимы с формированием абсцессов, эмпием и плевральных спаек. Несколько чаще возбудитель вызывает госпитальные поражения дыхательных путей (бронхиты и бронхопневмонии), но они протекают значительно легче. Наиболее часто *K. pneumoniae* подвид *pneumoniae* и *K. oxytoca* вызывают поражения мочевыводящих путей, мозговых оболочек, суставов, глаз, а также бактериемии и септикопиемии.

• *K. pneumoniae* подвид *ozeanae* (палочка Абеля) - возбудитель заболевания, известного как озена, или хронический атрофический зловонный насморк. Течение заболевания хроническое; инкубационный период не установлен. Наиболее часто озена начинается в 8-16 лет, а клинические проявления достигают максимума к 35-40 годам. Для клинической картины озе-ны характерна триада признаков: атрофия слизистой оболочки носа и подлежащего костного скелета, образование плотных корок и неприятный запах из носа. Процесс может распространяться на глотку, гортань и трахею и приводить к потере обоняния.

• *K. pneumoniae* подвид *rhinoscleromatis* (палочка Фрейша-Волкбвича) вызывает заболевание, известное как риносклерома - хроническое гранулематозное заболевание дыхательных путей. На слизистой оболочке носа, гортани и трахеи обнаруживают плотные беловатые узелки, покрытые вязкой мокротой, содержащей возбудитель. Постепенно развивается нарушение дыхания; в верхних дыхательных путях появляются множественные инфильтраты, покрытые корками. Гистологическое исследование инфильтратов позволяет выявить типичную склеромную ткань. При отсутствии лечения происходит резкое истощение больных вследствие кислородного голодания и нарушения обменных процессов.

Микробиологическая диагностика

Принципы микробиологической диагностики основаны на выделении и идентификации возбудителя. Материал для исследований - кровь, СМЖ, гнойное отделяемое, испражнения, смывы и др. Образцы засевают на селективно-дифференциальную среду К-2 (с мочевиной, рафинозой и бромтимоловым синим). Колонии клебсиелл сочные и блестящие, имеют цвет от жёлто-зелёного до голубого. Культуральные и биохимические особенности определяют на минимальном дифференцировочном ряду (см. табл. 18-1). Антигенную структуру исследуют в РА живой культуры диагностическими К-антисыворотками. Для выявления АТ применяют РСК (в качестве Аг используют суточную культуру) или реакцию О-агглютинации (Аг служит суточная бескапсульная культура).

Лечение и профилактика

Учитывая множественную устойчивость клебсиелл, антимикробную терапию следует начинать после установления чувствительности к препаратам. Препараты выбора - аминогликозиды и р-лактамы антибиотики широкого спектра действия. Антимикробную терапию следует сочетать с назначением симптоматического лечения. Средства специфической

иммунопрофилактики не разработаны. Для предупреждения клебсиеллёзов следует строго соблюдать правила хранения пищевых продуктов, правила асептики и антисептики в лечебных учреждениях и правила личной гигиены.

Протеи

Род назван в честь сына Посейдона - водяного бога Протёя, способного менять свой облик, что отражает способность его представителей изменять внешние проявления роста на твёрдых средах. Род *Proteus* образуют прямые палочки размерами 1-3x0,4-0,8 мкм. Бактерии подвижны (перитрихи, подвижность более выражена при 20-22 °С); капсул не имеют, хемо-органотрофы, оксидаза-отрицательны, каталаза-положительны. Они обитают в кишечнике многих видов позвоночных и беспозвоночных животных, почве, сточных водах и разлагающихся органических остатках. Некоторые виды вызывают инфекции мочевыводящих путей у человека, пищевые токсикоинфекции, а также вторичные септические поражения у пациентов с ожогами и после хирургических вмешательств.

Биохимические свойства представлены в табл. 18-1.

Культуральные свойства

Протеи растут на простых питательных средах, температурный оптимум 35-37 °С, оптимум рН 7,2-7,4. Рост бактерий сопровождается появлением гнилостного запаха. На твёрдых средах жгутиковые (Н-) формы характеризуются сплошным ростом. При посеве бляшкой бактерии дают феномен «роения» - образуют концентрически расходящиеся круги голубовато-серого цвета (рис. 18-8). На среде Плоскирева микроорганизмы формируют желтовато-розовые колонии (в зоне роста среда подщелачивается и желтеет). На висмут-сульфитном агаре через 48 ч образуют серо-коричневые колонии (с чёрно-коричневой зоной под ними). На агаре Эндо формируют бесцветные колонии. Вызывают помутнение жидких питательных сред.

Антигенная структура

У протеев обнаружены О-, Н- и К-Аг. По структуре термостабильных О-Аг выделяют 49 сероваров, по термостабильным Н-Аг - 19 сероваров, обозначаемых арабскими цифрами. У протеев штаммов серии ОХ О-Аг структурно сходны с Аг риккетсий. Для дифференциации штаммов по Н-Аг можно использовать феномен Дйенеса (рис. 27 вклейки).

Патогенез поражений

Основные факторы патогенности протеев - эндотоксин, фимбрии, бактериальные протеазы и уреазы, гемолизины и гемагглютинины. Подвижные («роящиеся») Н-формы - основные морфологические формы, способные прикрепляться к клеткам паренхимы почечной ткани и эпителию мочевого пузыря, что обусловлено интенсивным образованием протеаз, уреазы и гемолизинов. Малоподвижные («плавающие») клетки чаще выделяют из гнойных и серозно-гнойных экссудатов.

Уреазы. Способность разлагать мочевины - важный фактор патогенности, отличающий протеев. Бактерии разлагают мочевины, используя её в качестве источника энергии, причём конечные продукты метаболизма (хлорид аммония) вызывают местное воспаление и повышают рН до значений, способствующих образованию кристаллов (струвитов), камней и застою мочи. Гемолизины разрушают эритроциты, нейтро-филы и фибробласты человека. Механизм физиологической активности связан с образованием пор и каналов в липидном бислое клеточных мембран и аналогичен действию α-гемолизина *E. coli*.

Фимбрии вызывают агглютинацию эритроцитов животных и человека. Протеазы нарушают структуру различных подклассов IgA и IgG, повышают проницаемость сосудов, дезаминируют аминокислоты и действуют как сидерофоры.

Микробиологическая диагностика

Она основана на выделении и идентификации возбудителя. Материалом для исследований служат моча, гнойное отделяемое, кровь, СМЖ, промывные воды желудка, мокрота и др. Проводят посев на дифференциально-диагностические среды (например, среду Плоскирева) и среды обогащения (например, 5% жёлчный бульон) Идентификация бактерий рода *Proteus* - самая несложная во всём семействе *Enterobacteriaceae*. Их легко распознают по способности давать феномен «роения». У чистых культур определяют биохимические свойства на минимальном дифференцирующем ряду. *Важнейший признак, отличающий протей от прочих энтеробактерий, - способность дезаминировать фенилаланин* (рис. 18-9). В сложных случаях для идентификации возбудителя можно воспользоваться специфическим бактериофагом. Антигенную структуру определяют РА живой и прогретой культуры с поли- и моновалентными О- и Н-антисыворотками.

Лечение

Протеи обладают природной устойчивостью ко многим антибиотикам. Препараты выбора - ампициллин, цефалоспорины третьего поколения, фторхинолоны. При дисбактериозах кишечника можно назначать интестибактериофаг (смесь фагов, включающая протейный фаг) внутрь. Протейный или коли-протейный фаг также применяют местно (при гнойных процессах или поражениях мочеполовой системы).

Серрации

Интерес к изучению серраций подтолкнула способность этих бактерий к образованию красного пигмента. В древние времена появление «кровавых» пятен на различных продуктах, особенно освящённой пище, считали дьявольским наваждением, что нередко становилось причиной народных волнений. Бактерии впервые выделил итальянский бактериолог Б. Бйзио и назвал их *Serratia marcescens* (в честь лоцмана Серафино Серрати, проводившего суда по реке Арно). Род образуют прямые подвижные (перитрихи) палочки размерами 0,9-2,0x0,5-0,8 мкм, отдельные штаммы имеют капсулу. Бактерии образуют розово-красный водонерастворимый пигмент продигиозин (рис. 28 вклейки).

Эпидемиология

Серрации распространены повсеместно в окружающей среде - их выделяют из почвы, воды, воздуха, с растений, различных предметов, а также из испражнений насекомых и грызунов. Серрации, особенно *S. marcescens*, ранее считали непатогенными и даже использовали при испытаниях аэрозолей или исследованиях циркуляции воздуха в помещениях из-за их ярко-красного пигмента. Экология *S. marcescens* аналогична таковой у синегнойной палочки.

В 60-х годах была установлена способность серраций вызывать бактериемию у стационарных пациентов и наркоманов. Позднее выяснилось, что у взрослых людей бактерии наиболее часто колонизируют мочевыводящие и воздухоносные пути, а у детей - ЖКТ. *S. marcescens* вызывает до 10% госпитальных бактериемий и пневмоний, 5% инфекций мочевыводящих путей, хирургических ран и гнойничковых поражений кожи. Важный момент - способность бактерий к горизонтальной передаче (через руки медицинского персонала). Наиболее часто серрации проникают в организм через постоянные катетеры, интубационные устройства, а также препараты и растворы для внутривенных инфузий. У наркоманов, вводящих препараты внутривенно, часто возникают септические артриты, эндокардиты и остеомиелиты.

Культуральные свойства

Все серрации хорошо растут при температуре 15-30 °С. На КА при 37 °С *S. marcescens* образуют серовато-белые прозрачные S-колонии 1-2 мм в диаметре, колонии могут быть гладкими или мелкозернистыми. При комнатной температуре через 24-48 ч колонии становятся красными. На скошенном агаре бактерии образуют гладкий белый налёт. Поскольку большинство изолятов не ферментирует лактозу, то на среде Плоскирева они образуют бесцветные колонии. *S. marcescens* резистентны к действию колистина и могут расти на средах с его включением. Культура издаёт ароматный запах, напоминающий запах карамели.

Биохимические свойства представлены в табл. 18-1.

Патогенез поражений

Факторы патогенности серраций - фимбриии (подобные фимбриальным факторам клебсиелл и протеев), гемолизины (обычно присутствующие у изолятов, колонизирующих почечную ткань), сидерофорная система (обуславливающая поглощение ионов Fe^{2+} из крови и тканей), протеазы (обуславливают кровоизлияния на коже и слизистых оболочках) и термолабильный цитотоксин (его эффект аналогичен действию шигаподобного токсина *E. coli*).

Антигенная структура

У серраций выделяют O-Аг (более 15 сероваров) и H-Аг (около 20 сероваров). Некоторые из них могут давать перекрёстные реакции между собой (например, O2 и O3, O6 и O7 и др.).

Микробиологическая диагностика

Основу составляют выделение и идентификация возбудителя. Материалом для исследований служат кровь, гнойное отделяемое, мокрота, моча и др. Посев проводят на среды Эндо, Плоскирева и Левина. Для выделения серраций из контаминированного материала более пригодны специализированные среды (например, агар с дезоксирибонуклеазой, толуидиновым синим и цефалотином). Выросшие колонии серраций окружены красноватым ободком, колонии прочих бактерий его не имеют. После выделения чистых культур проводят биохимическую идентификацию до вида.

Бактерии рода *vibrio*

Род *Vibrio* семейства *Vibrionaceae* отдела *Gracilicutes* образуют прямые или изогнутые подвижные палочки; подвижность обусловлена одним или несколькими жгутиками. Снаружи бактерии покрыты оболочкой, образованной выростом наружного слоя клеточной стенки. Бактерии хемо-органотрофы; большинство видов оксидаза-положительно. Микроорганизмы чувствительны к вибриостатику 0/129 (2,4-диамино-6,7-диизопропилптеридин). Ионы Na^{+} стимулируют рост всех видов и необходимы для культивирования некоторых видов. Вибрионы распространены не только в пресных, но и солёных водоёмах, особенно в эстуариях рек. Бактерии покрывают дно, растительность и колонизируют организмы водных животных. Некоторые виды патогенны для водных беспозвоночных и позвоночных животных; часть вибрионов также патогенна для человека. Наибольшее медицинское значение имеют *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* и *V. vulnificus*.

Возбудитель холеры (*V. cholerae*)

Холера - острое инфекционное заболевание, характеризующееся профузной водянистой диареей, крайней слабостью, выраженной потерей жидкости и электролитов. Европейская медицина столкнулась с холерой лишь в первой половине XIX в.; до этого времени холера вызывала эпидемии в ограниченном регионе полуострова Индостан. Основными воротами для

прорыва возбудителя в Европу были некоторые регионы Ближнего Востока, Египет и порты Средиземноморья. На поиски возбудителя в Египет были направлены французская (под руководством Э. Ру) и немецкая (под руководством Р. Кбха) экспедиции. Затем немецкие бактериологи перенесли работу в Индию, где в 1883 г. была открыта знаменитая «запятая Коха».

Позднее были обнаружены многочисленные вибрионы, не имеющие никакого отношения к холере и отличавшиеся от её возбудителя способностью лизировать эритроциты. В соответствии с этим гемолитические виды стали считать непатогенными. Критерий считали вполне обоснованным до выделения супругами Гбтшлих гемолитических вибрионов из трупов мусульман-паломников, погибших от холероподобной инфекции на карантинной станции Эль-Тор в Египте (1906). Поскольку в то время эпидемии не было, то и роль вибриона Эль-Тор осталась неясной. Но в 1939 г. возбудитель вызвал эпидемическую вспышку на острове Сулавеси (Индонезия), а позднее был признан этиологическим агентом седьмой пандемии холеры. В начале 1993 г. появились сообщения о вспышках холеры в юго-восточной Азии, вызванных вибрионами ранее неизвестной серогруппы, обозначенных как серовар O139 (Бенгал).

Эпидемиология

Холера - типичная кишечная инфекция, и многое в её эпидемиологии аналогично поражениям, вызываемым энтеропатогенными бактериями. *Природный резервуар - больные и бактерионосители; основной механизм передачи - фекально-оральный, редко контактный.* Факторы передачи - пищевые продукты, вода, объекты окружающей среды. Определённую роль играют мухи, способные переносить возбудитель с испражнений на пищевые продукты.

Холерный вибрион мало устойчив во внешней среде и плохо переносит инсоляцию, высушивание и конкуренцию со стороны другой микрофлоры. Циркуляция возбудителя в воде прямо связана с наличием больных и бактерионосителей; после их изоляции он спонтанно исчезает через несколько суток (в стоячих водоёмах может сохраняться до 2-3 нед). В выгребных ямах может существовать до 3-4 мес. Вибрион длительно сохраняется в продуктах с щелочным рН и высокой влажностью, а также одежде и постельном белье, загрязнённых испражнениями больных. Вибрионы биотипа Эль-Тор более устойчивы во внешней среде, что позволяет легко выделять их из воды и испражнений. Все вибрионы очень чувствительны к действию дезинфектантов, особенно с кислым рН.

Выделяют два типа эпидемий холеры - эпидемии-вспышки с едиными источником инфекции и путями распространения, характеризующиеся одномоментным появлением большого количества больных, ивялотекущие эпидемии с перманентной заболеваемостью небольшого контингента и трудно выявляемыми путями передачи возбудителя.

Морфология и тинкториальные свойства

Клетки холерного вибриона размером 1,5-4,0x0,2-0,4 мкм имеют один полярный жгутик, снабжённый чехликом и продольным выростом, напоминающим ундулирующую мембрану. *Подвижность бактерий весьма выражена, и её наличие* (выявляют методом висячей или раздав-

Биохимические свойства

Холерные вибрионы сбраживают с образованием кислоты многие углеводы (глюкозу, сахарозу, мальтозу, маннит, лактозу, гликоген, крахмал и др.). *Ферментация маннозы, сахарозы и арабинозы* (так называемая триада Хейберга) *имеет диагностическое значение.* По способности разлагать эти три углевода все вибрионы разделяют на 6 групп. *Холерные вибрионы разлагают только маннозу и сахарозу и принадлежат к 1-й группе Хейберга.* Бактерии этой группы обладают

плазмокоагулирующим (свёртывают плазму кролика) и фибрино-литическим (разжижают свернутую сыворотку по Лёффлеру) свойствами. Они свёртывают молоко и разлагают другие белки и их дериваты до аммиака и индола; H_2S не образуют, восстанавливают нитраты и образуют индол (эту способность учитывают в нитрозоиндоловой реакции, также известной как холера-рот реакция). На основании биохимических и биологических различий (табл. 18-4) холерные вибрионы разделяют на два биовара - классический (*V. cholerae* биовар *asiaticae*) и *Эль-Тор* (*V. cholerae* биовар *eltor*). Бактерии серовара Бенгал устойчивы к полимиксину и не проявляют гемолитической активности.

Антигенная структура

У холерных вибрионов выделяют термостабильные О- и термолабильные Н-Аг.

О-Аг. По структуре О-Аг выделяют 139 серогрупп; возбудители холеры относят к О1 группе. Принадлежность к ней отличает их от холероподобных и парاخолерных вибрионов. Поэтому, несмотря на возможные биохимические различия, при исследовании на холеру обязательно проводят типирование О1-антисывороткой. О-Аг О1 группы холерных вибрионов неоднороден и включает А, В и С компоненты, разные сочетания которых присущи сероварам Огава (АВ), Инаба (АС) и Хикоджйма (АВС). Эти свойства используют в качестве эпидемиологического маркера для дифференцирования очагов по возбудителям, хотя иногда от одного больного можно выделить бактерии разных сероваров. R-формы, а также слизистые M-формы (с изменённой структурой О-Аг) не агглютинируются О-антисыворотками, для идентификации OR- и R-диссоциатов используют OR-антисыворотки. Бактерии серовара О139 не агглютинируются видоспецифической О1- и типоспецифическими Огава-, Инаба- и RO-сыворотками. Поскольку холероподобные вибрионы также не агглютинируются О1-антисывороткой, их обозначают как неагглютинирующиеся (НАГ-) вибрионы.

Н-Аг - общие Аг для большой группы бактерий, поэтому их разделяют на А и В группы. В группу А входят холерные вибрионы; в группу В - вибрионы, биохимически отличные от холерных. Вибрионы группы В имеют неоднородную структуру О-Аг, их разделяют на 6 серологических подгрупп, состав которых совпадает с разделением на 6 биохимических групп схемы Хайберга.

Патогенез поражений

Попав в организм человека, значительная часть вибрионов погибает под действием кислой среды желудка, и лишь их небольшая часть достигает тонкой кишки. Способность холерного вибриона быстро колонизировать эпителий кишечника обуславливают жгутики, муциназа (разжижает слизь и облегчает проникновение к поверхности эпителия) и нейраминидаза (обеспечивает взаимодействие с микроворсинками). В ответ на проникновение бактерий эпителиальные клетки выделяют щелочной секрет, служащий идеальной средой для размножения возбудителя. *Основной фактор патогенности - способность к токсинообразованию.* Холерные вибрионы образуют эндо- и экзотоксины.

Эндотоксин - термостабильный ЛПС, сходный по структуре и активности с эндотоксинами прочих грамотрицательных бактерий. Он проявляет иммуногенные свойства, индуцируя синтез вибриоцидных АТ. Однако этот токсин не играет существенной роли в развитии характерных проявлений.

Экзотоксин (холероген) - термолабильный белок; его образование кодируют как хромосомные, так и плазмидные гены. *Молекула токсина включает 2 компонента - А и Б.* Компонент Б взаимодействует с рецепторами эпителия тонкой кишки, облегчая проникновение в клетку компонента А. Компонент А составляют субъединица А (активный центр) и субъединица А₂, связывающая компоненты А и Б. Субъединица А₁ активирует аденилат-циклазу, приводя к

увеличению внутриклеточного содержания цАМФ и выходу жидкости и электролитов из клеток либеркюновых желёз в просвет кишечника. Токсин не способен реализовать своё действие на каких-либо других клетках. Бактерии серовара O139 также синтезируют экзотоксин с аналогичными свойствами, но в меньшем количестве. Холерные вибрионы также секретируют экзотоксины, аналогичные токсинам токсигенных эшерихий, шигелл и сальмонелл.

Клинические проявления

У большинства инфицированных лиц заболевание протекает бессимптомно, возможна лёгкая диарея. Соотношение тяжёлых поражений к количеству стёртых проявлений для классической холеры составляет 1:5-10, для холеры Эль-Тор- 1:25-100.

Для клинически выраженных случаев продолжительность инкубационного периода составляет в среднем 2-3 дня. Заболевание проявляется общим недомоганием, болями в животе, рвотой и развитием выраженной диареи. Для последней характерно выделение значительного количества (до 10л/сут) водянистых бесцветных испражнений («рисовый отвар»). В зависимости от степени интоксикации симптоматика может иметь характер гастроэнтерита или энтерита.

В тяжёлых случаях у больных резко снижается объём мочи с развитием острой почечной недостаточности. Характерна охриплость голоса или афония. Ведущие патогенетические факторы - гиповолемия и выраженные нарушения электролитного баланса, вследствие чего развиваются артериальная гипотензия, сердечная недостаточность, нарушение сознания и гипотермия. Подобное состояние определяют как холерный алгид. Характерный признак обезвоживания - «гиппократово лицо» (*facies hippocratica*): запавшие глаза, заострённые черты лица с резко выступающими скулами. При отсутствии лечения летальность больных в алгид-ной стадии достигает 60%. Выздоровление сопровождается приобретением непродолжительной невосприимчивости. Нередко отмечают случаи повторного заражения.

Микробиологическая диагностика

Основу составляют выделение и идентификация возбудителя. Цели исследований - выявление больных и вибрионосителей; установление причины смерти при исследовании трупов; контроль над эффективностью лечения больных и санации носителей, контроль над объектами внешней среды и эффективностью дезинфекционных мероприятий. Материал для исследований - испражнения, рвотные массы, жёлчь, секционный материал (фрагменты тонкой кишки и жёлчного пузыря), постельное и нательное бельё, вода, ил, сточные воды, гидробионты, смывы с объектов окружающей среды, пищевые продукты, мухи и др. При проведении исследований необходимо соблюдать следующие правила.

- Материал следует доставлять в лабораторию не позже 2 ч после забора (так как возбудитель быстро погибает, особенно в испражнениях). При невозможности срочной доставки образцы помещают в транспортные среды (1% пептонная вода с рН 8,2-8,6).

- Емкости для материала нельзя обеззараживать химическими веществами, так как возбудитель чувствителен даже к их следовым количествам. Все образцы помещают в герметически закрываемую транспортную тару.

Посев проводят на жидкие среды обогащения, щелочную пептонную воду, щелочной МПА, элективные и дифференциально-диагностические среды (например, TCBS-агар). Изучают рост на первой среде накопления и выполняют высев на щелочной агар и вторую среду накопления (что повышает высеваемость возбудителя). Если на первом этапе при исследовании нативного материала ускоренными методами получают положительные результаты, пересев на вторую среду накопления не проводят. Подозрительные колонии пересевают для выделения чистых культур.

Затем определяют морфологические, биохимические свойства и антигенную структуру с помощью агглютинирующих О-, ОР-, Инаба- и Огава-антисывороток. Важное диагностическое значение имеет типирование с помощью холерных диагностических бактериофагов. Все *V. cholerae* лизируются бактериофагом IV группы, а вибрионы биовара Эль-Тор - фагами группы V.

- Для ускоренной диагностики заболевания применяют иммунолюминесцентный и иммобилизационный методы и РПГА с диагностикумом. Нецелесообразно проводить бактериоскопию мазков и препаратов методом «висячей капли» из нативного материала.

- Для ускоренной биохимической идентификации предложен набор СИБ из 13 тестов (оксидаза, индол, лактоза, глюкоза, сахароза, манноза, арабиноза, маннит, инозит, аргинин, орнитин, лизин), дифференцирующий от представителей семейства *Enterobacteriaceae*, бактерий родов *Plesiomonas*, *Aeromonas* и др.

- При выделении *V. cholerae* группы, отличной от O1, возбудитель необходимо типировать с помощью других антисывороток. При выделении таких бактерий от больного с диареей обязательным считают проведение всего объёма исследований для диагностики холеры.

- Определение АТ в крови больных носит вспомогательный характер. Их выявляют в РА, а также путём обнаружения вибриоцидных АТ и антитоксинов.

Лечение и профилактика

Восполняют потерю жидкости и электролитов, проводят антибактериальную терапию препаратами тетрациклинового ряда. Альтернативные антибактериальные препараты - левомицетин, ко-тримоксазол и фуразолидон. Профилактика холеры включает организацию санитарно-гигиенических мероприятий, предупреждающих занос заболевания; проведение санитарно-просветительной работы среди населения; раннее выявление больных и носителей; массовое профилактическое назначение тетрациклинов в районах эпидемической опасности. Для специфической иммунопрофилактики разработаны убитая вакцина из штаммов Огава и Инаба, холе-роген-анатоксин для подкожного введения и бивалентная вакцина из анатоксина и О-Аг Огава и Инаба. Эффективность их использования не превышает 60-70%, невосприимчивость сохраняется в течение 3-6 мес, поэтому вакцинопрофилактику применяют по эпидемиологическим показаниям. В очагах холеры хороший эффект даёт профилактический приём тетрациклина.

Прочие патогенные виды *Vibrio*

Помимо *V. cholerae*, поражения у человека могут вызывать *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*, *V. damsela*, *V. metschnikovii*. Все виды обитают в пресной, полупресной (эстуарии рек) и морской воде. Заражение происходит при употреблении в пищу моллюсков и ракообразных, а также ранении во время купания. Среди них доминируют поражения, вызываемые *V. parahaemolyticus* и *V. vulnificus*.

Vibrio parahaemolyticus

V. parahaemolyticus - галофильный вибрион; возбудитель большинства острых диарей в Японии. Вызванные им поражения также регистрируют в странах Юго-Восточной Азии, Африки и Латинской Америки (до 20% всех диарей). Основные источники инфекции - блюда из морских продуктов, длительно хранящиеся в тёплом месте и приготовленные с нарушениями технологического процесса. Реже наблюдают поражения, вызванные употреблением сырых моллюсков и рыбы, а также пищи, забрызганной морской водой. Возбудитель синтезирует энтеротоксин (гемолизин), вызывающий энтерит.

Клинические проявления наблюдают у 50% инфицированных лиц - характерны сильные боли в животе и водянистая обильная диарея, развивающиеся в течение 24 ч после

инфицирования. Заболевание проходит спонтанно; случаи повторного инфицирования не зарегистрированы. Летальные исходы регистрируют у детей и пожилых пациентов с сопутствующей патологией.

Диагностику проводят путём выделения возбудителя на средах, применяемых для обнаружения *V. cholerae* (чаще для исключения холеры), с определением роста на TCBS-агаре (образует оливко-во-зелёные колонии, так как не ферментирует сахарозу) и способности утилизировать орнитин. Для дифференцировки изолятов, патогенных для человека, применяют их способность давать гемолиз на КА с 7% NaCl (метод Канагавы). У бактерий выделяют H-, O- и K-Аг. По структуре O-Аг бактерии разделяют на 14 серогрупп; внутри них вибрионы разделяют на 61 серовар по структуре K-Аг.

Vibrio vulnificus

V. vulnificus входит в состав микробных ценозов эстуариев рек умеренных и тёплых регионов Тихого и Атлантического океанов, концентрируется в «природных фильтрах» - двухстворчатых моллюсках. Возбудитель обладает уникальной способностью вызывать два типа различных поражений - септицемии и гнойные раневые процессы.

- Септицемии развиваются после употребления моллюсков в пищу и проявляются буллёзными поражениями кожи. Поражения с большей частотой регистрируют у лиц с нарушениями иммунитета, заболеваниями печени, почек и сахарным диабетом. 50% случаев заканчивается летально.

- Раневые инфекции обусловлены контактом ран с контаминированной морской водой. Инфекции могут быть умеренными либо прогрессировать до тяжёлых целлюлитов и миозитов, имитирующих газовую гангрену.

Тяжесть поражений, вызываемых *V. vulnificus*, зависит от степени патогенности возбудителя и состояния организма. Факторы патогенности - капсула, защищающая бактерии от действия фагоцитов, и комплекс ферментов, включающий цитотоксин-гемолизин, эластазу, коллагеназу и фосфолипазы.

Диагностику проводят путём выделения возбудителя на средах, применяемых для обнаружения *V. cholerae* (чаще для исключения холеры), с определением роста на TCBS-агаре (образует жёлтые колонии, так как ферментирует сахарозу) и способности ферментировать лактозу (50% изолятов ферментирует лактозу).

При поражениях, вызванных *V. vulnificus*, необходима интенсивная антимикробная терапия. Препараты выбора - гентамицин, тетрациклин и левомицетин. Лицам из групп риска следует избегать употребления сырых морских продуктов и контактов с морской водой.

Гемофильные бактерии

Эту группу образуют бактерии, растущие на питательных средах с добавлением крови или её препаратов. Для нормального развития им нужны ростовые факторы X и V. Фактор X содержится в эритроцитах в виде термостабильной группы тетрапирролов, входящих в состав гемати-на и гемина. Фактор V - термолабильный кофермент (включает НАД или НАДФ), продуцируемый многими бактериями, а также присутствующий в эукариотических клетках. Большинство видов относят к облигатным паразитам слизистых оболочек человека.

Гемофилы

Род *Haemophilus* семейства *Pasteurellaceae* отдела *Gracilicutes* образуют небольшие неподвижные овоидные палочковидные бактерии. Потребность в ростовых факторах, содержащихся в эритроцитах, отражает название рода [от греч. *haima*, кровь, и *philos*, любить]. Некоторые виды входят в состав нормальной микрофлоры человека, другие вызывают тяжёлые инфекционные заболевания (менингит, эпиглоттит, пневмонию, перикардит и др.). Внутри рода микроорганизмы дифференцируют по потребности в факторах роста и биохимическим свойствам (табл. 18-5). Фактор V синтезируют некоторые бактерии (например, сарцины, стафилококки и др.), поэтому для культивирования гемофилов часто используют так называемые «бактериальные кормилки», выполняя посев рядом с колониями бактерий, выделяющих фактор V. *H. influenzae* и *H. ducreyi* патогенны для человека.

Палочка инфлюэнцы (*H. influenzae*)

H. influenzae (палочка Афанасьева-Пфайффера) - возбудитель пневмоний, эпиглоттитов, менингитов, эндокардитов, абсцессов, артритов, поражений кожи, ногтей и глаз. Бактерии первым выделили М.И. Афанасьев (1891) и Р. Пфайффер (1892) из организма больного, умершего от гриппа. Длительное время эти бактерии считали возбудителем гриппа [от лат. *influenza*], что объясняет происхождение видового названия.

Эпидемиология

H. influenzae патогенна только для человека. В большинстве случаев возбудитель локализуется в носоглотке. Среди здоровых лиц носительство может достигать 90%; у 3-5% отмечают носительство капсулированных штаммов, преимущественно типа b. Заболевания, вызываемые *H. influenzae*, регистрируют повсеместно, а во многих странах они эндемичны. Ежегодно (с частотой 1:2000) регистрируют менингиты, вызванные *H. influenzae* типа b. Наиболее восприимчивая группа - дети в возрасте от 3 мес до 6 лет. Для детей от 3 мес до 3 лет вероятность развития системных форм, вызванных сероваром b, после контакта с первичным больным в 6000 раз выше, чем для других возрастных групп. Основные пути передачи - воздушно-капельный и контактный.

Морфология и культуральные свойства

H. influenzae представлена небольшими (0,3-0,4x1-1,5 мкм) коккобациллами, располагающимися в мазках одиночно или короткими цепочками (рис. 18-14). Часть штаммов имеет по-лисахаридную капсулу. Бактерии хорошо растут в аэробных условиях. Обязательное условие роста - присутствие в питательной среде свежей крови. Перед внесением в среду кровь прогревают при 80 °С в течение 15 мин, что способствует высвобождению факторов из эритроцитов и разрушению сывороточных ингибиторов, инактивирующих фактор V. Самостоятельно лизировать эритроциты *H. influenzae* не способна. Оптимальные среды для роста - ША и среда с переваром Файлдса (пептический перевар эритроцитов). Температурный оптимум 37 °С. На ША капсулосодержащие штаммы *H. influenzae* формируют слизистые M-колонии (сочные, сероватые, с радужными переливами) либо полупрозрачные блестящие S-колонии диаметром 3-4 мм. Некапсулированные штаммы на твёрдых питательных средах формируют более мелкие зернистые R-колонии, с неровным краем, серовато-белого цвета.

Биохимические свойства

Ферментация углеводов вариабельна (см. табл. 18-5). Микроорганизм проявляет уреазную и орнитиндекарбоксилазную активность, восстанавливает нитраты в нитриты. По способности разлагать мочевины, образовывать индол и декарбоксилировать орнитин выделяют 6 биоваров (I-VI).

Антигенная структура

У *H. influenzae* выделяют К- и О-Аг. По структуре К-Аг все известные штаммы разделяют на 6 сероваров (a-f). Основную эпидемическую опасность представляет *H. influenzae* типа b. Некапсулированные штаммы неоднородны по набору Аг; один из них, АгМ, имеет белковую природу и присутствует у всех штаммов. АТ к капсульным Аг оказывают защитное действие, а их недостаток увеличивает риск развития менингита, особенно у детей в возрасте 3-24 мес (для них характерен дефицит АТ), а также у более старших детей и подростков после спленэктомии.

Патогенез поражений

Основные факторы патогенности - капсула и пили, затрудняющие поглощение бактерий фагоцитами и облегчающие адгезию к слизистой оболочке верхних отделов дыхательных путей. Позднее бактерии проникают в подслизистую оболочку, вызывая воспалительную реакцию. Штаммы, обладающие высокой вирулентностью, могут мигрировать в лимфо- и кровоток. Определённую роль играют IgA1-протеазы, а также липополисахаридный и термостабильный гликопротеиновый факторы, ингибирующие мукоцилиарный клиренс.

Клинические проявления

Клиническая картина зависит от локализации воспалительного процесса (типичны пневмонии). Наибольшую опасность представляют острый эпиглоттит и менингит. При воспалении надгортанника часто возникает необходимость в наложении трахеостомы. Менингит обычно развивается при бессимптомном носительстве вследствие диссеминирования возбудителя по лимфатическим путям. *Нередко у детей после излечения остаются стойкие неврологические изменения.*

Микробиологическая диагностика

Основу диагностики составляют выделение и идентификация возбудителя. Материалом служит слизь из зева, СМЖ, гнойное отделяемое, мокрота и др. Посевы обычно проводят на ША и среду с сердечно-мозговой вытяжкой. Типичные колонии пересеивают, выявляют наличие капсул (в реакции иммунного набухания Нойфельда) и исследуют биохимические свойства. Аг бактерий выявляют при помощи РП в агаре. Для быстрой идентификации в СМЖ используют методы прямой иммунофлюоресценции и встречного иммуноэлектрофореза. *Важную информацию может дать анализ потребности в факторах X и V.*

- Прямой метод. Выполняют газонный посев культуры на твёрдую питательную среду. Полоски бумаги, пропитанные факторами X и V, накладывают на поверхность агара. Рост бактерий вокруг полосок, а не на других участках среды, подтверждает предположение об их принадлежности к виду *H. influenzae* (рис. 18-15).

- Для идентификации *H. influenzae* также применяют тест сателлитных колоний («бактериальная кормилка»). На КА засевают исследуемую культуру, а через центр чашки (по диаметру - штрихом) засевают золотистый стафилококк. Последний синтезирует фактор V, а также высвобождает фактор X, разрушая эритроциты. Около зоны роста стафилококка *H. influenzae* образует более крупные колонии (рис. 29 вклейки).

Лечение и профилактика

Основу лечения составляет адекватная антимикробная терапия (препараты выбора - ампициллин, аминогликозиды). Детям, контактировавшим с больным, назначают рифампицин. Антимикробную терапию следует сочетать с симптоматическим лечением. Для специфической иммунопрофилактики созданы вакцины на основе капсульных полисахаридов, но они не приводят к образованию АТ в необходимом количестве у детей младше 2 лет, составляющих группу

наибольшего риска. За рубежом для активной иммунизации наиболее часто используют конъюгаты основного капсульного Аг - фосфата рибитола - с различными белковыми анатоксинами (например, дифтерийным или столбнячным).

Возбудитель конъюнктивита (*H. influenzae* биовар *aegyptius*)

H. influenzae биовар *aegyptius* (палочка Коха-Уйкса) - возбудитель катарального конъюнктивита. Бактерии патогенны только для человека. Неподвижная мелкая палочка (1-2,5x0,25-0,5 мкм), нуждающаяся в присутствии факторов X и V. На твёрдых средах растёт в виде мелких (0,5-0,8 мм) круглых прозрачных колоний; гемолиза не вызывает. В жидких средах наблюдают помутнение среды с последующим выпадением осадка; температурный оптимум роста 34-37 °С.

Продолжительность инкубационного периода варьирует от нескольких часов до 1-2 сут. Чаще возникают поражения обоих глаз. Конъюнктивит может протекать в лёгкой (синдром «розовых глаз») и тяжёлой (выраженное раздражением глаз, слезотечение, отёк век со слизистогнойным или фибринозно-гнойным отделяемым, светобоязнь) формах.

Принципы выделения возбудителя аналогичны таковым при инфекциях, вызванных *H. influenzae*. В окрашенных мазках обнаруживают грамотрицательные плеоморфные палочки. Для окончательной идентификации выделенной чистой культуры ставят РА с сывороткой кролика, иммунизированного музейными штаммами бактерий. Лечение включает применение глазных капель или мазей, содержащих противомикробные средства (тетрациклины, аминогликозиды, сульфаниламиды), не реже 5-6 раз в сутки.

Возбудитель мягкого шанкра (*H. ducreyi*)

Мягкий шанкр - венерическое заболевание. В месте внедрения *H. ducreyi* (палочки Дюкрея-Унны) возникает язва. Несмотря на древность заболевания, в самостоятельную нозологическую форму - мягкий шанкр - оно было выделено лишь в 1852 г. Культуру возбудителя первым получил отечественный врач О.В. Петерсен (1887), позднее итальянский дерматолог А. Дюкрей и немецкий венеролог П. Унна дали полное описание микроорганизма.

H. ducreyi - неподвижные овоидные палочки (0,5-2 мкм), в мазках располагаются параллельными цепочками («железнодорожные пути»), группами («стайки рыб») или парами. Для роста нуждаются в присутствии фактора X. На твёрдых кровяных средах через 24 ч образуют мелкие серовато-жёлтые блестящие колонии, напоминающие колонии стрептококков. Через 34 сут бактерии образуют небольшую зону гемолиза. Они не вызывают помутнение жидких сред, токсинов не образуют, расщепляют декстрозу с образованием кислоты, не образуют индол и сероводород, не восстанавливают метиленовый синий. Бактерии малопатогенны для морских свинок и кроликов, но патогенны для приматов.

Продолжительность инкубационного периода составляет 3-10 дней, но уже через 12-18 ч на месте внедрения возбудителя образуется красное пятно, превращающееся через 2-5 сут в изъязвляющуюся папулу. *Образовавшаяся затем язва бывает мягкой и болезненной, что отличает её от твёрдого шанкра, возникающего при сифилисе.* Размеры язвы варьируют от размеров зерна чечевицы до 2 см. Язвы могут быть множественными и сливаться в гигантские ползучие язвы. В неосложнённых случаях язва заживает через 1-2 мес.

Микробиологическая диагностика заболевания обычно трудностей не вызывает. Часто достаточно микроскопии мазка содержимого язвы (результаты исследования следует соотносить с данными анамнеза, так как мягкий шанкр передаётся только половым путём). Мазки окрашивают по Граму, фуксином Цйля либо метиленовым синим. К выделению культуры прибегают редко.

Посев проводят на ША, обогащённый внесением 5% сыворотки крови барана (также можно использовать МПА, обогащённый добавлением 1/3 дефибринированной крови барана) и ванкомицина (3 мкг/мл). Бактерии культивируют в атмосфере, содержащей 5% CO₂, - через 2-5 сут появляются колонии возбудителя, легко снимаемые с поверхности среды. При сомнительных результатах можно проводить аутоинокуляцию гнойного отделяемого язвы, что приводит к образованию новой язвы, из неё легче выделить возбудитель. После 8-го дня заболевания можно провести пробу с внутрикожной инъекцией вакцины *H. ducreyi* (положительна в 9098% случаев). Традиционные лекарственные препараты - сульфаниламиды, пенициллины и аминогликозиды.

Гарднереллы

Бактерии названы в честь американского бактериолога Х. Гарднера. Род *Gardnerella* образован одним видом *G. vaginalis*; систематическое положение рода остаётся неясным. Бактерии ранее относили к роду *Haemophilus*, но независимость от факторов X и V побудили выделить их в отдельный род.

Гарднереллы - мелкие неподвижные коккобациллы размером 0,3-0,6x1-2 мкм. В мазках клетки располагаются одиночно или парами в виде римской цифры «V». Температурный оптимум 35-37 °С; оптимум рН 4,0; предпочтительно культивирование при повышенном содержании CO₂. Гарднереллы прихотливы и требуют наличия в среде витаминов группы В, пуринов и пиримидинов. На средах, содержащих эритроциты человека или кролика, дают (в зависимости от свойств штамма) α- или р-гемолиз. На твёрдых средах через 24-48 ч образуют мелкие (0,1-0,2 мм) круглые выпуклые гомогенные гладкие бесцветные колонии. На средах с кровью колонии окружены зоной гемолиза, при дальнейшем культивировании среда может приобрести шоколадный цвет. В жидких средах дают равномерное помутнение и осадок. Жизнеспособность бактерий низкая, на твёрдых средах погибают через 24-48 ч; в полужидких средах могут существовать 7 сут и более. Гарднереллы ферментируют глюкозу, декстрин, мальтозу, рибозу, фруктозу, галактозу, инулин и арабинозу с образованием кислоты. Бактерии каталаза-отрицательны, образование пероксидаз варьирует. Гарднереллы не образуют H₂S и индол, не разлагают мочевины, реакция Фбгеса-Проскауэра отрицательная, реакция с метиловым красным положительная.

По структуре О-Аг выделяют 7 серогрупп. Общий Аг определяют развёрнутой РА и ИФА. На патогенность гарднерелл влияют многочисленные факторы.

У части женщин присутствие гарднерелл не вызывает дискомфорта. Гарднереллёзный вагинит чаще выявляют у женщин, пользующихся внутриматочными средствами или перенёсших в недавнем прошлом искусственный аборт. Поражения составляют до 40% всех случаев вагинитов. Больные жалуются на зуд и жжение; *основной симптом - выделения с неприятным «рыбным» запахом*. Последний обусловлен образованием аномальных аминов. В запущенных случаях возможны поражения внутренних половых и мочевых путей. Анатомические особенности женского мочеиспускательного канала обуславливают частое его поражение при гарднереллёзном вагините, что приводит к геморрагическому циститу, пиелонефриту или «симптоматической бактериурии». В мочеполовых путях мужчин бактерии долго не сохраняются, что объясняют действием неблагоприятных факторов, препятствующих колонизации. Известные случаи обусловлены ассоциациями бактерий с другими патогенами.

Микробиологическая диагностика

Микробиологическая диагностика основана на выявлении комплекса основных и вспомогательных критериев.

Основные критерии

1. Наличие «ключевых клеток» - эпителиальных клеток, покрытых большим количеством бактерий, в нативных мазках.

2. Наличие аномальных аминов - продуктов симбиоза гарднерелл и влагалищных анаэробов. В лабораторных условиях для определения «рыбного» запаха к выделениям добавляют каплю 10% раствора КОН (соли аномальных аминов превращаются в летучие основания со специфическим запахом).

Вспомогательные критерии

1. Низкий рН выделений (кислая среда) при практически полном отсутствии лактобацилл.
2. Отсутствие лейкоцитоза во влагалищном отделяемом.

Лечение

Практически все штаммы чувствительны к пенициллинам и линкомицину. Для эффективного лечения также часто назначают производные 5-нитроимидазола (метронидазол, тинидазол) внутрь и местно.

ГЛАВА 19. МИКРОАЭРОФИЛЬНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ

Бактерии, о которых идёт речь в этой главе, - представители семейства *Campylobacteriaceae* отдела *Gracilicutes*, включающего споро-необразующие грамотрицательные палочки. Они представлены мелкими подвижными извитыми бактериями. Патогенные для человека виды - капнофилы (требуют для своей жизнедеятельности углекислый газ, необходимая концентрация CO₂ 10-15%) и микроаэрофилы (оптимальная концентрация O₂ 3-15%); в аэробных и анаэробных условиях не растут. В настоящее время в состав семейства *Campylobacteriaceae* входят три рода: *Campylobacter*, *Helicobacter* и *Arcobacter*. Последний образован видами, ранее относимыми к кампилобактерам (*A. cryaerophilus*, *A. nitrofigilis* и *A. butzleri*). Поражения у человека вызывают кампило- и хеликобактеры.

КАМПИЛОБАКТЕРИИ

Кампилобактеры - спиральные бактерии (могут иметь один и более витков); нередко изогнуты S-образно или это в виде «крыла чайки». Средние размеры - 0,5-5х0,2-0,8 мкм. При культивировании более 48-72 ч образуют кокковидные формы. *Подвижны, характеризуются быстрыми, винтообразными движениями.* Подвижность обеспечивается жгутиком, расположенным на одном или двух полюсах. Грамотрицательны, но водные и спиртовые растворы анилиновых красителей воспринимают с трудом; для идентификации бактерии обычно окрашивают карболовым фуксином *Пиля* (рис. 19-1). Впервые кампилобактеры были выделены в начале XX в. как возбудители инфекционных абортос крупного рогатого скота, овец и свиней. Виды, патогенные для человека, и вызываемые ими поражения, представлены в табл. 19-1.

Эпидемиология. Основная форма поражения у человека - кампилобактериозы, протекающие в виде острых гастроэнтеритов. Основной возбудитель - бактерии группы *C. jejuni*. Кампилобактериальные гастроэнтериты выявляют повсеместно. Нередко они связаны с выездом в другие страны (основной этиологический фактор «диарей путешественников»). Источник инфекции - животные, от которых возбудители попадают в организм человека через инфицированные продукты и воду.

Группа *C. jejuni*

Бактерии группы *C. jejuni* (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) отличает относительная термофильность. Оптимальная температура 42 °С; оптимальный рН 7,0-7,2, оптимальная газовая среда - смесь из 5% O₂, 85% N₂ и 10% CO₂. Бактерии *требовательны к составу питательных сред*. Обязательное условие - наличие в среде 7-10% эритроцитов и антибиотиков (ванкомицин, амфотерицин В), подавляющих рост сопутствующей флоры. Основой среды может быть агар для выращивания бруцелл или агар на основе тиогликолевой среды (среда Б²цлера). На твёрдых средах образуют колонии двух типов плоские влажные слизистые «расползающиеся» колонии сероватого цвета с неровными краями (рис. 30вклейки), либо мелкие дискретные блестящие выпуклые колонии размером до 1-2 мм. В жидких средах дают гомогенное помутнение и осадок.

Биохимические свойства. Бактерии группы *C. jejuni* (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) оксида-заположительны, инертны к углеводам. Кислых или нейтральных конечных продуктов не образуют. Большинство видов восстанавливает нитраты, образует сероводород, молоко не сворачивает, не проявляет гемолитической активности. Для роста бактерии не требуют сыворотки, энергию они получают от аминокислот или промежуточных продуктов цикла Кребса. Реакции Фбгеса-Проскауэра и с метиловым красным отрицательные; желатину и мочевины микроорганизмы не гидролизуют; пигментов не образуют.

Антигенная структура. Важнейшие Аг - Н- и О-Аг, а также кислоторастворимые белковые фракции, имеющие ведущее значение в серотипировании.

Факторы патогенности. Жгутики обуславливают подвижность кампилобактеров в слизи и способность к перемещению вдоль эпителия (жизнеспособность в слизи сохраняется более 30 мин). Поверхностные специфические адгезины обеспечивают способность колонизировать слизистую кишечника. Бактерии образуют термолабильный и термостабильный энтеротоксины. По механизму действия термолабильный энтеротоксин напоминает термолабильные диареогенные токсины эшерихий и холерного вибриона, повышая уровень внутриклеточного цАМФ (см. главу 18). Термостабильный энтеротоксин (эндотоксин) высвобождается после гибели кампилобактеров; проявляет все свойства эндотоксинов грамотрицательных бактерий. Вызывает гибель мышей после введения живых или убитых микроорганизмов.

Патогенез поражений обусловлен высокой адгезивной и инвазивной способностью кампилобактеров. Кампилобактеры резистентны к действию жёлчи и быстро колонизируют верхние отделы тонкой кишки. Легко проникают через мембрану эпителиальных клеток и межклеточные пространства. Колонизация кишечника приводит к развитию воспалительных изменений, отёка и гиперплазии слизистой оболочки, появлению эрозий, образующих при слиянии крупные изъязвления. Группу повышенного риска составляют дети (особенно до 2 лет), пожилые, страдающие сопутствующими заболеваниями, пациенты с иммунодефицитами, а также лица, получающие глюкокортикостероиды и цитостатики.

Клинические проявления. Основное проявление - гастроэнтерит; продолжительность инкубационного периода 2-5 сут. У значительной части больных наблюдают симптомы острого колита. Ректороманоскопией выявляют изменения слизистой оболочки толстого кишечника от отёка и гиперемии до выраженного её разрыхления. У гомосексуалистов нередки случаи кампилобактериозного проктита. В особо тяжёлых случаях развиваются признаки дегидратации и сильные боли в животе, имитирующие острый перитонит. В редких случаях наблюдают симптомы менингизма, а иногда - настоящий менингит, наиболее часто вызываемый *C. jejuni*. Характерное осложнение - реактивный (аутоиммунный) артрит, обычно развивающийся через 1-2 нед после начала заболевания. В последние годы появились сообщения о связи *C. jejuni* с развитием синдрома Гийена-Барре - острого первичного идиопатического полирадикулоневрита; предположительно, аутоиммунные реакции, направленные против нейронов моторных ганглиев, обусловлены перекрёстным реагированием с олигосахаридами ЛПС кампилобактеров.

Принципы микробиологической диагностики включают бактериоскопические, бактериологические и серологические методы. Материалы для исследований - испражнение, кровь, вода, молоко и различные пищевые продукты.

- Микроскопическое исследование тонкого мазка, окрашенного 1% раствором фуксина в течение 10-30 с, позволяет быстро обнаружить спиралевидные или S-образные бактерии. Типичные формы чаще обнаруживают при окраске кристаллическим фиолетовым. Также можно применять фазово-контрастную микроскопию суспензии испражнений в жидкой среде.

- *Кампилобактеры плохо переносят транспортировку* - их следует помещать в консервант, например тиогликолевый бульон (рН 8,5) или щелочную пептонную воду, и хранить при температуре 4 °С. Материал засевают на селективные питательные среды (например, среду Бутцле-ра). Можно пропускать материал через мембранный фильтр (диаметр пор 0,65 мкм) - подвижные кампилобактеры быстро проходят через фильтр. *Основное достоинство этого метода - возможность посева фильтрата на неселективные среды* (например, КА или ША). Основные дифференциальные признаки бактерий представлены в табл. 19-2. Для дифференцирования *S. jejuni* и *S. coli* применяют экспресс-тест с гиппуратом (свежевыделенные штаммы *S. jejuni* всегда дают положительную реакцию в отличие от *S. coli*). Для дифференцирования *S. jejuni* и *S. lari* можно применять тест чувствительности к налидиксовой кислоте (*S. jejuni* - чувствителен, *S. lari* - резистентен).

- Для идентификации Ag бактерий применяют РА с обработанной формалином культурой (через 10 сут после инфицирования титр АТ составляет 1:8-1:32) или РСК (видоспецифическая реакция, требующая соответствующего Ag). В России разработаны диагностикумы для выявления АТ в реакции РНГА, применяемые для распознавания кампилобактериозов животных и человека. За рубежом разработаны коммерческие реагенты для выявления АТ в РИФ или реакции иммунной сорбции АТ, меченных ферментами.

Лечение. В большинстве случаев заболевание заканчивается спонтанным излечением и необходимость в химиотерапии отсутствует. К моменту установления диагноза большинство больных находится в стадии выздоровления. Применять антибиотики (цефалоспорины, макролиды, тетрациклины) следует лишь в тяжёлых случаях и при угрозе развития серьёзных осложнений.

S. fetus подвид *fetus*

S. fetus подвид *fetus* впервые выделил Ж. Венсан (1947) от беременных женщин, госпитализированных по поводу лихорадки неясного генеза (это обусловило название микроорганизма). У части пациенток инфицирование приводило к выкидышам. Механизмы инфицирования остаются плохо изученными; доказана возможность заражения при контактах с животными, употреблении загрязнённых воды и пищи. В 30% случаев подобные факторы исключены и, возможно, инфекция происходит из эндогенного источника. Клиническая картина поражений вариабельна: пиогенные менингиты и менингоэнцефалиты, самопроизвольные аборт, эндокардиты, тромбофлебиты, артриты и др. Выделение возбудителя проводят способами, описанными выше. Культуральные характеристики аналогичны таковым у других кампилобактеров.

ХЕЛИКОБАКТЕРЫ

Первые штаммы так называемых «желудочных кампилобактеров» были выделены в Австралии (1982). Дальнейшие исследования, проведённые во многих странах, подтвердили роль этих бактерий в патогенезе рецидивирующих поражений желудка и двенадцатиперстной кишки. Совершенствование методов изучения кампилобактеров показало необоснованность систематического положения «желудочных» кампилобактеров, и они были выделены в отдельный

род - *Helicobacter*, включающий *H. pylori*, *H. fennelliae*, *H. cinaedi* и *H. mustelae*. Первые три вида способны вызывать поражения у человека.

Морфология. Хеликобактеры - короткие, S-образно изогнутые бактерии. Средние размеры - 2,5-4x0,5 мкм; подвижны (лофотрихи); жгутиков обычно 4-5, они часто покрыты чех-ликами и имеют колбовидные утолщения на концах.

Культуральные свойства. Оптимальная температура 37 °С. Наиболее оптимальные среды - КА и ША. Некоторые штаммы проявляют гемолитическую активность (α-гемолиз). На твёрдых средах через 48-72 ч образуют мелкие (около 1 мм) прозрачные блестящие колонии, содержащие бактерии с характерной морфологией; по мере старения в колониях начинают преобладать кокковидные формы. В жидких средах образуют поверхностную голубовато-серую плёнку и незначительное помутнение среды.

Биохимические свойства. Хеликобактеры оксидаза- и каталаза-положительны; проявляют уреазную, транспептидазную и фосфатазную активности; образуют сероводород; не восстанавливают нитраты; не свёртывают молоко; не ферментируют глюкозу.

Антигенная структура. У хеликобактеров выделены O-, H- и поверхностные белковые Ag, определяющие типоспецифичность.

Патогенез поражений. У пациентов с острыми гастритами или обострениями хронической патологии бактерии локализуются в участках воспаления, обычно в антральной части. Проникая через слизь, хеликобактеры прикрепляются к эпителиальным клеткам (чаще в области межклеточных пространств), проникают в железы слизистой оболочки. Активность бактерий приводит к разрушению слизи и обуславливает контакт желудочного сока непосредственно с эпителием органа. Ag микроорганизмов (в первую очередь ЛПС) способствуют миграции нейтрофилов и развитию острого воспаления. Локализация *H. pylori* в области межклеточных пространств обусловлена хемотаксисом к местам выхода мочевины и гемина, образующихся из разрушающегося в микроциркуляторном русле гемоглобина эритроцитов. Под действием бактериальной уреазы мочевины превращается в аммиак, повреждающий слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки.

Клинические проявления не отличаются от обычных симптомов гастродуоденитов; ни один из симптомов не патогномичен для хеликобактериоза. Обычно пациенты обращаются к врачу по поводу упорных болей в области эпигастрия. Последние купируются антибактериальными препаратами, например метронидазолом и фуразолидоном. Приём традиционных препаратов обычно не оказывает выраженного эффекта, а после их отмены развиваются рецидивы заболевания. *H. fennelliae* и *H. cinaedi* вызывают проктиты, проктоколиты у гомосексуалистов; в редких случаях бактерии выделяют из испражнений при гастроэнтеритах.

Лабораторная диагностика. Основу составляет бактериоскопический и бактериологический методы. Материалы для исследований - биоптаты слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки. Бактерии распознают по типичным морфологическим особенностям. Для выявления возбудителя обычно применяют фазово-контрастную микроскопию, определяющую характерную подвижность. Хеликобактеры хорошо видны в гистологических препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином или импрегнированных серебром по Убртину-Старри. Хорошие результаты даёт люминесцентная микроскопия мазков, окрашенных акридиновым оранжевым. В последние годы широко распространены методы косвенного обнаружения *H. pylori* в биоптатах; чаще всего используют определение уреазной активности (кло-тест). Для получения чистых культур применяют кровяные среды (5-17% эритроцитов), дополненные антибиотиками (наиболее пригоден цефсулодин). На 5-7-е сутки культивирования при температуре 37 °С наблюдают видимый рост. Принадлежность культур к хеликобактерам определяют по характерной морфологии микроорганизмов и колоний; «винтообразной» подвижности; способности к росту в

микроаэрофильных условиях и отсутствию роста в аэробных и анаэробных условиях и при температуре 25 °С и 42 °С. Из биохимических свойств наиболее часто определяют оксидазную, каталазную и уреазную активности. В настоящее время разработана тест-система для иммуноферментного определения Ag хеликобактеров в биоптатах, а также в сыворотке в РСК.

ГЛАВА 20. ПРИХОТЛИВЫЕ АЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ И КОККОБАКТЕРИИ

Рассматриваемые в данной главе бактерии родов *Francisella*, *Brucella*, *Bordetella*, *Legionella* представляют достаточно гетерогенную группу микробов. Основные признаки, служащие основой для их объединения, - потребность в определённых факторах, необходимых для роста, и прихотливость к условиям культивирования (необходимость в применении специальных сред, создание специальных условий *in vitro* либо удлинённое время культивирования).

ФРАНЦИСЕЛЛЫ

Франциселлы - мелкие кокковидные плеоморфные палочки. Род *Francisella* относят к порядку *Gracillicutes*. Распространены во многих пресноводных водоёмах; могут паразитировать у человека, млекопитающих, птиц и членистоногих. Бактерии названы в честь американского бактериолога Э. Фрэнсиса, подробно изучившего *F. tularensis*, вызывающего туляремию у человека. Впервые бактерии выделили Г. Мак-Кбй и Ш. Чёпин (1911) в районе озера Туляре (штат Калифорния).

Возбудитель туляремии

Эпидемиология. *F. tularensis* выделена у многих диких и домашних животных, а также птиц, рыб и земноводных. Основные источники заражения человека - обыкновенные полёвки, домовые мыши, водяные крысы, ондатры, а также зайцы. Переносчики инфекции - кровососущие членистоногие: иксодовые и гамазовые клещи, блохи, слепни (оленьи мухи), комары, москиты. Человек заражается от больных животных, кровососущих членистоногих и объектов окружающей среды. Пути заражения: *контактный* (через кожу и слизистую оболочку глаз), *трансмиссивный* (при укусе переносчика), *алиментарный* (через ЖКТ), *аспирационный* (через дыхательные пути).

Морфология и тинкториальные свойства. *F. tularensis* - мелкие (0,1-0,5 мкм) неподвижные капсулированные полиморфные палочки. В мазках из культур доминируют кокковидные формы, в мазках из органов - коккобактерии. Слабо воспринимают анилиновые красители и окрашиваются бледнее, чем другие грамотрицательные бактерии. Бактерии размножаются почкованием.

Культуральные свойства. Франциселлы - строгие аэробы; оптимальная температура 36-37 °С. Бактерии требовательны к составу питательных сред; для их культивирования применяют сложные среды с добавлением экстрактов тканей, крови и антибиотиков, подавляющих рост других микроорганизмов. На твёрдых средах образуют очень мелкие колонии в виде капелек беловатого цвета с голубоватым оттенком. Колонии вирулентных штаммов по морфологии и биологическим свойствам соответствуют S-диссоциатам. В жидких средах размножаются хуже и только у поверхности среды, что связано с аэрофильностью бактерий.

Биохимические свойства. Франциселлы ферментируют углеводы с образованием кислоты, регистрируемым снижением pH. Каталазаположительны; индол не образуют, восстанавливают (обесцвечивают) красители - метиленовый синий, малахитовый зелёный и др. В соответствии с распространённостью и биохимическими особенностями выделяют следующие подвиды.

• Подвид *tularensis*. Ферментирует глицерин, содержит цитруллинуреидазу. Тип распространён в Северной Америке; *высоко патогенен для человека*.

- Подвид *holarctica*. Не ферментирует глицерин, не содержит цитруллинуреидазу. Возбудитель регистрируют в Европе и Азии. Умеренно патогенен для домашних кроликов и человека. Вариант *japonica* выделяют в Японии; бактерии ферментирует глицерин.

- Подвид *mediasiatica* вызывает заболевания в Средней Азии в дельтах рек Или и Аму-Дарьи. Бактерии ферментирует глицерин. Содержат цитруллинуреидазу. Умеренно патогенны для домашних кроликов и человека.

Патогенез поражений. После проникновения в организм возбудитель распространяется с током лимфы. Фагоциты активно поглощают *F. tularensis*, но не способны к их внутриклеточному уничтожению, что создаёт предпосылки для депонирования бактерий в лимфатических узлах. Часть возбудителей погибает, что сопровождается выделением эндотоксина, действующего на лимфатический узел и окружающие ткани. Таким образом, вслед за стадией лимфогенного заноса развивается стадия очаговых реакций и формируются туляремийные бубоны. Последние разделяют на первичные (возникают метастатически лимфогенно и связаны с местом входных ворот) и вторичные (связаны со вторичным заносом из первичного бубона), а также на бубоны первого порядка, второго и т.д., учитывая время их появления. Периодически из сформированных очагов возбудитель проникает в лимфо- и кровотоки, что сопровождается выделением новых порций эндотоксина и сенсибилизацией организма. Прорывы бактерий в кровотоки могут приводить к метастазированию в печень, селезёнку, лёгкие, костный мозг и другие органы, что обуславливает вторичные поражения (например, вторичную пневмонию, менингит и т.д.). Выделяют четыре основные клинические формы туляремии, обусловленные локализацией инфекционного очага: бубонную, лёгочную, генерализованную, желудочно-кишечную. Важно помнить, что любая форма туляремии - заболевание всего организма со специфической эндотоксинеми-ей и реактивными проявлениями со стороны различных органов и тканей. В неосложнённых случаях заболевание завершают обратный метаморфоз поражённых лимфатических узлов и выздоровление больного. После выздоровления развивается стойкий, пожизненный иммунитет.

Принципы микробиологической диагностики. Наиболее достоверные результаты даёт выделение *F. tularensis*. Материал для исследований: пунктат из бубонов, отделяемое конъюнктивы, мокрота, слизь из зева, кровь, испражнения, ткани погибших грызунов). *Работа с возбудителем сопряжена с угрозой заражения персонала и разрешена только в лабораториях особо опасных инфекций.* Как правило, выделить возбудитель из клинического материала невозможно. Для этого прибегают к биопробе на мышах или морских свинках, подкожно заражая их исследуемым материалом. Затем проводят посев крови и тканей животных для выделения чистой культуры и изучения её морфологических, биохимических и антигенных свойств. Для окончательной идентификации проводят заражение чистой культурой белых мышей. Для экспресс-диагностики Аг возбудителя в мазках применяют РИФ. АТ к *F. tularensis* в сыворотке больного определяют в РА с туляремийным антигеном; положительной считают видимую глазом реакцию при разведении сыворотки 1:100 и больше (положительные результаты на первой неделе выявляют у 12,5% больных, на четвёртой - у 93,2%). Для ранней диагностики эффективна кожная аллергическая проба. В качестве Аг применяют тулярин - взвесь бактерий, убитых нагреванием до 70 °С. Препарат вводят внутрикожно в объёме 0,1 мл (100 млн микробных тел), учёт проводят через 24-48-72 ч. Следует помнить, что проба остаётся положительной и у лиц, переболевших туляремией.

Лечение. *F. tularensis* - факультативный внутриклеточный паразит, что снижает эффективность антибактериальных средств. Препараты выбора - аминогликозиды, тетрациклины и левомицетин.

Профилактика затруднена вследствие широкого распространения *Francisella tularensis* в природе. Мероприятия направлены на оздоровление природных очагов инфекции (уничтожение

грызунов, клещей и т.д.), обеспечение санитарного состояния источников воды, складов продовольствия и т.д., а также санитарно-просветительную работу среди населения. Население эндемичных районов и сотрудников специализированных лабораторий иммунизируют живой ослабленной вакциной.

БРУЦЕЛЛЫ

Бруцеллы - факультативные внутриклеточные паразиты. Род *Brucella* включён в семейство *Brucellaceae* отдела *Gracilicutes*. Представлены неподвижными мелкими (0,5-0,7x0,6-1,5 мкм) палочками или коккобациллами. Бруцеллы названы в честь английского бактериолога Д. Брюса, выделившего бактерии из организма погибшего человека (*B. melitensis*) в 1887 г. Позднее было установлено, что патогенными для человека свойствами обладают также *B. abortus* (палочка Банга), *B. suis*, *B. canis* и их биовары. У чувствительных животных и человека вызывают бруцеллёз. У животных заболевание проявляется инфекционными абортами, у человека - длительно протекающими инфекционными поражениями опорно-двигательной системы, нервной и половой системы.

Эпидемиология. Бруцеллёз - зоонозная инфекция. Резервуар и источник инфекции - домашние животные (овцы, козы, коровы, свиньи, реже собаки). Человек - вторичный хозяин; заболевания людей (исключая случаи лабораторного заражения) возникают на фоне эпизоотий. От животного к животным и человеку бактерии передаются через заражённые фекалии, мочу, молоко и мясо. Как правило, каждый из патогенных для человека видов бруцелл избирательно инфицирует специфических животных. *B. abortus* чаще вызывает бруцеллёз крупного рогатого скота (болезнь Банга), *B. melitensis* - коз и овец (иногда кур), *B. suis* - свиней. В РФ заболеваемость людей бруцеллёзом носит профессиональный характер; основные возбудители - *B. melitensis* и *B. abortus*. Возбудитель внедряется в организм человека через повреждённую кожу, слизистую оболочку дыхательных путей и ЖКТ, конъюнктиву. Контактный путь заражения более характерен для овечьего и свиного бруцеллёза. Бруцеллы устойчивы во внешней среде. При 10-13 °С они сохраняются в воде и влажной почве до 5 мес, в молоке - до 9 мес, в сыре - до года. При 70 °С они погибают в течение 10 мин, при кипячении - практически мгновенно. Бактерии чувствительны к дезинфектантам.

Морфология и культуральные свойства. Бруцеллы отличаются выраженным полиморфизмом: в одном препарате (особенно в молодых культурах) наблюдают кокки и удлинённые палочки. Клетки *B. melitensis* чаще представлены кокковидными формами, *B. abortus* и *B. suis* - палочками с закруглёнными концами (рис. 20-1); бруцеллы в мазках располагаются беспорядочно, нередко в виде скоплений. Легко окрашиваются анилиновыми красителями. Хемоорганотрофы, каталаза- и оксидаза-положительны (кроме *B. ovis* и *B. neotomae*). Бруцеллы - строгие аэробы. Температурный оптимум 37 °С; оптимальный рН 6,6-7,4. Они требовательны к питательным средам. Посевы обычно проводят на 5% КА (с кровью барана) или печёночный агар Хаддльсона. На твёрдых средах бруцеллы образуют мелкие выпуклые гладкие мутноватые, с перламутровым оттенком S-колонии. В процессе диссоциации они формируют шероховатые R-колонии. В жидких средах дают равномерное помутнение.

Биохимические свойства. Ферментируют глюкозу и арабинозу с образованием кислоты. Восстанавливают нитраты; цитрат не утилизируют; индол не образуют; реакции с метиловым красным и Фбгеса-Проскауэра отрицательные, образуют сероводород.

Антигенная структура. У бруцелл определяют до 15 антигенных фракций; выделяют родовой Ag и видовые поверхностные M- (доминируют у *B. melitensis*), A- (преобладают у *B. abortus* и *B. suis*) и R- (у шероховатых форм) Ag. Для их идентификации применяют соответствующие антисыворотки. Третий поверхностный Ag - термолабильный L-Ag, имеющий сходство с Vi-Ag сальмонелл.

Патогенез поражений. Из первоначальных ворот бруцеллы распространяются по лимфо-току и депонируются в лимфатических узлах. В первые 5-10 сут бактерии размножаются в макрофагах регионарных лимфатических узлов (миндалины, заглочные, подчелюстные, язычные, шейные узлы, лимфоидная ткань подвздошно-слепкишечного отдела кишечника). *Бруцеллы способны переживать внутри фагоцитов, выделяя низкомолекулярные факторы, ингибирующие слияние фагосом с лизосомами.* Внутри фагоцитов бруцеллы могут формировать в L-формы и длительно персистировать, что приводит к появлению гранулём. Обратный переход в исходные формы обуславливает рецидив болезни. Из разрушенных макрофагов бруцеллы попадают в кровоток и диссеминируют в печень, селезёнку, почки, костный мозг и эндокард. В поражённых органах находят очаги некроза, окружённые инфильтратами. В дальнейшем бактерии могут попадать в молочные железы человека и появиться в грудном молоке. Инфицирование плаценты и тканей плода животных приводит к абортam, однако при бруцеллёзе беременных женщин спонтанные аборты регистрируют не чаще, чем у здоровых. Такое различие обусловлено наличием в плаценте животных ускоряющего рост бруцелл эритрола.

Клинические проявления. Продолжительность инкубационного периода 1-6 нед. Выделяют пять клинических форм бруцеллёза: первично-латентную, остросептическую, первично-хроническую метастатическую, вторично-хроническую метастатическую и вторично-латентную. *Среди поражений доминируют нарушения функций опорно-двигательного аппарата, нервной и половой систем.* Наиболее характерны полиартриты, полиневриты, орхиты и эпидидимиты. При аэрогенном заражении часто развиваются вялотекущие пневмонии. Практически все формы сопровождаются генерализованной лимфаденопатией, увеличением печени и селезёнки.

Принципы микробиологической диагностики. Включают бактериологические, серологические и аллергологические методы. Материал для исследований: кровь, моча, грудное молоко, аспираты костного мозга и биопсийный материал печени. Принимая во внимание системный характер поражений, в первую очередь исследуют кровь. Образцы культивируют в МПБ при 37 °С. При проведении исследования засевают два флакона и в одном создают повышенную концентрацию CO₂. Через 4-5 сут в этом флаконе наблюдают рост бруцелл; среда может оставаться слегка мутной или прозрачной. После пересева на твёрдые среды отмечают характерный рост колоний, из которых отсеивают чистые культуры с последующими идентификацией видовых свойств. При сильном загрязнении материала им заражают морских свинок и от них выделяют чистую культуру.

- Поскольку биохимические и культуральные свойства варьируют внутри одного вида, то у *B. melitensis* выделяют 3 биовара, у *B. abortus* - 9, а у *B. suis* - 5. Для их дифференцировки используют потребность первых генераций в CO₂, способность к образованию H₂S, чувствительность к бактерицидному действию красителей основного фуксина и тионина, фаголиза-бельность, а также агглютинабельность моноспецифическими антисыворотками.

- Для выявления Ag бруцелл применяют РПГА с эрит-роцитарным диагностикумом с АТ к родовому Ag, а также реакцию агрегат-агглютинации, РП и ИФА.

- Для выявления АТ в сыворотке крови применяют РА Райта, реакцию Кумбса (на неполные АТ), РНИФ, РПГА, РСК, ИФА и др. Для быстрого обнаружения АТ применяют реакцию агглютинации Хаддльсона на стекле, латекс-агглютинации, тест с бенгальским розовым и др.

- При отрицательных результатах бактериологических и серологических исследований ставят кожные аллергические пробы (проба Бюрнё), обычно положительные у 70-85% пациентов к концу 1 заболевания. Аллергеном служит бруцеллин белковый экстракт культуры. *Реакция положительна и у вакцинированных лиц.*

- Для выявления возбудителя в молоке широко применяется кольцевая проба Банга (рис. 20-2).

Лечение и профилактика. Препараты выбора - тетрациклины и аминогликозиды (стрептомицин); в тяжёлых и упорных случаях назначают рифампицин. Предупреждению бруцеллёза способствует элементарное соблюдение правил личной гигиены и режима обработки сельскохозяйственной продукции. Заболеваемость человека определяется эффективностью профилактики бруцеллёза среди животных. В эндемичных очагах козье-овечьего бруцеллёза применяют живую вакцину из штамма *B. abortus*. Проводят однократную накожную иммунизацию. При отрицательной кожной пробе и отсутствии выработки АТ проводят ревакцинацию. *Вакцина реактогенна*. Также предложена химическая вакцина из Аг клеточной стенки. Все доступные вакцины не обеспечивают 100-процентного защитного эффекта. Способность взвеси убитых бруцелл (лечебная вакцина) или ХБВ стимулировать клеточные иммунные реакции используют при лечении хронических поражений.

БОРДЕТЕЛЛЫ

Род *Bordetella* семейства *Brucellaceae* отдела *Gracilicutes* образован мелкими (0,2-0,3x0,5-1,0 мкм) коккобациллами; включает подвижные и неподвижные виды. Бактерии названы в честь бельгийского бактериолога Ж. Бордё, выделившего возбудителя коклюша. Бордетеллы паразитируют на слизистых оболочках воздухоносных путей.

Возбудитель коклюша

Коклюш - острое инфекционное заболевание, сопровождающееся воспалением гортани, трахеи и бронхов. Возбудитель - *B. pertussis*; впервые выделен Ж. Бордё и О. Жангу (1906).

Эпидемиология. *B. pertussis* (палочка Борде-Жангу) *патогенна только для человека; передаётся воздушно-капельным путём. Резервуар инфекции - больные типичной или стёртой формами*. К возбудителю восприимчивы лица любого возраста, но чаще болеют дети от 1 года до 10 лет. До введения в практику антибиотиков и средств иммунопрофилактики заболевание часто заканчивалось летально, особенно у детей в возрасте до 1 года. Бордетеллы мало устойчивы во внешней среде. Чувствительны к солнечному излучению. При 50-55 °С погибают за 30 мин, при кипячении - мгновенно. В мокроте сохраняются более длительно, при высыхании последней погибают в течение нескольких часов. Очень чувствительны к действию дезинфектантов и антисептиков.

Морфология, тинкториальные и свойства. *B. pertussis* - мелкая овоидная палочка, размеры 0,2-0,5x1,0-1,2 мкм. Неподвижна, образует капсулу. Клетки плохо окрашиваются по Граму, предпочтительно использовать толуидиновый синий, выявляющий биполярные метахроматические гранулы (клеточные липоиды). Коклюшная палочка - строгий аэроб; каталаза-положительна. Углеводы практически не ферментирует, требовательна к питательным средам. Кроме того, росту бактерий препятствуют накапливающиеся в среде жирные кислоты, ингибирующие их рост. Поэтому в культуральные среды вносят адсорбенты - активированный уголь, крахмал, альбумин и др. Наиболее часто используют агар Бордё-Жангу и казеиново-угольный агар (КУА).

- Через 3-5 сут на агаре Бордё-Жангу коклюшная палочка образует небольшие (1 мм в диаметре) сероватые, выпуклые и блестящие колонии, напоминающие капельки ртути или жемчужины, окружённые зоной слабого гемолиза. На КУА колонии блестящие, серовато-кремового цвета (рис. 20-3). *При изменении состава питательной среды или условий культивирования бордетеллы быстро изменяют тип роста и антигенные свойства*. Переход от S-формы (I фаза) к R-форме (IV фаза) происходит через промежуточные II и III фазы и сопровождается изменением набора Аг и потерей вирулентных свойств.

- В жидких средах (20% кровяной бульон) бактерии дают незначительное помутнение, образуют плёнку (иногда со спускающимися вниз отростками типа сталактитов); к 10-14-м суткам культивирования образуют осадок, среда при этом становится прозрачной. Антигенная структура. У возбудителя коклюша выделяют общие (родовые) и специфические (видовые) Аг. Общие Аг опосредуют агглютинацию бактерий гомологичными и гетерологичными антисыворотками.

- Бактерии I фазы. Набор Аг изучен не полностью. У бактерий выделяют специфический О-Аг, содержащийся в микроворсинках (агглютиногены I фазы). Другие Аг *B. pertussis* I фазы - коклюшный токсин и гемагглютинины.

- Бактерии II и III фаз. Основные Аг сохранены, но их количественное содержание изменено.

- Бактерии IV фазы. Характерны утрата О-Аг и отсутствие вирулентных свойств.

Факторы патогенности

- Микроворсинки (пили, фимбрии), покрывающие поверхность клеток возбудителя, обеспечивают адгезию к мерцательному эпителию дыхательных путей. Представлены агглютиногенами I фазы. Кроме того ворсинки обуславливают гемагглютинирующую активность *B. pertussis*. Ворсинки имеют множество антигенных вариантов, некоторые из них вызывают образование защитных АТ; такие Аг - обязательный компонент вакцин.

- Термолабильный экзотоксин (коклюшный токсин) представляет важнейший фактор вирулентности. Подобно холерному токсину он действует на систему цАМФ. Включает два компонента: А (собственно токсин) и Б. Компонент Б взаимодействует с рецепторами эпителия воздухоносных путей, облегчая проникновение компонента А внутрь клеток. Компонент А составляют субъединица А1 (активный центр) и субъединица А2, связывающая оба компонента. Субъединица А1 обуславливает повышение внутриклеточной концентрации цАМФ. К действию токсина также чувствительны фагоциты, у которых он угнетает «дыхательный взрыв» и способность к хемотаксису. Токсин вызывает лимфоцитоз; стимулирует выработку инсулина, активируя р-клетки островков Лангерханса.

- Термостабильный эндотоксин. Проявляет все биологические эффекты, характерные для эндотоксинов грамотрицательных бактерий. Также обладает сенсибилизирующим действием.

- Аденилатциклаза. Вирулентные штаммы I фазы синтезируют аденилатциклазу и выделяют её в окружающую среду. Аденилатциклаза - обязательный компонент коклюшных вакцин.

- Цитотоксин. Вызывает местные повреждения, приводящие к гибели и десквамации мерцательного эпителия трахеи. Образован продуктами муреинового синтеза; механизм действия аналогичен цитотоксину гонококков, вызывающему гибель реснитчатых клеток фаллопиевых труб (см. главу 16).

- Вирулентные штаммы также продуцируют гистамин-сенсибилизирующий фактор, повышающий восприимчивость клеток и тканей к повреждающему действию гистамина.

- Повреждающее действие обуславливают и другие факторы вирулентности - гемагглютинин (обладает цитотоксическим эффектом), гиалуронидаза, плазмокоагулаза и др. Клинические проявления. Введение специфической профилактики коклюшной вакциной

привело к изменениям клинической картины заболевания с преобладанием умеренно выраженных и стёртых форм (до 95% случаев). Продолжительность инкубационного периода составляет 5-7 сут.

- Катаральная стадия длится 1-2 нед; характеризуется умеренно выраженными гриппоподобными симптомами. Кашель слабый, но упорный. *В этот период больной обильно выделяет B. pertussis при кашле.*

- Пароксизмальная стадия может длиться 2-4 нед. У больного возникают повторные приступы спастического кашля до рвоты, цианоза, судорог и остановки дыхания [лат. *pertussis*, сильный кашель]. У детей раннего возраста по завершении приступа часто возникает мучительный инспираторный стрidor (шум при дыхании), вызванный спазмом гортани. Приступы кашля и частая рвота нарушают приём жидкости и пищи, приводя к дегидратации, истощению и угнетению сознания.

- Стадия выздоровления длится до 4-6 нед. Частота и выраженность приступов кашля постепенно снижаются. Иногда тяжёлые приступы провоцируются вдыханием раздражающих веществ и дыма. После выздоровления формируется длительная невосприимчивость к повторному заражению.

Принципы микробиологической диагностики. Включают бактериологические и серологические методы.

Выделение возбудителя. Материал для выделения культуры - слизь из зева и мокрота. Применяют метод «кашлевых пластинок» (подносят чашку со средой ко рту больного во время приступа кашля, избегая контаминации слюной, мокротой и рвотными массами). Также отбирают слизь тампоном из задних отделов полости рта (не прикасаясь к слизистой оболочке щёк, языка и миндалин). Полученный материал необходимо доставить в лабораторию в течение 24 ч, сохраняя температурный режим 10-37 °С. Материал высевают на твёрдые среды. Среди выросших колоний отбирают подозрительные и отсеивают на отдельные чашки.

Идентификация возбудителя. Возбудитель идентифицируют по морфологическим и культуральным признакам, а также в РА со специфическими видовыми неадсорбированными антисыворотками и с адсорбированными монорецепторными сыворотками к агглютининогенам (факторам) 1 и 14. Для выявления возбудителя в культурах или мазках из клинического материала используют антисыворотки, меченные флюоресцеинами. Определение АТ в сыворотке больных РА, РСК или РПГА проводят при невозможности выделить возбудитель, либо при проведении ретроспективных эпидемиологических обследований. Лечение. Введение антибиотиков (ампициллин, аминогликозиды) в катаральной стадии предотвращает дальнейшее развитие патологического процесса. В пароксизмальной стадии антибиотики не оказывают влияния на течение болезни, но эффективны для профилактики вторичных инфекций. Основное внимание уделяют купированию приступов; в тяжёлых случаях назначают средства, стимулирующие работу сердца, и противосудорожные препараты.

Профилактика. Профилактика включает мероприятия, проводимые для предупреждения любых воздушно-капельных инфекций. Больного коклюшем изолируют от коллектива на 25-30 дней с момента заболевания. Карантин сроком на 14 дней устанавливают для детей до 7 лет, бывших в контакте с больными, если они ранее не болели коклюшем. В очаге проводят общие профилактические мероприятия (проветривание, обеззараживание посуды, носовых платков и др.). Для специфической профилактики используют вакцину из убитых бактерий I фазы;

содержащей коклюшный токсин, агглютиногены и Аг капсулы. Обычно её комбинируют с дифтерийным и столбнячным анатоксинами (в составе АКДС-вакцины). Среди детей, заболевших в возрасте до 1 года, зарегистрирован самый высокий показатель смертности. Поэтому вакцинацию проводят в возрасте 3 мес, а ревакцинацию - в 4, 5, 18 мес и при поступлении в школу. Правильно проведённая вакцинация снижает заболеваемость в 7-10 раз.

Прочие патогенные бордетеллы

Заболевания у человека могут вызывать *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica*. *B. parapertussis* вызывает паракоклюш - коклюшеподобное поражение воздухоносных путей у человека. По морфологическим признакам и условиям культивирования напоминает возбудитель коклюша. Другой патогенный вид - *B. bronchiseptica*, выделяемая из носоглотки собак, кошек и кроликов, у молодняка которых вызывает бронхосептикоз, по клинической картине напоминающий коклюш. В редких случаях вызывает респираторные инфекции (по типу ОРВИ) у человека. *B. bronchiseptica* менее требовательна к составу питательных сред и может расти на КА. На среде Борде-Жангу и КУА колонии этих двух видов бактерий появляются быстрее колоний коклюшной палочки (*B. bronchiseptica* за 18-24 ч, *B. parapertussis* за 24-48 ч). Внешне колонии бордетелл похожи, *B. bronchiseptica* может образовывать плоские колонии с приподнятым центром (рис. 20-4). На средах, содержащих кровь, *B. bronchiseptica* иногда образуют зоны слабого гемолиза. При обильном росте *B. parapertussis* наблюдают диффузное окрашивание КУА в буровато-коричневый цвет, а также потемнение сред с кровью (за счёт активности тирозиназы). Дифференцировку видов обычно проводят в РА со специфическими антисыворотками.

ЛЕГИОНЕЛЛЫ

Интерес к этим микроорганизмам возник в связи со вспышкой неизвестной инфекции в Филадельфии во время съезда ветеранской организации Американский Легион (1976). Всего заболел 221 человек, а скончалось - 34 человека. Заболевание получило название «болезнь легионеров». В 1977 г. Дж. Мак-Дейд и С. Шепард выделили неизвестную грамтрицательную палочку, которая в классификации была отнесена к новому роду *Legionella* и семейству *Legionellaceae* в отделе *Gracilicutes*. В дальнейшем была установлена роль легионелл в многочисленных эпидемических и эндемических вспышках в различных регионах, включая РФ. Среди бактерий этого рода выделены новые виды, патогенные для человека; вызываемые ими поражения были объединены под общим названием «легионеллёзы».

Эпидемиология. Легионеллы распространены повсеместно. В США ежегодно регистрируют не менее 25 000 случаев легионеллёзов. В РФ заболевание носит спорадический характер, однако уже есть сведения о более 100 случаях; первый случай описал С.В. Прозорбвский (1980). Легионелл часто выделяют из воздуха, влажной почвы и водоёмов, где они обитают в ассоциации с сине-зелёными водорослями, а также внутри водорослей и свободноживущих простейших. В хлорированной питьевой воде сохраняются более 1 года. *Основной механизм заражения - аэрогенный*. Опасность представляют устройства централизованного водного кондиционирования воздуха, поскольку бактерии быстро размножаются в тёплой воде. Эпидемическую опасность представляют также оросительные системы, дождевые установки, земляные работы, связанные с прокладкой или ремонтом канализационных труб.

Морфология. Легионеллы - тонкие подвижные палочки диаметром 0,5-0,7 мкм и длиной 2-3 мкм, часто с заострёнными концами. Капсулы не образуют. Микроорганизмы иногда могут окрашиваться грамположительно, но клеточная стенка имеет все признаки грамотрицательных бактерий.

Культуральные свойства. Бактерии хорошо растут в аэробных условиях; для роста нуждаются в обогащённых средах, включающих адсорбенты для поглощения метаболитов. Оптимальная температура 35 °С, оптимальный рН 6,9 (бактерии очень чувствительны к

изменению кислотности среды). На твёрдых средах через 3-5 сут образуют серые стекловидные колонии с ровными краями 3-4 мм в диаметре. В жидких средах обычно не растут. Легионеллы можно выращивать в культурах амёб и на куриных эмбрионах.

Биохимические свойства. Легионеллы оксидаза- и каталазаположительны, гидролизуют гиппурат натрия и желатину; из углеводов ферментируют только крахмал, не восстанавливают нитраты и не разлагают мочевины.

Антигенная структура. У легионелл выделяют тип- и группоспецифические Ag (известно 47 серогрупп), выявляемые с помощью антисывороток, меченных флюоресцеинами.

Факторы патогенности. Легионеллы - факультативные внутриклеточные паразиты; факторы патогенности позволяют выживать и размножаться внутри макрофагов (в нейтрофилах не размножаются). Взаимодействию легионелл с фагоцитами способствуют поверхностные бактериальные адгезины, обуславливающие быстрое проникновение бактерий в цитоплазму макрофага. Внутриклеточное выживание обуславливают следующие механизмы.

- Токсический пептид, выделяемый бактериями, ингибирует «дыхательный взрыв».
- Каталаза инактивирует токсические метаболиты кислорода, образующиеся при активации фагоцитов.
- Факторы неизвестной природы блокируют фагосомолизосомальное слияние, ингибируют электронный транспорт, обуславливающий повышение кислотности содержимого лизосом (то есть снижение pH).
- Термолабильные экзотоксины (цитотоксины и гемолизины) и эндотоксин синтезируются бактериями. Экзотоксины определяют развитие синдрома интоксикации и характер поражений лёгких. Термостабильный эндотоксин проявляет все свойства эндотоксинов грамотрицательных бактерий.

Патогенез поражений. Для легионеллёзов характерны поражения лёгких с вовлечением в процесс зон газообмена (альвеол). Инфицированные альвеолярные макрофаги выделяют цитокины, стимулирующие воспалительную реакцию. Основные поражения локализуются в межальвеолярных пространствах и плевре, бронхиальное дерево в патологический процесс обычно не вовлекается. В паренхиме формируются многочисленные абсцессы, некоторые из которых вскрываются с образованием каверн. В дальнейшем возбудитель может диссеминировать с кровотоком в различные органы и ткани.

Клинические проявления. Различают следующие клинические формы легионеллёза: болезнь легионеров (тяжёлая пневмония); понтакская лихорадка (лихорадка, интоксикация, но без признаков пневмонии); лихорадка Форта Брэгг (лихорадка, экзантема); другие формы (например, внутрибольничная болезнь легионеров). *Наиболее характерное проявление легионеллёза - болезнь легионеров.*

Болезнь легионеров - наиболее распространённая клиническая форма легионеллёза, протекающая в виде тяжёлой токсической пневмонии, вызываемой *L. pneumophila*. Продолжительность инкубационного периода 2-10 сут. Обычно развиваются одно- и двусторонние очаговые или долевые пневмонии, реже - интерстициальные пневмонии или острый альвеолит. В дальнейшем у пациентов наблюдают атаксию (нарушение координации движений), психические расстройства (бред, галлюцинации и др.). У 50% больных отмечают рвоту, диарею и боли в животе; у трети больных возможны транзиторные поражения печени. В тяжёлых случаях развивается прогрессирующая дыхательная недостаточность и шок с развитием остановки сердца. Смертность в среднем составляет 15%, во время вспышек может достигать 60%.

Внутрибольничная болезнь легионеров. Характерны непрерывные внутрибольничные вспышки с постоянным источником заражения. Заболеваемость обычно низкая, но летальность среди заболевших высокая. Наиболее частый возбудитель - *L. micdadei*. Типичные проявления: одно- и двусторонние пневмонии с плевральным выпотом, сердечная и почечная недостаточность. Заболевание тяжелее протекает у пациентов с сопутствующей патологией и у получающих цитостатики.

Принципы микробиологической диагностики. Включают бактериологические и серологические методы. Выделение возбудителя из клинического материала (мокрота, кровь) практически невозможно. Чаще возбудитель обнаруживают в биоптатах или трупном материале (лёгкие, печень, селезёнка). *Материал нельзя помещать в транспортные среды, буферные и физиологический растворы; посев следует проводить не позднее 1 ч после получения образца.* При вероятной контаминации образца сопутствующей микрофлорой проводят посев на угольно-дрожжевой агар с L-цистеином, пиродифосфатом железа, полимиксином В и ванкомицином. Можно произвести заражение морских свинок, а выделенные бактерии в дальнейшем культивировать на куриных эмбрионах. Внутривидовая дифференцировка основана на способности легионелл флюоресцировать под действием длинноволнового (360 нм) УФ-излучения. Для экспресс-диагностики в исследуемых образцах Ag легионелл определяют гибридизацией ДНК; проводят микроскопию импрегнированных серебром мазков, люминесцентную микроскопию либо выявляют растворимые Ag легионелл в моче. Обнаружение АТ в сыворотке больных методами РПГА, РСК или ИФА представляет интерес для эпидемиологических целей, поскольку значимые титры АТ появляются лишь на 2-3-й неделе заболевания.

Лечение. Большинство штаммов *L. pneumophila* продуцирует р-лактамазы. Препараты выбора - макролиды; реже применяют рифампицин, аминогликозиды и фторхинолоны. *L. micdadei* не образует р-лактамаз и чувствительна к пенициллинам и цефалоспорином.

ГЛАВА 21. АНАЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ

Анаэробные грамотрицательные бактерии представлены гетерогенной группой микроорганизмов, включающей 17 родов палочковидных и 3 рода кокковидных бактерий. Большинство входит в состав микрофлоры полости рта, верхних отделов воздухоносных путей, ЖКТ и мочеполовой системы человека и млекопитающих. Грамотрицательные анаэробы проявляют сравнительно низкую патогенность. Поражения у человека наиболее часто вызывают ассоциации бактерий, в которых патогенный потенциал усиливается. Поражения у человека наиболее часто вызывают представители родов *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella* и *Fusobacterium*. *Поражения, вызываемые анаэробными гра-мотрицательными бактериями, носят эндогенный характер.* К их развитию предрасполагают нарушения целостности кожных покровов и слизистых оболочек, травмы, хирургические вмешательства, метаболические расстройства, болезни со злокачественным ростом, некротические процессы в тканях, наличие инородных тел, предшествующие инфекции и др. В большинстве случаев поражению способствует снижение содержания кислорода и уровня окислительно-восстановительных реакций в тканях.

БАКТЕРОИДЫ

В род *Bacteroides* [от греч. *ba^orion*, палочка + *eidosis*, вид, форма] семейства *Bacteroidaceae*, отдела *Gracilicutes* включены прямые или изогнутые палочковидные бактерии 0,5-0,8x1-2 мкм. Большинство видов неподвижны, в мазках располагаются одиночно, парами или небольшими цепочками. Хемоорганотрофы, ферментируют углеводы с образованием кислоты, некоторые виды образуют индол и сероводород. Все виды - строгие анаэробы и требуют внесения в среды гемина и витамина К. Бактероиды колонизируют толстый кишечник, полость рта и органы мочеполовой системы. Наибольшее медицинское значение имеет *B. fragilis*, составляющий до 99% всех бактерий толстой кишки. Патогенез поражений обусловлен

избыточной колонизацией эпителиальных поверхностей и выделением повреждающих продуктов. Все бактериоды содержат эндотоксин, образуют нейраминидазу, гиалуронидазу и фибринолизин. Бактериоды разделяют на группы *B. fragilis* и *B. ureolyticus*.

Бактерии группы *B. fragilis*. Включают 9 видов неподвижных бактерий, образующих капсулу. Наиболее часто вызывают внутри-брюшинные и тазовые абсцессы, бактериемию, инфекции пролежней, артриты и остеомиелиты (основные возбудители *B. thetaiotaomicron*, *B. ovatus*, *B. vulgatus*, *B. distasonis*). В мазках из клинического материала представлены бледными полиморфными палочками с

закруглёнными концами. Часто неравномерно окрашиваются по Граму. На 5-7-е сутки образуют серовато-белые, прозрачные или мутноватые негемолизирующие S-колонии 1-3 мм в диаметре. На бульонах дают гомогенное помутнение. *Ключевые признаки группы - способность расти на средах с 20% содержанием жёлчных солей; резистентность к канамицину (100 мкг), ванкомицину (5 мкг) и колистину (10 мкг). Чувствительны к действию производных имидазола.*

Бактерии группы *B. ureolyticus*. Группу образуют *B. ureolyticus* и *B. gracilis*; основное их отличие - инертность к углеводам. Вызывают инфекции женских половых органов, поражения дыхательных путей, костей и мягких тканей. В мазках из клинического материала представлены тонкими палочками с закруглёнными концами. На КА образуют мелкие полупрозрачные колонии, у некоторых штаммов - распластанные на поверхности. Часто вызывают позеленение и коррозию сред, содержащих кровь. *Ключевые признаки группы - неспособность к росту на средах с 20% содержанием жёлчных солей, резистентность к канамицину (100 мкг) и коли-стину (10 мкг), но чувствительность к ванкомицину (5 мкг).*

Принципы микробиологической диагностики. Принципы получения и транспортировки образцов аналогичны таковым при подозрении на анаэробную инфекцию - следует избегать контакта образца с атмосферным воздухом. Образование супероксид дисмутазы *B. fragilis* позволяет бактериям сохранять жизнеспособность при непродолжительном контакте с атмосферным воздухом. Бактериоды культивируют на КА, тиогликолевой среде. Оптимальны для роста анаэробные условия при 10% содержании CO₂ в атмосфере, температура 37 °С, pH 7,6-7,8.

Лечение. Бактериоды резистентны к пенициллинам, клиндамицину, цефалоспорином 1-го и 2-го поколений. Препараты выбора - левомицетин, метронидазол и имипенем.

ПОРФИРОМОНАДЫ

Род *Porphyromonas* образуют короткие неподвижные палочки размером 1,0-3,0x0,5-0,8 мкм, ранее входившие в род *Bacteroides*. *На средах с кровью образуют коричнево-чёрный пигмент (на 6-14-е сутки). Для роста нуждаются в гемине и витамине К. Инертны к углеводам, образуют индол, рост стимулирует внесение в среду глюкозы, цистеина и др. Все три вида - P. asaccharolytica (типовой вид), P. endodontalis и P. gingivalis - выделяют из полости рта. Патогенез поражений во многом аналогичен таковому при бактериодных инфекциях; кроме того, P. gingivalis связывает и разрушает фибриноген, секретирует коллагеназу, участвующую в повреждении дентина, а также агглютинирует эритроциты(дифференциальный признак). У человека порфиромонады вызывают гингивиты, периодонтиты, поражения мягких тканей головы и шеи, аспирационные пневмонии.*

Принципы микробиологической диагностики. Аналогичны таковым при поражениях, вызванных бактериодами. На КА образуют слизистые колонии с тёмно-коричневым или чёрным центром. При длинноволновом (365 нм) проходящем УФ-облучении колонии флюоресцируют

красным, жёлто-зелёным или коралловым цветом (рис. 31 вклейки), что обуславливает их название [греч. *porphyros*, багряно-красный, + *monas*, одноклеточный организм]. Культуры имеют гнилостный запах. *Рост порфиромонад ингибируют жёлчные соли (20%); бактерии чувствительны к ванкомицину, но резистентны к колистину и канамицину.*

Лечение. Бактерии высокорезистентны к пенициллинам и цефалоспорином. Препараты выбора - метронидазол, левомицетин, имипенем и клиндамицин.

ПРЕВОТЕЛЛЫ

Бактерии названы в честь французского бактериолога Э. Прево. Род *Prevotella* включает полиморфные, неподвижные палочки, ферментирующие или частично ферментирующие углеводы. На КА образуют коричнево-чёрные колонии (рис. 21-1). *P. melaninogenica*, *P. loescheii* и *P. denticola* образуют коричневато-чёрные или коричневые, гладкие и блестящие колонии (что обусловлено наличием капсул), а не образующие капсулу *P. intermedia* - сухие колонии. Пигментообразование наблюдают не ранее 5-14 сут культивирования на агаре с кроличьей кровью. Колонии некоторых штаммов могут флюоресцировать ярко-красным цветом при проходящем УФ-облучении. *Ключевые признаки превотелл - ингибирование роста жёлчными солями (20%), чувствительность к колистину, но резистентны к ванкомицину и канамицину.* У человека вызывают поражения мягких тканей головы и шеи, плевропневмонии, инфекции женских половых органов (особенно часто *P. bivia* и *P. disiens*) и остеомиелиты. Патогенез поражений обуславливает эндотоксин, активность которого превышает действие ЛПС бактериоидов (особенно у *P. bivia*). *P. melaninogenica* и *P. intermedia* также выделяют фосфолипазу А, нарушающую целостность мембран эпителиальных клеток, что вызывает их гибель.

Принципы микробиологической диагностики аналогичны таковым при других анаэробных инфекциях.

Лечение. Бактерии высокорезистентны к пенициллинам и цефалоспорином. Препараты выбора - метронидазол, левомицетин, имипенем и клиндамицин.

РОД *FUSOBACTERIUM*

Род образуют веретенообразные [лат. *fusus*, веретено] неподвижные тонкие палочки с заострёнными концами, размерами 0,5-1x2-3 мкм. В мазках располагаются одиночно, реже образуют короткие цепочки из 2, редко 3 клеток. Некоторые из них могут иметь эллиптические утолщения. В чистых культурах могут образовывать нитевидные или ветвящиеся формы. Фузобактерии растут на мясных и печёночных бульонах; рост стимулируют внесением в питательную среду сыворотки или асцитической жидкости. Рост сопровождается помутнением среды, образованием осадка, газообразованием и появлением «сырного» запаха. Утилизируют пептон и углеводы, но ферментативная активность в целом слабая. На КА образуют мелкие (1-2 мм) выпуклые желтоватые колонии, окружённые зоной α-гемолиза. Через 48 ч *F. necrophorum* формирует мелкие негемолизирующие колонии палевого цвета; иногда наблюдают зелёное окрашивание прилегающих участков среды после контакта с воздухом. Клетки колоний полиморфные, часто изогнутые и со вздутиями; по Граму окрашиваются неравномерно. Фузобактерии обитают в полости рта, кишечнике и органах мочеполовой системы млекопитающих. У человека вызывают гингивиты, периодонтиты, поражения мягких тканей головы и шеи, аспирационные пневмонии, плевропневмонии и остеомиелиты. Основные возбудители - *F. nucleatum* (палочка Плау-та) и *F. necrophorum* (палочка Шмбрля). Патогенез поражений обусловлен способностью бактерий секретировать фосфолипазу А (облегчает инвазию бактерий в глубокие ткани), лейкоцидин (проявляет цитотоксическое действие на различные клетки).

Принципы бактериологической диагностики. Характерные особенности фузобактерий - образование основными патогенными видами больших количеств масляной кислоты (конечный метаболический продукт) и индола. Образование индола обуславливает гнилостный

запах культур. Рост фузобактерий ингибируют жёлчные соли (20%), колистин и канамицин, но не ванкомицин.

• *F. necrophorum* - единственная липаза-положительная фузобактерия. Образует индол, обычно не растёт на средах с 20% содержанием жёлчи. На плотных средах образует мелкие круглые мутные колонии серого цвета с жёлтым центром. На средах с кровью даёт гемолиз.

• *F. nucleatum (plautii)* образует индол, не растёт на средах с 20% содержанием жёлчи.

Лечение. Большинство штаммов чувствительно к цефокситину, левомецетину, клиндамицину, имипенему и метронидазолу.

ГЛАВА 22. МИКОБАКТЕРИИ

В

состав

рода *Mycobacterium* семейства *Mycobacteriaceae* отдела *Firmicutes* включены неподвижные аэробные грамположительные палочковидные бактерии. Иногда они образуют нитевидные или структуры, напоминающие мицелий грибов. Это и послужило основанием для их названия [греч. *mykes*, гриб и лат. *bacterium*, бактерия]. Для бактерий характерно высокое содержание липидов, фосфатидов и восков в клеточных стенках (до 60%), что определяет их щёлоче-, спирто- и кислотоустойчивость (признак особенно выражен у паразитических видов микобактерий). Поэтому бактерии плохо воспринимают анилиновые красители и обычные способы окрашивания. Для окраски применяют интенсивные методы, обычно Цйля-Нильсена. Растут медленно или очень медленно; сапрофитические виды растут несколько быстрее. Некоторые виды образуют каротиноидные недиффундирующие в среду пигменты. Микобактерии широко распространены в окружающей среде и вызывают поражения, известные как микобактериозы. Заболевания регистрируют у различных холоднокровных и теплокровных животных; наиболее характерны поражения кожи, лёгких и лимфатических узлов.

Классификация. При классификации микобактерий учитывают патогенность для человека, способность к пигментообразованию, скорость роста и способность синтезировать никотиновую кислоту (ниацин).

• По патогенности выделяют собственно патогенные (вызывающие конкретные заболевания), потенциально патогенные и сапрофитические микобактерии. Патогенными для человека свойствами обладают *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. bovis*. Прочие виды, вызывающие поражения у человека известны, как атипичные мико-бактерии (табл. 22.1).

• По скорости роста выделяют быстрорастущие (дают видимый рост на 4-7-е сутки), медленно растущие (рост наблюдают через 7-10 и более дней) и не растущие на искусственных средах (*M. leprae*) виды.

• По способности образовывать пигменты выделяют фотохромогенные (образуют пигмент на свету), скотохромогенные (образуют пигмент в темноте) и нефотохромогенные (не образуют пигмента) виды.

ПАТОГЕННЫЕ МИКОБАКТЕРИИ

Возбудитель туберкулёза человека (*M. tuberculosis*)

Туберкулёз - хроническая инфекция, проявляющаяся поражениями органов дыхания, костей, суставов, кожи, мочеполовых органов и др. Заболевание под названием чахотки известно с глубокой

древности. Лёгочная форма туберкулёза описана античными авторами (Аретей Каппадокийский, Гиппократ). Рост городов, скученность населения и низкий санитарный уровень жизни привели к тому, что в XVIII-XIX вв. туберкулёз поражал различные слои населения: достаточно вспомнить Моцарта, Шопена, Некрасова, Чехова. «Чахоточный вид» даже вошёл в моду, и дамы затягивались в корсеты, пили уксус «для томной бледности» и закапывали белладонну в глаза «для лихорадочного блеска». Инфекционную природу заболевания была доказал Вильмён (1865). Важнейшим этапом в изучении и совершенствовании мер борьбы с туберкулёзом стало открытие Кохом *M. tuberculosis* (1882).

Эпидемиология. *Резервуар возбудителя - больной человек; основной путь заражения - аэрогенный, реже через кожу и слизистые оболочки.* Проникновение возбудителя не всегда вызывает развитие заболевания; огромную роль играют неблагоприятные условия жизни и трудовой деятельности. Наблюдаемый в настоящее время в России рост заболеваемости связан со снижением уровня жизни населения. Существенное значение имеют «старение» населения и увеличение числа лиц с нарушениями резистентности организма к инфекциям. Особую роль в передаче возбудителя играет скученность населения; особенно в лагерях беженцев, следственных изоляторах, тюрьмах и т.д. С другой стороны, усиливается активность возбудителя, обусловленная вытеснением естественных конкурентов в результате применения антимикробных средств. В благополучных странах заболеваемость в 1985-1992 гг. возросла на 20% и ежегодно в мире регистрируют 8-10 млн. случаев первичного инфицирования. Высокое содержание ли-пидов и восков в клеточной стенке обеспечивает устойчивость возбудителя к различным воздействиям. В молоке он погибает при температуре 60 °С через 15-20 мин; при аналогичной температуре в мокроте сохраняется до часа; при кипячении погибает через 5 мин. Прямой солнечный свет убивает возбудителя через 45-55 мин, рассеянный свет - через 8-10 сут. *M. tuberculosis* хорошо сохраняется при высушивании (до нескольких недель). Обычные химические дезинфектанты малоэффективны; 5% раствор фенола убивает *M. tuberculosis* лишь через 5-6 ч. Возбудитель способен быстро вырабатывать устойчивость ко многим антибактериальным средствам.

Морфология и тинкториальные свойства. *M. tuberculosis* (палочка Коха) - тонкая, прямая или слегка изогнутая палочка, размеры 1-10x0,2-0,6 мкм, со слегка закруглёнными концами (рис. 22- 1). В молодых культурах палочки более длинные, а в старых склонны к ветвлению. Бактерии способны образовывать L-формы, сохраняющие способность к инфицированию, а также фильтрующиеся формы, патогенетическая роль которых остаётся плохо изученной. Капсул не имеют, но образуют микрокапсулу. Методом Цйля-Нильсена окрашиваются в ярко-красный цвет. Содержат кислотостойкие гранулы (зёрна Муха), располагающиеся в цитоплазме.

Культуральные свойства. Туберкулёзные палочки могут расти как в аэробных, так и факультативно анаэробных условиях. Повышенное содержание CO₂ (5-10%) способствует более

быстрому росту. Оптимальная температура 37-38 °С; pH 7,0-7,2. Нуждаются в присутствии белков, глицерина, факторов роста (биотин, никотиновая кислота, рибофлавин и др.), ионов (Mg²⁺, K⁺, Na⁺, Fe²⁺) и др. Для выращивания наиболее часто применяются глицериновые, картофельные с жёлчью, яичные, полусинтетические и синтетические среды. Наиболее оптимальна среда Лёвенштайна-Иёнсена. На средах туберкулёзные палочки обычно образуют R-колонии; под влиянием антибактериальных препаратов бактерии могут диссоциировать с образованием мягких и влажных S-колоний. В жидких средах образуют сухую морщинистую плёнку (на 7-10-е сутки), поднимающуюся на края пробирки; среда остаётся прозрачной. *В жидких средах выявляют корд-фактор - важный дифференциальный признак*

вирулентности. Наличие корд-фактора обуславливает сближение бактериальных клеток в микроколониях и их рост в виде серпантинообразных кос. На плотных средах рост отмечают на 14-40-е сутки в виде сухого морщинистого налёта желтовато-кремового цвета. Зрелые колонии напоминают цветную капусту, крошковатые, плохо смачиваются водой и имеют приятный запах (рис. 32 вклейки). Культуры плохо снимаются со среды, а при прокаливании трещат. *Отличительная особенность M. tuberculosis - способность к синтезу значительного количества никотиновой кислоты* (ниа-цина); *ниациновый тест - важный метод дифференцировки микобактерий* (рис. 33 вклейки).

Патогенез поражений и клинические проявления. Ингалированные микобактерии поглощаются альвеолярными макрофагами, транспортирующими их в регионарные лимфатические узлы. Фагоцитарные реакции носят незавершённый характер, поскольку корд-фактор возбудителя повреждает мембраны митохондрий и ингибирует фагосома-лизосомальное слияние; возбудитель переживает в цитоплазме макрофагов. Кроме того, корд-фактор тормозит миграцию полиморфноядерных фагоцитов, что определяет слабую выраженность воспалительного ответа. По ходу регионарных лимфатических путей формируется первичный туберкулёзный комплекс с развитием гранулём в виде бугорков [отсюда название «бугорчатка», или «туберкулёз» (лат. *tuberculum*, бугорок)].

- Образование гранулём не имеет характерных особенностей и представляет собой реакцию ГЗТ. В центре каждого бугорка имеется участок творожистого некроза (казеоза), в котором располагаются палочки Коха. Центр некротического очага окружён эпителиоидными и гигантскими (многоядерными) клетками Пирогова-Лангханса, а по периметру - лимфоцитами (в том числе плазматическими клетками) и мононуклеарными фагоцитами. Наиболее часто формирование первичного комплекса наблюдают в лёгких (очаг Гона). В гранулёмах размножение возбудителя обычно замедляется или прекращается. В большинстве случаев первичные очаги заживают с полной деградацией содержимого, его кальцификацией и фиброзом паренхимы. Для первичного туберкулёза характерна сенсibilизация тканей метаболитами мико-бактерий. При заживлении первичного очага повышенная чувствительность исчезает, но нарастает выраженность иммунных реакций. В этих условиях возможно диссеминирование возбудителя из первичных очагов (особенно лимфатических узлов) и формирование очагов-отсевов (послепервичные очаги реинфицирования). Обычно они локализуются в лёгких, почках, половых органах и костях.

- При ослаблении иммунитета очаги активизируются и развивается вторичный процесс. Реактивация наиболее часто наблюдается у лиц, достигших 55-60-летнего возраста. Провоцируется стрессами, нарушениями питания и общим ослаблением организма. Определённый вклад в патогенез заболевания вносит сенсibilизация организма, вызывающая разнообразные токси-

ко-аллергические реакции у пациентов. В лёгких, бронхах и мелких лёгочных сосудах образуются полости, из которых активно отхаркиваются некротические творожистые массы, содержащие возбудитель. Клинически реактивный туберкулёз проявляется кашлем, часто с кровохарканьем; снижением массы тела, обильным ночным потоотделением, хроническим субфебрилитетом.

- Реже, у ослабленных лиц и пациентов с иммунодефицитами, наблюдают диссеминированный туберкулёз с образованием гранулём в различных органах. Состояние обычно развивается после прорыва содержимого гранулёмы в кровоток. Проявления аналогичны таковым при вторичном туберкулёзе, но к ним часто присоединяются поражения мозга и его оболочек. Прогноз неблагоприятный.

- Многообразие форм туберкулёзного процесса обусловило сложность его классификации. В настоящее время клиническая классификация выделяет три основные формы: Туберкулёзная интоксикация у детей и подростков

Туберкулёз органов дыхания, включая первичный туберкулёзный комплекс, поражения внутригрудных лимфатических узлов, плевры, верхних дыхательных путей; очаговый, инфильтративный, кавернозный, фиброзно-кавернозный, цирротический туберкулёз лёгких, туберкулёму и др.

Туберкулёз других органов и систем, включая поражения мозговых оболочек, глаз, суставов и костей, кишечника и брюшины; кожи и подкожной клетчатки; органов мочеполовой системы и др.

Принципы микробиологической диагностики. Для диагностики туберкулёза применяют бактериоскопические, бактериологические, биологические, серологические и аллергологические методы, входящие в обязательный диагностический минимум. Материалом для исследований служат мокрота, отделяемое свищей, моча, СМЖ, испражнения.

Микроскопия патологического материала. В мазках, окрашенных по Цйлю-Нильсену, обнаруживают кислотоустойчивые палочки. Нередко материал содержит мало бактерий и для повышения вероятности их обнаружения используют методы обогащения: центрифугирование и флотацию. В первом случае исследуемый материал обрабатывают смесью растворов NaCl и NaOH, центрифугируют и микроскопируют осадок. Второй метод включает обработку материала смесью ?ОН, дистиллированной воды и ксилола (или бензола). Образец энергично встряхивают; образующаяся пена всплывает и захватывает микобактерии. Пену отсасывают и готовят мазки. Наиболее результативна люминесцентная микроскопия. Материал обрабатывают аурамин-родамином и бактерии окрашиваются в бело-жёлтый цвет. Для выявления L-форм применяют АТ, меченные флюорохромами.

Выделение возбудителя. Достоинство метода - возможность получения чистой культуры, позволяющая её идентифицировать, оценить вирулентные свойства и определить чувствительность к ЛС. Материал засевают, тщательно втирая, на твёрдые питательные среды. Для повышения эффективности выделения и уничтожения контаминирующей микрофлоры применяют методы обогащения или обрабатывают материал 6-12% серной кислотой. Основным недостатком бактериологического метода - длительность получения результата (от 2 до 12 нед). В связи с этим разработаны ускоренные микрометоды выделения. Один из распространённых методов, метод Прайса, заключается в следующем. Материал помещают на предметное стекло, обрабатывают серной кислотой, отмывают физиологическим раствором и вносят в питательную среду, дополненную цитратной лизированной кровью. Стекло вынимают через 34 сут и окрашивают по Цйлю-Нильсену. При микроскопии обнаруживают микроколонии ми-кобактерий. Вирулентные бактерии образуют змеевидные (рис. 22-2), а невирулентные - аморфные микроколонии. Культуры L-форм выделяют посевом в столбик полужидкой среды и инкубируют при 37 °С 1-2 мес. Рост проявляется в виде облачка помутнения с мелкими вкраплениями. Вирулентность выделенной культуры определяют заражением лабораторных животных и по наличию корд-фактора. Последний легко идентифицируют по способности микобактерий связывать нейтральный красный и нильский голубой и удерживать их после добавления щелочи. Вирулентные штаммы удерживают красители, авирулентные - нет.

Биологическая проба. Представляет «золотой стандарт» в диагностике туберкулёза. Морским свинкам подкожно или внутрибрюшинно вводят 1 мл исследуемого материала (например, мокрота, отделяемое свищей и т.д.). Через 1-2 мес развивается генерализованная инфекция

с летальным исходом. Заболевание можно распознать раньше - постановкой проб с туберкулином (через 3-4 нед) и пункцией лимфатических узлов (лимфадениты обнаруживают уже на 5-10-е сутки после инфицирования). Для выделения L-форм проводят множественные пассажи на морских свинках. Серологические исследования. Для выявления Ag микобактерий и АТ к ним применяются РСК, РА, РПГА, агрегатагглютинации и др. Но они либо не обладают необходимой специфичностью, либо требуют дифференциальной диагностики при получении ложноположительных реакций с Ag и АТ к другим ми-кобактериям.

Кожные пробы с туберкулином. Позволяют проводить обследования населения. Включают внутрикожное введение 5 ЕД РРД

[от англ. purified protein derivate] - белкового экстракта культуры *M. tuberculosis* (реакция Манту). При положительном результате через 48 ч в месте введения формируется папула диаметром 10 мм с гиперемизированными краями. Положительная реакция указывает на контакт лица с Ag *M. tuberculosis* или других бактерий, дающих перекрёстную реакцию. *Положительный результат нельзя рассматривать как признак активного процесса.* Если папулы имеют меньшие размеры (5-10 мм), то результат считают сомнительным и пробу повторяют с введением 10 ЕД РРД. Если размеры папулы ещё меньше, то реакцию считают отрицательной. *Следует помнить, что отрицательная реакция Манту не всегда указывает на отсутствие туберкулёзного процесса* - у больных с иммунодефицитами реакция обычно также отрицательна.

Лечение. Противотуберкулёзные ЛС разделяют на препараты первого ряда и альтернативные средства. Первая группа включает изониазид, этамбутол, стрептомицин, пипразинамид, ри-фампицин. Комбинация из двух препаратов обычно позволяет преодолеть химиорезистентность возбудителя. Альтернативные средства - канамицин, циклосерин, ПАСК, этионамид, виоми-цин, капреомицин и тиоацетазон.

Профилактика. Включает соблюдение элементарных правил гигиены, а также проведение специализированных мероприятий по диспансеризации больных лиц и широкомасштабному профилактическому обследованию населения. При положительной кожной пробе и отсутствии признаков активного процесса назначают изониазид курсом до года. Для специфической иммунопрофилактики применяют аттенуированный штамм *M. bovis*; так называемые бациллы Кальм-ётта-Герёна (БЦЖ). Иммунизацию проводят внутрикожным введением 0,1 мл вакцины всем новорождённым. После вакцинации на некоторое время отказываются от постановки кожных проб для предупреждения гиперреактивных осложнений (некротические реакции и др.). Ревакцинацию проводят в возрасте 7, 12, 17, 22 и 27-30 лет лицам с отрицательной реакцией Манту.

Возбудитель туберкулеза бычьего типа (*M. bovis*)

В среднем на долю *M. bovis* приходится 5% случаев туберкулёза у человека. При этом *M. bovis* - рекордсмен по числу возможных хозяев, выделен у 60 видов млекопитающих. Эпидемическую опасность для человека представляют крупный рогатый скот, верблюды, козы, овцы, свиньи, собаки и кошки. Больные животные выделяют микобактерии с молоком, мокротой, мочой и калом. Человек заражается при контакте с больным животным, при употреблении сырого молока и, реже, плохо обработанного мяса. В сливочном масле возбудитель может сохраняться до 240 сут, в сыре - до 200 сут. Для поражений у человека характерны склонность к осложнениям, генерализации, экссудативным реакциям и бронхогенному метастазиро-ванию. *M. bovis* представлена толстыми палочками. Предпочитает микроаэрофильные условия культивирования и растёт медленнее, чем палочка Коха. Принципы выделения аналогичны таковым для микобактерий человеческого типа. Основные методы дифференциации с

Mycobacterium africanum

M. africanum - основной возбудитель туберкулёза в Африке; морфологически и культурально сходен с *M. bovis*. Истинное распространение возбудителя определить сложно - во многих лабораториях его не идентифицируют, либо ошибочно принимают за *M. bovis*. Эпидемиология поражений аналогична вызванной *M. tuberculosis*.

Возбудитель лепры (*M. leprae*)

Лепра (проказа, или болезнь Хансена) - хроническая генерализованная инфекция с преимущественным поражением производных эктодермы (кожа и периферическая нервная система). Лепра - одна из древнейших известных инфекций; она упоминается в китайских трактатах 3000-летней давности; в Индии лепра была известна ещё в VII в. до н.э. В большинстве стран заболевание лепрой приравнивалось к гражданской смерти с исключением из общества и лишением наследства; больных либо убивали, либо изгоняли в пустынные места. Семитское *zaraath* (проказа) было собирательным термином, обозначающим любую моральную и физическую нечистоту (отсюда рус. *зараза*). В эпоху средневековья мрачную славу сыскали лепрозории, куда насильственно помещали больных. Порядки в лепрозориях напоминали тюремные, а побег всегда карался смертью. Тем не менее, эти методы привели к определённым результатам. Начиная с XIV в. заболеваемость в Европе резко снизилась. Сейчас в мире насчитывают около 2 млн. больных, преимущественно в странах Третьего мира. Возбудитель в 1873 г. открыл норвежский врач Герхард Хансен.

Эпидемиология. Единственный резервуар - больной человек. Пути и механизмы передачи лепры остаются до конца не изученными, поскольку *заболевание малокоонтагиозно*. Доказана возможность заражения контактным и воздушно-капельным путями. Также доказана возможность внутриутробного заражения, но в большинстве случаев дети, отделённые от больных родителей после рождения, не заболевают. Основным способом борьбы с проказой остаётся изоляция больного. Опыт отдельных стран, например Норвегии и Исландии, показывает, что пациента вовсе не обязательно помещать в лепрозорий, а достаточно соблюдения элементарных санитарно-гигиенических норм. Ведущая роль в распространении лепры принадлежит социально-экономическим факторам, о чём свидетельствует более высокая заболеваемость в странах Третьего мира.

Морфология и тинкториальные свойства. *M. leprae* (палочка Хансена) - неподвижная прямая или изогнутая бактерия с заострёнными или утолщёнными концами, размером 1-8x0,2-0,5 мкм. Хорошо окрашиваются по Цйлю-Нильсену. В мазках из очагов поражений бактерии располагаются параллельными группами («пачки сигар») или шаровидными скоплениями до 200 мкм в диаметре, окружёнными полупрозрачной неокрашивающейся массой.

Культуральные свойства. *M. leprae* - *облигатные внутриклеточные паразиты, не растут на питательных средах*. Экспериментальное заражение различных животных (включая приматов) не приводит к развитию заболевания. Возбудитель может ограниченно размножаться после заражения мышей в подушечки лап. Более перспективная модель - броненосцы-армадиллы (*Dasypus novemcinctus*). У 40% заражённых броненосцев через 15 мес развивается диссеминированная проказа, а содержание возбудителя в лепроматозных тканях в 100 раз и более выше, чем в эквивалентном количестве тканей человека.

Патогенез поражений. Попав в организм человека, бактерии проникают в нервные окончания, а оттуда - в лимфатические и кровеносные капилляры; не вызывают видимых поражений в месте внедрения. В большинстве случаев возбудитель погибает и элиминируется; болезнь может протекать латентно, не проявляясь в течение всей жизни. *Вероятность развития лепры зависит от состояния факторов резистентности*. При небольших отклонениях развивается

абортивная инфекция в виде ограниченных гранулематозных высыпаний. У лиц с нормальным иммунным статусом развивается относительно доброкачественная туберкулоидная форма. Неблагоприятной и тяжёлой считается лепроматозная форма. Промежуточное положение занимает недифференцированная форма, встречаемая у лиц с неустойчивым иммунитетом.

Клинические проявления. Инкубационный период длится 4-6 лет, нередко затягивается до 10-15 лет и более. Это обусловлено медленным размножением возбудителя. Продромальные явления (лихорадка, слабость, потеря аппетита, боли в костях) могут отсутствовать. Клинически выделяют пять форм заболевания: полярную туберкулоидную, пограничную туберкулоидную, недифференцированную, пограничную лепроматозную и полярную лепроматозную. Туберкулбидная форма характеризуется разрастаниями грануляционной ткани в коже и слизистых оболочках. Чаще наблюдают один очаг (иногда единственное проявление болезни), реже - кожные высыпания недифференцированной формы. При туберкулоидной форме очаги характеризуются выраженной анестезией. При пограничной (с лепроматозной) туберкулоидной форме анестезия очагов выражена меньше; часто наблюдают невриты. Недифференцированная форма проявляется кожными высыпаниями и поражениями периферических нервных стволов. Может трансформироваться в лепроматозную или туберкулоидную формы. Высыпания представляют чётко ограниченные пятна (лепрёйды) различной окраски и размеров; короткий период гиперестезии высыпаний сменяется анестезией. Моно- и полиневриты часто сопровождаются неравномерными утолщениями нервных стволов. Лепроматозная форма. Поражения локализуются преимущественно на лице и дистальных отделах конечностей в виде сплошных инфильтратов, имеющих красновато-бурую окраску. У больных часто наблюдают выпадение бровей и ресниц, а узлы и инфильтраты часто придают лицу своеобразное выражение, известное как «львиное лицо» (*facies leonina*). Характерны поражения глаз в виде лимбитов, кератосклеритов, иридоциклитов и увеитов, приводящие к ослаблению зрения и слепоте. Лимфатические узлы увеличены в объёме и содержат большое количество возбудителя. Анестезии гранулём обычно не наблюдают, они могут сохраняться многие годы, рассасываться или подвергаться рубцовым изменениям. Принципы микробиологической диагностики. Обнаружение *M. leprae* делает диагноз несомненным и помогает определить тип заболевания. Материал получают энергичным соскобом слизистой оболочки носовой перегородки, выделением тканей жидкости (после надреза поражённых тканей глубиной 2-3 мм) или пункцией увеличенных лимфатических узлов. Мазки окрашивают по Цллю-Нильсену; обращают внимание на любые кислотоупорные бактерии. При сомнительных результатах можно поставить биологическую пробу на морских свинках (чувствительны к *M. tuberculosis* и резистентны к *M. leprae*). Для дифференциальной диагностики туберкулоидной формы применяют кожную пробу с аллергеном *M. leprae* (лепроминовая проба), всегда отрицательную при лепроматозной форме, при которой отсутствуют клеточные иммунные реакции.

Лечение. Проводят интенсивную и длительную химиотерапию, часто в течение всей жизни больного. Основные препараты - сульфоны (дапсон, солюсульфон), рифампицин, клофазимин - назначают отдельно или в комбинациях. Для иммунопрофилактики лепры создана экспериментальная вакцина.

АТИПИЧНЫЕ МИКОБАКТЕРИИ

В последние десятилетия атипичные микобактерии привлекают всё большее внимание бактериологов и клиницистов. Растущая роль атипичных микобактерий в патологии человека в определённой степени связана с беспорядочным применением антибиотиков - все атипичные мико-бактерии характеризуются широким спектром лекарственной устойчивости и потенциальной патогенностью для человека и животных.

Фотохромогенные микобактерии

При культивировании фотохромогенные микобактерии обычно образуют жёлто-оранжевый пигмент. Пигмент откладывается в виде кристаллов; *их обнаружение под малым увеличением - чёткий дифференциальный признак фотохромогенных бактерий*. При температуре 37 °С колонии появляются в течение 2 нед, при комнатной температуре - за 3 нед. Молодые клетки - длинные и широкие, располагаются лентами, образуют S- и R-колонии. Патогенны для

мышей. Для человека потенциально патогенны *M. kansasii* и *M. marinum* (*M. balnei*). Вызываемые ими поражения приведены в таблице 22-1. Аг *M. kansasii* перекрёстно реагируют с Аг *M. tuberculosis*, и у инфицированных лиц отмечают положительную реакцию Манту. Отличительная особенность *M. marinum* - ускоренный рост при температуре 30-33 °С и полное отсутствие роста при 37-40 °С. До 30% штаммов дают слабо положительный ниациновый тест.

Скотохромогенные микобактерии

Скотохромогенные микобактерии чаще образуют плоские или с острой верхушкой S-колонии, окрашенные в жёлто-оранжевый цвет, независимо от условий культивирования (на свету или в темноте). На свету окраска более интенсивна. Бактерии обычно выделяют из загрязнённой воды. Практически не патогенны для лабораторных животных. Поражения у человека вызывает *M. scrofulaceum*; наиболее типичны шейные лимфадениты у детей.

Нефотохромогенные микобактерии

Видимый рост культур наблюдают уже через 5-10 сут. Образуют кремовые, иногда полупрозрачные, гладкие S-колонии, хорошо эмульгирующиеся в воде. При старении культур колонии некоторых штаммов могут приобретать жёлто-оранжевую окраску. Ниациновый тест отрицательный. Поражения у человека вызывают *M. avium* и *M. intracellulare*, объединённые (из-за большого сходства) в комплекс *M. avium-intracellulare*. Морфологически представлены тонкими, слабо ветвящимися палочками. Особую опасность представляют для больных с иммунодефицитами (особенно со СПИДом) из-за их способности вызывать генерализованные поражения (наблюдают 40-50% пациентов с иммунодефицитами).

Умеренно и быстрорастущие микобактерии

Дают видимый рост в течение 7 сут при температуре 25-37 °С. Рост первичных культур может задерживаться до 14 сут, а при оптимальных условиях рост субкультур можно наблюдать уже через 1-2 сут. *Важнейший дифференциальный признак - способность расти при температуре выше 45 °С и ускорять рост при оптимальной температуре*. Группа включает сапрофитические виды- *M. phlei*, *M. smegmatis*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. friedmanii* и др. Многие из них выделяют из патологического материала человека, но клиническое значение имеют лишь два последних вида (см. табл. 22-1). *M. smegmatis* имеет существенное значение в плане правильной идентификации этого сапрофита в организме - ошибки часто приводили в прошлом к необоснованным хирургическим вмешательствам по поводу предполагаемого туберкулёза органов мочеполовой системы. Дифференциальные признаки - способность расти при температуре 45 °С, а также к обесцвечиванию под действием спирта (в результате бактерии окрашиваются в синий цвет по Цйлю-Нильсену).

ГЛАВА 23. ХЛАМИДИИ И РИККЕТСИИ

Способностью к внутриклеточному выживанию и размножению обладают многие бактерии. Внутриклеточный паразитизм - важное звено жизненного цикла этих микробов - в большинстве случаев носит временный и факультативный характер. Исключение - хламидии и риккетсии, для которых характерен облигатный внутриклеточный паразитизм (жизнедеятельность бактерий невозможна вне клетки-хозяина). Вследствие тесной

связи жизненного цикла внутриклеточно паразитирующих бактерий с заражёнными клетками такие микробы долгое время считали крупными вирусами. От вирусов их отличает ряд признаков: наличие РНК, ДНК и рибосом клеток прокариотического типа; наличие клеточной стенки бактериального типа; способность к самостоятельному синтезу нуклеиновых кислот, белков и липидов; наличие метаболически активных ферментов, в том числе сбраживающих углеводы; чувствительность к антибактериальным препаратам.

ХЛАМИДИИ

Семейство *Chlamydiaceae* отдела *Gracilicutes* включает один род *Chlamydia* [от греч. *chlamydos*, плащ; название возникло из-за сходства ретикулярной клетки с оболочкой, окружающей созревающие в ней ЭТ]. В настоящее время род включает три вида: *C. trachomatis*, *C. psittaci* и *C. pneumoniae* (табл. 24-1). Все виды патогенны для человека и многих животных. Заболевания, вызываемые ими, регистрируются повсеместно и известны как хламидиозы. Хламидии лабильны к действию высоких температур (погибают при 60 °С за 10 мин), но длительно сохраняются при низкой температуре. Все виды чувствительны к действию антисептиков и дезинфектантов. Под влиянием неблагоприятных факторов они могут образовывать L-формы. Хламидии - «энергетические паразиты». Они неспособны самостоятельно синтезировать высокоэнергетические соединения и обеспечивать собственные потребности в энергии. Нормальное развитие хламидий возможно только в условиях внутриклеточного паразитирования. Хламидии размножаются бинарным делением. *Жизненный цикл хламидии включает образование двух основных форм* (рис. 23-1).

- Элементарное тельце (ЭТ) - мелкая (0,2-0,5 мкм) сферическая внеклеточная структура с трёхслойной клеточной стенкой. Метаболически малоактивно и адаптировано к внеклеточному выживанию. *Элементарные тельца - инфекционные единицы*, заражающие клетки. По Романовскому-Гимзе ЭТ окрашиваются в пурпурный цвет.

- Ретикулярное тельце (РТ) - *репродукционная внутриклеточная форма*. Представлено более крупным образованием (до 1 мкм),

имеющим сетчатую структуру с тонкой клеточной стенкой. Развивается в течение 56 ч из ЭТ, проникшего в цитоплазму и претерпевшего структурные изменения. Первоначально из ЭТ образуется *инициальное тельце* (вегетативная форма), окрашивающееся в синий цвет по Романовскому-Гимзе. Затем инициальное тельце превращается в РТ. После образования РТ хламидийная клетка начинает бинарно делиться, образуя *тельца включений* в виде вакуолей в цитоплазме инфицированной клетки. Тельца включений обычно располагаются околоядерно, по Романовскому-Гимзе окрашиваются в пурпурный цвет; их можно обнаружить методом световой микроскопии. В тельцах включений находятся делящиеся РТ. *C. psittaci* и *C. pneumoniae* образуют множество мелких телец включений, окружающих ядро. *C. trachomatis* образует одно большое тельце. Вследствие конденсации РТ образуется *промежуточное тельце*, напоминающее бычий глаз. Промежуточные тельца трансформируются в ЭТ, готовые покинуть клетку. Выход ЭТ сопровождается гибелью инфицированной клетки.

Факторы патогенности

Наибольшее значение имеют компоненты поверхности клетки (подавляют защитные реакции), экзо- и эндотоксины (блокируют фагосомолизомальное слияние в фагоцитах). Эндотоксины представлены ЛПС, во многом аналогичными таковым у грамотрицательных бактерий. Белковые экзотоксины присутствуют у всех видов и вызывают гибель мышей после внутривенного введения.

Патогенез поражений

Патогенез включает гибель заражённых клеток и развитие местных воспалительных реакций. Воспаление нередко приводит к формированию очагов некротического гранулематозного поражения с множественными кровоизлияниями. Тропность возбудителя к тканям (воздухоносные пути, мочеполовой тракт, кожные покровы) определяет специфичность клинической картины. В зависимости от вида возбудитель может размножаться местно, вызывая локальные поражения, либо диссеминировать с кровотоком в различные ткани.

Антигенная структура

У хламидий выделяют поверхностный родоспецифический Аг (ЛПС), главный белок наружной мембраны (включает детерминанты, распознаваемые видо-, типо- и серовароспецифически-ми нейтрализующими АТ).

ВОЗБУДИТЕЛЬ ОРНИТОЗА (*C. PSITTACI*)

Орнитоз [от греч. *ornithos*, птица] - инфекционное заболевание с явлениями общей интоксикации, поражениями лёгких, нервной системы, гепатоспленомегалией. Возбудитель впервые выделил С. Бэдсон из органов погибшего попугая, что обусловило видовое название микроба [греч. *psittakos*, попугай]. В настоящее время выделяют один серовар *C. psittaci*. Жизненный цикл паразита не имеет характерных особенностей и типичен для прочих хламидий. Элементарные тельца округлой формы (0,2-0,35 мкм). Образуют множество телец включений, прилегающих к ядру поражённой клетки. *Резервуар* - различные птицы (более 140 видов). В дикой природе основной резервуар - водоплавающие птицы; среди синантропных (проживающих в местах обитания человека) видов основную опасность представляют голуби (инфицировано до 50% популяции). Птицы выделяют возбудитель в течение нескольких месяцев; микроб попадает на перья, пух, яйца и различные объекты окружающей среды. *Основные пути передачи* - воздушно-пылевой и воздушно-капельный. Больной человек выделяет мало возбудителей, поэтому заражение при контакте с ним наблюдают редко.

Клинические проявления

Инкубационный период длится 8-12 дней. Заболевание всегда начинается остро - с озноба, головной и мышечной боли. Температура тела быстро достигает 38-39 °С. В первые дни больные отмечают выраженные боли в горле, пояснице, а также сухой кашель. Позднее развиваются симптомы ларингита и трахеобронхита. Пневмония развивается к 8-12-му дню; процесс локализован в нижних отделах, чаще справа. На 3-4-е сутки у некоторых больных появляется кореподобная сыпь. Возможны лимфаденопатия и увеличение печени (у трети пациентов наблюдают нарушения её функций).

Микробиологическая диагностика

Основа - бактериологический, биологический и серологический методы. Предварительно проводят бактериоскопию материала. Применяют фазово-контрастный метод либо изучают мазки, окрашенные по Романовскому-Гймзе. Аг хламидий выявляют в реакциях РИФ и РНИФ с использованием АТ, меченных флюорохромами. Для выделения *C. psittaci* образец ресуспендируют в сбалансированном стерильном физиологическом растворе и вносят в монослой индикаторных клеток или в куриные эмбрионы. При наличии в образце хламидий через 5-10 сут в монослое формируются цитолитические бляшки (зоны гибели клеток). Последние выявляют люминесцентной микроскопией после фиксации клеток метанолом и окраски родоспецифической антисывороткой, меченной флюоресцеином. Хламидии вызывают гибель заражённых куриных эмбрионов; исследованию подвергают особи, погибшие в течение 4-10 сут. Наличие хламидий определяют микроскопией мазков, окрашенных по Романовскому-Гймзе и выявлением группового Аг в РСК. Серологические методы - основа диагностики. Наиболее распространена РСК с сывороткой больного; титры АТ, равные 1:32 и выше при соответствующей симптоматике,

указывают на орнитоз. Увеличение титров АТ обычно наблюдают к концу 2-й недели заболевания. Предложены и более чувствительные методы диагностики - РНГА, прямая РИФ, ИФА и др.

Лечение и профилактика

Препарат выбора - доксициклин (при необходимости может быть заменён на эритромицин). Адекватная антибиотикотерапия снижает смертность до 1%. *S. psittaci* резистентна к р-лактам-ным антибиотикам. Средства специфической иммунопрофилактики отсутствуют. Общая профилактика основана на проведении комплекса ветеринарно-санитарных и медико-санитарных мер, направленных на предупреждение завоза и распространения возбудителя.

ВОЗБУДИТЕЛЬ ХЛАМИДИЙНОЙ БРОНХОПНЕВМОНИИ (*S. PNEUMONIAE*)

От прочих хламидий *S. pneumoniae* отличается набором Аг и грушевидной формой телец включений. Заболевание встречается нередко (АТ к возбудителю выявляют почти у 50% взрослых лиц). Большая часть инфекций протекает субклинически; возможны повторные заражения другими сероварами или штаммами. *S. pneumoniae* патогенна только для человека и передаётся только контактным путём. Инкубационный период продолжается 1-2 нед. Заболевание начинается остро с подъёма температуры и головной боли. Характерна бифазность - в начальной стадии типичны поражения верхних отделов дыхательных путей, позднее к ним присоединяется бронхопневмония. Поскольку заболевание не имеет характерных клинических особенностей, диагностика затруднена. Выделение возбудителя не проводят, реагенты для серологической диагностики отсутствуют. Для эмпирического лечения применяют доксициклин или другие тетрациклины.

Возбудители хламидийных поражений глаз, половых органов и дыхательного тракта (*S. TRACHOMATIS*)

По сравнению с прочими хламидиями, *S. trachomatis* представляет наибольшую проблему в медицине в связи с высокой заболеваемостью и особенностями передачи возбудителя. Различные серовары вызывают разные клинические синдромы (см. табл. 23-1).

Трахома - инфекционный, часто эндемический кератоконъюнктивит, начинающийся с острого воспаления конъюнктивы и роговицы, и приводящий к формированию грубых рубцов [греч. *trachys*, шероховатый] и слепоте. Заболевание известно с древнейших времён; упоминается в египетских папирусах, составленных более 3000 лет назад. Термин «трахома» предложил древнегреческий врач Диаскарйд (I в. н.э.). Заболевание вызывают *S. trachomatis* сероваров А, В, В_а и С, открытые С. Провацекком и Л. Хальберштёттером (1907) в клетках эпителия конъюнктивы. Возбудитель передаётся контактным путём, особенно при несоблюдении правил личной гигиены. Хламидии быстро погибают при нагревании до 50 °С; при комнатной температуре могут сохраняться до 1 мес. Заболевание распространено повсеместно (ежегодно заболевают до 400-500 млн. человек; потерю зрения отмечают у 10-20 млн). Более характерно для слабо развитых стран, образующих эндемичные области.

Патогенез поражений обусловлен репродукцией *S. trachomatis* в клетках конъюнктивы и прилегающих тканей с образованием сосочков и фолликулов, токсическим действием (приводящим к рубцеванию конъюнктивы), первичным поражением нервных окончаний в конъюнктиве и регионарных лимфатических узлах.

Клиническая картина разнообразна. Заболевание протекает хронически. Выделяют четыре стадии. В I стадии наблюдают прогрессирование воспалительного процесса, во II - начало регрессивных изменений, а в III и IV - процессы рубцевания роговицы. Относительно более доброкачественно протекает паратрахома. Его возбудители - серовары, вызывающие поражения мочеполового тракта. Трахома с трудом поддаётся лекарственной терапии. Препараты выбора -

сульфаниламиды и тетрациклины - назначаются внутрь и местно. Основа профилактики - санация больных и проведение санитарно-просветительной работы о необходимости соблюдения правил гигиены при контактах с ними.

Венерическая лимфогранулёма (болезнь Николая-Фавра) - венерическое заболевание, характеризующееся развитием лимфаденитов. Регистрируют в странах с тёплым климатом. Возбудители - *S. trachomatis* сероваров L₁, L₂ и L₃, впервые выделенные японским бактериологом И. Миягавой (1935). Инкубационный период длится от 3 сут до 3 нед. I стадия характеризуется образованием очага первичного поражения в паховой области, имеющего вид небольшого пузырька, папулы или эрозии, заживающей через несколько дней. II стадия развивается через 2-6 нед и проявляется мышечными болями, чувством слабости, «разбитости»; возможно повышение температуры. Затем развиваются характерные поражения паховых, тазовых или бедренных лимфатических узлов. В воспалительную реакцию вовлекается прилегающая соединительная ткань; формируются плотные, спаянные с окружающей тканью узлы, сливающиеся в массивную опухоль. Вскоре бубоны вскрываются; образуя долго не заживающие фистулы. При отсутствии адекватного лечения через несколько месяцев или лет узлы уменьшаются в объёме и заболевание переходит в III стадию. Оставшиеся рубцы могут вызвать стойкие нарушения лимфотока, вплоть до развития слоновости с язвами и фистулами в области наружных половых органов и анального отверстия; позднее появляются папилломатозные разрастания, абсцессы. Окружающие ткани склерозируются, что может привести к непроходимости прямой кишки.

Урогенитальный хламидиоз. По клиническим проявлениям хламидийные уретриты и слизисто-гнойные цервициты не отличаются от аналогичных поражений другой этиологии. Их вызывают *S. trachomatis* сероваров D-K. Осложнения включают поражения мочеполовой сферы (эпидидимиты, орхиты, воспаления органов малого таза и др.) и экстрагенитальные поражения. Среди последних наиболее значим синдром Райтера, включающий последовательно появляющиеся уретрит, конъюнктивит (иридоциклит или увеит) и реактивный артрит. Хламидии выделяют у 50% больных синдромом Райтера. Инфекции новорождённых развиваются как следствие заражения при физиологических родах. Могут быть бессимптомными (возбудитель локализуется в носоглотке) или вызывать клинические проявления. Хламидийный конъюнктивит («бленнорея с включениями» новорождённых) проявляется в течение нескольких суток после

рождения. Пневмония развивается в течение первых 3 мес, предположительно, за счёт распространения возбудителя из носоглотки.

Микробиологическая диагностика

Материал для исследований - соскобы (но не мазки!) с конъюнктивы, стенок мочеиспускательного канала, шеечного канала (и его отделяемое), содержимое бубонов, мокрота и др. Материал микроскопируют, применяя фазово-контрастную технику либо окрашивая мазки по Ро-мановскому-Гимзе. Более информативно определение Ag в РИФ с АТ, мечеными флюорохромами. Методы экспресс-диагностики Ag возбудителя: ИФА (выявляет липополисахаридные Ag), гибридизация ДНК и ПЦР. Выделение *S. trachomatis* обычно не проводят, однако исследуемым материалом можно заражать культуры клеток человека или куриные эмбрионы. Выявление АТ в сыворотке крови проводят в РСК. Большой чувствительностью обладает РНГА; высокие титры АТ обычно совпадают с яркими клиническими проявлениями, средние и низкие титры наблюдают на фоне проведения адекватной терапии. Особую ценность представляет ИФА, выявляющий сывороточные IgM и IgG, и позволяющий тем самым распознавать заболевание на начальных стадиях либо на стадии обострения.

Лечение

Основа лечения - курс антибиотикотерапии. Активные препараты ингибируют фолат редуктазу, что приводит к нарушению синтеза белка в микробной клетке. Препараты выбора - тетрациклины и макролиды.

Профилактика

Для предупреждения хламидийных уретритов и вагинитов следует соблюдать правила профилактики заболеваний, передающихся половым путём. Для профилактики инфекций у новорождённых следует выявлять и адекватно лечить беременных. При развитии «конъюнктивита телец включений» ребёнка изолируют и назначают эритромицин внутрь в течение 10-14 сут. Закапывание сульфацил натрия и назначение глазных мазей с эритромицином или тетрациклином обычно мало эффективно.

РИККЕТСИИ

Семейство *Rickettsiaceae* отдела *Gracilicutes* образуют небольшие аэробные полиморфные бактерии. Своё название бактерии получили в честь американского бактериолога Х. Риккетса, погибшего при изучении возбудителя сыпного тифа. Патогенные для человека виды входят в

состав родов *Rickettsia*, *Rochalimaea* и *Coxiella*. Вызываемые ими заболевания известны как риккетсиозы; среди них выделяют группы тифов и пятнистых лихорадок, лихорадку цуцугамуши, Ку-лихорадку и траншейную лихорадку.

Эпидемиология

Естественный резервуар риккетсий - различные членистоногие. У этих животных бактерии обитают в стенке кишечника, не нанося видимого вреда хозяевам. Из стенки кишечника они могут проникать в репродуктивные органы и передаваться трансовариально дочерним поколениям. При попадании в организм «неестественного хозяина» (например, человека) они могут вызвать заболевание. Заражение человека в большинстве случаев происходит через укусы членистоногих-переносчиков. Их биологическая принадлежность (клещи, вши, блохи) положена в основу разделения риккетсий на группы. Лихорадка цуцугамуши и пятнистые лихорадки - эндемичные заболевания; остальные риккетсиозы регистрируют повсеместно. Риккетсии малоустойчивы во внешней среде и чувствительны к действию высоких температур и дезинфектантов. Исключение - возбудитель Ку-лихорадки. В организм человека он проникает как с укусами клещей, так и алиментарным и ингаляционным путями. В отличие от прочих риккетсий он сохраняется при 4 °С в различных субстратах более года, в мясе - около месяца, в масле - до 40 сут. Возбудитель

Ку-лихорадки устойчив к нагреванию до 60-70 °С, действию фенола и формальдегида, но чувствителен к жирорастворяющим агентам - спирту, эфиру и др.

Жизненный цикл

Он имеет две стадии - вегетативную и покоящуюся. В вегетативной стадии микроорганизмы представлены палочковидными, бинарно делящимися и подвижными клетками. Покоящиеся формы - сферические и неподвижные клетки, располагающиеся в клетках членистоногих и теплокровных. В мазках располагаются одиночно, короткими цепочками или в виде отдельных нитей. Риккетсии не растут на питательных средах; для их культивирования используют куриные эмбрионы, фибробласты куриных эмбрионов и культуры клеток млекопитающих. Для дифференцирования различных видов риккетсий учитывают способность размножаться в цитоплазме и/или в ядрах клеток.

Антигенная структура

Группоспецифические Аг риккетсий - ЛПС клеточной стенки, проявляющие свойства эндотоксинов. Э. Вейль и А. Феликс (1916) установили интересную особенность- сходство Аг риккетсий с Аг неподвижных (ОХ-) штаммов *Proteus vulgaris* и способность сыворотки больных риккетсиозами перекрёстно агглютинировать штаммы ОХ₁₉, ОХ₂, и ОХ_к *P. vulgaris*. С этого момента способность сывороточных агглютининов больных риккетсиозами перекрёстно реагировать с различными ОХ-штаммами *P. vulgaris* используют для дифференцирования различных видов риккетсий под названием реакции Вейля-Феликса.

Патогенез поражений

Патогенез включает размножение риккетсий в эндотелиальных клетках капилляров. Процесс может захватить всю толщу сосудистой стенки с её сегментарным или круговым некрозом, что приводит к закупорке сосуда образующимся тромбом и гемодинамическим нарушениям, особенно выраженным в коже. Вокруг поражённых капилляров формируются гранулёмы, образованные полиморфноядерными лейкоцитами, макрофагами и лимфоцитами.

Микробиологическая диагностика

Применяют биологические, серологические и аллергологические методы. Материал для исследований - кровь, взятая из вены больного в ранние сроки лихорадки. Можно использовать цельную, дефибринированную кровь или (лучше всего) сгустки. Материалом заражают культуры клеток или куриные эмбрионы. Важное место в диагностике риккетсиозов занимают биологические методы. Наиболее распространена проба Музера-Нёйла - внутрибрюшинное заражение морских свинок. У животных наблюдают лихорадку, геморрагический некроз различных тканей, у самцов отёк мошонки. В результате животные гибнут. В некоторых случаях внутрибрюшинно заражают мышью (возбудитель обнаруживают в клетках перитонеального экссудата). Наиболее чувствительны серологические методы; наиболее часто применяют реакцию Вейля-Феликса, РСК, РПГА, РИФ и РНИФ.

инфекции, вызываемые риккетсиями РОДА *RICKETTSIA*

Большинство риккетсиозов, вызываемых представителями рода *Rickettsia*, разделяют по типу членистоногого-переносчика и характеру типичных поражений. Исключение - лихорадка цугамуши - заболевание, сохранившее традиционное название.

Возбудители вшиво-блошиных сыпных тифов

Основные переносчики возбудителей - вши и блохи.

Возбудитель эпидемического сыпного тифа

Эпидемический (или вшинный) сыпной тиф - острая инфекция, характеризующаяся лихорадкой, сильной интоксикацией и поражением капилляров с появлением розеолезно-папулезной сыпи. Первое описание заболевания принадлежит Фракасторо (1546). Инфекционную природу эпидемического сыпного тифа доказал О.О. Мочутковский (1876) в опыте с самозаражением. Возбудитель - *R. prowazekii*; бактерии впервые выделили Х. Риккетс (1909) и С. Провацек (1913).

Эпидемиология. Заболевание распространено повсеместно. Резервуар возбудителя - больной человек; переносчик - платяная вошь. Платяная вошь (*Pediculus humanus*) заражается при сосании крови больного. Риккетсии проникают в эпителий кишечника вши, где и размножаются. Выход дочерних популяций сопровождается гибелью клеток кишечника и попаданием огромного числа бактерий в его просвет. Перед очередным кро-вососанием вши опорожняют кишечник и риккетсии попадают на кожные покровы. Расчёсывая место укуса человек втирает риккетсии в ранку на месте укуса.

Морфология возбудителя. *R. prowazekii* - мелкие палочки 0,3-0,6x0,8-3 мкм. В мазках располагаются одиночно или скоплениями. Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями.

Патогенез и клинические проявления. Возбудитель размножается в эндотелии кровеносных сосудов; продолжительность инкубационного периода составляет 7-14 дней. Для клинической картины характерны лихорадка, сильная головная боль, миалгия, сыпь. Отмечают гиперемии кожи лица и верхней части тела. Возможны поражения ЦНС и сердечно-сосудистой системы. В составе сыпнотифозных гранулём риккетсии Про-ваецка могут десятилетиями сохраняться в организме реконвалесцентов, а при нарушениях иммунного статуса вызывать рецидивы. После выздоровления развивается стойкая невосприимчивость к повторным заражениям.

Микробиологическая диагностика. Применяют общие подходы к выделению и идентификации риккетсий. *R. prowazekii* размножаются только в цитоплазме заражённых клеток. Реакция Вейля-Феликса - ОХ₁₉⁺; ОХ_к⁻ (то есть сыворотка больного агглютинирует штамм *R. vulgaris* ОХ₁₉ и не агглютинирует штамм ОХ_к). При незначительном содержании возбудителя проводят искусственное заражение платяных вшей, в желудках которых риккетсии активно размножаются. После выкармливания вшей на больном человеке инфекцию воспроизводят на чувствительном животном. Лечение и профилактика. Основу составляет антибиотикотерапия. Препараты выбора тетрациклины, макролиды. В предупреждении заболевания основное значение имеют мероприятия, направленные на борьбу с педикулёзом. Для специфической профилактики по эпидемическим показаниям предложены живая аттенуированная вакцина, живая комбинированная вакцина (дополненная Аг риккетсий) и химическая вакцина из Аг клеточной стенки.

Болезнь Брилля-Цинссера (спорадический сыпной тиф)

Спорадический сыпной тиф - рецидив эпидемического сыпного тифа, обусловленный реактивацией риккетсий Проваецка в сыпнотифозных гранулёмах. Характерны эпизодический характер (обычно при отсутствии педикулёза), стёртая клиническая картина, трудность выделения возбудителя из крови и наличие выраженных положительных серологических реакций с Аг риккетсий Проваецка. Диагностика и лечение аналогичны таковым при сыпном тифе.

Возбудитель эндемического (крысиного) сыпного тифа

Эндемический сыпной тиф - острое инфекционное заболевание, проявляющееся лихорадкой, артралгиями и пятнисто-папулезной сыпью. Возбудитель заболевания, *R. typhi*, морфологически сходен с *R. prowazekii* и имеет общие с ней Аг. Заболевание регистрируют повсеместно в эндемичных очагах, обычно портовых городах стран с тёплым климатом. Резервуар возбудителя - крысы и мыши, переносчики - блохи, крысиные вши и клещ. В организм человека возбудители попадают через укусы переносчиков. Возможно попадание риккетсий с испражнениями на слизистые оболочки глаз, верхних дыхательных путей, а также алиментарным путём - через продукты, загрязнённые мочой больных грызунов. Продолжительность инкубационного периода 5-15 сут; заболевание начинается остро с головной боли, озноба, болей в суставах, за которыми следует подъём температуры тела. У 50% больных отмечают увеличение печени и селезёнки. Поражения ЦНС и сердечно-сосудистой системы выражены слабо. После выздоровления развивается стойкая невосприимчивость к повторным заражениям, а наличие общих Аг с *R. prowazekii* обуславливает развитие перекрёстной невосприимчивости к возбудителям обоих заболеваний. При проведении микробиологической диагностики применяют общие подходы выделения и идентификации риккетсий. *R. typhi* размножаются только в цитоплазме заражённых клеток. Основу диагностических мероприятий составляют серологические методы. Реакция Вейля-Феликса - ОХ₁₉⁺; ОХ_к⁻. Специфические АТ выявляют в РСК, РПГА, ИФА с использованием Аг *R. typhi*. Принципы проводимого лечения аналогичны таковым при сыпном тифе. Основа профилактических мероприятий - борьба с грызунами, предупреждение их завоза прибывающими судами, защита пищевых продуктов от

загрязнения мочой крыс. По эпидемическим показаниям проводят иммунопрофилактику убитой вакциной.

Группа клещевых пятнистых лихорадок

Пятнистые лихорадки образуют группу заболеваний. Основная особенность пятнистых лихорадок - появление высыпаний на кожных покровах.

Возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых гор и бразильского сыпного тифа

Возбудитель - *R. rickettsii*, открытый Х. Риккетсом. Заболевания эндемичны для некоторых районов Северной и Южной Америки и известны как пятнистая лихорадка Скалистых Гор и бразильский сыпной тиф (сыпной тиф Сан Пауло). Резервуар возбудителя - клещи и грызуны, на которых клещи паразитируют. Переносчики - иксодовые клещи родов *Dermacentor*, *Amblyomma*, *Ixodes* и *Rhinoceros* (возможна трансвариальная передача). Личинки клещей нападают на грызунов, взрослые особи - на крупных животных и человека. Пик заболеваемости приходится на летние месяцы. Длительность инкубационного периода составляет 2-14 сут; заболевание может начинаться постепенно или внезапно с головной боли, светобоязни, миалгий и рвоты. Лихорадка длится 3-4 нед, температура обычно не превышает 39 °С. На 2-4-е сутки болезни появляется петехиальная сыпь, начиная с конечностей и распространяясь по всему телу, включая волосистую часть кожи головы, слизистую оболочку рта и веки. Поражения ЦНС и сердечно-сосудистой системы обычно незначительны; сознание может сохраняться даже в смертельных случаях. В нелечённых случаях смертность - 35%; особенно злокачественно протекает южно-американский вариант заболевания. После выздоровления развивается стойкая невосприимчивость к повторным заражениям. Основа микробиологической диагностики - бактериологический и серологический методы. Возбудитель выделяют заражением культур клеток, куриных эмбрионов или самцов морских свинок кровью больных. *R. rickettsii* размножаются в цитоплазме и ядрах заражённых клеток. Для выявления сывороточных АТ применяют реакции Вейля-Феликса (ОХ₁₉+; ОХ₂+), РСК, РПГА, ИФА. Основа профилактики - соблюдение мер личной защиты от нападений клещей. Для специфической профилактики по эпидемическим показаниям применяют вакцины.

Возбудитель марсельской лихорадки

Возбудитель - *R. conorii*, впервые обнаружен Э. Брумтом (1932). Заболевание эндемично в бассейнах Средиземного, Чёрного и Каспийского морей, а также в Кении и Индии. Резервуар возбудителя - собачий клещ *Rhinoceros sanguineus* (возможна трансвариальная передача) и собаки. Переносчик - *R. sanguineus*. Для заболевания характерен первичный аффект («чёрное пятно») в месте укуса клеща, имеющий вид красноватого инфильтрата, покрытого тёмной корочкой. Продолжительность инкубационного периода составляет 5-7 сут. Заболевание начинается остро с озноба и подъёма температуры до 39-40 °С. Сопровождается миалгиями, артралгиями и головной болью. Длительность лихорадки 10-14 сут. На 3-4-е сутки появляется пятнисто-папулёзная сыпь, быстро распространяющаяся по всему телу. Течение заболевания доброкачественное, без рецидивов. Основа микробиологической диагностики - микробиологические, биологические и серологические методы. В течение всей болезни *R. conorii* циркулирует в крови; возбудитель можно обнаружить в месте первичного аффекта и кожных высыпаниях. Для выделения *R. conorii* проводят заражение культур клеток, куриных эмбрионов и морских свинок. Гибель эмбрионов наблюдают на 4-5-е сутки. Внутрибрюшинное заражение самцов морских свинок вызывает развитие периорхита. *R. conorii* размножается в ядрах клеток. Групповую принадлежность возбудителя уточняют в реакции Вейля-Феликса (ОХ₁₉+; ОХ₂+). Для выявления сывороточных АТ применяют РСК со специфическими диагностикумами.

Основа лечения - антибиотики (тетрациклины, макролиды). Для профилактики заболевания в эндемичных очагах необходимо уничтожать бродячих собак, а также 1 раз в 2 мес проводить обработку домашних собак и дезинсектировать дворы.

Возбудитель сибирского риккетсиоза (клещевой сыпной тиф Северной Азии)

Возбудитель - *R. sibirica*; выделен П.Ф. Здродовским и Е.М. Голинёвич (1949). Заболевание регистрируют в Сибири, некоторых районах Средней Азии, на Дальнем Востоке. *Переносчики - клещи родов Dermacentor (D.nuttati, D. silvarum и др.) и Haemaphysalis (H. concinna, H. punctata). Резервуар возбудителя - клещи (возможна трансвариальная передача) и различные мелкие грызуны.* В месте укуса клеща развивается первичный аффект, имеющий вид небольшого плотного инфильтрата, покрытого коричневой корочкой и окружённого зоной гиперемии. Появление первичного аффекта сопровождается развитием лимфаденита. Длительность инкубационного периода составляет 2-7 сут. Заболевание может начинаться остро, либо ему предшествует продромальный период (1-2 сут) в виде общего недомогания, слабости и болей в мышцах. На 3-4-е сутки развивается лихорадка; температура тела достигает 40 °С и выше. На 2-5-е сутки появляется полиморфная розеолезно-папулёзная сыпь, чаще на спине, груди и внутренних сторонах конечностей. Прогноз благоприятный. Основа микробиологической диагностики - бактериологический и серологические методы. Для выделения *R. sibirica* проводят заражение культур клеток, куриных эмбрионов и морских свинок. *R. sibirica размножается в ядрах заражённых клеток.* Идентификацию возбудителя проводят в РН с антисыворотками. Групповую принадлежность возбудителя уточняют в реакции Вейля-Фёликса (ОХ₁₉₊, ОХ₂₊). Для выявления сывороточных АТ применяют РСК, РПГА со специфичными диагностикумами. Основа лечения - применение антибиотиков (макролиды, тетрациклины и др.). Способы специфической профилактики отсутствуют, общая профилактика основана на соблюдении мер индивидуальной защиты от нападения клещей и уничтожение их во внешней среде.

Возбудитель северо-австралийского клещевого риккетсиоза

Возбудитель - *R. australis*. *Резервуар возбудителя - клещи (возможна трансвариальная передача) и мелкие грызуны. Переносчик - клещ Ixodes holocyclus.* Вспышки спорадически наблюдают в Северном Куинсленде (Австралия). В месте укуса клеща развивается первичный аффект в виде небольшого плотного инфильтрата, покрытого коричневой корочкой и окружённого зоной гиперемии. Продолжительность инкубационного периода составляет 7-10 сут. Заболевание может начинаться остро или с предшествующего продромального периода (1-2 дня) в виде общего недомогания, слабости и болей в мышцах. На 2-3-е сутки быстро развивается лихорадка; температура достигает 37-38 °С. На 2-5-е сутки появляется полиморфная сыпь, покрывающая всё тело. Прогноз благоприятный. Принципы микробиологической диагностики аналогичны проводимым для идентификации *R. sibirica*. *R. australis размножается в ядрах заражённых клеток.* Реакция Вейля-Фёликса - ОХ₁₉₊; ОХ₂₊.

Возбудитель осповидного (везикулярного) риккетсиоза

Заболевание вызывает *R. akari*, обнаруженная Р. Хюбнером с соавторами (1946) и, независимо, В.М. Ждановым и С.М. Кулагиным (1950). Регистрируют в США, южной Европе и центральной Африке. *Резервуар возбудителя - мыши и крысы. Переносчик - клещ Allodermanyssus sanguineus.* В месте укуса клеща развивается первичный аффект, сначала имеющий вид пузырька, позднее изъязвляющегося с образованием чёрного струпа. Его появление обычно сопровождается регионарным лимфаденитом. Инкубационный период длится 1-2 нед. На 2-3-и сутки развивается лихорадка; температура тела достигает 39-40 °С. Лихорадка продолжается около 1 нед с последующим литическим снижением температуры тела. На 2-3-и сутки появляется полиморфная папулёзно-везикулярная сыпь. Локализация сыпи разнообразна, однако она никогда не появляется на ладонях и подошвах. Прогноз благоприятный. Основа микробиологической диагностики - бактериологические и серологические методы. Для выделения возбудителя кровью больных

заражают морских свинок и мышей (у последних развивается характерный перитонит). *R. akari* размножается в ядрах заражённых клеток. Дифференциальный признак - отрицательная реакция Вейля-Феликса. Сывороточные АТ выявляют в РСК со специфическим диагностикумом. Для лечения применяют антибиотики (макролиды, тетрациклины и др.). Специфическую иммунопрофилактику не проводят; общая профилактика основана на уничтожении грызунов и паразитирующих на них клещей во внешней среде.

Возбудитель лихорадки цуцугамуши

Цуцугамуши (краснотелково-клещевая лихорадка) - острый риккетсиоз с выраженными поражениями ЦНС. Возбудитель обнаружен Н. Хаяши и соавт. (1920) и описан М. Нагайо (1930). В настоящее время заболевание регистрируют в Восточной и Юго-Восточной Азии, Австралии, Приморском крае РФ и других регионах. Возбудитель - *R. orientalis*. Резервуар возбудителя - клещи-краснотелки рода *Trombicula* (возможна трансвариальная передача) и некоторые грызуны. Переносчики - личинки различных видов клещей-краснотёлок. В месте укуса клеща у 60-100% больных выявляют первичный аффект в виде плоской язвы диаметром 0,32 см. Язва может быть покрыта тёмной корочкой, окружена зоной гиперемии и часто сопровождается лимфаденитом. Аффект чаще выявляют на верхней части тела - в 65% случаев на руках, туловище и затылке. Инкубационный период составляет от 7-10 до 12-18 сут. Заболеванию предшествует продромальный период в виде общего недомогания. На 3-4-и сутки развивается острая лихорадка, продолжающаяся 2-3 нед. К концу 1-й недели наблюдают пятнисто-папулёзную сыпь, сначала на груди и животе, а затем на туловище и конечностях. Поражения ЦНС проявляются упорными головными болями, реже - симптомами энцефалита с сопутствующими нервно-психическими расстройствами (в тяжёлых случаях). У 50% больных отмечают умеренное увеличение селезёнки. Основа микробиологической диагностики - бактериологический и серологические методы. Для выделения возбудителя кровью больных заражают культуры клеток, куриные эмбрионы и белых мышей. Бактерии размножаются только в цитоплазме; реакция Вейля-Феликса - ОХ₁₉-, ОХ₂-, ОХ_к+. Сывороточные АТ выявляют в РСК со специфическими диагностикумами из нескольких штаммов *R. orientalis*. Для лечения применяют антибиотики (макролиды, тетрациклины и др.). Проведение специфической профилактики ограничивает антигенная разнородность штаммов возбудителя. Убитые, живые или химические вакцины не дают 100% защитного эффекта. Общие мероприятия включают уничтожение клещей и мест их выплода - зарослей кустарников (другое название болезни - кустарниковый тиф) и соблюдение мер индивидуальной защиты.

ИНФЕКЦИИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ РЕККЕСИЯМИ РОДА *COXIELLA*

Риккетсии рода *Coxiella* способны образовывать споровидные формы, длительно сохраняющиеся на объектах внешней среды. Поэтому заражение человека в большинстве случаев происходит воздушно-пылевым путём, реже при укусе членистоногого-переносчика.

Возбудитель Ку-лихорадки

Ку-лихорадка (Q-лихорадка, от англ. *queer*, странный, необычный) - зоонозная инфекция; у человека протекает как острое лихорадочное заболевание с преимущественным поражением дыхательного тракта. Как отдельное заболевание впервые описана Дерриком в 1935 г. в Южном Куинсленде (Австралия). Заболевание регистрируют повсеместно, особенно в районах с развитым животноводством. Возбудитель заболевания, *Coxiella burnetii*, впервые выделил американский бактериолог Х. Кокс (1938). Риккетсии рода *Coxiella* представлены палочковидными клетками 0,2-0,4x0,4-1 мкм (рис. 25-2). Образуют споровидные формы, обеспечивающие устойчивость к высоким температурам и высушиванию. Резервуар возбудителя - клещи (возможна трансвариальная передача), грызуны, птицы и домашние животные (рогатый скот). Переносчики - иксодовые, аргасовые и гамазовые клещи. Основной путь заражения человека - ингаляционный. Инкубационный период варьирует от 10 до 26 сут. На 2-3-и сутки начинается лихорадка - температура достигает 39-40 °С. Продолжительность лихорадочного

периода составляет около 3 нед. Кожные высыпания обычно отсутствуют. Типичны ретробульбарные и головные боли, артралгии и миалгии. Особенно характерны пневмонии, развивающиеся при ингаляции возбудителя. Образующиеся в лёгких инфильтраты сохраняются и в раннем периоде реконвалесценции. Осложнения наблюдают редко, чаще при хронизации инфекции. Наиболее часто выявляют мио-, эндо- и перикардиты, особенно у лиц с клапанными патологиями (включая лиц с протезированными клапанами). Возбудитель способен вызывать оппортунистические инфекции у лиц с иммунодефицитами, в том числе у принимающих стероиды. После выздоровления развивается стойкая невосприимчивость к повторным заражениям.

Микробиологическая диагностика

Микробиологическая диагностика имеет решающее значение, так как вариабельность клинической картины затрудняет распознавание болезни. Применяют подходы, общие для диагностики прочих риккетсиозов. Кокциеллы размножаются на культурах клеток и в куриных эмбрионах. Для выделения кокциелл кровью больных внутрибрюшинно заражают морских свинок; идентификацию возбудителя проводят по морфологическим и биологическим признакам. *Кокциеллы размножаются преимущественно в вакуолях и фаголизосомах клеток.* Дифференциальный признак - отрицательная реакция Вейля-Феликса. Сывороточные АТ выявляют в РСК, РПГА, РА, ИФА со специфическими диагностикумами в парных сыворотках. РПГА выявляет короткоживущие, а РСК - долгоживущие АТ. Кожные аллергические пробы проводят внутри-кожным введением 0,1 мл взвеси убитых и очищенных бактерий. Реакция проявляется через 24-40 ч и бывает положительной уже с 3-7-х суток болезни.

Лечение и профилактика

Принципы лечения Ку-лихорадки аналогичны прочим риккетсиозам. Средства специфической профилактики отсутствуют. Общие меры предупреждения заболевания аналогичны таковым при бруцеллёзе.

ИНФЕКЦИИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ РИККЕТСИЯМИ РОДА *rochalimaea*

Риккетсии рода *Rochalimaea* - короткие грамотрицательные палочки размером 0,2-0,5x1,0-1,6 мкм. Своё название получили в честь основоположника учения о риккетсиозах бразильского бактериолога *да Рдха-Лйма*. *В заражённых клетках размножаются преимущественно в вакуолях.*

Реакция Вейля-Феликса отрицательна. *Рохалимеи могут расти на искусственных средах.* На 12-14-е сутки культивирования при 37 °С образуют круглые слизистые колонии 0,1-0,2 мм в диаметре. Бактерии высокоустойчивы к физическим и химическим агентам, при 80 °С выживают в течение 20 мин. В высохших испражнениях сохраняются несколько месяцев.

Траншейная лихорадка (болезнь Вернера-Хисса)

Заболевание описано под названием «молдаво-валахской» или «волынской лихорадки» в период русско-турецкой войны 1877-1878 гг. В современную инфекционную патологию заболевание вошло во время первой Мировой войны; болезнь получила наиболее популярное название - траншейная, иликопная, лихорадка. Возбудитель - *Rochalimaea quintana* - выделил К. Хёпфер (1916). *Резервуар инфекции - больной человек* (возможно длительное носительство). *Переносчик - платяная вошь.* Механизмы заражения аналогичны таковым при

сыпном тифе. Заболевание распространено в очагах педикулёза; в местах скопления большого количества людей могут наблюдаться эпидемические вспышки. Инкубационный период продолжается около 2 нед; болезнь развивается остро на фоне общего недомогания и головной боли. Наиболее типичный признак - лихорадка (температура может достигать 39-40 °С) и сыпь (в виде ограниченных розеол). Со стороны нервной системы отмечают головные боли, артралгии и миалгии, особенно в икроножных мышцах (отсюда «тибиальная» лихорадка). У 50-100% пациентов отмечают увеличение селезёнки. Длительность заболевания - 3-5 нед, прогноз благоприятный. Невосприимчивость к последующим заражениям нестойкая. Основа микробиологической диагностики - бактериологический и серологический методы. Проводят посев крови больного на питательные среды. Сывороточные АТ определяют в РА, РСК и РПГА. Лечение - антибиотики (тетрациклины, макролиды) и симптоматические средства. Средства специфической иммунопрофилактики отсутствуют. Основу предупреждения заболевания составляет ликвидация вшивости.

Болезнь «кошачьих царапин» (гранулёма Моллара)

Возбудитель - *R. henselae*. Заболевание распространено повсеместно; обычно возникает после кошачьего укуса или царапин. Характерны медленно заживающие повреждения, регионарный лимфаденит, лихорадка; в большинстве случаев заболевание спонтанно разрешается в течение нескольких месяцев. В некоторых случаях наблюдают осложнения со стороны ЦНС (энцефаломенингиты, парезы), дыхательных путей (пневмонии), печени и селезёнки (гепатоспленомегалия, печёночная пурпура). Осложнения наиболее часто связаны с дефектами иммунного реагирования. Особую группу риска составляют больные со СПИДом. У них высок риск развития осложнений, усугубляемых бациллярным ангиоматозом и псевдонеоплазиями. Принципы диагностики заболевания аналогичны таковым при распознавании волынской лихорадки.

ГЛАВА 24. МИКОПЛАЗМЫ

Микоплазмы - мелкие прокариоты, лишённые истинной клеточной стенки и не способные синтезировать её компоненты. Функции клеточной стенки выполняет трёхслойная ЦПМ. Поэтому микоплазмы относят к отряду *Tenericutes* (буквально «нежнокожие») семейства *Mycoplasmataceae* класса *Mollicutes* (буквально «мягкокожие»), объединяющего микоплазмы, ахлеплазмы, спиролазмы, анаэроплазмы и уреоплазмы. Микоплазмы отличаются полиморфизмом, обусловленным отсутствием ригидной клеточной стенки. Бактерии образуют кокковидные, ветвящиеся, крупные многоядерные формы, а также псевдомицелий, обуславливающий их название [от греч. *mykes*, гриб, + *plasma*, нечто имеющее форму]. Размножаются бинарным делением, подобно большинству бактерий, особенно после образования мелких кокковидных образований (элементарные тельца, ЭТ) в нитевидных структурах. Способны к почкованию и сегментации. Минимальной репродуцирующей единицей считают ЭТ (0,70,2 мкм). Основным компонентом клеточной мембраны - холестерин. Микоплазмы не способны к образованию холестерина и утилизируют его из тканей или питательных сред, дополненных их внесением. По Граму окрашиваются отрицательно, но лучшие результаты даёт окраска по Романовскому-Гимзе. Требовательны к условиям культивирования: в питательные среды необходимо вносить нативную сыворотку, холестерин, нуклеиновые кислоты, углеводы, витамины и различные соли. На плотных средах образуют характерные мелкие полупрозрачные колонии с приподнятым зернистым центром, придающим им вид «яичницы-глазуньи» (рис. 24-1). На средах с кровью некоторые виды дают α- и γ-гемолиз. В полужидких средах растут по линии укола, формируя дисперсные, крошковатые колонии. В жидких средах приводят к незначительному помутнению или опалесценции; некоторые штаммы способны образовывать тончайшую жирную плёнку. У человека выделяют представителей родов *Mycoplasma*, *Ureaplasma* и *Acholeplasma*, включающих патогенные и сапрофитические виды.

Возбудитель респираторного микоплазмоза

Возбудители поражений дыхательной системы - первые микоплазмы с установленной патогенностью. Впервые их обнаружили Нокар, Ру и Борёлль (1893-1898) при контагиозной перипневмонии крупного рогатого скота. Все возбудители сходных поражений были объединены в группу PPLO [от англ. *pleuropneumonia-like organisms*]. Возбудитель аналогичных поражений у человека был выделен М. Итоном от больного атипичной пневмонией (1944). Длительное время возбудитель был известен как агент Итона; в 1962 г. он был иден-

тифицирован как *Mycoplasma pneumoniae*. Большой вклад в изучение респираторного микоплазмоза внесли исследования В.Д. Тимако-ва и С.В. Прозоровского.

Эпидемиология

Резервуар возбудителя - больной человек; основной путь передачи - воздушно-капельный. Заболевание регистрируют повсеместно. К заражению наиболее чувствительны подростки в возрасте 5-15 лет. В то же время у детей младше 6 мес инфекции выявляют редко. Заболевание обычно регистрируют в виде спорадических эпидемий в семьях и закрытых контингентах. Пик заболеваемости - конец лета и первые осенние месяцы.

Морфология

M. pneumoniae - короткие нитевидные бактерии 2-5 мкм длиной, обладающие «скользящей подвижностью». На питательных средах дают видимый рост на 5-10-е сутки. Для формирования характерных колоний типа «глазуньи» необходимо несколько пересевов.

Антигенная структура

У *M. pneumoniae* выявлен группоспецифический Аг, типоспецифические Аг отсутствуют.

Факторы патогенности

Основные факторы патогенности: микрокапсулы, адгезины, экзо- и эндотоксины и гемолизины. Микрокапсулы и поверхностные Аг, перекрёстно реагирующие с Аг тканей организма, позволяют возбудителю избегать микробицидных эффектов фагоцитов. Адгезины обуславливают взаимодействие с клетками хозяина, что имеет ведущее значение в развитии начальной фазы инфекционного процесса. Эндотоксин *M. pneumoniae* проявляет пирогенный эффект, вызывает тромбгеморрагические поражения, коллапс и отёк лёгких. Бактерии также проявляют гемолитическую активность, обусловленную синтезом суперок-

- Гемолитическая анемия - следствие гемолитического действия перекисей и способности *M. pneumoniae* индуцировать синтез холодовых АТ. У 50% больных выявляют аутоантитела, перекрёстно реагирующие с мембранными Аг микоплазм и 1д-Аг эритроцитов (Аг I класса). Внутрисосудистый гемолиз приводит к расстройству микроциркуляции, появлению точечных геморрагий на коже, в ткани лёгкого и развитию геморрагических плевритов.

- Поражения ЦНС обусловлены способностью возбудителя проникать через ГЭБ и вызывать местные воспалительные реакции, а также действием аутоантител.

Клинические проявления

Респираторный микоплазмоз может протекать в виде ограниченной инфекции верхних дыхательных путей или по типу пневмонии. Инфекции верхних дыхательных путей протекают мягко и в большинстве случаев самопроизвольно ограничиваются. Клиническая картина микоплазменной пневмонии обычно менее тяжёлая (по сравнению с другими бактериальными пневмониями) и протекает по типу атипичной или «ходячей» пневмонии. Наиболее часто

отмечают ин-терстициальные и очаговые поражения; реже - сегментарные, долевые или смешанные. Вне-респираторные проявления включают гемолитическую анемию, менингиты, периферические поражения, мио- и эндокардиты, реактивные артриты и др.

Микробиологическая диагностика

Применяют бактериологические и серологические методы. Материал для исследований - слизь из глотки, мокрота, плевральный выпот, биоптаты лёгочной ткани. Аг возбудителя в исследуемом материале выявляют с помощью РИФ, РПГА, ИФА и др. Выделение возбудителя проводят посевом на питательные среды. Определяют морфологию колоний, способность к гемадсорбции и гемолизу. Колонии можно идентифицировать методом иммунного связывания, иммунофлюоресценции отпечатков колоний, реакцией торможения роста и др. Для выявления АТ в парных сыворотках применяют РСК со специфическим диагностикумом; четырёхкратное увеличение титра в динамике или выявление отдельных высоких титров АТ свидетельствует о заболевании. В единичных пробах диагностически достоверным считают титр 1:64 и выше или наличие IgM в титре 1:128. Определённую информацию даёт определение холодовых АТ в РА О+-эритроцитов. Современные методы диагностики - метод гибридизации ДНК и ПЦР.

Лечение и профилактика

При микоплазменной пневмонии эффективно применение макролидов и тетрациклинов. Средства специфической профилактики находятся на стадии разработки. Неспецифические методы аналогичны таковым при респираторных вирусных инфекциях.

Возбудители урогенитального микоплазмоза

В группу урогенитальных микоплазм входят *M. genitalium* (этиологическая роль требует выяснения), *M. hominis*, *M. fermentans* и *Ureaplasma urealyticum*. Резервуар возбудителя - человек (больные и бессимптомные носители). Основной путь заражения - половой. Заболеваемость коррелирует с половой активностью.

Mycoplasma hominis

M. hominis - короткие неподвижные нитевидные бактерии длиной 2-5 мкм, не проявляющие гемолитической активности. Хорошо растут на средах, применяемых для культивирования микоплазм. Несмотря на большую вариабельность размеров колоний *M. hominis*, морфологически они не отличаются от колоний прочих микоплазм.

Патогенез и клинические проявления. *M. hominis* инфицирует преимущественно половые органы, вызывая деструктивно-воспалительные процессы с выраженными нарушениями микроциркуляции. Возбудитель также выделяют при патологии мочевыводящих путей, особенно при пиелонефритах, циститах и гломерулонефритах. У мужчин преимущественно вызывает уретриты и простатиты. У женщин *M. hominis* вызывает вагиноз, уретриты, цервициты и воспалительные поражения органов малого таза. Особую опасность представляет урогенитальный микоплазмоз беременных, так как он может стать причиной привычного невынашивания беременности, преждевременных родов, внутриутробного заражения плода или приводить к развитию послеродового сепсиса.

- Одна из причин прерывания беременности на ранних сроках - способность *M. hominis* колонизировать эндометрий и плодное яйцо и индуцировать синтез простагландинов и других метаболиты арахидоновой кислоты.

- Инфицирование на более поздних сроках сопровождается формированием очага инфекции в околоплодных водах с последующими поражением базальной пластины и отторжением плода. В ряде случаев после накопления микоплазм в околоплодных водах возможно

заражение плаценты и пупочного канатика, что приводит к инфицированию плода через систему кровоснабжения.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования - отделяемое из мочеиспускательного канала, влагалища, слизь из канала шейки матки и др. Возбудитель можно идентифицировать в мазках с помощью РИФ. После выделения культуры идентификацию *M. hominis* проводят в реакции ингибирования роста. Для обнаружения сывороточных АТ наиболее пригодны РПГА и бактерицидный сывороточный тест.

Mycoplasma fermentans

Наиболее часто *M. fermentans* (штамм *incognitis*) выделяют при нефропатиях у ВИЧ-инфицированных пациентов. *M. fermentans* разлагает углеводы и вызывает сдвиг рН мочи в кислую сторону, что приводит к деструкции эпителия канальцев почек. Инфекции сопровождаются образованием АТ к IgG (за счёт связывания Fc-фрагментов), то есть ревматоидного фактора, участвующего в повреждении клеток. У возбудителя выявлен токсический фактор - причина шока и гибели животных после внутрибрюшинного введения большой дозы микоплазм. Подобно прочим урогенитальным микоплазмам, *M. fermentans* играет важную роль в андрологической и акушерско-гинекологической патологии. *M. fermentans* принадлежит особая роль в развитии хронического пиелонефрита. Клиническую картину моноинфекций характеризуют высокая активность патологического процесса, непрерывное рецидивирование и отсутствие стойкого эффекта от проводимой терапии.

Ureaplasma urealyticum

U. urealyticum первоначально входила в группу Т-микоплазм, названных вследствие способности образовывать мелкие [англ. *tiny*, маленький] колонии, не превышающие в диаметре 1030 мкм. Морфология, ультраструктура и способы размножения сходны с другими микоплазмами. Оптимальная температура 36,5-37 оптимальный рН 6,5-7,0. При незначительном защелачивании среды клетки быстро погибают. Уреаплазмы инертны к сахарам, не восстанавливают диазокрасители, каталаза-отрицательны. Проявляют р-гемолитическую активность по отношению к эритроцитам кролика и морской свинки. Секретируют фосфолипазы А₁, А₂, С, а также протеазы, селективно действующие на молекулы IgA. *Отличительная особенность - потребность в мочевины и холестерине.*

Культуральные свойства. В жидких питательных средах растут плохо; предпочтителен посев на плотные обогатённые среды. Для роста нуждаются в создании газовой среды, включающей 5% CO₂ и 95% N₂ либо 5% O₂, 10% CO₂ и 85% N₂.

Антигенная структура. В настоящее время выделяют 16 сероваров, разделённых на 2 группы (А и В). Основные антигенные детерминанты - поверхностные полипептиды. Серологическое типирование не нашло широкого распространения, так как многие серовары перекрёстно реагируют с антисыворотками и от одного пациента можно выделить микроорганизмы различных сероваров.

Клинические проявления. У мужчин *Ureaplasma urealyticum* вызывает уретриты и уреаплазменные простатиты. У женщин инфекция обычно протекает стёрто; обострения могут провоцироваться присоединившимися инфекциями. Проникновение возбудителя в верхние отделы женской половой системы предположительно реализуется через сперматозоиды (носители уреаплазм). В подобных ситуациях возможно нарушение фертильной функции; колонизация эндометрия часто приводит к самопроизвольным абортam. Проникновение уреаплазм в более глубокие отделы мочеполового тракта вызывает серьёзные осложнения, например острый уретральный синдром. Доказана роль уреаплазм в развитии мочекаменной болезни,

обусловленной хроническим воспалением мочевыводящих путей и действием бактериальной уреазы.

Микробиологическая диагностика. Особенности метаболизма уреоплазм позволяют легко дифференцировать их от прочих микоплазм по способности секретировать уреазу. В настоящее время метод определения уреазной активности (образование аммиака из мочевины) - основной способ диагностики уреоплазмозов.

Лечение и профилактика. Препараты выбора - тетрациклины, макролиды и фторхинолоны. Профилактика урогенитальных микоплазмозов аналогична методам предупреждения прочих венерических заболеваний.

Возбудители микоплазменных артритов

Показана способность многих патогенных микоплазм вызывать суставные поражения у человека. В частности, известны «артритогенные» штаммы *M. pneumoniae* и *M. hominis*, часто поражающие детей. Патогенез суставных поражений во многом связан со способностью микоплазм запускать аутоиммунные процессы, а также длительно персистировать в организме и накапливаться в суставных хрящах и костном мозге. Эти органы часто представляют своеобразное «депо» возбудителя и источник реинфекций. Механизм формирования суставной патологии сложен и обусловлен следующими факторами. Повреждение суставных тканей способны индуцировать АТ, перекрёстно реагирующие с Аг тканей организма (например, АТ к Аг *M. arthritidis* и хондроцитам). Аутоиммунопатология может развиваться при повреждении целостности хрящевой ткани и обнажении «скрытых» клеточных Аг. Стимулирующее действие микоплазм на иммунокомпетентные клетки может приводить к аккумуляции Т- и В-лимфоцитов на территории сустава; митогенный эффект может приводить к нарушению субпопуляционного состава, стимулируя супрессорные или цитотоксические реакции или чрезмерное образование АТ, связанное с образованием ревматоидных факторов.

ГЛАВА 25. СПИРОХЕТЫ

Спирохеты (семейство *Spirochaetaceae* [от греч. *speira*, спираль, + *chaite*, волос]) относят к отряду *Gracilicutes* порядка *Spirochaetales*. Спирохеты - тонкие, подвижные, спирально завитые бактерии длиной 3-500 мкм. В мазках располагаются одиночно либо образуют цепочки, объединённые внешней оболочкой. Клетки состоят из протоплазматического цилиндра, переплетённого с одной или более осевыми фибриллами, отходящими от субтерминальных прикрепительных дисков, расположенных на обоих концах цилиндра (что сближает их с простейшими). Медицинское значение имеют представители родов *Treponema*, *Borrelia* и *Leptospira*. Бактерии различных родов существенно различаются по тинкториальным свойствам; некоторые хорошо окрашиваются анилиновыми красителями (например, *Borrelia recurrentis*), другие требуют специальных методов окраски.

ТРЕПОНЕМЫ

Род *Treponema* относят к отряду *Gracilicutes* порядка *Spirochaetales* семейства *Spirochaetaceae*. Трепонемы [от греч. *trepo*, вращаться, + *nema*, нить] - туго закрученные в правильные или неправильные спирали подвижные бактерии длиной 5-20 мкм. Грамотрицательны, но плохо воспринимают анилиновые красители. Хемоорганотрофы, метаболизм бродильный (с утилизацией аминокислот и/или углеводов); анаэробы или микроаэрофилы; каталаза-, уреаз- и окси-даза-отрицательны; реакция Фбгеса-Проскауэра отрицательная; не восстанавливают нитраты. Патогенными для человека свойствами обладают *Treponema pallidum* (подвиды *pallidum*, *pertenue* и *ende-micum*), *T. carateum* и *T. vincentii*. Последний вид представлен условно-патогенными микробами, обитающими в складках слизистой полости рта и десневых карманах. При ослаблении организма может вызвать в

симбиозе с *Fusobacterium nucleatum* и *Prevotella melaninogenica* язвенно-некротическую ангину Симанбвского-Венсана-Плаута.

Возбудитель сифилиса

Сифилис - хроническое венерическое заболевание с варибельным и циклическим течением, затрагивающее все органы и ткани. Впервые европейские врачи столкнулись с сифилисом после открытия испанцами Нового Света. Особое распространение заболевание получило в середине XV в., когда французские войска, включающие большое число испанских наёмников, вторглись в Италию. Поэтому заболевание называли «французской» или «итальянской болезнью». Передача сифилиса половым путём была установлена достаточно быстро, а А. Паре назвал заболевание «*lues Venerea*» («любовная чума»). В последующем заболеваемость сифилисом достигла эпиде-

мического порога в самых различных слоях общества (достаточно вспомнить Г. де Мопассана, В.Г. Белинского, В.И. Ульянова и многих других). Возбудитель (*T. pallidum* подвид *pallidum*) открыли Ф. Шаудин и Э. Хбфман (1905).

Эпидемиология

Заболевание регистрируют повсеместно, особенно в развивающихся странах. К середине XX в. заболеваемость значительно снизилась, но с конца 80-х годов отмечают увеличение количества заболевших, а в некоторых регионах (включая Россию) заболеваемость достигает почти эпидемических величин. *Резервуар возбудителя - больной человек. Основной путь передачи - половой*, реже контактный. Наибольшую опасность представляют лица на ранних этапах болезни; в III и IV стадиях они практически теряют инфекционность (в среднем через 4 года после заражения). Возможна передача возбудителя от матери плоду трансплацентарно или при прохождении по родовым путям. Возбудитель не способен проникать через плаценту в первые 4 мес беременности. Лечение матери на этих сроках препятствует инфицированию плода.

Морфология и тинкториальные свойства

. *pallidum* подвид *pallidum* - спиралевидная бактерия размерами 6-14x0,2-0,3 мкм; в культурах могут быть больших размеров (рис. 25-1). Завитки спирали одинаковы по высоте, их может быть до 14. Способны образовывать L-формы. Основной способ размножения - поперечное деление. Возбудитель сифилиса малоустойчив во внешней среде и гибнет при высыхании, но на холоде сохраняется до 50 сут. Прогревание при температуре 40 °С в течение часа приводит к утрате патогенных свойств; при 48 °С бактерии погибают в течение 10 мин. Возбудитель плохо окрашивается анилиновыми красителями (отсюда название «бледная спирохета»). Бактерии восстанавливают нитрат серебра в металлическое серебро, что придаёт тканям чёрную или тёмно-коричневую окраску. В отечественной практике распространён метод серебрения по Морбзову. По Романбвскому-Гимзе окрашивается в розовый цвет, а непатогенные трепонемы - в фиолетовый или синий. Также применяют негативное контрастирование по Бурри.

Культуральные свойства

Бледная спирохета требовательна к условиям культивирования, плохо растёт на искусственных средах; методы стабильного получения культур до настоящего времени отсутствуют. В нашей стране наибольшее количество штаммов выделили казанские микробиологи В.М. Аристовский и Р.Р. Гельцер. Эти «казанские штаммы», наряду со штаммом Райтера, применяют для изготовления Аг для серодиагностики. При длительном культивировании бактерии адаптируются к более простым средам (например, Китта-Тарбцци) и теряют патогенные свойства. Колонии бледной спирохеты мелкие, появляются на 3-5-е сутки культивирования.

Биохимические свойства

Биохимические характеристики остаются плохо изученными. Некоторые штаммы разлагает глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу и маннит с образованием кислоты; образуют индол и сероводород; разжижают желатину. Единичные штаммы лизируют эритроциты человека.

Антигенная структура

У возбудителя сифилиса выделены белковые, полисахаридные и липидные Аг. Структура остаётся плохо изученной, но они проявляют иммуногенные свойства. *Специфические АТ иммобилизуют бактерии и обуславливают антителизависимую цитотоксичность*. В ходе заболевания также образуются неспецифические продукты реактинового типа (вассермановские АТ).

Патогенез поражений

В организм человека возбудитель проникает через микротравмы слизистых оболочек (половых путей, рта, прямой кишки) или кожных покровов, мигрирует в лимфатические узлы, затем в кровоток и генерализованно диссеминирует. Изначально резистентность организма к возбудителю низкая (в это время он быстро диссеминирует по тканям), затем она возрастает и ограничивает дальнейшее распространение, но не обеспечивает полную элиминацию микроба. Подобное равновесное состояние нестабильно - у части больных оно нарушается с переходом в третичный сифилис. У лиц с высокой резистентностью развиваются гранулематозные (туберкулоидные) поражения в различных тканях. У больных с низкой резистентностью иногда наблюдают поражения ЦНС.

Клинические проявления

Болезнь протекает в несколько стадий, однако строгую их последовательность наблюдают не всегда. Длительность инкубационного периода варьирует от 10-11 до 90 сут (в среднем 21-24 дня).

В месте внедрения возбудителя формируется первичный аффект (твёрдый шанкр) - безболезненная язва с уплотнёнными краями. *С появления шанкра начинается I стадия болезни*. Через 7-10 сут развивается полиаденит, соответствующий фазе генерализованной спирохете-мии. В первые 3 нед серологические реакции отрицательны (первичный серонегативный сифилис), с 4-й недели они становятся положительными (первичный сероположительный сифилис).

Через 6-7 нед после появления твёрдого шанкра развивается II стадия болезни (вторичный «свежий» сифилис) - фаза генерализованной спирохетемии с поражением внутренних органов и нервной системы. Характерный симптом - розовато-красные папулёзно-розеолёзные и пустулёзные высыпания (сифилиды) на коже. Сифилиды величиной могут быть от размеров чечевичного зерна (розеолы) до монеты (папулы). Под действием иммунной системы большинство спирохет погибает, что обуславливает периодическое исчезновение высыпаний (латентный период). Часть трепонем сохраняется в лимфатических узлах и внутренних органах. При снижении активности защитных реакций высыпания появляются вновь - развивается вторичный рецидивирующий сифилис.

При отсутствии лечения (обычно через 3-4 года) развивается III стадия болезни. В кожных покровах, костях, нервной системе формируются гранулёмы (гуммы). Гранулёмы склонны к распаду и рубцеванию, что может вызывать серьёзные нарушения функций внутренних органов

(висцеральный сифилис). Гуммы содержат незначительное количество трепонем, но исключать контагиозность больных третичным сифилисом нельзя, особенно при локализации гранулём в полости рта или на половых органах.

При проведении неадекватного лечения заболевание не заканчивается третичной стадией. У части больных (в среднем через 8-15 лет) может развиваться нейросифилис - тяжёлое поражение ЦНС (сифилис мозга, спинная сухотка или прогрессирующий паралич).

При инфицировании плода от больной матери развивается врождённый сифилис, часто приводящий к выкидышам во второй половине беременности или мертворождениям. В случае рождения жизнеспособного ребёнка клинические проявления можно наблюдать сразу после рождения (ранний врождённый сифилис) либо в возрасте от 5 до 15 лет (поздний врождённый сифилис). Для ранней формы характерны па-пулёзно-розеолёзные высыпания, сифилитическая пузырьчатка, остеохондриты, поражения внутренних органов (печень, селезёнка) и нервной системы (менингиты, менингоэнцефалиты). Типичное проявление поздней формы - триада Хатчинсона - паренхиматозный кератит, «бочкообразные зубы» и глухота (вследствие поражения лабиринта); нередко наблюдают изменения большеберцовых костей («саблевидные голени»).

Микробиологическая диагностика

Выделение возбудителя обычно не проводят. Основа диагностики - методы, направленные на обнаружение возбудителя в материале микроскопией и выявление АТ серологическими реакциями. Материал для исследования - отделяемое шанкра, пунктаты лимфатических узлов, соскобы розеол, кровь, СМЖ. Наиболее оптимальные микроскопические методы - темнопольная и фазово-контрастная микроскопия. Также возможно приготовление гистологических препаратов, импрегнированных серебром по Морозову или Левадйти (трепонемы выглядят как чёрные спирали). Для ранней диагностики применяют иммунофлюоресцентные методы; наибольшее распространение получила РНИФ с адсорбированной сывороткой. *Основное значение в микробиологической диагностике сифилиса имеют серологические методы.* Их разделяют на неспецифические и специфические.

Неспецифические тесты (без участия трепонем). Основные методы - РСК, предложенная А. Вассерманном, и VDRL-реакция [от англ. *Venereal Disease Research Laboratory*, лаборатория изучения венерических заболеваний] - специализированная флокуляционная проба на предметных стёклах с использованием кардиолипин-лецитин-холестеринового Аг. В качестве метода экспресс-диагностики применяют тест на реакины плазмы, представляющий собой РА частиц угля, нагруженных кардиолипином.

Специфические тесты. Наибольшее значение имеют реакция иммобилизации бледной спирохеты (реакция Нёльсона-Мёйера) и РА (микроагглютинации).

Лечение

Разработка терапии сифилиса послужила отправной точкой для изучения этиотропных хими-отерапевтических препаратов. До открытия первых препаратов сифилис лечили солями ртути и йодидом калия. В начале XX в. П. Эрлих открыл производные мышьяка - сальварсан (препарат «606») и неосальварсан (препарат «914») - препараты, обладающие противосифилитическим действием. Внедрение ртути в терапию сифилиса произошло под влиянием Парацельса, что породило высказывание «одна ночь с Венерой и вся жизнь с Меркурием (символ ртути)». Позднее в терапию сифилиса включили производные висмута. Проблему лечения первичного и вторичного сифилиса решило открытие пенициллинов, в настоящее время составляющих основную группу противосифилитических средств. При третичном сифилисе применяют симптоматические средства.

Профилактика

Средства специфической иммунопрофилактики отсутствуют; общие меры во многом аналогичны предупреждению большинства заболеваний, передающихся половым путём.

Возбудитель фрамбезии

Фрамбёзия - хронический генерализованный спирохетоз. Наблюдают в виде эндемичных очагов во всех тропических регионах. Возбудитель - *T. pallidum* подвид *pertenue*; впервые выделена А. Кастеллани (1905). По морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам возбудитель фрамбезии сходен с бледной спирохетой. Основной путь передачи - контактный (через повреждённые кожные покровы), редко половой. Клинические проявления также имеют много общего с сифилисом. В I стадии в месте проникновения возбудителя развивается первичный аффект - крупная папулёзная или пустулёзная бляшка-фрамбезибма. Во II стадии (через 1-3 мес) появляются полиморфные высыпания-фрамбезиды, впоследствии трансформирующиеся в гуммоподобные узлы размером до 1 см, подвергающиеся распаду. Третичная стадия проявляется язвенно-гуммозными поражениями костей и тяжёлыми деструктивными нарушениями, симулирующими третичный сифилис. Прогноз заболевания благоприятный, хотя у некоторых лиц процесс затягивается до 30 лет. После перенесённого заболевания развивается стойкий иммунитет к повторным заражениям. Поскольку имеющиеся методы не позволяют дифференцировать возбудитель с бледной спирохетой, в большинстве случаев диагноз ставят по характерным клиническим проявлениям и более частому поражению детей (редко возникает после 35 лет). Лечение аналогично проводимому при сифилисе.

Возбудитель беджеля

Беджель (эндемичный сифилис) - хронический генерализованный спирохетоз. Заболевание регистрируют в эндемичных очагах на Балканском полуострове, в Турции, Азии, Африке и Австралии. Резервуар возбудителя - больной человек. Основной путь передачи - контактный (через повреждённые кожные покровы); возможно заражение при половых контактах. Возбудитель - *T. pallidum* подвид *endemicum*. По морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам сходен с бледной спирохетой. При проникновении возбудителя первичный аффект отсутствует. Болезнь обычно начинается с высыпаний на коже и слизистых оболочках, напоминающих поражения при вторичном сифилисе; проявления исчезают в течение года. Позднее на коже и слизистых оболочках появляются поражения, сходные с гуммозными проявлениями сифилиса. В редких случаях наблюдают поражения трубчатых костей. Микробиологическая диагностика включает обнаружение бактерий в экссудате, в пунктатах лимфатических узлов и очагов поражения. Применяют все методы, используемые в серологической диагностике сифилиса. В большинстве случаев диагностику проводят на основании клинических данных. Лечение аналогично таковому при сифилисе.

Возбудитель пинты

Пинта (карате) - хронический генерализованный спирохетоз. Возбудитель - *T. carateum*; морфологически и культурально сходен с бледной спирохетой. Заболевание регистрируют в эндемичных очагах прибрежных районов Центральной и Южной Америки; спорадически выявляют в экваториальной Африке и на юге Азии. Резервуар возбудителя - больной человек. Основной путь передачи - контактный (через повреждённые кожные покровы). В месте внедрения возбудителя появляются пятна красного или сине-фиолетового цвета. Позднее на их месте формируются участки депигментации типа витилиго. Может развиваться полиаденит, реже - поражения внутренних органов, нервной системы и костей. Микробиологическая диагностика включает обнаружение *T. carateum* в биоптатах очагов поражения. Применяют методы,

используемые в серологической диагностике сифилиса. Это позволяет дифференцировать заболевание от кожных инфекций. Лечение аналогично таковому при сифилисе.

ются отрицательно; хорошо воспринимают анилиновые красители, особенно после протравки фенолом. Строгие анаэробы, растут при 20-37 °С (оптимальная температура 28-30 °С). Прихотливы к условиям культивирования - растут на средах, обогащённых животными белками, и на куриных эмбрионах. Своё название микроорганизмы получили в честь французского бактериолога А. Борреля.

Возбудитель эпидемического возвратного тифа

Возвратный (вшиный) тиф - острая трансмиссивная инфекция, проявляющаяся рецидивирующими приступами лихорадки и явлениями общей интоксикации. Возбудитель - *B. recurrentis*; открыт О. Обермейером (1868), этиологическая роль подтверждена Г.Н. Мйнхом и И.И. Мёч-никовым в опытах с самозаражением.

Эпидемиология

Долгое время наиболее интенсивным очагом заболевания была Западная Европа (отсюда устаревшее название «европейский тиф»). Затем возбудитель распространился повсеместно в места проживания человека и его паразитов (вши, клопы). Это и дало основание названию «эпидемический возвратный тиф». *Резервуар возбудителя - больной человек; переносчики - вши, реже - постельные клопы.* Максимальная вероятность заражения наступает через 56 сут после кровососания. Заболевание имеет выраженную сезонность - характеризуется подъёмами к концу зимы и началу весны.

Морфология и тинкториальные свойства

B. recurrentis (спирохета Обермейера) - нитевидная спиральная бактерия размерами 0,2-0,3x10-20 мкм; спираль имеет неравномерные витки. Размножаются поперечным делением, спор не образуют. Хорошо окрашиваются основными анилиновыми красителями. По Романбвс-кому-Гймзе и метиленовым синим окрашиваются в сине-фиолетовый цвет (но не розовый, как бледные спирохеты).

Патогенез поражений

Попавшие в организм боррелии поглощаются фагоцитами и размножаются в их цитоплазме. К окончанию инкубационного периода бактерии в большом количестве оказываются в кровотоке. Гибель микробов сопровождается высвобождением эндотоксинов, действующих системно (лихорадка, сосудистые расстройства, головные боли) и местно (очаговый некроз, кровоизлияния, эмболии, инфаркты). Иммунные механизмы эффективно удаляют боррелии из кровотока, что обуславливает окончание приступа. Часть бактерий депонируется в нервной ткани и создаёт рецидивную группу бактерий с отличающейся антигенной структурой. Защитные механизмы, индуцированные первичной спирохетемией, оказываются неэффективными, что запускает синтез нового пула АТ. После нескольких приступов образуется пул гетерогенных АТ, полностью элиминирующих возбудитель.

Клинические проявления

Инкубационный период продолжается 3-14 сут (в среднем 7-8 дней). Заболевание характеризуется чередованием приступов лихорадки и бестемпературных интервалов; в среднем

подобных «волн» может быть 2-3, но не более 5. Выделяет стёртые, лёгкие, средней тяжести и тяжёлые формы. Диагностическое значение имеет желтушность кожных покровов, наиболее выраженная в конце приступа; частота её появления может достигать 60-80%, но выраженность незначительна (субиктеричность).

Микробиологическая диагностика

Она включают бактериоскопические и серологические методы. Спирохеты Обермёйера в большом количестве циркулируют в крови, и их можно обнаружить микроскопией мазков, методами «толстой» или «висячей» капли в тёмном поле. Спирохетемия наиболее выражена в начале лихорадочного периода. Высушенные мазки не фиксируют, а непосредственно окрашивают по Романовскому-Гимзе, фуксином или метиленовым синим. В период приступа бактерий бывает так много, что они могут переплетаться между собой, образуя «войлочную сетку». Если кровь получена в безтемпературный период, её центрифугируют и микроскопируют осадок. Сывороточные АТ обнаруживают в реакции иммобилизации боррелий сывороткой больного либо в реакции нагрузки боррелий тромбоцитами.

Лечение и профилактика

Препараты выбора - пенициллины и тетрациклины. Ввиду формирования нестойкого иммунитета основу профилактики составляют раннее выявление и госпитализация всех больных, дезинсекция вещей больного и его жилья, а также санитарная обработка контактировавших с ним лиц. Средства специфической иммунопрофилактики отсутствуют.

Возбудитель лаймоборрелиоза

Лаймоборрелиоз (лаймская болезнь) - хроническая трансмиссивная природно-очаговая инфекция из группы иксодовых клещевых боррелиозов. Поводом для выделения в отдельную нозологическую форму послужили многочисленные случаи заболевания детей в г. Лайм (штат Коннектикут, США), сопровождающиеся развитием ювенильного артрита. Возбудитель выделил У. Бургдбрфер (1981), в его честь микроорганизм назвали *Borrelia burgdorferi*. *B. burgdorferi* - самая крупная боррелия, средние размеры 20-30x0,2-0,3 мкм. Строение аналогично прочим спирохетам. Иногда *B. burgdorferi* содержит особый тип линейных плазмид, не обнаруживаемых у других прокариот. В странах Старого Света подобные поражения вызывают *B. garinii* и *B. afzelii*. Основные переносчики на территории РФ - клещи *Ixodes ricinus* и *I. persulcatus*. Первоначально заболевание наблюдали в эндемичных очагах на Атлантическом побережье США, к настоящему времени болезнь зарегистрирована в Европе, Азии и Австралии. *Природный резервуар*- мелкие грызуны, олени и лоси. В популяции клещей возбудитель передаётся трансвариально. В эндемичных очагах до 20-80% членистоногих содержат спирохеты. Подъёмом заболеваемости наблюдают в июне-июле.

Патогенез и клинические проявления

После укуса клеща *B. burgdorferi* локализуются в месте внедрения либо проникают непосредственно в кровоток. Инвазивная активность микроорганизмов достаточно высока. После экспериментального заражения уже через 12 ч они проникают в различные органы и ткани. Проникают через ГЭБ, в результате чего их можно выделить из СМЖ. Длительность инкубационного периода может варьировать от 3 до 32 дней. У 80% пациентов на месте укуса развивается блуждающая эритема в виде овальной или круглой папулы. При локальном поражении развивается синдром блуждающей эритемы, при диссеминированном - поражения опорно-двигательного аппарата, нервной и сердечно-сосудистой систем, вторичные поражения кожи и т.д. Диссе-минированные поражения обусловлены циркуляцией боррелий. Развиваются васкулиты с окклюзией сосудов, а также аутоиммунные реакции. Через несколько месяцев или лет поражения суставов приобретают хронический характер. У части больных развиваются

менингиты и менингоэнцефалиты, мононевриты (как периферических, так и черепных нервов), поражения сердечно-сосудистой системы, в редких случаях - тромбозы артерий, угрожающие жизни больного.

Микробиологическая диагностика

Применяют серологические методы. АТ к возбудителю выявляют в РНИФ и ИФА со специфическим Аг. IgM можно обнаружить на 3-6-й неделе, а IgG - лишь через несколько месяцев после инфицирования.

Лечение и профилактика

Препараты выбора для лечения начальной стадии - тетрациклины, пенициллины и цефалоспорины. На более поздних стадиях эффективность антибиотиков снижается, и их назначают в больших дозировках (обычно назначают цефтриаксон). Средства специфической профилактики отсутствуют. Общая профилактика основана на предупреждении укусов клещей (ношение защитной одежды, избегание ночёвок в местах массового обитания членистоногих и т.д.).

Возбудители клещевых возвратных тифов

Клещевые возвратные боррелиозы - группа природно-очаговых, эндемичных для тропических и субтропических регионов зоонозов, протекающих по типу лихорадок с неправильно чередующимися приступами. Природные хозяева - некоторые дикие и синантропные животные (включая рептилий) - бессимптомные носители. Переносчики - различные клещи рода *Ornithodoros* (возбудитель передаётся трансовариально; на человека клещи могут нападать на всех стадиях жизненного цикла). Возбудители заболеваний - *B. caucasica*, *B. persica*, *B. duttonii*, *B. hispanica*, *B. latyschewii*, *B. venezuelensis* и др. Бактерии сходны между собой и не поддаются

дифференциации по морфологическим, а иногда и по серологическим критериям. Патогенез клещевых тифов носит черты сходства с эпидемическим возвратным тифом. Заболевание начинается с укуса переносчика и проникновения боррелий в кровь. Длительность инкубационного периода составляет 5-14 сут; продромальные явления не выражены. Заболевание начинается остро, с лихорадки, головной боли, тремора конечностей. Температура тела может достигать 40 °С, первый приступ продолжается 1-5 сут. Затем температура критически снижается, оставляя чувство разбитости и мышечной боли в различных группах мышц. Последующие приступы сокращаются до 1-2 сут или даже нескольких часов; их среднее количество не превышает 8-10. Прогноз обычно благоприятный. Выздоровление не приводит к формированию стойкого иммунитета к последующим заражениям.

Микробиологическая диагностика

Основной метод выявления возбудителей - микроскопия мазков, окрашенных по Романбвскому-Гймзе, методами «толстой капли», «висячей капли» крови больного. При клещевых тифах спирохетемия не выражена (1-2 бактерии в нескольких каплях); закономерность в появлении и исчезновении боррелий в крови отсутствует. Дифференциальный признак возбудителей - наличие двух (у *B. recurrens* - одного) контуров при просмотре в тёмном поле. Помощь в диагностике оказывает заражение кровью пациента морских свинок или кроликов через конъюнктиву глаза или слизистую оболочку носа. Через 2-4 сут кровь животных микроскопируют либо исследуют препараты из различных органов.

Лечение и профилактика

Препараты выбора - тетрациклины и пенициллины. Профилактика основана на предупреждении укусов клещей (ношение защитной одежды, избегание ночёвок в местах

массового обитания членистоногих). Средства для специфической иммунопрофилактики отсутствуют.

лептоспиры

Род *Leptospira* относят к отделу *Gracilicutes* порядка *Spirochaetales* семейства *Leptospiraceae*. Его образуют тонкие спирохеты размерами 7-14x0,07-0,1 мкм, что определило их название [от греч. *leptos*, тонкий, + *speira*, спираль]. Один или оба конца могут быть изогнуты. Цитопlasма нежная, гомогенная, включений не содержит. Спирали плотно примыкают друг к другу, что придаёт им вид «нити жемчуга» при микроскопии в тёмном поле. Движение винтообразное: сгибательное или вдоль продольной оси; некоторое время могут быть неподвижными, напоминая верёвку или прихотливо изогнутые петли. Единственный вид, *Leptospira interrogans*, открыт японскими бактериологами Р. Инадо и У. Идо (1915). Вид включает более 200 сероваров. Многие серовары вызывают поражения у человека и животных, известные как лептос-пирозы. Лептоспироз - острая природно-очаговая инфекция, характеризующаяся лихорадкой, симптомами общей интоксикации, поражением почек, печени, нервной системы и геморрагическим синдромом.

Эпидемиология

Лептоспирозы выявляют в разнообразных климато-географических и ландшафтных зонах. Заболеваемость тесно связана с деятельностью человека (сельскохозяйственные работы, скотоводство). *Основной резервуар инфекции - более 80 видов диких и домашних животных.* Из домашних животных особенно часто болеют свиньи и крупный рогатый скот. Механизм передачи возбудителя аналогичен для всех лептоспирозов. Источник заражения - загрязнённая вода. Возбудитель сохраняется в почках больного животного и выводится с мочой, загрязняя объекты окружающей среды. Человек заражается при проведении сельскохозяйственных и мелиоративных работ, а также при купании и использовании воды из загрязнённых водоёмов. Реже регистрируют случаи инфицирования при контактах с животными и через пищевые продукты. Лептоспиры чувствительны к действию солнечного света и высоких температур (в воде погибают при 45 °С через 45 мин, при 70 °С - через 10 с), высушивание вызывает немедленную гибель. Выживаемость в пресноводных водоёмах варьирует от нескольких часов до 30 сут (наиболее долго сохраняются в чистой воде с рН менее 7,0 и низкой минерализацией); в сухой почве сохраняются 2-3 ч, а заболоченной - до 200 сут. Чувствительны к действию дезинфектантов.

Культуральные и тинкториальные свойства

Лептоспиры - строгие аэробы, оптимальная температура 28-30 °С, оптимальный рН 7,27,4. Растут в жидких и полужидких средах, дополненных 10-15% кроличьей сыворотки. Рост наблюдают на 5-8-е сутки инкубирования в виде круглых колоний диаметром 1-3 мм. Плохо окрашиваются по Граму и Романовскому-Гимзе (в розовый цвет); хорошо различимы при импрегнации серебром (окрашены в коричневый или чёрный цвет). Легко выявляются темнопольной микроскопией и несколько хуже - фазово-контрастной.

Патогенез поражений

В организм человека лептоспиры проникают через слизистые оболочки носа, рта, пищевода, глаз, а также через микротравмы кожных покровов. Чаще наблюдают комбинированное заражение через слизистые и кожу. Возбудитель проникает в кровь и циркулирует в ней. Генерализованная лептоспиремия продолжается 4-5 сут со дня заражения и сопровождается избирательной концентрацией возбудителя в почках и печени (5-6 сут). Поражения почек и печени характерны для всех лептоспирозов и особенно для болезни Васильева-Вёйля. Поражения печени обусловлены механическим повреждением гепатоцитов подвижными лептоспирами, а также токсическим действием эндотоксина, выделяющегося при гибели бактерий; могут приводить к

развитию желтухи. В происхождении желтухи определённая роль принадлежит массивному гемолизу, наступающему вследствие повреждения лептоспирами эндотелия сосудов. Начиная со 2-й недели возбудитель депонируется преимущественно в извитых канальцах почек и исчезает из крови и других тканей. Избирательная концентрация в эпителии и межклеточном пространстве приводит к тяжёлым повреждениям почечных канальцев и нарушению мочеобразования; в тяжёлых случаях вызывает анурию и уремию. После выздоровления лептоспиры длительно сохраняются в почках и выделяются с мочой (до 40 дня болезни). Менингеальные явления, часто наблюдаемые при лептоспирозах, связаны с непосредственным действием микроорганизмов и продуктов их распада на ЦНС. В СМЖ лептоспиры регулярно обнаруживают с 7-х по 15-е сутки болезни.

Клинические проявления

Клиническая картина вариабельна - от бессимптомных (субклинических) до тяжёлых желтушных форм. При субклинических формах носитель активно выделяет возбудитель с мочой, а наличие инфекции можно установить серологическими методами.

Безжелтушные лептоспирозы. Инкубационный период длится 5-12 сут. Заболевание проявляется ознобом, резким повышением температуры тела до 39-40 °С. Характерны миалгии и головная боль, поражение конъюнктивы, гиперемия склер и лица. На 3-5-е сутки может появляться ярко-розовая сыпь (иногда кореподобная) на конечностях и туловище; продолжительность высыпаний вариабельна (до 10 сут). У 15-25% пациентов выявляют спленомегалию, реже гепатомегалию и менингеальные признаки. Прогноз относительно благоприятный. Нередко отмечают рецидивы, но их проявления менее выражены.

Желтушный (иктерогеморрагический) лептоспироз (болезнь Васильева-Вёйля) - наиболее злокачественная форма, сопровождающаяся проявлениями желтухи у 50% пациентов. Продолжительность инкубационного периода варьирует от 2 до 19 сут (в среднем 7-13 сут). Заболевание начинается остро с повышения температуры тела до 39-40 °С. Характерны миалгии и головная боль; обычно возникают конъюнктивит и эписклеральная инъекция. С падением температуры (4-7-е сутки) развивается желтуха кожных покровов и слизистых оболочек; часто наблюдают геморрагические герпетиформные высыпания на лице. У 25% больных возникает увеличение печени и селезёнки. Приблизительно у 30% пациентов можно наблюдать вторичный, обычно укороченный подъём температуры тела после периода апирексии (2-я неделя болезни); в начале 2-й недели желтуха и геморрагические проявления становятся более интенсивными. Свёртываемость крови резко снижается, развивается азотемия, что утяжеляет состояние больного. Особенно тяжело заболевание протекает у лиц пожилого возраста. Летальность может достигать 35%.

Микробиологическая диагностика

Включают бактериоскопические, бактериологические, серологические и биологические методы. Материал для исследований - кровь, при поражениях ЦНС - СМЖ, на более поздних сроках (10-12-е сутки) - центрифугат мочи.

Микроскопия. Эффективна только в первые дни заболевания. Материал исследуют в тёмном поле либо микроскопируют мазки, окрашенные по Романовскому-Гимзе. Количество лептоспир, циркулирующих в крови, невелико, и эффективность непосредственной микроскопии не превышает 10%. Лучшие результаты даёт предварительное центрифугирование материала.

Выделение возбудителя. Проводят в первые 2-4 сут посевом 8-10 мл венозной крови на 6-10 пробирок со средой Фервбрта-Вбльфа. Пробирки встряхивают для предупреждения сворачивания крови, заливают жидким парафином и инкубируют при температуре 28-30 °С. Через каждые 4-5 сут культуры исследуют, при отсутствии роста в течение 15-20 сут желательнее сделать

пересевы на свежую среду. Наиболее часто положительные результаты получают при посевах крови, взятой на 1-2-е сутки болезни. Бактерии идентифицируют с помощью типовых агглютинирующих антисывороток.

Серологические исследования. Исследуют парные сыворотки на 2-3-ю неделю болезни. Сывороточные АТ определяют в реакции микроагглютинации и лизиса с сывороткой пациента и стандартным набором микроорганизмов. При положительном результате наблюдают образование клубков из лептоспир (специфичной считают реакцию с титром не ниже 1:400) или возникновение «зернистого» распада бактерий. Можно применять РСК или РПГА с эритроцитами, нагруженными лептоспирами. Для выявления нарастающих титров АТ исследования следует повторить через 3-7 сут.

Биологическая проба. Исследования проводят только в специализированных лабораториях. Хомячков или кроликов внутрибрюшинно заражают кровью или мочой больного. Через 48-72 ч проводят микроскопию брюшинного экссудата и крови. Кроме того, за животными ведут наблюдение: отмечают повышение температуры тела и появление желтухи. На 10-14-е сутки животные погибают; исследование позволяет обнаружить в тканях множественные геморрагические очаги, содержащие лептоспиры.

Лечение и профилактика

Препараты выбора - антибиотики пенициллинового ряда в сочетании с симптоматическими средствами. Больным предписан постельный режим и молочно-растительная диета. Профилактика лептоспирозов включает проведение медико-санитарных, санитарно-ветеринарных и мелиоративных мероприятий.

Медико-санитарные мероприятия включают надзор за качеством питьевой воды и проводимыми работами по строительству колодцев и водопроводных систем, проведение дератизации в эндемичных очагах.

Ветеринарно-санитарные мероприятия - ранняя диагностика лептоспирозов у животных; изоляция животных до окончания выделения возбудителя с мочой; организация карантинных в подобных хозяйствах; проведение строгого предубойного осмотра и выбраковки животных; запрещение продажи молока без ветеринарно-санитарного исследования; плановое обследование собак при наличии эпидемиологических показаний.

Иммунопрофилактика. В группах населения, наиболее подверженных заражению, проводят вакцинацию феноловой поливалентной вакциной, содержащей Аг серогрупп *icterohaemorrhagiae*, *grippotyphosa* и *promona*, трёхкратно, с недельными интервалами.

ГЛАВА 26. ВОЗБУДИТЕЛИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) - самые распространённые инфекционные болезни человека. Широкому (нередко эпидемическому) распространению ОРВИ способствуют:

- воздушно-капельный путь заражения,
- большое разнообразие возбудителей ОРВИ,
- отсутствие стойкой невосприимчивости к повторным заражениям.

ОРТОМИКСОВИРУСЫ (ВИРУСЫ ГРИППА)

Вирусы гриппа человека включены в состав родов *Influenzavirus A*, *B* и *Influenzavirus C* семейства *Orthomyxoviridae*. Вирус типа А открыли В.Смит, С.Эндрюс и П.Лёйдлоу (1933),

вирус типа В выделили Т.Фрэнсис и Р.Мёджилл (1940), вирус типа С - Р.Тэйлор (1949). *Наибольшую эпидемическую опасность представляют вирусы гриппа А*, вирус гриппа В вызывает локальные вспышки и эпидемии, вирус гриппа С - спорадические случаи гриппа.

Эпидемиология

Грипп [от фр. *gripper*, хватать], или инфлюэнца [от итал. *influenza di freddo*, влияние холода], - острая инфекция, проявляющаяся поражениями дыхательного тракта, непродолжительной лихорадкой, упадком сил, головной болью, миалгиями и др. *Резервуар инфекции - инфицированный человек* (больные и бессимптомные носители). Больной становится заразным за 24 ч до появления основных симптомов и представляет эпидемическую опасность в течение 48 ч после их исчезновения. Грипп регистрируют повсеместно, рост заболеваемости наблюдают в холодные месяцы. Эпидемии гриппа развиваются с интервалом 2-3 года. *Передача возбудителя происходит воздушно-капельным путём. Наиболее восприимчивы дети и лица преклонного возраста.* Вирусы гриппа чувствительны к действию высоких температур, высушиванию, инсоляции и УФ-облучению. Также они лабильны к действию эфира, фенола, формальдегида и других веществ, денатурирующих белки.

Морфология

Вирусы гриппа - овальные «одетые» вирусы; вирионы часто имеют неправильную форму; их средний размер составляет 80-120 нм (рис. 26-1). Геном образован однонитевой молекулой - РНК, состоящей из 8 отдельных сегментов. Нуклеокапсид организован по типу спиральной симметрии. Суперкапсид образован липидным бислоем, который пронизывают гликопротеиновые шипы (спикулы), определяющие гемагглютинирующую (H) либо нейраминидазную (N)

активность. Репликация ортомиксовирусов первично реализуется в цитоплазме инфицированной клетки; синтез вирусной РНК происходит в ядре (см. главу 5).

- Гемагглютинин обуславливает проникновение вирусов в клетки в результате слияния с мембраной клетки и мембранами лизосом. АТ к нему обеспечивают защитный эффект. Нейраминидаза распознаёт и взаимодействует с рецепторами, содержащими N-ацетилнейраминовую кислоту, то есть приводит к проникновению вируса, а также, отщепляя нейраминовую кислоту от дочерних вирионов и клеточной мембраны, к выходу вирусов из клеток.

- Семь сегментов вирусного генома кодируют структурные белки, восьмой - неструктурные белки NS₁ и NS₂, существующие только в инфицированных клетках. Основные из них - матриксный (M) и нуклеопротеидный (NP) белки. В меньших количествах присутствуют внутренние белки (P₁, P₂, P₃), участвующие в этапах транскрипции и репликации вируса.

- М-белок играет важную роль в морфогенезе вирусов и защищает геном, окружая нуклеокапсид. Белок NP выполняет регуляторные и структурные функции. Внутренние белки являются ферментами: P₁ - транскриптаза, P₂ - эндонуклеаза, P₃ - репликаза.

Антигенная структура

Типовые Аг вирусов гриппа типа А - гемагглютинин и нейраминидаза; на сочетании этих белков основана классификация вирусов гриппа. В частности, у вируса гриппа А выделяют 13 Аг различных типов гемагглютинина и 10 типов нейраминидаз. Антигенные различия среди вирусов типов А, В и С определяют различия в структурах NP- и М-белков. Все штаммы вирусов типа А имеют групповой (S-) Аг, выявляемый в РТГА. *Типоспецифические Аг - гемагглютинин и нейраминидаза;* варьирование их структуры приводит к появлению новых серологических вариантов, часто в динамике одной эпидемической вспышки (рис. 26-2). Изменения антигенной структуры могут происходить двумя путями:

Антигенный дрейф. Вызывает незначительные изменения структуры Аг, обусловленные точечными мутациями. В большей степени происходит изменение структуры гемагглютини-на. Дрейф развивается в динамике эпидемического процесса и снижает специфичность иммунных реакций, развившихся в популяции в результате предшествующей циркуляции возбудителя.

Антигенный шифт. Вызывает появление нового антигенного варианта вируса, не связанного либо отдалённо антигенно родственного ранее циркулирующим вариантам. Предположительно антигенный шифт происходит в результате генетической рекомбинации между штаммами вируса человека и животных либо латентной циркуляции в популяции вируса, исчерпавшего свои эпидемические возможности. Каждые 10-20 лет происходит обновление популяции людей, но иммунная «прослойка» исчезает, что приводит к формированию пандемий.

Патогенез поражений

Первоначально вирус размножается в эпителии верхних отделов дыхательных путей, вызывая гибель инфицированных клеток. Через повреждённые эпителиальные барьеры вирус проникает в кровоток. Вирусемия сопровождается множественными поражениями эндотелия капилляров с повышением их проницаемости. В тяжёлых случаях наблюдают обширные кровоизлияния в лёгких, миокарде и паренхиматозных органах. Взаимодействие возбудителя с иммунокомпетентными клетками приводит к существенному нарушению их функциональных свойств с развитием явлений транзиторного иммунодефицита и аутоиммунопатологии.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода составляет 1-3 дня, после чего наступает продромальный период, проявляющийся общим недомоганием, чувством разбитости и т.д. Основные симптомы - быстрое повышение температуры тела до 37,5-38 °С с сопутствующими миалгиями, насморком, кашлем, головными болями; продолжительность лихорадочного периода - 3-5 сут. Наиболее тяжёлые случаи вызывают так называемые «токсигенные штаммы» (типа возбудителей гриппа типа «испанки»), особенно при наличии лёгочно-сердечной патологии. Они протекают очень бурно с быстрым развитием крупозной пневмонии. Частое осложнение гриппа - бактериальные пневмонии, вызванные в большинстве случаев активацией ауто-микробиоты зева и носоглотки (обычно стрептококков группы В). Во время пандемии «испанки» в 1918-1919 гг. погибло более 20 млн человек, в основном от вторичных бактериальных пневмоний. Вследствие высокой антигенной вариабельности вируса гриппа выздоровление не приводит к развитию стойкой невосприимчивости к повторным заражениям.

Принципы микробиологической диагностики

Материалы для исследования - смывы и мазки из носоглотки, мазки-отпечатки из носовой полости и кровь. Основные методы диагностики - вирусоскопические, вирусологические и серологические. К методом экспресс-диагностики относят определение Аг вируса в мазках-отпечатках из носа и смывов носоглотки в РИФ и ИФА. Выделение возбудителя проводят заражением 10-11-суточных куриных эмбрионов или, реже, различных клеточных культур. Вирусы гриппа проявляют слабый цитопатический эффект и чаще определяют

феномен гемадсорбции (см. главу 11). Типовую принадлежность вирусов идентифицируют в РСК; подтип гемагглютини-на - в РТГА (вирусы гриппа агглютинируют эритроциты человека и различных животных); подтип нейраминидазы - в реакции ингибирования активности фермента. Циркулирующие АТ выявляют с помощью РТГА, РСК, РН, ИФА в парных сыворотках с интервалом 8-14 сут. Заболевание подтверждает четырёхкратный рост титра АТ при сравнении

образцов сыворотки, полученной в острой фазе инфекции и через 2-3 нед в период реконвалесценции.

Лечение

Препараты выбора - амантадин или ремантадин, ИФН и его индукторы, противогриппозный у-глобулин. Терапевтические мероприятия следует начинать как можно раньше.

Иммунопрофилактика

Разработаны методы активной и пассивной иммунопрофилактики. Для пассивной иммунизации применяют противогриппозный иммуноглобулин человека, приготовленный из крови доноров, иммунизированных гриппозными вакцинами. Для активной иммунизации применяют живые и инактивированные вакцины. *Живые аттенуированные вакцины проявляют большую иммуногенность.* Инактивированные вакцины включают вирионные (приготовлены из высоко-очищенных культур вирусов), субвирионные или расщеплённые (получают обработкой высоко-очищенных культур вирусов детергентами), субъединичные (содержат только гемагглютинин и нейраминидазу) препараты. Вакцинацию осуществляют в периоды наибольшего риска развития эпидемий. Она в большей степени показана лицам младшего и преклонного возрастов, страдающим обструктивными лёгочными и сердечно-сосудистыми заболеваниями, а также сотрудникам ЛПУ. *Применение убитых вакцин требует ежегодной ревакцинации;* их эффективность не превышает 60-70%. Поскольку антигенные вариации возбудителя наблюдаются часто, то набор Ag соответствующего вируса для иммунизации может быть определён только после начала вспышки заболевания.

парамиксовирусы

Все четыре рода семейства *Paramyxoviridae* включают возбудителей инфекций у человека: род *Paramyxovirus* - вирусы парагриппа 1-го и 3-го типов; род *Rubulavirus* - вирусы эпидемического паротита и парагриппа 2-го и 4-го типов; род *Morbillivirus* - вирусы кори и подострого склерозирующего панэнцефалита. Род *Pneumovirus* - РС-вирус человека. Парамиксовирусы - сферические «одетые» вирусы; средний размер вириона - 100-800 нм. Геном образует линейная, несегментированная молекула -РНК. С ней связаны белок NV и полимеразные белки Р и L, образующие нуклеокапсид со спиральной симметрией. Нуклеокапсид окружён матричным М-белком. Суперкапсид образован двухслойной липидной мембраной, пронизываемой гликоп-протеиновыми «шипами» HN (обладают гемагглютинирующей и нейраминидазной активностью) и F (ответственны за слияние с клеточной мембраной, образование симпластов и проявляющие гемолитическую и цитотоксическую активности). Репликация вирусов полностью реализуется в цитоплазме клеток хозяина.

Вирусы парагриппа человека

Парагрипп - острая вирусная инфекция с преимущественными поражениями верхних отделов дыхательного тракта. Первые изоляты вирусов выделил У. Чэнок (1956-1958) от детей с гриппо-подобными заболеваниями, в связи с чем они получили название вирусов парагриппа человека.

Эпидемиология

Резервуар вирусов парагриппа - инфицированный человек (с явными и бессимптомными проявлениями). *Возбудитель передаётся воздушно-капельным путём.* Доминирующий патоген - вирус парагриппа 3-го типа. Больной представляет эпидемическую опасность через 24 ч после заражения; продолжительность выделения вируса - 3-10 сут.

Антигенная структура

Основные Аг парамиксовирусов - белок NP, гликопротеины HN и F; по их набору вирусы разделены на два рода.

Патогенез поражений

Вирусы первично размножаются в эпителии верхних отделов дыхательных путей, откуда они проникают в кровоток, вызывая вирусемию.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода заболевания составляет 3-6 сут. У взрослых поражения чаще протекают в форме катаров верхних отделов дыхательных путей. У детей заболевание протекает тяжелее, часто с симптомами интоксикации. Наиболее часто наблюдают ларинготрахеобронхит с развитием ложного крупа (основные возбудители - вирусы парагриппа 1-го и 2-го типов); у детей до года - бронхолиты с пневмониями (основной возбудитель - вирус парагриппа 3-го типа).

Принципы микробиологической диагностики

Материалы для исследования - смывы и мазки из носоглотки, мазки-отпечатки из носовой полости и кровь. Основные методы диагностики - вирусоскопические, вирусологические и серологические. Для экспресс-диагностики определяют вирусные Аг в эпителии носовых ходов и носоглотки в РИФ. Вирус парагриппа плохо растет на куриных эмбрионах; их выделяют заражением культур клеток почек эмбриона человека или обезьян; идентификацию возбудителя проводят по цитопатическому эффекту и тесту гемадсорбции. Идентификацию возбудителя осуществляют в РТГА или РН, смешивая исследуемый вирус со специфическими АТ и инкубируя 2 ч при температуре 18-21 °С. *Представители всех сероваров проявляют нейраминидазную и гемагглютинирующую активности. Вирусы парагриппа 1-го и 2-го типов агглютинируют эритроциты морских свинок, мышей, овец и кур; вирус 3-го типа не агглютинируют эритроциты кур, а 4-го типа агглютинирует только эритроциты морских свинок. Вирусы 1-го и 4-го типов проявляют наибольший цитопатический эффект.* Нарастание титров сывороточных АТ определяют в РТГА с парными сыворотками.

Лечение

Лечение симптоматическое. Антивирусные препараты и средства специфической профилактики отсутствуют.

Вирус эпидемического паротита

Эпидемический паротит, или «свинка», - острая инфекция с преимущественным поражением околоушных слюнных желёз, часто сопровождающаяся эпидемическими вспышками. Возбудитель (вирус эпидемического паротита) выделили К.Джбнсон и Р.Гудпасчер (1934). Морфологически вирус сходен с прочими парамиксовирусами; содержит внутренний белок NP и

поверхностные гликопротеины NH и F. Вирусы проявляют гемадсорбирующую, гемолитическую, нейраминидазную и симпластообразующую активности.

Эпидемиология

Основной резервуар вируса эпидемического паротита - больной человек, также известны случаи заболевания собак, заразившихся от хозяев. Возможно экспериментальное воспроизведение инфекции у приматов. *Возбудитель передаётся воздушно-капельным путём*. Заболевание регистрируют в течение всего года с увеличением заболеваемости в осенне-зимние месяцы. Наиболее подвержены заболеванию дети в возрасте 5-10 лет; мальчики болеют чаще, чем девочки. Вирус эпидемического паротита чувствителен к действию высоких температур, инсоляции и дезинфектантов.

Антигенная структура

Иммуногенные свойства проявляют белок NP (цитоплазматический S-Ag) и поверхностные NH- и F-гликопротеины. Антигенная структура стабильна; известен один серовар вируса эпидемического паротита.

Патогенез поражений

Первоначально возбудитель размножается в эпителии носоглотки, затем проникает в кровоток и в период вирусемии проникает в различные органы - околоушные железы, яички, яичники, поджелудочную, щитовидную железы, головной мозг и другие органы.

Клинические проявления

Инкубационный период эпидемического паротита составляет 14-21 сут; типичная форма заболевания проявляется как одноили двухсторонний паротит, сопровождающийся лихорадкой. Инфицирование слюнных желёз происходит путём гематогенного распространения вируса (вирусемии), возникающего через 3-5 сут после появления первых симптомов. *Вирусемия приводит к диссеминированию вируса по всему организму; возможны серозные менингиты, эпидидимоорхиты* (регистрируют у 20-35% мальчиков в постпубертатном периоде) и др. Выздоровление сопровождается развитием стойкой невосприимчивости к повторным заражениям.

Принципы микробиологической диагностики

Применяют вирусологические и серологические методы. Материалы для исследований - слюна, СМЖ, пунктаты околоушных желёз и моча. Возбудитель выделяют заражением 7-8-суточных куриных эмбрионов и культур клеток фибробластов кур. Идентификацию вируса эпидемического паротита проводят в РТГА (агглютинирует эритроциты кур, уток, морских свинок и собак), РН, РСК и РИФ. Сывороточные АТ определяют в парных сыворотках в РСК или РТГА.

Лечение и профилактика

Средства специфической химиотерапии отсутствуют. Симптоматическое лечение оказывает благоприятный эффект. Для специфической профилактики применяют живые вакцины; иммунизацию проводят однократным подкожным введением. Для лечения и поздней профилактики используют специфический у-глобулин, но он мало эффективен при лечении орхитов.

Вирус кори

Корь - острая инфекция, проявляющаяся интоксикацией, катаральными явлениями, своеобразной энантемой и папулёзно-пятнистой сыпью. Вирус кори - типовой вид рода *Morbillivirus* [от лат. *morbilli*, корь]. В его состав также включены патогенные для человека

вирусы подостро-го склерозирующего панэнцефалита и рассеянного склероза. Впервые вирус выделили Д. Эн-дерс и Т.Пйблз (1954). Вирус кори имеет сферическую форму, диаметр - 150-250 нм (рис. 26-3). Геном образован несегментированной однонитевой молекулой -РНК. С ней ассоциированы нуклеокапсидный белок NP и полимеразные белки Р и L, образующие нуклеокапсид со спиральным типом симметрии. Снаружи он окружён матриксным М-белком. Оболочка вируса образована двойным слоем липидов, включающим гликопротеины Н (гемагглютинин) и F (белок слияния). В культуре клеток вирус кори даёт характерный цитопатический эффект с образованием гигантских клеток и/или синцитиев, либо образует зернистые тельца включений в цитоплазме и ядре.

Эпидемиология

Корь распространена повсеместно, а в некоторых странах она эндемична. *Резервуар инфекции - больной человек. Возбудитель передаётся воздушно-капельным путём.* Наибольшую эпидемическую опасность больной представляет в продромальный период и период кожных высыпаний. Вирус кори нестойк во внешней среде, чувствителен к инсоляции, высоким температурам и быстро разрушается под действием дезинфектантов и детергентов.

Антигенная структура

Основные Ag - гемагглютинин, белок F и нуклеокапсидный белок NP. AT к гемагглютинину и F-протеину проявляют цитотоксическое действие, направленное против инфицированных клеток. Вирус кори имеет общие антигенные детерминанты с прочими морбилливирусами. Антигенная структура стабильная. Все известные штаммы принадлежат к одному серологическому варианту.

Патогенез поражений

Первоначально вирус размножается в эпителии верхних отделов дыхательных путей и регионарных лимфатических узлах, а затем проникает в кровоток. Вирусемия носит кратковременный характер и развивается на 3-5-е сутки инкубационного периода. Возбудитель гематогенно диссеминирует по организму, фиксируясь в ретикулоэндотелиальной системе. Гибель инфицированных клеток приводит к развитию второй волны вирусемии с вторичным инфицированием конъюнктивы, слизистых оболочек дыхательных путей и полости рта. Циркуляция в кровотоке и формирующиеся защитные реакции обуславливают повреждение стенок сосудов, отёк тканей и некротические изменения в них.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода составляет 8-13 сут. Продромальные проявления включают риниты, фарингиты, конъюнктивиты (часто с фотофобиями), головные боли и т.д. Дифференциально-диагностический признак - экзантемы на слизистой оболочке щёк (пятна Бельского-Филатова-Кбплика); обычно они появляются за 24-36 ч до появления высыпаний на коже. Папулёзная сыпь сначала появляется на голове (на лбу, за ушами), затем распространяется на тело и конечности. Через неделю происходит нормализация температуры тела. Выздоровление сопровождается развитием стойкой невосприимчивости к повторным заражениям. Частые осложнения кори - бронхопневмонии и средние отиты, обычно с наложением бактериальных инфекций. У пациентов с иммунодефицитами возможна гигантоклеточная пневмония. Наиболее тяжёлое осложнение - энцефалиты, обусловленные формированием аутоиммунных реакций. Нередко отмечают необычные формы коревой инфекции:

Атипичная корь возникает у новорождённых, атипичное течение обусловлено циркуляцией материнских сывороточных противокоревых АТ (IgG). Заболевание характеризуется удлинением инкубационного периода, отсутствием типичных признаков и стёртым течением.

Митигированная корь развивается у детей, получивших инъекцию противокорьевого Ig в инкубационный период заболевания. Заболевание характеризуется удлинением инкубационного периода, атипичной клинической картиной (раннее появление сыпи, её исчезновение без пигментации, отсутствие интоксикации и т.д.).

Принципы микробиологической диагностики

Для экспресс-диагностики проводят поиск вирусных Аг в эпителии носоглотки с помощью РИФ. Микроскопия образцов эпителия позволяет обнаружить гигантские многоядерные клетки. Выделение вируса проводят заражением первично-трипсинизированных культур клеток почек обезьян или эмбриона человека с последующей идентификацией с помощью РИФ, РТГА и

РН. Нарастание сывороточных АТ определяют в парных сыворотках в период реконвалесценции с помощью РСК, РН и РТГА.

Лечение и профилактика

Средства специфической терапии отсутствуют, симптоматическое лечение оказывает благоприятный эффект. В настоящее время для специфической профилактики применяется живая аттенуированная вакцина (в РФ из штамма Л16). Вакцинацию проводят однократно, подкожно. Её применение вызывает формирование невосприимчивости у 95-98% лиц продолжительностью около 10 лет.

Респираторно-синцитиальный вирус

Респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус) - основной возбудитель заболеваний нижних дыхательных путей у новорождённых и детей раннего возраста. Впервые вирус выделил Р.Чёнок с соавторами у детей с ОРВИ (1957). Вирионы вируса сферической формы, диаметром 120-200 нм. Геном образован несегментированной молекулой -РНК. С ним связаны нуклеокапсидный белок N и белки P и L полимеразного комплекса (содержащего транскриптазу). Белки M и N прилегают к внутренней поверхности суперкапсида. Суперкапсид пронизывают шипы, образованные гликопротеинами G и F. Белок G обеспечивает взаимодействие с клеточными рецепторами. Белок F обеспечивает слияние оболочки вируса с клеточной мембраной и мембраной лизосом, а также слияние инфицированной клетки с прилегающими незаражёнными клетками. В результате слияния клеток образуется синцитий - структура из клеток, соединённых выростами цитоплазмы. У РС-вируса отсутствует гемагглютинин; его отличает меньшая гемадсорбционная и гемолитическая активность.

Эпидемиология

Резервуар возбудителя - больной человек; возбудитель передаётся воздушно-капельным путём. РС-вирус вызывает ежегодные эпидемические инфекции дыхательных путей у новорождённых и детей раннего возраста. Подъём заболеваемости приходится на осенне-зимний период. РС-вирус малоустойчив во внешней среде и склонен к самораспаду. Быстро инактивируется под действием высокой температуры и дезинфектантов.

Антигенная структура

Выделяют три серовара типа РС-вируса; антигенные различия обуславливают специфический поверхностный Аг. Серологические различия выражены слабо.

Патогенез поражений

Размножение возбудителя происходит в эпителии воздухоносных путей, вызывая гибель заражённых клеток. РС-вирус проявляет выраженные иммуносупрессивные свойства, что объясняет высокую частоту вторичных бактериальных инфекций, а также вызывает развитие аутоим-мунопатологии за счёт длительной циркуляции иммунных комплексов.

Клинические проявления

У детей старшего возраста и взрослых развивается клиническая картина ОРВИ. У детей младше 8 мес (очевидно, из-за отсутствия IgA в дыхательных путях) вирус проникает в нижние отделы дыхательных путей и лёгочную паренхиму с развитием бронхоолита. *При выздоровлении развивается нестойкая невосприимчивость к повторным заражениям.*

Принципы микробиологической диагностики

Проводят вирусоскопические, вирусологические и серологические методы. Материалом для исследований служат слизь из зева, носовое отделяемое и кровь. Для экспресс-диагностики используют РИФ и ИФА, позволяющие выявить вирусные Аг в носовом отделяемом и клетках слизистой оболочки. Выделение возбудителя проводят заражением культур клеток (например, Нер-2, HeLa). Вирус идентифицируют в РИФ, РСК и РН, а также по способности образовывать синцитий. Специфические АТ в парных сыворотках определяют в РСК и РН.

Лечение

Лечение симптоматическое. Средства иммунопрофилактики не разработаны.

респираторные коронавирусы

Семейство *Coronaviridae* включает один род - *Coronavirus*, объединяющий вирионы округлой или овальной формы диаметром 50-220 нм. Зрелые частицы окружены суперкапсидом, включающим редко расположенные гликопротеиновые шипы, состоящие из тонкой шейки и массивной шаровидной овальной или грушевидной головки, что придаёт им сходство с короной. Шипы опосредуют взаимодействие с клеточными рецепторами и проникновение в клетки посредством слияния вирусных суперкапсидов с мембранами клеток. Геном образует несегментированную молекулу +РНК, с ним связан нуклеокапсидный белок. Нуклеокапсид организован по типу спиральной симметрии. Снаружи его покрывает матриксный белок. Репликативные процессы реализуются в цитоплазме и происходят достаточно медленно (см. также главу 5). У человека коронавирусы вызывают поражения воздухоносных путей и ЖКТ.

Эпидемиология

Респираторные коронавирусные инфекции повсеместно регистрируют как «банальную простуду». У взрослых инфекции чаще протекают бессимптомно или стёрто. *Резервуар возбудителя - больной человек; вирус передаётся воздушно-капельным путём.* Вирусы лабильны к действию факторов внешней среды и быстро погибают под действием высокой температуры, инсоляции и дезинфектантов.

Антигенная структура

По составу Аг коронавирусы разделяют на четыре антигенные группы. Аг коронавирусов человека значительно отличаются от Аг коронавирусов, патогенных для животных. Антигенная гетерогенность возбудителей обуславливает высокую частоту реинфекций другими сероварами.

Патогенез и клинические проявления

В основе заболевания лежит цитопатическое действие возбудителя в месте проникновения. Инкубационный период длится 2-5 сут. Респираторные инфекции протекают по типу катара верхних отделов дыхательных путей. Типичны катаральный ринит и ринофарингит с обильным серозным (реже серозно-гнойным) отделяемым. Через 5-7 сут наступает спонтанное выздоровление, сопровождающееся развитием стойкой невосприимчивости к серовару, вызвавшему инфекцию.

Принципы микробиологической диагностики

Проводят вирусоскопические и серологические методы. Материалом для исследований служат слизь из зева, носовое отделяемое и кровь. Для экспресс-диагностики используют РИФ, выявляющую Аг вирусов в носовом отделяемом и клетках слизистой оболочки. Вирусоспецифические АТ в парных сыворотках определяют в РТГА, РН (выявляют как свежие, так и давно перенесённые инфекции) и РСК (позволяет выявить только свежие случаи).

Лечение и профилактика

Большое количество антигенных вариантов коронавирусов делает бессмысленным изготовление вакцин и проведение иммунопрофилактики. Общие методы профилактики аналогичны таковым при гриппе и прочих ОРВИ. Средства этиотропной терапии отсутствуют. При тяжёлых формах может быть использован специфический Ig, изготовленный из сыворотки взрослых доноров. В РФ применяют препарат, содержащий высокие титры АТ к вирусу ОС43, представляющему наибольшую эпидемическую опасность.

респираторные аденовирусы

Респираторные аденовирусы впервые выделены У.Рбу с соавторами (1953) из тканей миндалин и аденоидов у детей, в связи с чем вирусы и получили своё название. Патогенные для человека вирусы включены в состав рода *Mastadenovirus* (аденовирусы млекопитающих) семейства *Adenoviridae*. Аденовирусы организованы по принципу кубической симметрии и не имеют суперкапсида. Геном представлен линейной молекулой двухнитевой ДНК. ДНК, связываясь с белками, формирует плотную сердцевину вируса, видимую при электронной микроскопии. Средний диаметр вириона равен 60-90 нм. Капсид состоит из 252 капсомеров, 240 из них (гексоны) образуют его грани, 12 (пентоны) - полигональные основания и прикрепленные к нему нити.

Гексоны определяют токсическую активность; пентоны и нити - гемагглютинирующие свойства. Транскрипция и репликация происходят в ядре, трансляция - в цитоплазме.

Эпидемиология

Аденовирусные инфекции человека составляют 5-10% всех вирусных заболеваний, большая часть поражений приходится на детский возраст (около 75%); при этом 35-40% случаев регистрируют у детей до 5 лет, остальные - в возрасте до 14 лет. *Резервуар инфекции - больной человек; вирус передаётся воздушно-капельным и контактным путём.*

Антигенная структура

В настоящее время насчитывают около 80 сероваров. Каждый вирион имеет не менее семи антигенных детерминант. Гексоны содержат группоспецифические А-Аг. Пентоны содержат ВАг, по структуре которых все аденовирусы разделяют на три подгруппы. Нити содержат типоспецифический С-Аг; по его структуре выделяют 41 серовар. Нуклеокапсид является компонент-связывающим Аг, идентичным для различных сероваров.

Патогенез поражений

Размножение вирусов происходит в клетках слизистых оболочек верхних отделов воздухоносных путей и конъюнктивы. Затем они проникают в кровоток, циркулируют в нём в течение нескольких суток, а затем мигрируют в нижние отделы дыхательного тракта.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода составляет 6-9 сут. Наиболее часто отмечают ОРВИ, протекающие по типу гриппоподобных поражений. Основные возбудители - вирусы 3-го, 4-го и 7-го сероваров. Инфекции нижних отделов дыхательных путей у новорождённых сопровождаются поражениями, клинически не отличимыми от инфекций, вызываемых вирусом парагриппа 3-го типа и РС-вирусом. Основные возбудители - вирусы сероваров 1, 2, 3, 5, 6, 7 и 21; более тяжёлые поражения вызывают серовары 1, 2 и 5.

Принципы микробиологической диагностики

Проводят вирусоскопические и серологические методы. Материалом для исследований служат слизь из зева, отделяемое носа и конъюнктивы, кровь. Для экспресс-диагностики используют РИФ, позволяющую выявить Аг вирусов в носовом отделяемом и клетках слизистых оболочек. Выделение возбудителя проводят заражением культур первично-трипсинизированных клеток эмбриона человека. Идентификацию аденовирусов проводят по цитопатическому эффекту и в РСК, позволяющей выявить общий комплемент-связывающий Аг. Серологическую принадлежность определяют в РТГА и РН с помощью типоспецифических антисывороток. Нарастание титров вирусоспецифических АТ в парных сыворотках определяют в РСК. Титры типоспецифических АТ определяют в РТГА и РН с эталонными штаммами различных сероваров в культурах клеток.

Лечение и профилактика

Лечение симптоматическое; средства специфической лекарственной терапии отсутствуют. Для профилактики дыхательных поражений разработаны эффективные живые вакцины, включающие ослабленные вирусы доминирующих сероваров. Их широкое применение ограничено сложившимся представлением о способности аденовирусов вызывать злокачественные трансформации клеток у человека.

вирус краснухи

Краснуха - острая инфекция, проявляющаяся кратковременной лихорадкой, мелкопятнистой экзантемой, генерализованной лимфаденопатией и поражением плода у беременных. Вирус краснухи включён в род *Rubivirus* семейства *Togaviridae* и является единственным тогавирусом, эпидемиология которого не связана с членистоногими-переносчиками. Зрелые вирионы имеют сферическую форму и диаметр 50-60 нм. Геном образован несегментированной молекулой +РНК. Липидная оболочка суперкапсида содержит гликопротеины Е₁ (агглютинирует эритроциты кур) и Е₂ (служит рецептором при контакте с клеткой), имеющие форму шипов. Этапы репликации аналогичны таковым у тогавирусов (см. также главу 5). Состав Аг у различных изолятов стабилен; выделяют один серовар вируса краснухи.

Эпидемиология

Резервуар возбудителя - инфицированный человек; вирус передаётся воздушно-капельным, реже - трансплацентарным путём. Незначительные вспышки возникают каждые 1-2 года, крупные - каждые 6-9 лет. Вирус краснухи патогенен для человека, обезьян макак; отдельные штаммы проявляют тератогенный эффект у кроликов.

Патогенез поражений

Размножение вируса вызывает острую воспалительную реакцию в верхних отделах дыхательных путей. Через неделю он проникает в кровоток и диссеминирует в различные органы, включая плаценту при беременности.

Клинические проявления

При дыхательных поражениях инкубационный период длится 11-23 сут; продолжительность продромального периода варьирует от нескольких часов до 1-2 сут. Характерный признак заболевания - пятнисто-папулезная сыпь бледно-розового цвета, наиболее обильная на разгибательных поверхностях конечностей, спине и ягодицах. Появлению сыпи предшествует увеличение лимфатических узлов (обычно шейных и затылочных). Осложнения редки; чаще наблюдают отиты, бронхопневмонии, полиневриты. Серьезные осложнения - краснушные энцефалиты и энцефало-миелиты, обычно наблюдаемые у взрослых. Поражения протекают тяжело и в 20-50% случаев заканчиваются фатально. Трансплацентарное инфицирование вызывает повреждение тканей всех зародышевых листков. Наиболее часто отмечают низкую массу тела при рождении, проявления тромбоцитопенической пурпуры, гепатоспленомегалию, пневмонии и др. В 50% случаев внутриутробного инфицирования у плода развиваются катаракта, пороки сердца, микроцефалия (с нарушением умственного развития) и глухота. Наибольшую опасность представляет инфицирование плода в I триместре беременности - при заражении в первые 2 мес риск развития патологии составляет 40-60% (при этом наблюдают формирование множественных пороков); на более поздних сроках он составляет 30-50% (дефекты чаще бывают единичными). При выздоровлении формируется стойкая невосприимчивость. Однако она может быть ослаблена массовыми вакцинациями, и для её поддержания следует периодически проводить вторичные вакцинации.

Принципы микробиологической диагностики

Основа диагностики - вирусологические и серологические методы. Для выделения вируса используют отделяемое носоглотки и кровь до появления сыпи. Вирус краснухи размножается и вызывает цитопатический эффект в культурах клеток амниона человека, почек кроликов и обезьян. В других культурах он не проявляет цитопатического действия и проявляет эффект интерференции, защищая клетки от действия любого другого цитопатогенного вируса. Это свойство обычно и используют для идентификации возбудителя. Вирус краснухи агглютинирует эритроциты птиц (голубей, гусей и др.) и проявляет гемолитическую активность. Для идентификации вирус краснухи используют реакцию радиального гемолиза и РН гемолитической активности. Вирусоспецифические сывороточные АТ у детей определяют с помощью наборов для TORCH-инфекций. Также парные сыворотки можно исследовать в РСК, РТГА и ИФА. Серологическое обследование беременных проводят сразу после контакта с больным. Наличие АТ в крови указывает на заражение, предшествующее контакту. Выявление IgM свидетельствует о текущей или недавно перенесённой инфекции. При отсутствии сывороточных АТ беременную следует обследовать через 28 сут (18 сут - продолжительность инкубационного периода плюс 10 сут на появление высоких титров АТ). Выявление АТ при вторичном исследовании указывает на факт инфицирования.

Лечение и профилактика

Средства этиотропной терапии отсутствуют. Беременным, контактировавшим с больным, профилактически вводят специфический Ig (препарат абсолютно неэффективен после развития вирусемии и инфицирования плода). Основу профилактики составляют карантинные мероприятия в детских учреждениях. Для специфической профилактики разработаны живые и убитые вакцины. Широко распространены живые аттенуированные вакцины (из штаммов HPV₇₇ или RA 27/3). Разработаны комбинированные препараты, включающие также вакцины против кори и эпидемического паротита. Вакцинный вирус способен размножаться в организме. Иммунизацию

женщин детородного возраста следует проводить лишь при отсутствии беременности. При этом женщины должны избегать зачатия в течение 3 мес.

РИНОВИРУСЫ

Риновирусы представлены небольшими «голыми» вирусами 22-30 нм в диаметре. Входят в состав рода *Rhinovirus* семейства *Picornaviridae*. Геном образует несегментированная молекула +РНК, связанная с белком VPg. Нуклеокапсид организован по типу кубической симметрии. После его удаления экстрагированная РНК сохраняет инфекционность. Образование дочерних популяций происходит в цитоплазме; высвобождение вирусов сопровождается лизисом клетки. Рино-вирусы разделяют на две большие группы по способности к репродукции в клетках приматов.

Вирусы группы Н размножаются и вызывают цитопатические изменения в ограниченной группе диплоидных клеток человеческого эмбриона и специальной линии (R) клеток HeLa.

Вирусы группы М размножаются и вызывают цитопатические изменения в клетках почек обезьян, почек эмбриона человека и различных перевиваемых клеточных линиях человеческих клеток. По структуре единственного типоспецифического Аг выделяют 113 иммуно разнородных групп. Группоспецифический Аг отсутствует.

Эпидемиология

Риновирусные инфекции регистрируют повсеместно в течение всего года с подъёмом заболеваемости в холодный период. *Резервуар возбудителя - больной человек* (выделяет возбудитель в течение 1-2 сут до появления симптомов и 2-3 сут после начала заболевания). *Вирус передаётся воздушно-капельным путём*. Риновирусы мало устойчивы к изменению рН среды (их инактивация происходит при рН 3,0-5,0) и действию дезинфектантов, но устойчивы к высоким температурам; длительно сохраняются при 50-60 °С.

Клинические проявления

Длительность инкубационного периода при риновирусных инфекциях составляет 2-5 сут; у человека обычно наблюдают ОРВИ, реже бронхопневмонии. У детей инфекции сопровождаются лихорадкой, у взрослых повышение температуры наблюдают редко. Продолжительность заболевания обычно составляет 7 сут. Осложнения - хронический бронхит (обычно у детей, страдающих заболеваниями лёгких), синуситы (часто осложняются бактериальными суперинфекциями) и воспаление среднего уха. Риновирусная инфекция вызывает развитие невосприимчивости только против гомологичного штамма на период, равный как минимум двум годам.

Принципы микробиологической диагностики

Для подтверждения диагноза проводят выделение вирусов на культурах клеток, заражённых отделяемым из носовых ходов; возбудитель идентифицируют в РН с помощью антисывороток.

Лечение и профилактика

Средства специфической противовирусной терапии отсутствуют, лечение симптоматическое. Иммунопрофилактика невозможна ввиду большого числа серологических вариантов возбудителя.

ГЛАВА 27. ВОЗБУДИТЕЛИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Острые кишечные вирусные заболевания по частоте занимают второе место в инфекционной патологии человека после ОРВИ. Основные причины столь широкого распространения острых кишечных вирусных заболеваний - низкий уровень личной гигиены населения и плохие санитарно-гигиенические условия жизни, большое число возбудителей и отсутствие средств иммунопрофилактики вызываемых ими заболеваний.

ЭНТЕРОВИРУСЫ

Род *Enterovirus* относят к семейству *Picornaviridae*, включающему мелкие РНК-геномные вирусы, что отражено в его названии [от итал. *piccolo*, маленький, + англ. *RNA*, РНК, + лат. *-viridae*, вирусы]. Вирионы имеют диаметр 22-30 нм. Геном образует несегментированную молекулу +РНК, связанная с белком VPg. Нуклеокапсид организован по типу кубической симметрии (рис. 27-1). После его удаления экстрагированная РНК сохраняет инфекционность. Суперкапсид отсутствует. Образование дочерних популяций происходит в цитоплазме; высвобождение вирусов сопровождается лизисом клетки (см. также главу 5). К энтеровирусам относят полиовирусы (1-3-го типов), вирусы групп Коксаки А (24 серовара), Коксаки В (6 сероваров) и ЕСНО (34 серовара), а также несколько неклассифицированных вирусов человека. Все вирусы кислотоустойчивы и относительно стабильны при низких значениях рН (менее 3,0), что позволяет им выживать в кислой среде желудка, а отсутствие суперкапсида делает их резистентными к действию жёлчных кислот.

Возбудитель полиомиелита

Полиомиелит (болезнь Хайне-Медина) - острая инфекция с поражением нейронов продолговатого мозга и передних рогов спинного мозга. Судя по имеющимся историческим документам, заболевание известно уже много тысячелетий (рис. 27-2). Вирусную этиологию заболевания установили К.Ландштайнер и Г.Пбппер (1909).

Эпидемиология

Заболевание регистрируют повсеместно, более часто в странах Северного полушария с умеренным климатом. *Источник инфекции - человек; основной путь передачи - фекально-оральный*, реже контактный (с отделяемым носоглотки) и через загрязнённую воду. Для полиовирусных инфекций характерна сезонность с подъёмом заболеваемости в летние месяцы. Инфицированный человек выделяет вирус в течение 5 нед.

Антигенная структура

Антигенная структура стабильна, возможны редкие серологические вариации. Все вирусы разделяют на три группы. Наибольшую эпидемическую опасность представляют вирусы 1-го типа.

Патогенез поражений

Первично полиовирусы размножаются в эпителии рта, глотки, тонкой кишки, а также в лимфоидных тканях кольца Пирогова-Вальдейера и пейеровых бляшках. Затем возбудитель проникает в кровоток (первичная вирусемия) и в различные органы, исключая ЦНС. *При наличии сывороточных АТ дальнейшее диссеминирование возбудителя прекращается, то есть развивается abortивная инфекция. В противном случае развивается вторичная вирусемия, и возбудитель попадает в ЦНС.* Тропизм возбудителя обусловлен наличием рецепторов для полиовирусов на нейронах передних рогов спинного мозга, продолговатого мозга и варолиева моста.

Клинические проявления

Абортивная инфекция не вызывает развития специфического симптомокомплекса и проявляется лишь подъёмом температуры тела, слабостью, катаральными либо желудочно-кишечными расстройствами. У незначительной части заболевших развивается менингеальная форма полиомиелита по типу самоограничивающегося асептического менингита. Паралитическая форма (наблюдается у 0,1-1% пациентов) начинается бурно, с подъёмом температуры тела до 39,40 °С, сочетающимся с неврологическими расстройствами. Параличи развиваются внезапно, на 3-5-е сутки. При поражении клеток передних рогов спинного мозга возникает спинальный полиомиелит. Чаще наблюдают асимметричные поражения нижних конечностей (60-80%); вследствие поражения моторных нейронов развивается атрофия мышц. Особую опасность представляют поражения нервов, иннервирующих диафрагму, из-за риска развития дыхательной недостаточности. При поражении нейронов продолговатого мозга и варолиева моста (понтинная форма) развивается бульбарный полиомиелит. Заболевание носит более тяжёлый характер, так как возможно вовлечение центров, контролирующих работу дыхательных мышц или мышц мягкого нёба и гортани. Часто наблюдают присоединение бактериальных инфекций с развитием тяжёлых, часто фатальных пневмоний. Наиболее тяжело протекают сочетанные спинально-бульбарные поражения. *Частота и тяжесть паралитической формы заболевания увеличиваются с возрастом.* Для детей старше 10-15 лет более характерно развитие тяжёлых, калечащих форм заболевания. После выздоровления развивается стойкая невосприимчивость.

Принципы микробиологической диагностики

Идентификация возбудителя имеет особое значение, так как многие энтеровирусы и герпесвирусы способны вызывать похожие поражения. Материалы для исследований - кровь и СМЖ. Выделение возбудителя проводят в первичных культурах ткани (эмбрионы) или культурах клеток HeLa, Her-2, СОЦ и др. Идентификацию полиовирусов осуществляют по цитопатическому эффекту и в РН с типовой антисывороткой. Вирусоспецифические АТ определяют в сыворотке и СМЖ; выявление высоких титров IgM указывает на наличие инфекции.

Лечение и профилактика

Средства специфической противовирусной терапии отсутствуют; проводят симптоматическое лечение и предупреждают развитие вторичных бактериальных инфекций. После стихания клинических проявлений осуществляют коррекцию ортопедических дефектов, включая физиотерапию, оперативные вмешательства и применение специальных устройств. Для специфической иммунопрофилактики разработаны ослабленная живая вакцина Сэйбина и убитая вакцина Солка. *В РФ используют живую вакцину Сэйбина.* Из других средств профилактики следует упомянуть необходимость постоянного контроля за санитарно-гигиеническим режимом в детских учреждениях. Особое внимание следует уделить обеззараживанию молока (кипячение, пастеризация).

Вирусы Коксаки

Первых представителей выделили Г.Дблдорф и Г.Сйклз (1948) из кишечника детей с полиомиелитоподобными поражениями в госпитале городка Коксаки (штат Нью-Йорк, США). Несмотря на полное морфологическое сходство с полиовирусами, вирусы Коксаки имеют иную антигенную структуру и перекрёстно не реагируют с АТ к возбудителям полиомиелита. По характеру селективного патогенного действия, оказываемого при заражении на мышат-сосунков, их разделяют на две группы. *Вирусы группы А вызывают диффузный миозит с воспалением и очаговым некрозом поперечно-полосатых мышц. Вирусы группы В вызывают поражения ЦНС (очаговые дегенерации, параличи), некроз скелетной мускулатуры (иногда миокарда), воспалительные поражения селезёнки и др.* По структуре типоспецифического Аг

вирусы группы А разделяют на 24 серовара, вирусы группы В - на 6. Серовары не содержат группоспецифического Аг, но обладают перекрёстной реактивностью).

Эпидемиология

Вирусы Коксаки распространены повсеместно; рост заболеваемости отмечают в летне-осенние месяцы. *Резервуар инфекции - инфицированный человек* (вирусы также могут циркулировать у различных животных). *Основные механизмы передачи - фекально-оральный и контактный* (с отделяемым носоглотки). Пути проникновения возбудителя и распространение идентичны таковым у полиовирусов.

Клинические проявления

Инфекции наиболее часто наблюдают у детей. Более 90% поражений протекает легко, часто бессимптомно. Обычно отмечают симптомы «простуды» или лихорадку неясного генеза. В редких могут развиваться тяжёлые поражения - пузырчатка полости рта и конечностей (вирусы группы А); эпидемическая плевродиния, перикардиты и миокардиты (вирусы группы В). Острые кишечные вирусные заболевания вызывают только вирусы группы А.

Принципы микробиологической диагностики

Основа микробиологической диагностики - вирусологические и биологические методы. Материалом для исследования служат смывы и мазки из носоглотки, содержимое кишечника. Выделение возбудителя проводят заражением культур клеток (например, HeLa или почек обезьян) и мышат-сосунков (последнее особо значимо для идентификации вирусов группы А, проявляющих слабый цитопатогенный эффект *in vitro*). Гемагглютинирующие варианты выявляют с помощью РТГА, характеризующейся типоспецифичностью. При наличии цитопатического эффекта типирование вируса проводят в РИФ внесением меченых диагностических антисывороток. Принадлежность к сероварам определяют в РСК или РН с типоспецифическими антисыворотками.

Лечение и профилактика

Проводят симптоматическую терапию, так как эффективные противовирусные препараты и средства специфической профилактики отсутствуют.

ЕСНО-вирусы

Основанием для выделения представителей в особую группу кишечных вирусов послужило полное отсутствие патогенного действия на лабораторных животных. В связи с трудностями их систематики вирусы назвали кишечными [от англ. *enteric*] цитопатогенными [от англ. *cytopathogenic*] человеческими [от англ. *human*] «сиротскими» [от англ. *orphan*] (то есть неклассифицированными) вирусами. Эпидемиология ЕСНО-вирусных инфекций аналогична эпидемиологии инфекций, вызываемых полиовирусами и вирусами Коксаки. Заражение ЕСНО-вирусами происходит фекально-оральным путём, реже - ингаляционным. По структуре типоспецифического Аг выделяют 34 серовара. Вирусы двенадцати сероваров проявляют гемагглютинирующую активность. Наибольшую эпидемическую опасность проявляют вирусы 11-го, 18-го и 19-го сероваров. Как правило, возбудитель диссеминирует гематогенно и оседает в органах, к тканям которых тропен возбудитель. Вирусы сероваров 8-11 и 20 вызывают «простудные» инфекции; серовары 2-9, 12, 14, 16, 21 - асептические менингиты, протекающие относительно легко, не вызывая осложнений (в большинстве случаев наблюдают спонтанное выздоровление). Реже наблюдают восходящие параличи и энцефалиты, напоминающие поражения, вызываемые полиовирусами. Серовары 9 и 16 вызывают лихорадочное состояние, сопровождающееся кореподобными высыпаниями. Материалами для микробиологической диагностики служат испражнения, смывы и мазки из зева, кровь и СМЖ. Выделение возбудителя

проводят заражением клеток почек обезьян. Принципы идентификации сходны для всех энтеровирусов. Сывороточные АТ (в парных сывотках, забираемых в начале и на 2-3-ю неделю болезни) выявляют в РН, РСК и РТГА. Средства терапии и эффективной профилактики ЕСНО-вирусных инфекций отсутствуют; проводят симптоматическое лечение.

РОТАВИРУСЫ

Патогенные для человека виды вызывают острый энтерит у новорождённых и детей раннего возраста. Они объединены в группы А и В рода *Rotavirus* семейства *Reoviridae*. Возбудителей впервые выделил Р.Бйшоп (1973). Вирионы ротавирусов имеют сферическую форму диаметром 65-75 нм. Геном образован двухнитевой молекулой РНК, разделённой на 11 сегментов. Геномная РНК и РНК-полимераза образуют сердцевину вириона. В его состав также входят восемь капсидных белков VP. Нуклеокапсид имеет два слоя: внутренний имеет вид икосаэдра, окружает сердцевину и соединяется с наружным слоем, что придаёт им вид «колеса» (от лат. *rota*, колесо; рис. 27-3). В клиническом материале можно обнаружить вирусы с одно- и двухслойным нуклеокапсидом. Инфекционные свойства проявляют вирионы с двухслойной оболочкой.

Эпидемиология

Ротавирусные инфекции регистрируют повсеместно. Они вызывают около 25% всех гастроэнтеритов у детей до года, до 60% в возрасте 1-3 года и до 40% у детей 4-6 лет; в более старших группах заболевания регистрируют значительно реже. *Резервуар инфекции - больной человек; передача вирусов происходит фекально-оральным путём.* Рост заболеваемости отмечают в осенние и зимние месяцы.

Антигенная структура

По структуре белков VP₃ и VP₇ выделяют четыре серовара. По групповым Аг ротавирусы разделяют на шесть серогрупп (А-F).

Патогенез и клинические проявления

Ротавирусы размножаются в эпителии слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки, вызывая массовую гибель клеток. Клинически поражения проявляются рвотой (длится 2-6 сут) и выраженным диарейным синдромом. Инкубационный период не превышает 24-96 ч. Диарея продолжается не более 24-48 ч; прогноз заболевания благоприятный. У маленьких детей основным осложнением может быть дегидратация, приводящая к тяжёлым последствиям.

Принципы микробиологической диагностики

Основу диагностики составляют вирусоскопические и серологические методы. Ротавирусы обнаруживают в испражнениях с помощью электронной и иммунной электронной микроскопии. Для экспресс-диагностики используют ИФА, РНК-зонды, РПГА с АТ-диагностикумом и др. Сывороточные АТ определяют в РТПГА.

Лечение и профилактика

Средства этиотропной терапии отсутствуют; проводят симптоматическое лечение, направленное на смягчение явлений диареи, и профилактику дегидратации.

Кишечные коронавирусы

Помимо ОРВИ (см. главу 26), вирусы рода *Coronavirus* вызывают и кишечные инфекции. В эпидемиологии острых кишечных вирусных заболеваний преобладает контактный путь передачи. Патогенез и клинические проявления обусловлены цитопатическим действием на эпителий

слизистой оболочки кишечника. Инкубационный период не превышает 2-5 сут. Кишечные поражения протекают по типу острых гастроэнтеритов, наиболее часто регистрируемых в детских учреждениях и больницах. Через 5-7 сут наступает спонтанное выздоровление, сопровождающееся выработкой нестойкого иммунитета. Основу диагностики составляет выявление вирусоспецифических АТ в РН, РТГА (выявляют как свежие, так и давно перенесённые инфекции) и РСК (позволяет выявить только свежие случаи). Выделение возбудителя обычно не проводят. Основу диагностики составляет выявление вирусоспецифических АТ в РН, РТГА (выявляют как свежие, так и давно перенесённые инфекции) и РСК (позволяет выявить только свежие случаи). Средства этиотропной терапии и специфической профилактики отсутствуют.

Калицивирусы

Род *Calicivirus* семейства *Caliciviridae* объединяет вирусы с «голым» кубическим капсидом диаметром 37-40 нм. Геном образован молекулой +РНК. При негативно-контрастной микроскопии на поверхности вирионов обнаруживают 32 чашевидных вдавления, в связи с чем вирусы и получили своё название [от греч. *kalux*, чаша]. Калицивирусы не размножаются в известных клеточных культурах, для их диагностики обычно используют метод иммунной электронной микроскопии. Патогенные для человека виды вызывают гастроэнтериты и гепатиты. Помимо «истинных» калицивирусов, в род включены вирус Норволк и возбудитель гепатита Е.

Возбудители гастроэнтеритов. Патогенез заболеваний обусловлен некротическими поражениями эпителия слизистой оболочки тонкой кишки, сопровождающимися развитием диарейного синдрома. Инкубационный период не превышает 1-2 сут; большинство авторов выделяют три основных типа поражений: заболевания с выраженной рвотой (обычно наблюдают в зимние месяцы, чаще у детей); эпидемические диареи (у подростков и взрослых) и гастроэнтериты (чаще у детей). Заболевания сопровождаются миалгией, головной болью; у 50% пациентов отмечают умеренную лихорадку. Диарейный синдром протекает мягко - стул водянистый, без примеси крови. Через 7-10 сут наступает спонтанное выздоровление. Лечение симптоматическое; средства этиотропной терапии и специфической профилактики отсутствуют.

Вирус Норволк и сходные с ним вирусы. Вирус Норволк имеет один структурный белок и РНК, сходные по свойствам с таковыми у калицивирусов. Вирус Норволк - представитель группы неклассифицированных возбудителей гастроэнтеритов. Обычно вирусам дают названия по месту их выделения - Норволк, Гавайи, Монтгомери Каунти, Таунтон, Сноу Маун-тин, Саппоро и др. Они представлены мелкими (24-40 нм в диаметре) круглыми вирионами. В развивающихся странах АТ к вирусу Норволк выявляют у 40-50% взрослых и иногда у детей. Заражение обусловлено употреблением загрязнённой воды и еды (особенно моллюсков и салатов). Инкубационный период не превышает 1-2 сут. Заболевания проявляются рвотой, болями в животе, водянистой диареей, проходящими спонтанно в течение 12-60 мин. Лабораторное выделение возбудителей обычно не проводят, хотя их можно выделить из испражнений пассажем на культуре клеток почек эмбриона человека.

Астровирусы

Представители семейства *Astroviridae* впервые выделены из испражнений детей с диарейным синдромом (1975). В настоящее время известно 5 сероваров; доказана их патогенность для молодняка различных животных. Вирусные частицы круглые, 28-30 нм в диаметре; геном представлен однонитевой молекулой РНК. Геном кодирует синтез до четырёх структурных белков. Астровирусы выделяют в Европе, Австралии, Японии и Северной Америке. Установлена их способность вызывать и госпитальные инфекции. Чаще поражения наблюдают у подростков и юношей. Клинические проявления развиваются после 24-36-часового инкубационного периода: типична диарея или рвота (либо их сочетание). Через 4 сут наступает спонтанное выздоровление. Лабораторное выделение возбудителя не проводят.

ГЛАВА 28. ВОЗБУДИТЕЛИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ

Вирусные гепатиты - группа полиэтиологичных антропонозных вирусных поражений печени с различными механизмами и путями передачи возбудителей. Впервые отделить инфекционный гепатит от прочих поражений печени предложил выдающийся отечественный терапевт С.П. Боткин (1888). Клинико-морфологическая картина заболеваний характеризуется преимущественным развитием диффузного воспалительного процесса в печёночной ткани с соответствующими астено-вегетативными и общетоксическими проявлениями, желтухой, гепатоспленомегалией и рядом возможных внепечёночных поражений (артриты, узелковые периартерииты, гломерулонефриты и т.д.). Причиной вирусного поражения печени могут быть различные вирусы (например, возбудитель жёлтой лихорадки или герпес-вирусы). Однако развитие тяжёлого, клинически манифестного поражения печени при этих инфекциях либо не постоянно, либо возникает только у пациентов с иммунодефицитами. К возбудителям вирусных гепатитов относят вирусы различных таксономических групп; всех их отличает способность преимущественно вызывать специфические поражения клеток печени. В настоящее время выделяют 8 типов возбудителей вирусного гепатита, обозначаемых заглавными латинскими буквами, соответственно, от А до Г и вирус ТТV [от англ. *transfusion transmitted virus*, трансфузионно передающийся вирус]. Наличие вирусного гепатита F признают не все исследователи, а полная характеристика ТТV (предположительно парвовируса), открытого лишь в 1997 г., отсутствует. Социальная значимость и экономический ущерб, наносимый вирусными гепатитами, очень высоки, что и определяет их как серьёзную проблему здравоохранения. В частности, гепатитом А ежегодно заболевают более 1 млн человек, а количество носителей вируса гепатита В в мире превышает 1 млрд. В настоящее время наиболее полно охарактеризовано 5 возбудителей вирусных гепатитов. С учётом эпидемиологических особенностей выделяют следующие вирусные гепатиты.

- Вирусные гепатиты с парентеральным (кровяно-контактным) механизмом передачи (гепатиты В, С, D, G и ТТV). Возбудители передаются трансфузионным, инъекционным, перинатальным и половым путями. Кроме того, возможна передача вирусов гепатитов В и D при тесном бытовом контакте. Потенциально любая ситуация, включающая контакт с инфицированной кровью, может привести к заражению. *Для инфекционных процессов, вызванных вышеперечисленными вирусами, характерно хроническое течение заболевания и вирусоносительство.*

- Вирусные гепатиты с энтеральным (фекально-оральным) механизмом передачи (гепатиты А, Е и, предположительно, F). Возбуди-

тели передаются пищевым, водным и контактными путями. Также не исключены гемотрансфузионный и половой пути заражения. Для заболеваний характерна сезонность (осенне-зимняя), преимущественное поражение детей и взрослых лиц молодого возраста. *Инфекционные процессы, вызванные вышеперечисленными вирусами, - всегда острые, обычно протекают благоприятно и без формирования вирусоносительства.*

ВИРУС ГЕПАТИТА А

Гепатит А (болезнь Боткина) - инфекционное заболевание с фекально-оральным путём передачи, клинически и морфологически характеризующееся поражением печени с развитием симптомокомплекса острого гепатита. Заболевание известно с глубокой древности, его описание содержат труды Гиппократов. Вирус впервые выделил С. Фейстбун (1973). В настоящее время вирус гепатита А включён в род *Hepatovirus* семейства *Picornaviridae*. Зрелые вирионы сферической формы имеют размер 25-27 нм. Геном образует несегментированная молекула +РНК. Нуклеокапсид организован по типу кубической симметрии; образован капсомерами, состоящими из четырёх белков (VP₁₋₄). Суперкапсид отсутствует.

Эпидемиология

Резервуар возбудителя - больной человек. Больной выделяет возбудитель в течение 23 нед до начала и в течение первых 3-5 сут желтушного периода. *Передача возбудителя происходит фекально-оральным путём* (через воду, пищевые продукты, грязные руки, различные предметы). вирус гепатита А устойчив в окружающей среде, при 21 °С сохраняется несколько недель; полностью инактивируется при температуре 85 °С. Вирус хорошо переносит низкие температуры, устойчив к хлору, благодаря чему сохраняется в очищенной питьевой воде. Фекальное загрязнение источников водопользования может вызвать формирование эпидемических вспышек. Пик заболеваемости приходится на холодный сезон (поздняя осень или зима). После перенесённого заболевания формируется стойкая невосприимчивость к повторным заражениям.

Антигенная структура

Возбудитель представлен одним антигенным типом и содержит главный Аг (НА-Аг), по которому его идентифицируют.

Патогенез поражений

Попадая в организм человека с водой или пищей, вирус гепатита А размножается в эпителии слизистой оболочки тонкой кишки и регионарных лимфоидных тканях. Затем наступает фаза кратковременной вирусемии. *Максимальная концентрация вируса в крови возникает в конце инкубационного периода и в преджелтушном периоде. В это время возбудитель выделяется с фекалиями.* Основная мишень для цитопатогенного действия - гепатоциты. Репродукция вируса в их цитоплазме приводит к гибели клеток. Цитопатический эффект усиливают иммунные механизмы, в частности НК-клетки, активированные ИФН, синтез которого индуцируется вирусом.

Принципы микробиологической диагностики

Маркёры репликации вируса - АТ (IgM и IgG) к Аг вируса гепатита А и вирусная РНК. Указанные маркёры определяют в ИФА и РИА. Выявление Аг вируса гепатита А в фекалиях имеет ограниченное значение, так как пик его образования приходится на инкубационный и начало желтушного периодов. Выявление Аг вируса гепатита А можно использовать для эпидемиологического обследования контактных лиц. К заражению вирусом гепатита А чувствительны приматы, но в широкой клинической практике данный метод диагностики не используют. Монослойные культуры клеток нечувствительны к вирусу гепатита А, и для выделения возбудителя предпочтительнее использовать лейкоцитарные или органные культуры. Вирус отличает слабый цитопатический эффект.

Лечение и профилактика

Средства специфической противовирусной химиотерапии отсутствуют, лечение симптоматическое. Разработанный сывороточный Ig предупреждает развитие заболевания в течение 3 мес, но также значительно смягчает течение заболевания. Его применяют для пассивной иммунизации лиц, направляющихся в эндемичные районы. Для активной иммунопрофилактики вирусного гепатита А используют убитые и рекомбинантные вакцины. Общие профилактические мероприятия направлены на улучшение санитарной обстановки, включают соблюдение карантинных мероприятий, улучшение условий водоснабжения и повышение гигиенической культуры населения.

ВИРУС ГЕПАТИТА В

Гепатит В - инфекционное заболевание с кровяно-контактным механизмом передачи, клинически и морфологически характеризующееся поражением печени с развитием симптомокомплекса острого и хронического гепатита. Возбудитель впервые обнаружили Д. Дёйн с соавторами (1970). Вирус гепатита В включён в состав

рода *Orthohepadnavirus* семейства *Hepadnaviridae*. Вирионы вируса гепатита В сферической формы 42 нм в диаметре имеют суперкапсид. Геном образует неполная (одна нить короче) двухнитевая кольцевая молекула ДНК. С короткой «плюс»-нитью ДНК связан праймерный белок. В состав сердцевинки также входит ДНК-зависимая ДНК-полимераза. Для эффективной репродукции необходим синтез ДНК-полимеразы, так как вирусная ДНК образуется на матрице РНК; в динамике процесса вирусная ДНК интегрирует в ДНК клетки. В крови больных гепатитом В циркулируют частицы трёх морфологических типов. Наиболее часто обнаруживают сферические частицы около 22 нм в диаметре; реже - нитевидные формы около 22 нм в диаметре и 50-230 нм в длину. *Вирусные частицы этих типов не проявляют инфекционных свойств.* Лишь 7% частиц представлены комплексными двухслойными сферическими образования с полной структурой - частицы Дейна, проявляющие выраженную инфекционность (рис. 28-1). Их оболочку на 70% поверхности образуют белки.

Эпидемиология

Резервуар возбудителя - инфицированный человек. Механизм передачи инфекции - кровяно-контактный. Основные пути передачи вируса гепатита В - инъекционный, гемотрансфузионный и половой. Также показана возможность вертикальной передачи вируса гепатита В от матери к плоду. 7-10% инфицированных становятся хроническими носителями. Ежегодно заболевает не менее 50 млн человек. В РФ отмечают 10-15% рост заболеваемости. Основные группы риска - медицинские работники; лица, получающие гемотрансфузии или препараты крови; наркоманы, вводящие наркотики внутривенно; больные гемофилией; лица, находящиеся на гемодиализе; дети матерей-носителей HBsAg; половые партнёры носителей вируса.

Антигенная структура

Основные Аг частиц Дейна - поверхностный HBsAg и сердцевинный HBcAg. АТ против HBsAg и HBcAg появляются в течение заболевания. Наличие АТ против HBsAg прямо связано с невосприимчивостью к инфекции (постинфекционный или поствакцинальный иммунитет).

HBsAg. Первый идентифицированный Аг вируса гепатита В; впервые его выделил Б. Блум-берг (1965) из крови австралийского аборигена, поэтому этот Аг также называют австралийским. *HBsAg часто образует дефектные морфологические частицы 1-го типа, лишённые инфекционных свойств* (побочные метаболиты репликативного цикла). В цитоплазме заражённых клеток возникает избыток HBsAg, связанного с клеточной мембраной и эндоплазматическим ретикулумом. HBsAg появляется в крови через 1,5 мес после инфицирования; постоянно циркулирует в сыворотке инфицированных лиц, а его очищенные агрегаты входят в состав вакцины против вируса гепатита В. HBsAg включает два полипептидных фрагмента: preS1 обладает выраженными иммуногенными свойствами (рекомбинантный продукт можно использовать для приготовления вакцинных препаратов); preS2 - полиглобулиновый рецептор, приводящий к адсорбции вируса на гепатоцитах.

HBcAg. Сердцевинный HBcAg представлен единственным антигенным типом; его обнаруживают только в сердцевине частиц Дейна. Аг маркирует репликацию вируса в гепатоцитах. Может быть обнаружен только при морфологическом исследовании биоптатов или аутопсийно-го материала печени. В крови в свободном виде его не определяют. Точечные мутации в участке, кодирующем синтез предшественника HBcAg, приводят к подавлению репликации HBcAg-продуцирующих мутантов вируса гепатита В, первоначально выделенных при молниеносных формах гепатита. Переход от HBcAg⁺ в HBcAg⁻-формы наблюдают у пациентов с хроническими, сравнительно умеренными поражениями.

HBeAg. Не входит в состав частиц Дейна, но связан с ними, так как появляется в сыворотке в инкубационном периоде, сразу после появления HBsAg. Образование HBeAg транслируется РНК, содержащей участки сердцевинного Аг и его предшественника. После завершения

трансляции образующаяся молекула HBeAg выводится из клетки. Функции HBeAg неизвестны; тем не менее, *HBeAg можно расценивать как наиболее чувствительный диагностический показатель активной инфекции. Обнаружение HBeAg у пациентов с хроническим гепатитом указывает на активацию процесса, что представляет высокую эпидемическую опасность.* Ag может отсутствовать при инфекции, вызванной мутантным штаммом вируса.

HVxAg - наименее изученный Ag. Предположительно опосредует злокачественную трансформацию клеток печени.

ДНК появляется в сыворотке одновременно с другими Ag вируса. Исчезает из кровотока в начале второй недели острого заболевания. Длительное персистирование - свидетельство хронической инфекции. В диагностике острого гепатита В определение ДНК используют редко.

Патогенез поражений

Вирус гепатита В гематогенно заносится в печень и размножается в гепатоцитах. Во второй половине инкубационного периода (40-180 сут) вирус выделяют из крови, спермы, мочи, фекалий и секрета носоглотки. В патогенезе поражений важную роль играют аутоиммунные гуморальные и клеточные реакции, что подтверждает связь между началом клинических проявлений и появлением специфических АТ. Патологический процесс начинается после распознавания вирус-индуцированных Ag на мембранах гепатоцитов иммунокомпетентными клетками. Осложнения хронической формы обусловлены хроническим воспалением и некротическими процессами в паренхиме печени; основные осложнения - цирроз и первичная карцинома печени. Цирроз обычно отмечают у страдающих острым хроническим гепатитом; ежегодно регистрируют более 10 000 летальных исходов, обусловленных вирусным гепатитом В. Карцинома печени. Показана чёткая связь между злокачественной трансформацией гепато-цитов и перенесённым вирусным гепатитом В. В развитии опухолевого процесса принимают участие определённые «ко-факторы», многие из которых остаются неизвестными.

Принципы микробиологической диагностики

Маркёры репликации вируса гепатита В - HBeAg, АТ (IgM) к HBcAg, ДНК вируса и вирусная ДНК-полимераза. Для выявления HBsAg и HBeAg применяют ИФА и РНГА; исследования дополняют выявлением ДНК вируса гепатита В и вирусной ДНК-полимеразы. Вирусоспецифические АТ к HBsAg, HBcAg, HBeAg определяют в ИФА и РНГА. *На наличие «свежей» инфекции указывают высокие титры HBsAg и IgM к HBsAg и HBcAg.* У пациентов с клинически проявляющимся гепатитом титр HBsAg сначала растёт, а затем (по мере развития иммунных реакций) снижается. АТ к HBsAg можно выявить только через несколько недель, что объясняют их активным связыванием в иммунные комплексы. В течение этого периода (так называемого «окна») можно обнаружить лишь АТ к HBcAg.

АТ к HBcAg. Важный диагностический маркер инфицирования, особенно при отрицательных результатах выявления HBsAg.

- *IgM к HBcAg.* Один из наиболее ранних сывороточных маркёров вирусного гепатита В. При хроническом гепатите маркируют репликацию вируса и активность процесса в печени. Их исчезновение является показателем либо санации организма от возбудителя, либо развития интегративной фазы инфекции.

- *IgG к HBcAg.* Сохраняются многие годы. Свидетельствуют об имеющейся или ранее перенесённой инфекции.

АТ к HBeAg. Серологический маркёр интеграции вируса. В комплексе с IgG HBcAg и HBsAg свидетельствуют о полном завершении инфекционного процесса.

АТ к HBsAg. Протективные АТ; также образуются после вакцинации. Применительно к хроническому вирусному гепатиту, могут свидетельствовать о завершении вирусной инфекции.

АТ к preS₁- и preS₂-фрагментам HBsAg. Свидетельствуют о развитии протективного иммунитета при завершении инфекционного процесса. АТ к Pre-S₁ выявляют одновременно с АТ к HBsAg, а АТ к Pre-S₂.

Лечение

Средства специфической терапии отсутствуют, лечение в основном симптоматическое. Определённые перспективы имеет применение ингибиторов ДНК-полимеразы (например, ламивудина), α-ИФН и его индукторов. Несмотря на то, что на терапию ИФН реагируют менее 50% пациентов, показаны достоверное исчезновение всех маркёров инфекции (ДНК вируса гепатита В, HBsAg и HBeAg) и увеличение титров АТ к HBsAg.

Иммунопрофилактика

*Пассивная иммунизация специфическим Ig (HBIg) показана лицам, контактировавшим с инфицированным материалом и носителями HBsAg (включая половых партнёров и детей, родившихся от HBsAg-положительных матерей). Для активной иммунизации разработаны два типа вакцин. Первые готовят из плазмы пациентов, содержащей Ag вируса гепатита В в количествах, достаточных для создания вакцинных препаратов. Главное условие - полная инактивация вируса гепатита В. Вторую группу составляют рекомбинантные вакцины (например, Recombivax B, Engerix B), полученные методом генной инженерии на культурах пекарских дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*). Массовая иммунизация - важнейший компонент борьбы с инфекцией. Взрослые получают 2 дозы в течение месяца и бустерную иммунизацию через 6 мес. Дети получают первую дозу сразу после рождения, следующие - через 1-2 мес и к концу первого года жизни. Если мать HBsAg-положительна, то ребёнку вводят специфический Ig одновременно с первой вакцинацией.*

ВИРУС ГЕПАТИТА D (ГЕПАТИТ ДЕЛЬТА)

Вирус гепатита D обнаружил М. Ризетто с сотрудниками (1977) в ядрах гепатоцитов во время необычно тяжёлой вспышки сывороточного гепатита в Южной Европе. Позднее его стали обнаруживать повсеместно, особенно часто в Северной Америке и странах Северо-Западной Европы. Возбудитель дельта-гепатита - дефектный РНК-содержащий вирус рода *Deltavirus* семейства *Togaviridae*. Его выделяют только от пациентов, инфицированных вирусом гепатита В. Дефектность возбудителя проявляется в полной зависимости от его передачи, репродукции и наличия вируса гепатита В. Соответственно, *моноинфекция вирусом гепатита D абсолютно невозможна*. Вирионы вируса гепатита D имеют сферическую форму, 35-37 нм в диаметре. Геном вируса образует однонитевая кольцевая молекула РНК, что сближает вирус гепатита D с вироидами. Её последовательности не имеют гомологии с ДНК возбудителя гепатита В, но суперкапсид вируса гепатита D включает значительное количество HBsAg вируса гепатита В. *Резервуар возбудителя - инфицированный человек; вирус передаётся парентеральным путём*. Возможна вертикальная передача вируса гепатита D от матери к плоду.

Патогенез поражений и клинические проявления

Инфицирование HBsAg-положительных лиц сопровождается активным размножением вируса гепатита D в печени и развитием хронического гепатита - прогрессирующего или фульминантного. Клинически проявляется только у лиц, инфицированных вирусом гепатита В. Может протекать в двух вариантах:

Коинфекция (одновременное заражение вирусами гепатитов В и D). Отмечают короткий продромальный период с высокой лихорадкой; часто мигрирующие боли в крупных суставах;

нарастание интоксикации в желтушном периоде; часто болевой синдром (боль в проекции печени или эпигастрии); возникновение через 2-3 нед от начала заболевания или клинико-лабора-торного обострения. Течение относительно доброкачественное, но восстановительный период протекает длительное время.

Суперинфекция (заражение вирусом гепатита D человека, инфицированного вирусом гепатита B). Отмечают короткие инкубационный и преджелтушный период (3-5 дней) с высокой лихорадкой, выраженной интоксикацией, повторной рвотой, болевым синдромом, артралги-

ями. Характерны выраженная желтуха, развитие отёчно-асцитического синдрома, выраженная гепатоспленомегалия, повторные клинико-лабораторные обострения. При данном варианте возможно развитие злокачественной (фульминантной) формы заболевания с летальным исходом.

Принципы микробиологической диагностики

Для диагностики острых и хронических вирусных гепатитов D широко применяют ИФА и РИА. *Маркёры репликации вируса - АТ (IgM) к Аг вируса гепатита D и вирусная РНК.* Аг вируса гепатита D появляется в крови через 3 нед после инфицирования. Вирусоспецифические IgM появляются через 10-15 дней после развития клинических проявлений. Через 2-11 нед можно идентифицировать вирусоспецифические IgG, постоянно циркулирующие у инфицированных лиц.

Лечение и профилактика

Средства специфической химиотерапии и иммунопрофилактики отсутствуют. *Поскольку репродукция вируса гепатита D невозможна в отсутствие возбудителя гепатита B, то основные профилактические мероприятия должны быть направлены на предупреждение развития гепатита B.*

ВИРУС ГЕПАТИТА С

Гепатит С обычно протекает хронически и характеризуется преимущественным развитием хронических форм гепатита с исходом в цирроз и первичную карциному печени. Вирус гепатита С включён в состав рода семейства *Flaviviridae*. Вирионы сферической формы диаметром 3550 нм окружены суперкапсидом. Геном образует однонитевая +РНК. Выделяют 6 сероваров, каждый из которых «привязан» к определённым странам. Например, в США распространён вирус гепатита С 1-го типа, в Японии - 2-го. *Резервуар возбудителя - инфицированный человек. Основной путь передачи вируса - парентеральный.* Основное отличие от эпидемиологии вируса гепатита В - более низкая способность вируса гепатита С к передаче от беременной к плоду и при половых контактах. Больной выделяет вирус за несколько недель до появления клинических признаков и в течение 10 нед после начала проявлений. Заболевание чаще регистрируют в США (до 90% всех трансфузионных гепатитов) и Африке (до 25%). Для клинической симптоматики вирусного гепатита С характерны изменение консистенции и размеров печени. При активном процессе печень обычно увеличена и болезненна при пальпации, её консистенция умеренно плотная. Другие проявления включают спленомегалию, диспептический и астенический синдромы, желтуху, артралгии и миалгии, кардиты, васкулиты, лёгочные поражения, анемии и др. Осложнения хронического процесса - цирроз и первичная карцинома печени.

Принципы микробиологической диагностики

Маркёры репликации вируса - АТ (IgM) к Аг вируса гепатита С и вирусная РНК. Маркёры выявляют методами ИФА и ПЦР. Показание для поиска АТ или РНК вируса - любое воспалительное заболевание печени. Вирусоспецифические АТ появляются в среднем через 3 мес и указывают на возможное инфицирование вирусом гепатита С или на перенесённую инфекцию. В серонегативный период выявляют РНК вируса гепатита С. Для подтверждения результатов ИФА,

а также при обследовании пациентов, не относящихся к основным группам риска, применяют метод рекомбинантного иммуноблоттинга, позволяющий эффективно исключить ложноположительные результаты ИФА.

Лечение и профилактика

Средства этиотропной терапии отсутствуют; при хронических инфекциях можно использовать а-ИФН. На фоне терапии ИФН у 40-70% больных отмечают стихание воспалительного процесса (на что указывает снижение содержания концентрации аминотрансфераз в сыворотке), однако по окончании курса у 40-50% пациентов наблюдают рецидив воспаления. Средства специфической иммунопрофилактики не разработаны.

ВИРУС ГЕПАТИТА E

Гепатит E - острое инфекционное поражение печени, проявляющееся симптомами интоксикации и, реже, желтухой. Вирус гепатита E включён в род *Calicivirus* семейства *Caliciviridae*.

Вирионы сферической формы 27-38 нм в диаметре. Геном образован несегментированной молекулой +РНК. *Резервуар возбудителя - человек*. Эпидемиология заболевания во многом аналогична гепатиту А; возбудитель вызывает эндемичные вспышки. Инкубационный период не превышает 2-6 нед. Заболевание проявляется общим недомоганием; желтуху наблюдают сравнительно редко. В большинстве случаев прогноз заболевания благоприятный, и пациенты полностью выздоравливают. Инфицирование беременных, особенно в III триместре, может закончиться фатально (смертность может достигать 20%). Хронизации процесса не наблюдают. Выздоровление сопровождается формированием стойкой невосприимчивости к повторным заражениям.

Принципы микробиологической диагностики

Маркёры репликации вируса - АТ (IgM) к Аг вируса гепатита E и вирусная РНК. Вирусоспецифические IgM выявляют методом ИФА, начиная с 10-12-х суток после инфицирования; диагностические титры сохраняются в течение 1-2 мес. АТ класса IgG к Аг вируса гепатита E появляются через месяц после перенесённого заболевания. РНК вируса выявляют в реакциях ПЦР и молекулярной гибридизации. РНК вируса можно выявлять с первых суток инфицирования; однако, в желтушном периоде обнаружить её невозможно.

Лечение

Средства этиотропной терапии и специфической профилактики отсутствуют; проводят симптоматическое лечение.

ВИРУС ГЕПАТИТА G

Таксономическое положение вируса гепатита G остаётся невыясненным. Его условно относят к семейству *Flaviviridae*. Геном образован несегментированной молекулой +РНК. Нуклеокапсид организован по типу кубической симметрии. По набору Аг вирионов высказывают предположение о наличии, как минимум, трёх подтипов вируса. Предположительно, вирус гепатита G является дефектным вирусом, и для его репродукции необходимо присутствие вируса гепатита-С. *Резервуар возбудителя - больные острым или хроническим гепатитом G и носители вируса гепатита G*. Частота регистрации заболевания сравнительно невелика. В РФ частота выявления РНК вируса гепатита G колеблется от 2% в Москве до 8% в Якутии. В то же время в сыворотке крови доноров частота выявления РНК вируса гепатита G составила 1,4%. Чаще маркёры инфицирования вирусом гепатита G выявляют у лиц, получающих множественные переливания цельной крови или её препараты, а также среди пациентов с трансплантатами.

Особую группу риска составляют наркоманы (среди лиц, вводящих наркотики внутривенно, частота выявления РНК вируса гепатита G достигает 33-35%). Нарушения иммунного статуса способствует развитию длительного носительства вируса. Доказана возможность вертикального пути передачи вируса гепатита G от инфицированной матери к плоду. Гепатит G в большинстве случаев протекает как микст-инфекция с вирусным гепатитом C, существенно не влияя на характер развития основного процесса.

Принципы микробиологической диагностики

Маркёры репликации вируса - АТ (IgM) к Аг вируса гепатита G и вирусная РНК. Вирусоспецифические IgM выявляют методом ИФА, начиная с 10-12-х суток после инфицирования; диагностические титры сохраняются в течение 1-2 мес. АТ класса IgG к Аг вируса гепатита G появляются через месяц после перенесённого заболевания. РНК вируса выявляют в реакциях ПЦР и молекулярной гибридизации. РНК вируса можно выявлять с первых суток инфицирования; однако, в желтушном периоде обнаружить её невозможно.

ГЛАВА 29. ГЕРПЕСВИРУСЫ

Герпесвирусы [греч. *herpes*, ползучее поражение кожи] представлены группой сравнительно крупных ДНК-геномных вирусов диаметром 150-200 нм. Нуклеокапсид герпесвирусов организован по типу кубической симметрии; геном представлен двухнитевой молекулой ДНК, содержащей короткий (18%) и длинный (82%) компоненты. В отличие от прочих «одетых» вирусов, суперкапсиды герпесвирусов образованы фрагментами ядерных мембран, так как созревание дочерних популяций происходит на внутренней мембране ядер заражённой клетки. Суперкапсид пронизывают гликопротеиновые шипы, образованные белками внутренней ядерной мембраны поражённых клеток. Между нуклео-капсидом и суперкапсидом расположен покровный слой-тегумен [лат. *tegumentum*, покрытие], толщина которого варьирует у различных вирусов (рис. 29-1). Герпесвирусы относительно нестабильны при комнатной температуре, термолабильны и быстро инактивируются растворителями и детергентами. Герпесвирусы вызывают острые и латентные инфекции, а также обладают определённым онкогенным потенциалом. Доказана роль герпесвирусов в развитии болезней злокачественного роста у животных (например, болезнь Марека у цыплят), а также эпидемиологическая связь с образованием некоторых опухолей у человека. Современная систематика разделяет семейство *Herpesviridae* на подсемейства *Alphaherpesviruses*, *Betaherpesviruses* и *Gammaherpesviruses*.

- Альфагерпесвирусы проявляют высокую цитопатическую активность и патогенны для большого числа хозяев. Патогенные для человека виды включены в состав родов *Simplexvirus* (вирусы герпеса 1 и 2 типа, вирус В герпеса) и *Varicellovirus* (вирус герпеса 3 типа).

- Бетагерпесвирусы проявляют менее выраженную цитопатичность и патогенны для более узкого круга хозяев. Патогенные для человека виды включены в состав родов *Cytomegalovirus* (вирус герпеса 5 типа) и *Roseolovirus* (вирусы герпеса 6А, 6В и 7 типов).

- Гаммагерпесвирусы также патогенны для небольшой группы хозяев и способны размножаться в лимфоидных клетках. Патогенные для человека виды включены в состав рода *Lymphocryptovirus* (вирус герпеса 4 типа).

ВИРУСЫ ГЕРПЕСА ТИПОВ 1 И 2 (ВИРУСЫ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА)

Эпидемиология

Вирусы простого герпеса (ВПГ) - наиболее известные представители герпесвирусов, так как вызывают поражения практически у каждого человека. Резервуар возбудителей - инфицированный человек. Заражение ВПГ 1-го типа происходит контактным путём,

например при поцелуях или попадании капель слюны. Для развития первичной инфекции необходим прямой контакт с отделяемым или содержимым пузырьков, так как вирусы лабильны к действию факторов внешней среды. Заражение ВПГ 2-го типа обычно происходит половым путём. Также возможно перинатальное заражение ВПГ 2-го типа при прохождении плода по родовым путям; заражения можно избежать проведением *кесарева* сечения. Внутриутробное заражение опасно развитием микроцефалий и органомегалий у плода, но внутриутробное инфицирование наблюдают редко.

Антигенная структура

У ВПГ выделяют типоспецифические Аг, представленные гликопротеинами суперкапсида, и группоспецифические Аг, образованные белками нуклеокапсида. Белки нуклеокапсида одинаковы у всех альфагерпесвирусов.

Патогенез

Первично возбудитель проникает через слизистые оболочки, но не через неповреждённую кожу, что обусловлено отсутствием специфических рецепторов на клетках ороговевающего эпителия.

Первичная инфекция. После проникновения в эпителий слизистых оболочек возбудитель активно в них размножается. Механизмы репродукции аналогичны таковым у основной части больших ДНК-содержащих вирусов - возбудитель взаимодействует со специфичными рецепторами, проникает в клетку и запускает литический, продуктивный тип клеточной инфекции. Инфицированные клетки погибают с образованием очагов некроза и местных воспалительных изменений в виде везикул.

Латентная инфекция. Мигрируя из первичного очага, возбудитель проникает в чувствительные узлы: ВПГ 1-го типа - в тройничный, а ВПГ 2-го типа - в поясничный узлы, где латентно циркулируют.

Рецидивы (точнее клинические проявления заболевания) наблюдают часто, но далеко не у всех инфицированных лиц. Пусковые механизмы - переохлаждение, избыточная инсоляция, стрессовые ситуации и др. По центробежным нейронам дочерние популяции достигают нервных окончаний, откуда проникают в эндотелий капилляров кожи и эпителиальные клетки и репродуцируются в них, вызывая появление везикул.

Клинические проявления

Оба вируса (ВПГ 1-го типа и ВПГ 2-го типа) вызывают аналогичные поражения, локализация которых специфична и связана с типом возбудителя.

Герпетический гингивостоматит. Основной возбудитель - ВПГ 1-го типа. Для первичной инфекции характерны поражения многослойного эпителия красной каймы губ, часто сопровождающиеся дисфагией и лихорадкой. Выздоровление обычно наступает через 7-10 сут. Рецидивирующие поражения обычно наблюдают после переохлаждения. Рецидивы часто сопровождаются недомоганием, лихорадкой; иногда они носят генерализованный характер.

Генитальный герпес. Основной возбудитель - ВПГ 2-го типа. Типичны характерные поражения наружных половых органов, создающие дискомфортные ощущения; более тяжёлые случаи сопровождаются общим недомоганием и лихорадкой. Поражения обычно исчезают через 10-14 дней, но часто рецидивируют.

Герпетический менингоэнцефалит чаще вызывает ВПГ 2-го типа, обычно протекает стёрто. Патогенез включает прогрессирующую демиелинизацию нервных волокон; первоначально у пациентов отмечают психические, а затем и неврологические нарушения.

Герпетический кератит. Основной возбудитель - ВПГ 1-го типа. Поражения могут быть первичными и рецидивирующими; последние способны приводить к необратимой потере зрения вследствие развития язв роговицы, особенно в области зрачка.

Герпес новорождённых - тяжёлое генерализованное поражение; инфицирование происходит при прохождении через родовые пути. Заболевание чаще вызывает ВПГ 2-го типа.

Принципы микробиологической диагностики

Для выявления возбудителя используют вирусоскопический, вирусологический, биологический и серологические методы. Материал для исследования - содержимое пузырьков, слюна, соскобы роговицы и др.

- При микроскопии мазков, окрашенных по Романовскому-Гёмзе, выявляют многоядерные гигантские клетки (клетки Цанка) с тельцами включений (тельца Коудри).

- Для выделения вирусов используют культуры клеток и проводят посев исследуемого материала на куриные эмбрионы. В культурах клеток вирусы образуют бляшки (бляшки, образованные ВПГ 2-го типа крупнее) и дают характерный цитопатический эффект на куриных эмбрионах.

- Заражение лабораторных животных применяют редко. При заражении мозга белых мышей развивается специфический энцефалит; при заражении роговицы кроликов - герпетический кератит. Активность возбудителей *in vivo* нейтрализуют стандартные иммунные антисыворотки.

- Сывороточные АТ выявляют при РН, РСК или ИФА; однако ввиду значительной инфициро-ванности населения обнаружение сывороточных АТ не имеет существенной диагностической ценности. Большую ценность представляет выявление Аг вирусов в исследуемом материале методами РП и иммунодиффузии. Также используют РИФ с моноклональными АТ.

Лечение и профилактика

Поражения, вызванные ВПГ 1-го типа, обычно проходят самостоятельно и требуют лишь проведения местных мероприятий, направленных на профилактику вторичного бактериального инфицирования очагов поражения. При тяжёлых поражениях назначают ацикловир; возможно его наружное применение в составе специальных мазей и кремов. При плохой переносимости препарата назначают фамцикловир, реже вызывающий побочные эффекты. Для специфической иммунопрофилактики разработаны инактивированные вакцины, многократная иммунизация которыми снижает частоту рецидивов герпетической инфекции.

ВИРУС ГЕРПЕСА ТИПА 3 (ВИРУС VARICELLA-ZOSTER)

Вирус герпеса 3 типа вызывает два типа поражений - ветряную оспу (*varicella*) и опоясывающий лишай (*zoster*). Первичная инфекция протекает как ветряная оспа, а её рецидивы - как опоясывающий лишай. Возбудитель открыт бразильским врачом Э. Арагао (1911).

Эпидемиология

У 80-90% взрослого населения Земли отмечают в анамнезе ветряную оспу. Заболеваемость опоясывающим лишаём не превышает 10% у лиц, переболевших ветрянкой. Резервуар возбудителя - больной человек, вирус передаётся воздушно-капельным и контактным (через

отделяемое везикул) *путём*. Дети могут заболеть ветряной оспой при тесном контакте с больным опоясывающим лишаем. Для ветряной оспы типична сезонность: рост заболеваемости отмечают в холодные месяцы.

Патогенез поражений

Возбудитель первично размножается в эпителии слизистой верхних дыхательных путей, а затем диссеминирует по лимфо- и кровотоку в кожу. Репродукция вируса в клетках шиповатого слоя приводит к их баллонизирующей дегенерации (клетки Цанка). В ядрах поражённых клеток формируются эозинофильные тельца включений (тельца Лейпшютца). Опоясывающий лишай развивается в результате реактивации вируса в чувствительных узлах лиц, переболевших ветряной оспой. Пусковые механизмы реактивации связаны с нарушениями иммунитета.

Клинические проявления

Ветряная оспа (ветрянка) - распространённая детская инфекция. Продолжительность инкубационного периода обычно составляет 13-14 сут. Заболевание проявляется как острое инфекционное заболевание, сопровождающееся лихорадкой и папулёзно-везикулярной сыпью на коже и слизистых оболочках. В период реконвалесценции пузырьки подсыхают с образованием корочек и заживлением без образования дефектов. Ветряная оспа в первые три месяца беременности может привести к уродствам плода.

Опоясывающий лишай характеризуется высыпаниями по ходу отдельных чувствительных нервов в виде нечётких розоватых пятен (диаметром 3-5 см). Через 18-24 ч высыпания трансформируются в группы болезненных везикул, окружённых чёткой демаркационной зоной. Наиболее часто поражения локализуются на грудной клетке, но также могут располагаться по ходу любого чувствительного нерва, но, как правило, односторонне. Поражения исчезают в течение 2-4 нед, боль может персистировать в течение недель и месяцев.

Принципы микробиологической диагностики

Диагностика основана на вирусоскопических, вирусологических и серологических методах. Материал для исследования - отделяемое пузырьков.

- При микроскопии мазков, окрашенных по Романовскому-Гимзе, выявляют клетки Цанка с тельцами включений.

- В отличие от ВПГ, вирус герпеса 3-го типа не размножается на куриных эмбрионах, мозге белых мышей и роговице кролика. Выделение возбудителя проводят на культурах фибробластов эмбриона человека.

- Исследования можно дополнить выявлением Аг вируса в жидкости пузырьков методом иммунодиффузии с преципитирующими сыворотками (против Аг вирусов герпеса 1-го, 2-го, 3-го -типов и вируса осповакцины) и определением нарастания титров АТ в парных сыворотках (обычно используют для диагностики ветряной оспы).

Лечение и профилактика

Основу лечения составляют средства, уменьшающие зуд, и анальгетики. Больным с иммуно-дефицитными состояниями или диссеминированными поражениями назначают ИФН, ацикло-вир или видарабин. Хороший терапевтический эффект даёт у-глобулин из сыворотки больных, переболевших опоясывающим лишаём; у-глобулин также применяют для профилактики ветряной оспы у детей с иммунодефицитными состояниями.

ВИРУС герпеса типа 4 (ВИРУС *эпштейна-барр*)

Вирус Эпштейна-Барр выделен английским вирусологом М. Эпштейном и канадским вирусологом И. Барр из биоптатов пациентов с лимфомами Бёркитта (1964). Инфицирование регистрируют повсеместно; специфические АТ выявляют у 90% лиц старше 40 лет. *Резервуар инфекции - человек. Основной путь передачи - воздушно-капельный, реже трансмиссивный или половой.* В раннем возрасте инфекцию сопровождают стёртые проявления, либо она бывает вообще бессимптомной. Первичное инфицирование в подростковом или более старшем возрасте может вызвать заболевание, известное как инфекционный мононуклеоз. Реже наблюдают реактивированную инфекцию, обусловленную хронической персистенцией вируса Эпштейна-Барр. Клинические проявления переменные, чаще наблюдают синдром хронического мононуклеоза. Хроническая активная инфекция вирусом Эпштейна-Барр, проявляющаяся прогрессирующими лимфопролиферативными заболеваниями или лимфомами ЦНС, обычна для пациентов с иммунодефицитными состояниями. Развитие злокачественных превращений инфицированных клеток даёт основание предполагать участие вируса Эпштейна-Барр (как коканцерогена) в развитии болезней злокачественного роста, та-

ких как африканские формы лимфомы Бёркитта, карцинома носоглотки у мужчин некоторых этнических групп Южного Китая, а также саркома Капоши у пациентов со СПИДом.

Патогенез поражений

При инфекционном мононуклеозе вирус размножается в верхних отделах дыхательных путей и ассоциированной лимфоидной ткани с развитием местных воспалительных реакций. Возбудитель может гематогенно диссеминировать в периферические лимфатические узлы, селезёнку, печень и другие органы, формируя лимфоидные инфильтраты. Заражение макрофагов и лимфоидных клеток приводит к появлению крупных мононуклеарных клеток. Латентная инфекция В-лимфоцитов вызывает их поликлональную активацию с образованием низкоспецифичных гетерофильных АТ, агглютинирующих эритроциты различных животных. Подобные поражения типичны для большинства лиц. Реже наблюдают развитие злокачественных трансформаций, связанных с нарушениями дифференцирования В-клеток.

Лимфомы Бёркитта характеризуются экспрессией 1-го ядерного Аг (1-ЯАг) вируса Эпштейна-Барр в заражённых клетках, обуславливающего латентное течение процесса посредством длительного персистирования вируса в виде эписом. Хромосомные аномалии обусловлены нарушениями в хромосоме 8 с формированием точечных *c-тус* мутаций.

Небёркиттовские лимфомы. При подобных трансформациях в В-лимфоцитах преимущественно экспрессируются 2- и 5-ЯАг, а также 1 и 2 латентные белки оболочки. 2- и 5-ЯАг активируют G1 циклин, делая клетки практически бессмертными. Трансформацию клеток обуславливают латентные белки оболочки, вызывающие избыточную рецепцию ростовых факторов.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода инфекционного мононуклеоза составляет 30-50 сут у взрослых и 10-40 сут у детей. Заболевание проявляется лихорадкой, общей разбитостью, ангинозными поражениями и лимфангитами с гепато- и спленомегалией. Очень редко наблюдают поражения в форме гепатита или менингита.

Принципы микробиологической диагностики

До настоящего времени методы выделения вируса не разработаны, и основу диагностики составляет выявление специфических АТ. Наиболее адекватна РНИФ (реакция Хёнле), выявляющая АТ (IgM, IgG и IgA) к капсидным, некапсидным «ранним» и ядерным Аг. Некоторую информацию можно получить, определяя наличие гетерофильных АТ (*капельный тест на*

инфекционный мононуклеоз); недостаток этого метода - невозможность отличить имеющуюся инфекцию от предшествующего заражения. Характерный признак - *наличие крупных атипичных мононукле-аров* в периферической крови, содержание которых может достигать 10-15% и более. Для выявления вирусной ДНК в трансформированных клетках применяют метод ДНК-гибридизации.

Лечение

Специфические средства терапии отсутствуют; лечение симптоматическое.

ВИРУС герпеса типа 5 (ВИРУС цитомегалии)

Цитомегалия - вирусная инфекция с разнообразными клиническими проявлениями, выраженность которых зависит от иммунного статуса больного. Инфицирование ЦМВ распространено повсеместно (АТ выявляют у 80% старше 30 лет), но клинические проявления наблюдают сравнительно редко.

Эпидемиология

Резервуар инфекции - инфицированный человек. Возбудитель передаётся через плаценту, контактным путём (при прохождении плода через родовые пути), при кормлении, а также при гемотрансфузиях и при половых контактах. Клинические проявления обусловлены нарушениями или несостоятельностью иммунного реагирования. Заболевание регистрируют у детей в возрасте до 2 лет, пожилых, больных с неопластическими процессами, СПИДом, после трансплантации органов и пациентов, получающих глюкокортикоиды.

Патогенез поражений

ЦМВ поражает практически все органы и ткани, вызывая либо бессимптомное носительство, либо клинически выраженные состояния. Характерная особенность возбудителя - способность

к образованию гигантских, или цитомегалических, клеток (25-40 мкм), содержащих тельца включений. При трансплацентарном заражении наблюдают поражения печени, селезёнки, глаз, ЦНС, дыхательного тракта и др. ЦМВ способен инфицировать иммунокомпетентные клетки и латентно в них персистировать.

Клинические проявления

Перинатальные инфекции отмечают у 1% новорождённых. Чаще инфекция протекает субклинически; в редких случаях наблюдают тяжёлое заболевание, часто с летальным исходом. Для подострой формы характерна атипичная интерстициальная пневмония. Для острой формы типичны поражения многих внутренних органов, включая головной мозг, почки, печень и органы кроветворения. Латентное персистирование может активироваться беременностью, множественными гемотрансфузиями или нарушениями иммунитета. У беременных и пациентов с иммунодефицитами чаще развивается моно-нуклеозоподобный синдром, также возможны диссеминированные, угрожающие жизни состояния (например, энцефалиты).

Принципы микробиологической диагностики

Микробиологическая диагностика основана на вирусоскопических, вирусологических и серологических методах. Материал для исследований - центрифугат мочи, слюна, СМЖ, биоптаты различных органов и секционный материал.

- При микроскопии мазков, окрашенных по Романбвскому-Гймзе, выявляют так называемые «совиные глаза» - гигантские клетки, содержащие тёмные тельца включений, окружённые светлой полоской (рис.29-2).

- Выделение ЦМВ проводят заражением культур фибробластов и диплоидных культур лёгких человека.

- При экспресс-диагностике определяют Аг вируса в РИФ и гибридизации ДНК. Определение циркулирующих АТ проводят с помощью методов РСК, РПГА и РИ с парными сыворотками. В последние годы широкое распространение получили наборы для выявления АТ к возбудителям TORCH-инфекций, позволяющие выявлять IgM (не передающиеся трансплацентарно) и IgG к ЦМВ.

Лечение и профилактика

При лечении пациентов с сопутствующими иммунодефицитными состояниями назначают ганцикловир и фоскарнет натрия, ингибирующие синтез вирусной ДНК. Для специфической иммунопрофилактики используют живой аттенуированный вирус в виде моновакцины или дивакцины (в сочетании с вакциной против вируса краснухи).

ГЛАВА 30. ВИРУС ОСПЫ ЧЕЛОВЕКА И ДРУГИЕ ПОКСВИРУСЫ

Семейство *Poxviridae* [от англ. *pox*, оспа] включает вирусы, патогенные для насекомых, птиц и млекопитающих. Поксвирусы имеют кирпичеобразную форму; размеры вирионов составляют 250- 390x200-260 нм. Поксвирусы сложно организованы, и многие их структуры напоминают таковые у бактерий. Вирион включает сердцевину, окружённую гладкой мембраной толщиной 5 нм и слоем равномерно расположенных цилиндрических структур. Снаружи располагаются овальные структуры (белковые тела), окружённые оболочкой с характерной бороздчатой структурой (рис. 30-1). Геном представлен двухнитевой молекулой ДНК. *Репродукция поксви-русов осуществляется только в цитоплазме* (более подробно см. главу 5). Виды, вызывающие поражения у человека, включены в состав родов *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus*, *Molluscipoxvirus* и *Yatapoxvirus* подсемейства *Chordopoxvirinae* (вирусы позвоночных).

- Род *Orthopoxvirus* включает вирусы осповакцины и натуральной оспы.
- Род *Parapoxvirus* - вирусы «узелков доярок» (псевдооспы крупного рогатого скота) и контагиозного пустулёзного дерматита (болезни ОРФ).
- Род *Molluscipoxvirus* - вирус контагиозного моллюска.
- Род *Yatapoxvirus* - вирусы оспы Тана и Яба (оспы обезьян).

ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ

Натуральная оспа (*variola vera*) - особо опасная вирусная инфекция, проявляющаяся интоксикацией, лихорадкой и пустулёзно-папулёзной сыпью.

Оспа одна из древнейших инфекционных болезней человека. Первые упоминания об этом заболевании относятся к 3730-3710 гг. до н.э. (папирус Аменофиса I). В Европу возбудитель проник в VI в., в Россию был занесён в XV-XVI вв., в Америку - в XVI в. До открытия Джённером метода вакцинации европейские врачи были бессильны перед заболеванием. В отдельные годы смертность от оспы достигала 1,5 млн человек. Ещё в 1974 г. в Индии было отмечено 31 262 летальных исхода заболевания. Последний случай заболевания зарегистрирован в 1977 г. в Сомали, а через несколько лет ВОЗ объявила о ликвидации натуральной оспы.

Возбудитель оспы - самый крупный вирус (220x300 нм), имеет кирпичеобразную форму с закруглёнными углами. В состав вируса входят 30 белков, более 10 из них - ферменты, катализирующие синтез нуклеиновых кислот. Вирус проявляет гемагглютинирующие свойства; гемагглютинин состоит из трёх гликопротеинов. Важнейшие Аг вируса оспы - нуклеопротеид NP (общий для всего семейства), термостабильный и термолабильный Аг, а также группа растворимых Аг.

Размеры вирионов позволяют обнаружить их световой микроскопией в форме телец включений.

Внутриклеточные (точнее околядерные) включения в клетках роговицы заражённого кролика впервые обнаружил итальянский патолог Д. Гварнери (1892). ЭТ возбудителя натуральной оспы в отделяемом везикул открыл немецкий бактериолог Э. Пашён (1906). Позднее было установлено наличие двух штаммов вируса. Первый вызывает классическую оспу (*variola major*) с летальностью, превышающей 50%, второй - алястрим (*variola minor*) с более лёгким течением и летальностью, не превышающей 1%. Возбудители идентичны по основным свойствам. Отличительные особенности - способность вируса алястрима размножаться в куриных эмбрионах при более низкой температуре (37,5 °С), образовывать «бляшки» и проявлять цитопатический эффект в культуре куриных фибробластов при температуре 37 °С. К вирусу чувствителен человек и приматы; экспериментальное внутримозговое заражение новорождённых мышат приводит к развитию генерализованной инфекции. Взрослые мыши нечувствительны к вирусу.

Эпидемиология

Резервуар возбудителя - больной человек. В организм человека вирус проникает воздушно-капельным, контактным путём или через повреждённую кожу. Больной выделяет вирус в течение всего периода высыпаний вплоть до отпадения корочек. Наибольшую опасность больной представляет в первые 8-10 сут периода высыпаний.

Патогенез поражений

Натуральная оспа - экзогенная моноциклическая инфекция. После размножения в клетках слизистых оболочек дыхательных путей и, возможно, кожи возбудитель проникает в кровь, инфицирует различные ткани и вновь проникает в кровоток. Вторичная вирусемия вызывает появление характерных поражений на коже и слизистых оболочках, первоначально папулёзных и трансформирующихся в везикулёзно-пустулёзные. Характерные клинические проявления (головная боль, лихорадка, мышечная боль, поражения ЦНС) обусловлены формированием множественных очагов поражений, сопровождающихся геморрагиями, отёками и некрозом клеток. Вторичная лихорадочная волна обусловлена присоединением бактериальных суперинфекций и резорбцией пирогенных продуктов, образующихся при некрозе тканей.

Клинические проявления

Продолжительность инкубационного периода 5-15 сут, однако он бывает короче при контактном пути заражения. Клиническая картина оспы включает четыре стадии - стадия предвестников (2-4-е сутки), стадии высыпаний (4-5-е сутки) и их нагноений (7-10-е сутки), стадия выздоровления (20-30-е сутки). По характеру проявлений выделяют тяжёлую (геморрагическая и сливная оспа), среднюю (дискретная оспа) и лёгкую (оспа без сыпи и вариолбид) степени тяжести. Выздоровление и эффективная профилактика не обеспечивают 100% невосприимчивости, так как известны случаи трёхкратных повторных заражений непривитых и заболеваний вакцинированных лиц; у последних эти случаи протекают благоприятно.

Принципы микробиологической диагностики

Диагностика включает вирусоскопические, вирусологические и серологические методы. Материал для исследований содержит содержимое пузырьков и отделяемое пустул. • Наиболее эффективный метод диагностики - электронная микроскопия материала. При отсутствии соответствующего

оборудования можно проводить световую микроскопию окрашенных мазков для выявления телец Пашёна-Гварнёри (ацидофильные овальные структуры, располагающиеся около ядра). Для экспресс-диагностики проводят определение вирусных Аг в мазках-отпечатках с помощью РНИФ. В отделяемом пузырьков и пустул вирусные Аг определяют в реакциях иммуно-диффузии, РСК или ИФА.

- Выделение возбудителя проводят заражением хорион-аллантаической оболочки куриных эмбрионов, где вирус образует белёсые бляшки. Также можно использовать культуры фибробластов эмбриона человека или клеток почек обезьян и оценивать цитопатический эффект (изменение морфологии и гибель клеток). Характер повреждений, а также предельная температура размножения вируса помогают дифференцировать возбудителя натуральной оспы от вирусов оспы животных (обезьян, верблюдов, коров и т.д.).

- Идентификацию возбудителя проводят в РН, РТГА и РПГА.

Лечение и профилактика

Средство этиотропной химиотерапии - метисазон. В большинстве случаев также проводят симптоматическое лечение, сочетая его с введением противооспенного овечьего или человеческого иммуноглобулина и обработкой антисептиками поражений на коже и слизистых оболочках. Для иммунопрофилактики использовали живые вакцины. Невосприимчивость развивается через 7-10 дней после вакцинации. Вакцинопрофилактика обеспечивает невосприимчивость к заболеванию в течение 3-5 лет. На эффективность вакцинации указывает факт ликвидации заболевания во всём мире. В связи с декларацией ВОЗ в настоящее время вакцинацию не проводят.

ПРОЧИЕ ПОКСВИРУСЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ПОРАЖЕНИЯ У ЧЕЛОВЕКА Вирус осповакцины

Происхождение вируса остаётся неизвестным. Его рассматривают как продукт эволюции вирусов оспы коров или натуральной оспы либо как результат гибридизации между этими вирусами. К возбудителю восприимчивы различные животные, особенно кролики и морские свинки. При попадании на повреждённую кожу или слизистые оболочки у человека вирус вызывает локальную доброкачественную инфекцию. Характерны локальные оспоподобные поражения, реже генерализованная красная папулёзная сыпь. Вирус осповакцины может передаваться от привитых интактным лицам контактным путём; особенно чувствительны индивидуумы, страдающие экземами и нейродермитами.

Вирус оспы коров

Вирус оспы коров близок к вирусу осповакцины. Основные отличия обусловлены температурой размножения (40 °С), характером бляшек на хорион-аллантаических оболочках куриных эмбрионов и способностью образовывать эозинофильные включения, не содержащие ДНК, и включения, где размножается вирус. У человека заболевание возникает при контакте с больным животным; проявления аналогичны таковым при первичной вариоляции. В некоторых случаях содержимое пузырьков может быть кровянистым.

Вирус оспы обезьян

Вирус оспы обезьян открыт фон Магнусом (1959) во время вспышки оспоподобного заболевания у обезьян в Копенгагене. По своим свойствам вирус мало отличается от прочих поксви-русов и способен вызывать оспоподобные поражения у людей. Практически все случаи (48) были зарегистрированы в маленьких населённых пунктах, расположенных в зоне тропических лесов Африки. Клинические проявления аналогичны таковым при натуральной оспе. От натуральной оспы заболевание отличает более низкая контагиозность и частота вторичных заражений. Тем не менее, до настоящего времени не установлено, являются ли обезьяны основным хозяином или промежуточным звеном между неизвестным резервуаром и человеком.

Параоспенные поксвирусы

Параоспенные поксвирусы включают вирусы контагиозной эктимы (болезни ОРФ), вирусы «узелков доярок» (псевдооспы крупного рогатого скота), а также вирусы оспы Тана и контагиозного моллюска.

- Для болезни ОРФ характерны лёгкое системное поражение с лихорадкой и везикулярными высыпаниями на лице и руках (основной резервуар вируса - овцы).

- У человека вирус псевдооспы крупного рогатого скота вызывает локальные папулёзные (но не везикулярные) поражения.

- Оспа Тана встречается среди племён, обитающих в долине реки и озера Тана (Кения). Возбудитель передаётся при прямом контакте и, возможно, с укусами комаров. Для заболевания характерны лихорадка, общее недомогание с одним везикулярным очагом на коже.

- Вирус контагиозного моллюска вызывает поражение кожных покровов у первично инфицированных детей и подростков. Возбудитель передаётся контактным путём через микротравмы кожи и слизистых оболочек, в том числе при половых сношениях. Характерны эритематозные узелки, переходящие в жемчужно-розовые капсулы, у взрослых чаще локализующиеся на коже в области наружных половых органов.

ГЛАВА 31. ВОЗБУДИТЕЛИ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Большую часть вирусных природно-очаговых инфекций вызывают арбовирусы [от лат. *arthropoda*, членистоногие, + англ. *borne*, передающийся], передающиеся через укусы кровососущих членистоногих-переносчиков. Патогенез поражений при арбовирусных инфекциях носит сходный характер. Поскольку возбудитель проникает прямо в кровь, то инкубационный период обычно укорочен (около недели). После попадания в кровоток вирусы репродуцируются в эндотелии сосудов и фагоцитах. Вследствие повреждения эндотелио-оцитов нередко наблюдают пятнисто-папулёзную сыпь и капилляро-токсикоз (при множественных поражениях - кровоизлияния на коже и слизистых оболочках). Дочерние популяции с крово- и лимфотоксикозом попадают в различные органы и ткани (ЦНС, печень селезёнка, мышцы и др.), где вызывают воспалительно-некротические процессы.

Другую группу образуют робовирусы [от англ. *rodent*, грызун, + и *borne*, передающийся], циркуляция которых в природе связана с грызунами. В организм человека робовирусы проникают контактным, воздушно-пылевым и алиментарным путями.

Клинически природно-очаговые вирусные инфекции могут проявляться в виде трёх основных синдромов.

- Системные лихорадки недифференцированного типа; они

часто сопровождаются высыпаниями на коже и артралгиями; протекают сравнительно легко.

- Геморрагические лихорадки. В большинстве случаев наблюдают лёгкие формы с развитием гриппоподобного синдрома. Тяжёлые формы сопровождаются обширными кровоизлияниями в различные органы, артериальной гипотензией и шоковым состоянием. Поражения почек могут быть тяжёлыми, особенно при инфекциях, вызванных возбудителями, способными вызывать эпидемические вспышки.

- Энцефалиты. В начальном периоде протекают по типу гриппоподобного синдрома, затем развиваются поражения ЦНС, часто заканчивающиеся летально.

ТОГАВИРУСЫ

Вирусы, вызывающие природно-очаговые инфекции, включены в состав рода *Alphavirus* семейства *Togaviridae* [от лат. *toga*, плащ]. Представлены сферическими вирионами диаметром 45-75 нм. Геном образует однонитевая молекула +РНК, заключённая в капсид с кубическим типом симметрии. Снаружи капсид покрывает супер-капсид, содержащий на поверхности гликопротеиновые шипы длиной около 10 нм. *Репродукция тогавирусов происходит в цитоплазме* (более подробно см. главу 5). После созревания дочерние популяции отпочковываются от клеточной или внутриклеточных мембран, служащих местом сборки вирионов. Поражения у человека протекают по типу системных лихорадок (возбудители - вирусы Синдбис, Гета, Чи-кунгунья, О'ньонг-ньонг, Игбо Ора, Росс Ривер, Майаро, Барма Форест) и вирусных энцефалитов (вирусы восточного американского, западного американского и венесуэльского энцефало-миелитов лошадей).

Эпидемиология

Тогавирусные инфекции регистрируют преимущественно в регионах с тёплым или умеренным климатом. *Для значительной части инфекций, особенно в умеренном климате, характерна сезонность, обусловленная активностью переносчиков.* Принадлежность тогавирусов к ар-бовирусам определяет их связь с позвоночными животными и членистоногими переносчиками. Для сохранения популяции наибольшее значение имеют позвоночные, так как у них развивается длительная вирусемия, что обеспечивает заражение большого количества переносчиков. Не менее важно наличие резервуара, обеспечивающего сохранение в природе; таковым являются членистоногие-переносчики - клещи и комары, передающие их трансвариально потомству. Основные природные хозяева тогавирусов - птицы (второстепенную роль могут играть земноводные и рептилии). *Включение человека в циркуляцию возбудителя в природе случайно и является тупиком инфекционного процесса,* так как человек не способен заразить большое количество переносчиков. Эпидемические вспышки носят случайный характер и обусловлены заражением необычайно большого количества людей (например, при освоении новых территорий). У тогавирусов выделяют видоспецифичные (суперкапсидный гликопротеин V2), групп-поспецифичные (суперкапсидный гликопротеин V1) и родоспецифичные (нуклеокапсидный белок С) Аг. У них также выделяют неструктурный растворимый Аг, выявляемый в РСК.

Микробиологическая диагностика

Для диагностики тогавирусных инфекций используют вирусологические, биологические и серологические методы. Материал для исследований - кровь (в период вирусемии), СМЖ (при признаках менингоэнцефалита), моча и секционный материал. Следует помнить, что *работа с материалом представляет большую опасность* и должна проводиться в специализированных лабораториях.

- Выделение возбудителя из крови проводят заражением куриных эмбрионов или культур клеток (например, фибробластов куриных эмбрионов). Наиболее универсальный способ - внутримозговое заражение 1-3-дневных мышат-сосунков, у которых развивается энцефалит с

летальным исходом. После появления признаков болезни мозг пассируют, через 3-4 пассажа вирус достигает высокого титра, и его можно использовать для приготовления Аг для идентификации в РТГА и РСК с наборами иммунных сывороток. Окончательную идентификацию вирусов проводят в РН.

- Вирусоспецифические АТ определяют в парных сыворотках с помощью РСК, РТГА, РН и др. Через 6-7 дней после заражения в крови появляются антигемагглютинины, к концу 2-й недели - комплементсвязывающие АТ, а на 3-4-й неделе - нейтрализующие АТ.

Лечение и профилактика

Лечение симптоматическое, так как средства этиотропной терапии отсутствуют. Основу профилактики составляют средства индивидуальной защиты (костюмы с пропиткой, репелленты, противомоскитные сетки и т.д.). При возникновении эпидемических вспышек (особенно комариных) прибегают к инсектицидам. Специфическую иммунопрофилактику проводят при вспышках заболеваний и при выезде в эндемичные районы. Для создания невосприимчивости используют *убитые вакцины*. Для срочной профилактики и лечения применяют *специфические Ig*, полученные путём гипериммунизации лошадей.

ФЛАВИВИРУСЫ

Возбудители природно-очаговых инфекций включены в род *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*. Они представлены сферическими вирионами диаметром 37-50 нм. Геном образует однонитевая молекула +РНК, заключённая в капсид с кубическим типом симметрии. Снаружи капсид покрывает суперкапсид, содержащий гликопротеиновые шипы около 10 нм длиной. *Репродукция флавивирусов происходит в цитоплазме* (более подробно см. главу 5). После созревания дочерние популяции отпочковываются от клеточной или внутриклеточных мембран, служащих местом сборки вирионов. Поражения у человека проходят по типу системных (вирусы Денге, Вес-сельбрн) и геморрагических лихорадок (жёлтая лихорадка), энцефалитов (вирусы энцефалитов Сент-Луи, долины Мюррэй, Повассан, Рбсио, клещевого и японского энцефалитов) и смешанных поражений, протекающих с развитием лихорадки и энцефалита (лихорадка Западного Нила).

Эпидемиология

Флавивирусы выделяют в регионах с тёплым и умеренным климатом. *Для значительной части инфекций, особенно в умеренном климате, характерна сезонность, обусловленная активностью переносчиков.* Принадлежность более 60% флавивирусов к арбовирусам определяет их связь с позвоночными животными и членистоногими переносчиками. Природным резервуаром и основными хозяевами являются клещи и комары, передающие возбудителей трансвари-ально. Важную роль в поддержании циркуляции вирусов в эндемичных очагах играют позвоночные, у которых развивается длительная вирусемия, обеспечивающая заражение большого количества переносчиков. *В циркуляцию возбудителя человек включается случайно и является тупиковым хозяином, так как человек не способен заразить большое количество переносчиков.* Часть флавивирусов циркулирует аналогично тогавирусам, например вирус энцефалита Сен-Луи передаётся от москитов птицам, а человек - тупик инфекционного цикла. Однако в экологии возбудителя жёлтой лихорадки человек и обезьяны - основные хозяева и природный резервуар, а в зависимости от участия переносчика выделяют городскую (комары) и сельскую, или джунглевую (москиты), формы заболевания. Некоторые вирусы (например, вирус клещевого энцефалита) могут передаваться трансмиссивно или через инфицированное козье молоко. Эпидемические вспышки носят случайный характер и обусловлены заражением необычайно большого количества людей (например, при освоении новых территорий).

Жёлтая лихорадка

Жёлтая лихорадка - тропическая геморрагическая лихорадка; тяжёлые случаи протекают с выраженной желтухой, протеинурией и кровотечениями. Развитие желтухи обусловило название как самого заболевания, так и всего семейства вирусов [лат. *flavus*, жёлтый]. Вирусную

природу заболевания и основы эпидемиологии установили сотрудники американской военной миссии на Кубе под руководством У.Рида (1901). Жёлтая лихорадка входит в группу особо опасных карантинных инфекций. Ареал заболевания - Южная и Центральная Америка, некоторые страны Африки. Известны зоонозная (джунглевая, или сельская; резервуар - приматы) и антропонозная (городская; резервуар - человек) формы. Переносчики - комары рода *Aedes* (*A. aegypti*, *A. simpsoni*, *A. africanus*) и москиты *Haemagogus spegazzini*. Возбудитель жёлтой лихорадки представлен одним сероваром. Инкубационный период длится 3-7 сут. Заболевание развивается остро. Клинические проявления - озноб, высокая температура тела, сильная головная боль, фотофобия, мышечные боли, тошнота и рвота; характерны яркая гиперемия лица, шеи и верхней части туловища, инъекция склер и конъюнктивы, кровоточивость дёсен и боли в пояснице. На 3-4-е сутки развивается желтуха. Затем наступает кратковременный (до 1 сут) период снижения температуры тела. Последующий её подъём сопровождается обильными кровотечениями из различных органов. Возможны коллаптоидные состояния. Летальность при тяжёлых формах достигает 85-90%. В более лёгких случаях желтуха и геморрагический синдром могут отсутствовать. После выздоровления развивается стойкая, пожизненная невосприимчивость к повторным заражениям.

Японский энцефалит

Возбудитель впервые выделил японский вирусолог М.Хаяши (1924); на территории СССР вирус обнаружили А.К.Шубладзе, А.А.Сморбдинцев и В.Д.Неустрбев (1940-1941). Заболевание распространено в Японии, Китае, Корее, Индии, на юге Приморья, на Филиппинах и Тайване. Резервуар возбудителя - различные животные (птицы, грызуны, крупный рогатый скот, лошади и свиньи). Переносчики - комары рода *Culex*. Человек - тупиковый хозяин. Пик заболеваемости приходится на июнь-август. Клинические проявления заболевания вариabельные: от бессимптомной инфекции до тяжёлого менингоэнцефалита с характерными общемозговыми симптомами псевдобульбарных расстройств, нарушениями витальных функций и очаговыми симптомами (спастические гемипарезы, эпилептические припадки джексо-новского типа, миоклонии, реже - мозжечковые расстройства).

Клещевые энцефалиты

Клещевой энцефалит - острая вирусная инфекция с преимущественным поражением центральной нервной системы. В зависимости от географического положения очага и сезонности заболевание также известно как таёжный энцефалит, русский дальневосточный энцефалит, весенне-летний ме-нингоэнцефалит, центрально-европейский энцефалит и др. Возбудитель выделили Л.А.Зильбер, Е.Н.Левкбвич, М.П.Чу-макбв и др. (1937). Резервуар и переносчик вируса - клещи *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus* (переносит вирус более благоприятно протекающего европейского варианта). Дополнительный резервуар - различные животные и птицы. У последних развивается бессимптомная инфекция с вирусемией. Заражение человека происходит после укусов инфицированных клещей или употребления в пищу сырого молока коз и коров. Продолжительность инкубационного периода варьирует от 1 сут до месяца. Острые формы разделяют на лихорадочные, менинге-альные, менингоэнцефалитические, полиомиелитические и по-лирадикулоневритические. Для них характерны явления общей интоксикации, общемозговые, оболочечные и очаговые неврологические симптомы. Преобладание тех или иных перечисленных симптомов определяет клиническую форму болезни. Благоприятно протекают лихорадочная и менингеальная формы; прогноз прочих поражений хуже. Хронические поражения - синдром хронического полиомиелита; синдром бокового амиот-рофического склероза и эпилепсия кожевниковского типа.

Омская геморрагическая лихорадка

Омская геморрагическая лихорадка - острая инфекция, протекающая с интоксикацией, геморрагическим диатезом и ундулирующей лихорадкой. Возбудитель выделил М.П. Чумаков (1947). Заболевание регистрируют в некоторых регионах Западной Сибири. Резервуар и переносчик вируса - клещи рода *Ixodes*; дополнительный резервуар - различные животные и птицы; у последних развивается бессимптомная инфекция с вирусемией. Заражение человека происходит после укусов инфицированными клещами; при контакте с заражёнными животными (например, ондатрами) или употреблении в пищу сырой воды. После укуса переносчика вирус проникает в кровоток и реплицируется в эндотелии капилляров кожи и различных органов. Клинически заболевание проявляется лихорадкой и геморрагиями различной локализации; прогноз благоприятный (летальность не превышает 0,5-3%).

Лихорадка Денге

Лихорадка Денге - острая тропическая инфекция, проявляющаяся лихорадкой, лимфаденопатией, кожными высыпаниями, болями в мышцах и суставах. Источники инфекции – больной человек и приматы (в Африке и Малайзии). Переносчики - комары *Aedes aegypti* и *A. albopictus*. Заболевание эндемично в тропических и субтропических зонах Азии, Африки, Австралии, Океании и Америки. По составу Аг выделяют 4 серовара вируса. Классическая форма протекает благоприятно и ограничивается явлениями капилляротоксикоза с соответствующей симптоматикой - обильной пятнисто-папулёзной или уртикарной сыпью, головными болями, миалгиями и артралгиями, в связи с чем лихорадка и получила своё название [язык суахили (ki)dinga(poro), костоломная лихорадка]. Циркуляция вируса сопровождается выраженной сенсibiliзацией организма, и при повторном заражении развивается геморрагическая форма. Повышаются проницаемость и ломкость сосудов, развивается тромбоцитопения. Геморрагический синдром проявляется со 2-3-х суток; типичная локализация - кожа конечностей, ягодиц, спины, склеры. Могут возникать множественные кровоизлияния в эндо- и перикарде, плевре, брюшине, слизистой оболочке ЖКТ, головном мозге.

Микробиологическая диагностика

Для диагностики flavivirusных инфекций используют вирусологические, биологические и серологические методы. Материал для исследований - кровь (в период вирусемии), СМЖ (при признаках менингоэнцефалита), моча и секционный материал.

- Выделение возбудителя из крови проводят заражением куриных эмбрионов или культур клеток (например, фибробластов куриных эмбрионов). Наиболее универсальный способ - внутримозговое заражение 1-3-дневных мышат-сосунков, у которых развивается энцефалит с летальным исходом. После появления признаков болезни мозг пассируют, через 3-4 пассажа вирус достигает высокого титра, и его можно использовать для приготовления Аг для идентификации в РТГА и РСК с наборами иммунных сывороток. Окончательную идентификацию вирусов проводят в РН.

- Вирусспецифические АТ определяют в парных сыворотках с помощью РСК, РТГА, РПГА, РН и др. Через 6-7 дней после заражения в крови появляются антигемагглютинины, к концу 2-й недели - комплементсвязывающие АТ, а на 3-4-й неделе - нейтрализующие АТ.

Лечение и профилактика

Средства этиотропной терапии отсутствуют, проводят симптоматическое лечение. Для пассивной экстренной иммунопрофилактики и лечения применяют специфические Ig и гетерологичные Ig из плазмы доноров, проживающих в природных очагах. Целесообразно применение препаратов ИФН. Для иммунопрофилактики используют убитые культуральные вакцины, после

укусов членистоногих-переносчиков показано профилактическое введение донорского Ig. Общие мероприятия по профилактике flavivirusных инфекций включают применение инсектицидов в местах массового выплода переносчиков и использование индивидуальных средств защиты (изолирующая одежда, противомоскитные сетки, репелленты и др.).

Буньявирусы

Семейство *Bunyaviridae* считается крупнейшим по количеству входящих в него вирусов (около 250). Своё название семейство получило от района Буньямвёра (Уганда), где были выделены первые представители. Большинство членов семейства составляют арбовирусы родов *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*. Вирусы рода *Hantavirus* относятся к рбовирусам и передаются контактным, воздушно-пылевым и алиментарным путями. Вирионы буньявирусов имеют сферическую форму и диаметр 90-100 нм. Геном образован молекулой -РНК, состоящей из трёх (L, M и S) сегментов. Нуклеокапсид организован по типу спиральной симметрии. Снаружи нуклеокапсид покрыт двухслойным липидным суперкапсидом, на котором располагаются белковые структуры с гемагглютинирующей активностью, объединённые в форме поверхностной решётки. У различных вирусов состав белков варьирующ, но все содержат поверхностные гликопротеины G1 и G2 и внутренний гликопротеин, ассоциированный с РНК N-белок. Большинство вирусов содержит РНК-зависимую РНК-полимеразу. Репликативный цикл буньявирусов осуществляется в цитоплазме (более подробно см. главу 5).

Возбудители арбовирусных инфекций

Основные возбудители энцефалитов входят в род *Bunyavirus* (вирус калифорнийского энцефалита, вирусы энцефалитов Ла Кросс, зайцев-беляков, Джеймстаун Каньон, Буньямвёра и

Тенсав). Вирусы рода *Phlebovirus* вызывают различные москитные лихорадки (например, лихорадку паппатачи, неаполитанскую и сицилийскую лихорадки, лихорадки долины Рифт, Пунта Торо и др.). Род *Nairovirus* включает вирус конго-крымской геморрагической лихорадки, вызывающий заболевания в России, Молдавии, Украине, на Балканах и в Африке. Круг природных хозяев буньявирусов широк: природным резервуаром более половины видов являются грызуны, 1/4 птицы и 1/4 различные парнокопытные животные. Переносчики большинства буньявирусов - комары семейства *Culicinae*; свыше 20 видов вирусов передают клещи семейств *Ixodidae* и *Argasidae*; несколько вирусов переносят мокрецы и москиты.

Конго-крымская геморрагическая лихорадка. Возбудитель выделен М.П. Чумаковым (1945). Резервуар и переносчик возбудителя - пастбищные клещи родов *Hyalomma*, *Dermacentor* и др. Циркуляцию вируса поддерживают различные млекопитающие, у которых вирус не вызывает поражений (зайцы, коровы, овцы и др.). Возможно заражение от больного человека контактным путём. Характерна весенне-летняя сезонность. После внедрения вируса и его репродукции в клетках макрофагально-моноцитарной системы и эндотелиоцитах развивается генерализованная вирусемия, обуславливающая возникновение общетоксического синдрома. Гематогенная диссеминация приводит к развитию универсального капилляротоксикоза, ДВС-синдрома, а также некротических поражений миокарда, почек и надпочечников. Клинически заболевание проявляется лихорадкой, геморрагическим синдромом с массивными кишечными и желудочными кровоизлияниями и признаками органной патологии. Летальность достигает 30-40%. После выздоровления развивается стойкая невосприимчивость к повторным заражениям.

Москитная лихорадка (лихорадка паппатачи). Основной резервуар вируса - больной человек в стадии генерализованной вирусемии. Переносчики - самки москита *Phlebotomus papatasi*, поэтому заболевание также известно под названием флеботомная лихорадка. Заболевание регистрируют практически во всех странах, расположенных в пределах 20-45 "северной широты. После проникновения вируса и его репродукции в клетках макрофагально-моноцитарной системы и эндотелиоцитах развивается генерализованная вирусемия. Возбудитель

проявляет нейротропность: инфицируя клетки ЦНС, вирус приводит к нарушению их функции и развитию церебральной гипертензии. Продолжительность лихорадочного периода зависит от тяжести течения болезни: при лёгкой форме- 1-2 дня, при тяжёлой- до 8 сут. При тяжёлых формах обнаруживают признаки поражения ЦНС - неприятные ощущения по ходу нервных стволов, гиперестезию, менингеальные знаки и др. В редких случаях наблюдают проявления геморрагического синдрома.

Возбудители реновирусных инфекций

Все возбудители входят в состав рода *Hantavirus*. Патогенными для человека являются вирусы Хантаан, Пуумала (эпидемической нефропатии), Сеул (геморрагической лихорадки с почечным синдромом) и Син Номбре (острого респираторного дистресс-синдрома). Резервуар вирусов - различные грызуны (возбудитель выделяют из слюны, мочи и фекалий); возможно бессимптомное носительство либо эпизоотии. Геморрагические лихорадки с почечным синдромом широко распространены в лесных районах; лёгочные поражения - в степных эндемичных районах США. Человек заболевает при употреблении инфицированных продуктов или вдыхании загрязнённого воздуха.

Геморрагические лихорадки с почечным синдромом. Геморрагические лихорадки с почечным синдромом включают большую группу эндемичных поражений (корейская, дальневосточная, уральская, ярославская, закарпатская, скандинавская и прочие лихорадки). Возбудитель (возбудители) имеет несколько сероваров. Продолжительность инкубационного периода 7-45 сут. Заболевания начинаются остро; характерны высокая температура тела (39-40 °С), миалгии, гиперемия слизистых оболочек, склер. С 3-4-х суток присоединяются явления интоксикации (обычно сопровождающиеся многократной рвотой) и геморрагический синдром (пятнисто-папулёзная сыпь, внутренние кровотечения). Практически одновременно развивается олигурия, в тяжёлых случаях возможна анурия. В большинстве случаев прогноз благоприятный.

Лёгочные поражения. Заболевания регистрируют в США (Калифорния, Невада, Аризона и др.). Длительность инкубационного периода не превышает 6 нед. Заболевание проявляется как ОРВИ с присоединением признаков пневмонии, геморрагического и почечного синдромов. Лечение симптоматическое и патогенетическое (проводят профилактику бактериальных суперинфекций); прогноз заболеваний неблагоприятный, летальность достигает 60%.

Микробиологическая диагностика

Для выделения возбудителя наиболее часто прибегают к внутримозговому заражению мышат-сосунков, у которых развиваются параличи с летальным исходом. Вирусы дифференцируют в РТГА. Следует помнить, что у возбудителя конго-крымской лихорадки отсутствуют гемагглю-тинины. При перекрёстном реагировании в пределах группы также применяют РН и РСК. Сывороточные АТ выявляют с помощью РСК, РНГА, иммунодиффузии, РИФ, РНИФ и ИФА.

Лечение и профилактика

Средства этиотропной терапии отсутствуют; лечение симптоматическое. Для специфической иммунопрофилактики многих инфекций разработаны убитые вакцины из вирусов, инактивированных формалином. Для экстренной профилактики и лечения можно использовать иммунные сыворотки, получаемые гипериммунизацией лошадей либо гомологичные Ig. В природных очагах проводят дезинсекцию и дератизацию. При пребывании в природных очагах следует использовать средства индивидуальной защиты (специальную одежду, противомоскитные сетки, репелленты и др.).

АРЕНАВИРУСЫ

Характерный морфологический признак представителей семейства *Arenaviridae* - наличие внутри вирусных частиц электронно-плотных зернистых структур, напоминающих песчаные вкрапления, наличие которых обусловило название семейства [от лат. *arena*, песок]. Семейство включает один род *Arenavirus*, представленный округлыми вирионами диаметром 110-130 нм. Геном аренавирусов образует однонитевая молекула -РНК, содержащая пять сегментов. Вирионы содержат транскриптазу, ответственную за синтез комплементарной нити +РНК, исполняющей роль матрицы. Нуклеокапсид окружён суперкапсидом, на котором расположены многочисленные, плотно прилегающие друг к другу гликопротеиновые булавовидные шипы. Все аренавирусы относят к экологической группе робовирусов, и все виды патогенны для человека; наиболее типичны тяжёлые геморрагические лихорадки с высокой летальностью, гриппоподобные поражения и, реже, серозные менингиты. По наличию внутреннего растворимого Аг (выявляемого в РСК или РНИФ) аренавирусы разделяют на группы Старого и Нового Света (исключая вирус лимфоцитарного хориоменингита, широко распространённый в Евразии и Америке). Первую группу образует вирус Ласса; вторую - вирусы Хунйн (возбудитель аргентинской геморрагической лихорадки), Мачупо (возбудитель боливийской геморрагической лихорадки) и Гуанарито (возбудитель венесуэльской геморрагической лихорадки). *Основной резервуар аренавирусов - различные грызуны*, у которых вирусы длительно персистируют и активно выделяются с мочой. *Человек - тупиковый хозяин инфекционного цикла*. Человек заражается при укусах клещей-переносчиков, а также алиментарным и воздушно-пылевым путём (при употреблении инфицированной воды и продуктов). Во время вспышек возможна контактная передача возбудителей через повреждённую кожу. Входными воротами служат ЖКТ или дыхательные пути; вирусы размножаются в регионарных лимфатических узлах, диссеминируют по кровотоку и вызывают массивные поражения капилляров с нарушением их проницаемости и обширными геморрагиями. Смерть больных обычно наступает в результате развития шока.

Геморрагическая лихорадка Ласса. Возбудитель впервые выделен в миссионерском госпитале городка Ласса (Северо-запад Нигерии). Длительность инкубационного периода 7-10 сут; клиническая картина поражений варьирует от бессимптомных форм до молниеносных летальных форм (составляют 35-50% всех случаев). Заболевание развивается бурно: характерны высокая температура тела, головная боль, мышечные боли. При тяжёлых формах присоединяются явления интоксикации, поражений ЦНС, геморрагического диатеза с дальнейшим развитием шока. Смерть наступает через 2 нед после начала болезни; летальность может достигать 70%.

Южно-американские геморрагические лихорадки. Возбудители - вирусы Хунйн (возбудитель аргентинской геморрагической лихорадки), Мачупо (возбудитель боливийской геморрагической лихорадки) и Гуанарито (возбудитель венесуэльской геморрагической лихорадки). Длительность инкубационного периода 7-14 сут. Для клинической картины типичны прогрессирующая лихорадка, головная боль, мышечные боли, гиперестезия кожных покровов, гиперемия конъюнктивы. Обычно с 5-го дня присоединяется геморрагический диатез - петехии, геморрагии и признаки поражения почек (олигурия, альбуминурия). В особо тяжёлых случаях

развивается ДВС-синдром. Летальность может достигать 20%. В благоприятных случаях после 8-10-дневного острого периода наступает выздоровление.

Лимфоцитарный хориоменингит. Лимфоцитарный хориоменингит в большинстве случаев клинически протекает как гриппоподобное заболевание с лихорадкой, головной болью и мышечными болями, реже - с признаками асептического серозного менингита или менингоэнцефалита с лейко- и тромбоцитопенией. В 70-х годах появились сообщения о возможном тератогенном действии вируса, так как у некоторых детей с гидроцефалией удалось установить факт внутриутробного заражения.

Микробиологическая диагностика

Проводят комплекс вирусологических, биологических и серологических исследований. Возбудители геморрагических лихорадок чрезвычайно контагиозные, работу с ними проводят в специализированных учреждениях. Материал для исследований - смывы из носоглотки, кровь, СМЖ, моча, плевральный выпот и секционный материал (например, лимфатические узлы). Выделение возбудителя проводят заражением культур клеток (например, VERO или амниона человека). Вирусы идентифицируют в РСК, РН или РНИФ. Выбор животного для биопробы определяет патогенность возбудителя для них. Обычно используют мышат, хомячков, морских свинок, обезьян, заражаемых интрацеребрально. Специфические АТ выявляют в РСК и РНИФ; последняя предпочтительнее, так как выявляемые с её помощью АТ появляются раньше и циркулируют дольше. При наличии стёкол с фиксированными культурами, заражёнными аренавирусами, диагностика инфекций не представляет большого труда и даёт возможность быстро получить результат. Видовую принадлежность аренавирусов определяют в РН.

Лечение и профилактика

Проводят симптоматическое лечение, так как средства этиотропной лекарственной терапии отсутствуют. Для лечения лихорадки Ласса используют гипериммунную сыворотку от иммунизированных доноров и реконвалесцентов. Для специфической профилактики разработаны атте-нуированные живые вакцины.

ФИЛОВИРУСЫ

Род *Filovirus* семейства *Filoviridae* объединяет палочковидные или нитевидные, ветвящиеся вирусы [лат. *filum*, нить]. Средние размеры вирионов 14x80 нм. Геном образован молекулой -РНК. Нуклеокапсид организован по типу спиральной симметрии и образует тяж, покрытый суперкапсидом с гликопротеиновыми шипами длиной 7-10 нм. Вирусы устойчивы к высокой температуре и сохраняют инфекционность в течение 30 мин при 60-70 °С; быстро инактивируются под действием УФ-облучения и жирорастворяющих агентов. Для человека патогенны вирусы геморрагических лихорадок Марбург и Эбола.

Заболевания регистрируют в экваториальных и субэкваториальных районах Африки. Выявлена циркуляция возбудителей у зелёных мартышек-церкопитеков. Тем не менее, обезьян нельзя считать природным резервуаром, так как инфекция у них также протекает остро. Продолжительность периода заразительности обезьян - до 7-й недели после выздоровления (возбудитель сохраняется в тканях и слёзной жидкости). Человек заражается контактным и, возможно, воздушно-капельным путём. Также известны случаи передачи возбудителя при половых контактах. Заражение возможно при контактах с больными приматами и людьми. В некоторых случаях заражение происходило при вторичном использовании катетеров и систем для переливания крови либо плохо стерилизованных медицинских инструментов. Патогенез поражений напоминает прочие вирусные геморрагические лихорадки, но ведущий фактор - нарушение функций тромбоцитов, приводящее к геморрагическому шоку.

Болезнь Марбург. Первые вспышки болезни Марбург зарегистрированы в 1967 г. в городах Марбург и Белград. Позднее заболевание наблюдали в ЮАР и Кении. Длительность инкубационного периода 1-9 сут. Заболевание начинается остро: характерны повышение температуры тела до 38-40 °С, мышечные боли, головная боль, экзантемы и конъюнктивит. Основные проявления - массивные генерализованные кровоизлияния, протеинурия, поражение сердца. Смерть пациентов наблюдают на фоне развития шока. Летальность 50% (варьирует от 30 до 90%).

Лихорадка Эбола. Первая вспышка этой геморрагической лихорадки зарегистрирована в районе Эбола (Заир) в 1976 г. Затем заболевание регистрировали в Заире и Южном Судане, Кении, Кот д'Ивуар и в Габоне (1996). Основные случаи регистрируют в отдельных семьях; среди пациентов и персонала инфекционных больниц, куда поступают заболевшие; в лабораториях,

изучающих приматов. Серьёзную опасность представляет миграция населения из эндемичных районов. АТ к вирусу выявлены у жителей Камеруна, Нигерии, Сьерра-Леоне, Гвинеи, Сенегала и Центрально-Африканской республики. Вполне возможна циркуляция вируса в Юго-Восточной Азии, так как эпизоотия лихорадки в США возникла среди обезьян, поступивших из Индонезии. Длительность инкубационного периода 2-21 сут. Заболевание начинается остро: характерны высокая температура тела, лихорадка, головная боль и мышечные боли. Затем появляются петехиальная сыпь и кровавый профузный понос. Смерть пациентов возникает на фоне шока.

Микробиологическая диагностика

Материал для исследования - кровь, геморрагический экссудат и моча. Выделение вирусов проводят заражением культур клеток обезьян с последующей идентификацией в РН, РСК и ИФА. Для экспресс-диагностики выявляют вирусные Аг в исследуемом материале с помощью РИФ и РНИФ. Вирусоспецифические АТ в сыворотке больных и реконвалесцентов выявляют в РСК и РН.

Лечение и профилактика

Средства специфической терапии и профилактики отсутствуют. Проводят симптоматическое лечение, направленное на поддержание водно-солевого баланса, функции почек и печени. Хороший эффект дают вливание сыворотки реконвалесцентов в сочетании с введением ИФН и его индукторов. Всех больных немедленно изолируют, а их обслуживание проводят с соблюдением строгих мер безопасности.

РЕОВИРУСЫ

Термин «реовирус» [от англ. respiratory, респираторный, + enteric, кишечный, + orphan, сиротский] предложил *Сэйбин* (1959 г.) для обозначения вирусов, способных вызывать поражения воздухоносных путей и ЖКТ и первоначально классифицированных как кишечные «сиротские» ЕСНО-вирусы 10-го типа. В настоящее время семейство *Reoviridae* объединяет 9 родов, включающих виды, патогенные для человека, позвоночных, насекомых и растений. Природно-очаговые инфекции у человека вызывают представители родов *Orbivirus* (вирусы Орунго и Кемерово) и *Coltivirus* (вирус колорадской клещевой лихорадки). Вирионы имеют сферическую форму диаметром 78-80 нм. Геном образован двухнитевой молекулой -РНК, состоящей из 10 сегментов. Геномная РНК и РНК-полимераза образуют сердцевину вириона. Нуклеокапсид организован по типу кубической симметрии. Капсид кольцевидной формы [лат. *orbis*, колесо], включает многочисленные белковые шипы, придающие вирусам «пушистый» вид. Суперкапсид отсутствует. Резервуар и переносчики возбудителей - грызуны, птицы, комары, мокрецы, москиты. Некоторые вирусы не имеют установленных позвоночных хозяев. Клиническая картина характеризуется лихорадкой, суставными болями, явлениями интоксикации.

Лихорадка Кемерово. Заболевание регистрируют в Западной Сибири. Резервуар возбудителя - различные птицы; переносчики - иксодовые клещи. Птицы могут служить источником инфекции в период вирусемии, длящейся 7-10 сут. У некоторых лиц заболевание может протекать бессимптомно. Длительность инкубационного периода 4-5 сут. Заболевание начинается остро: характерно повышение температуры тела до 39-40 °С. Отмечают инъекцию склер, гиперемию конъюнктивы и кожных покровов. Несколько позднее появляются пятнисто-папулезные высыпания. В тяжёлых случаях возможны явления миокардита и менингоэнцефалита.

Колорадская клещевая лихорадка. Колорадская клещевая лихорадка - единственная вирусная инфекция США, передающаяся клещами. Заболевание наиболее характерно для западных регионов США. Переносчик - клещ *Dermacentor andersoni* (вирус может передаваться трансвариально). Человек - тупиковый хозяин; заражение носит случайный характер. После укуса клеща вирус проникает непосредственно в кровоток, адсорбируется на эритроцитах и

циркулирует 2-4 нед. Инфекция протекает остро: характерны лихорадка, головная боль, мышечные боли, сонливость. Прогноз благоприятный. У маленьких детей геморрагический синд-

ром проявляется сильнее и обусловлен выраженной тромбоцитопенией. Обнаружено тератогенное действие возбудителя при заражении в ранние сроки беременности.

Микробиологическая диагностика

В первые 14 сут (период вирусемии) проводят выделение вируса заражением кровью клеточных культур или интрацеребральном заражении мышей-сосунков и хомячков. У животных развивается паралич с летальным исходом. Специфические АТ выявляют в парных сыворотках, взятых в первые сутки и на 2-4-е недели заболевания, с помощью РСК, РНГА и РН.

Лечение и профилактика

Средства этиотропной терапии и специфической профилактики не разработаны. Методом профилактики можно считать уничтожение клещей-переносчиков, однако подобные мероприятия опасны для окружающей среды. Более безопасно с экологической точки зрения применение индивидуальных средств защиты (спецодежда, репелленты и др.).

Вирус везикулярного стоматита

Везикулярный стоматит - острое поражение слизистой оболочки рта, дёсен и глотки, проявляющееся везикулярными высыпаниями. Возбудитель - вирус рода *Vesiculovirus* семейства *Rhabdoviridae* (единственный арбовирус этого семейства). Вирионы имеют пулевидную форму размером 60-80x200 нм. Геном образован однонитевой несегментированной молекулой -РНК. Нуклеокапсид организован по типу спиральной симметрии и окружён суперкапсидом, включающим гликопротеиновые шипы. Репродукция вируса реализуется в цитоплазме клетки (более подробно смотри главу 5). По антигенной структуре выделяют 4 типа вируса - Индиана, Кокал, Алагоас и Мараба. Вирионы мало устойчивы во внешней среде и быстро инактивируются под действием солнечного света и высокой температуры. Переносчики - различные комары, в организме которых вирус размножается. *Отличительная особенность вируса везикулярного стоматита - способность индуцировать выработку ИФН в больших титрах и высокая чувствительность к нему.* Лабораторная диагностика включает выделение вируса из отделяемого везикул на культурах клеток (вирус проявляет цитопатический эффект и образует бляшки) и куриных эмбрионах. Для идентификации возбудителя и серодиагностики применяют реакцию прямой иммунофлюоресценции, РСК, ИФА и РИА. Лечение симптоматическое.

ГЛАВА 32. ВОЗБУДИТЕЛЬ БЕШЕНСТВА

Бешенство - острая инфекция ЦНС, сопровождающаяся дегенерацией нейронов головного и спинного мозга; летальность при этом заболевании достигает 100%.

Бешенство известно с глубокой древности. Уже в гомеровской «Илиаде» греки называли троянца Гектора бешеной собакой. Некоторые аспекты эпидемиологии отражены в трудах Аристотеля и др., а Цельс отметил факт развития гидрофобии и рекомендовал прижигать укусы больных животных. Победа над заболеванием в результате его профилактики связана с именами Пастера, Ру и Шамберлана.

Возбудитель бешенства включён в род *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*. Зрелые вирионы имеют пулевидную форму и размеры 75x180 нм; один конец закруглён, другой плоский. Геном образует однонитевая несегментированная молекула -РНК. Сердцевина вириона симметрично закручена внутри оболочки по продольной оси частицы. Нуклеокапсид дополняют молекулы сердцевинного белка (NP) и вирусной транскриптазы. Фермент включает большой (L) и малый

(NS) белки. Нуклеокапсид покрывает суперкапсид, включающий поверхностные гликопротеиновые «шипы» (рис. 32-1). Репродукция вируса реализуется в цитоплазме клетки (более подробно смотри главу 5). Вирус малоустойчив во внешней среде и быстро инактивируется под действием солнечного света и высокой температуры. В трупах животных вирус может сохраняться до 3-4 мес; чувствителен к действию различных дезинфектантов.

Эпидемиология

Заболевание распространено повсеместно, исключая островные государства (Англию, страны Карибского бассейна и др.). *Бешенство - типичный зооноз; резервуаром возбудителя могут быть практически все млекопитающие* (собаки, кошки, крупный рогатый скот, летучие мыши, лисы, волки, грызуны и др.). *Основной путь передачи - через укус больного животного*; также возможно проникновение возбудителя через повреждённые кожные покровы (например, царапины) при ослюнении их больным животным. В слюне животных вирус появляется за несколько дней до начала клинических проявлений, что увеличивает риск развития бешенства после укуса до 30-40%. После проникновения вируса в ЦНС больного животного риск заражения через укус снижается до 10%. *Выделяют два типа заболевания - бешенство лесное и городское.*

- Дикое (лесное) бешенство. Основной резервуар - дикие животные, специфичные для отдельных регионов, например скунсы (США), лисицы (Россия, Северная Америка), летучие мыши-вампиры (страны Карибского бассейна и Южная Америка).

- Городское бешенство. Наибольшую эпидемическую опасность представляют больные собаки (до 90% всех случаев) и кошки. В Нигерии последние передают человеку близкий к бешенству вирус Мокбла, вызывающий неврологические заболевания (параличи) с летальным исходом.

Антигенная структура

Возбудитель представлен одним антигенным вариантом. Выделяют «фиксированный» (*virus fixe*) и «уличный» вирусы. «Фиксированный» тип получен Пастером после многократного пассирования на лабораторных животных; не поражающий периферические нервы. «Уличный» вирус вызывает заболевание. Аг «фиксированного» и «уличного» типов идентичны.

Патогенез поражений

Вирус размножается в мышечной и соединительной тканях, где персистирует в течение недель или месяцев. Затем вирус мигрирует по аксонам периферических нервов в базальные ганглии и ЦНС, где размножается в сером веществе, вызывая дегенерацию нейронов. Затем вирус диссеминирует по центробежным нейронам в различные ткани (включая слюнные железы).

Клинические проявления

Длительность инкубационного периода заболе-

вания варьирует от 1-3 мес до года, но она может

сокращаться до 6 дней, что зависит от удалённости места проникновения вируса от головного мозга. Основные симптомы продромального периода - раздражительность, бессонница и чувствительные нарушения (например, парестезия) в области раны. Заболевание проявляется нарушением тонуса мышц, приводящим к затруднению глотания (сначала жидкой, а затем и твёрдой пищи), генерализованными судорогами, делирием и комой. В редких случаях наблюдают развитие параличей. Прогноз заболевания крайне неблагоприятный, летальность достигает 100%.

Микробиологическая диагностика

Для выделения и идентификации возбудителя применяют вирусоскопические, биологические и серологические методы. Материал для исследования - слюна, кровь и секционный материал (ткани мозга и подчелюстных слюнных желёз). С помощью микроскопии окрашенных срезов или отпечатков выявляют в клетках коры полушарий, аммонова рога и мозжечка *эозино-фильные тельца Бабеша-Нёгри* размером 5-10 мкм, образованные скоплениями вирусных нуклеокапсидов. Тельца включений располагаются около ядер и имеют неровные очертания. Срезы и отпечатки также используют для обнаружения Аг вируса в этих тканях с помощью РИФ или РНИФ. Возбудитель выделяют путём внутримозгового заражения мышей и кроликов слюной больных людей или свежим секционным материалом. У животных развиваются параличи с летальным исходом, и в тканях мозга можно обнаружить тельца включений и Аг вируса в РИФ и РНИФ. АТ к вирусу у вакцинированных лиц выявляют в РСК, РН, РИФ и др.

Лечение и профилактика

Первоначально раны или укусы обрабатывают антисептиками; места ослюнения обмывают мыльным раствором. Затем проводят специфическую иммунопрофилактику антирабической вакциной и антирабическим иммуноглобулином. Перед проведением следует обратить внимание на характер поражения (укус или ослюнение), вид животного, подозрительного на бешенство, обстоятельства нападения (спровоцированное или нет), наличие предшествующей вакцинопрофилактики бешенства (по крайней мере, у человека), другие случаи бешенства в регионе.

Впервые вакцинацию против бешенства осуществил Пастер 6 июля 1885 г. мальчику Йозефу Майстеру, укушенному бешеной собакой (позднее последний долгие годы служил швейцаром в парижском Пастеровском институте). Для активной иммунизации предложены живые аттенуированные и убитые вакцины. В настоящее время вакцины, изготовленные из ослабленного или убитого вируса, выращенного на нервных клетках, вытесняют культуральные вакцины из ослабленного вируса, полученные на линиях различных клеток. Такие вакцины лишены побочных эффектов (энцефалиты, параличи в результате перекрёстных реакций с Аг нейронов), более иммуногенны и не требуют столь многократного введения. В плановом порядке вакцину вводят в 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 28-е сутки; вакцину можно рассматривать как лечебно-профилактическое средство, так как специфические защитные реакции успевают развиваться во время инкубационного периода. Нейтрализующее действие на возбудитель оказывают АТ к поверхностным гликопротеиновым Аг.

При появлении клинических симптомов спасти больных не удаётся. Проводят симптоматическое лечение, облегчающее страдания больного. Профилактика бешенства включает контроль над заболеванием в природе и вакцинопрофилактику. Необходимо вакцинировать всех домашних и сельскохозяйственных животных, бороться с природными очагами бешенства (отслеживать численность животных и уничтожать заболевших), вносить в резервуары приманки с вакциной, применять жёсткие карантинные меры при импорте животных. Обязательную вакцинопрофилактику проводят в группах повышенного риска - звероловам, ветеринарам и др.

ГЛАВА 33. ВИРУС ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) - возбудитель своеобразной инфекции, проявляющейся развитием прогрессирующих нарушений иммунного реагирования в результате длительного циркулирования вируса в лимфоцитах, макрофагах и клетках нервной ткани. Следствие ВИЧ-инфекции - *синдром приобретённого иммунодефицита* (СПИД). ВИЧ входит в состав подсемейства *Lentivirinae* семейства *Retroviridae*. Характерные особенности ретровирусов - уникальное строение генома и наличие обратной транскриптазы (РНК-зависимая ДНК-

полимераза). Обратная транскриптаза (или ревер-таза) обеспечивает обратную направленность потока генетической информации - не от ДНК к РНК, а наоборот, от РНК к ДНК, в связи с чем семейство и получило своё название [от англ. *retro*, обратно]. Геном образует две идентичные молекулы односторонней несегментированной +РНК. *Репродуктивный цикл ретровирусов уникален, так как при его реализации образуются промежуточные продукты-интермедиаты ДНК* (более подробно смотри главу 5). В настоящее время выделяют два типа вирусов: ВИЧ-1 (HIV-1) - основной возбудитель ВИЧ-инфекции. ВИЧ-2 (HIV-2) - менее вирулентный аналог ВИЧ-1, редко вызывающий типичные проявления СПИДа; его выделяют преимущественно в Западной Африке. Впервые ВИЧ выделили французский вирусолог Л. Монтаньё (1983) под названием LAV [от англ. *lymphadenopathy associated virus*] и американский вирусолог Р. Гэлло (1984) под названием вирус HTLV-III [Т-лимфотропный вирус человека III типа]. После установления идентичности HTLV-III и LAV во избежание путаницы вирусу было присвоено название HIV [англ. *human immunodeficiency virus*, вирус иммунодефицита человека], или ВИЧ.

Эпидемиология

ВИЧ-инфекция - типичный антропоноз, у животных воспроизвести заболевание не удаётся. *Резервуар вируса - инфицированный человек. Возбудитель передаётся кровяно-контактным путем.* Основным фактором передачи - половые контакты (вирус проникает в кровь через повреждения слизистых оболочек). Вторым по значимости фактором передачи вируса - использование одних и тех же игл и шприцев наркоманами. Основные группы риска - гомосексуалисты; наркоманы; проститутки; реципиенты крови и её компонентов или трансплантируемых органов (не более 2%). В настоящее время в мире зарегистрировано более 20 млн ВИЧ-инфицированных; около 80-90% ВИЧ-инфицированных зарегистрированы в странах третьего мира. В России первый случай ВИЧ-инфекции зарегистрирован в 1987 г., а к 2000 г. количество инфицированных превысило 10 000 человек. Поскольку в настоящее время донорская кровь тестируется на ВИЧ, его передача с кровью и её препаратами маловероятна. Также практически исключена его передача с донорскими органами, поскольку их отбирают только у ВИЧ-отрицательных лиц. ВИЧ чувствителен к действию высоких температур (при 56 °С инактивируется за 30 мин, при 70-80 °С - через 10 мин), этанола, эфира, ацетона и многих дезинфектантов. В крови и других биологических материалах при комнатной температуре вирус сохраняет жизнеспособность в течение нескольких суток.

Морфология вирионов

Зрелые вирионы ВИЧ имеют сферическую форму, их размеры не превышают 100-120 нм в диаметре (рис. 33-1). Геном образуют две нити +РНК; их связывают белки р6 и р7 (цифра соответствует молекулярному весу в кД). Капсид образует белок р24. Сердцевина вириона имеет цилиндрическую или конусовидную формы; её формируют белки р18 и р24. В сердцевине располагаются РНК, внутренние белки (р7 и р9), обратная транскриптаза (димер из белков р66 и р51) и эндонуклеаза (р31). Матричный белок р17 формирует прослойку между сердцевиной вириона и внешней оболочкой. Суперкапсид образован двойным липидным слоем, который пронизывают гликопротеиновые шипы. Каждый шип состоит из белков gp41 и gp120. Гликопротеины gp120 локализованы в выступающей части шипа и взаимодействуют с молекулами CD4 на мембранах клеток. Гликопротеины gp41 (белки слияния) располагаются внутри оболочки и обеспечивают её слияние с клеточной мембраной.

Антигенная структура

У ВИЧ главными Аг выступают группо- и видоспецифичные Аг [сердцевинные (gag-) белки р24]; типоспецифичные Аг [оболочечные (env-) белки gp41 и gp120]. В соответствии с их структурой выделяют два типа и более 10 сероваров ВИЧ. Вирус отличается высокой антигенной изменчивостью, и в результате сбоя обратной транскриптазы из организма больного

можно выделить серологически различные вирусы. Главные Аг ВИЧ - поверхностные gp41 и gp120, а также сердцевинный (ядерный) gp24.

Патогенез поражений

Патогенез поражений обуславливает селективное поражение CD4+ клеток, так как вирус использует молекулу CD4 в качестве рецептора. Мишени для ВИЧ - Т-хелперы, моноциты, макрофаги и родственные клетки, экспрессирующие CD4-подобные молекулы. Заражение макрофагов также возможно при поглощении иммунных комплексов, содержащих вирус. Особенность патогенеза ВИЧ-инфекции - способность избегать действия иммунных механизмов за счёт интеграции его генома в ДНК клеток хозяина при минимальной экспрессии вирусных генов, а также антигенной изменчивости, обусловленной «рабочими ошибками» обратной транскриптазы. Механизмы, обуславливающие прогрессирующее уменьшение количества CD4+-T_H-ток, включают апоптоз, образование синцитиев, аутоиммунные реакции, инфицирование клеток-предшественников.

- *Апоптоз.* Инфицированные Т-клетки экспрессируют на мембране вирусный gp120, способный взаимодействовать с молекулами CD4 на других инфицированных или неинфицированных Т-клетках. Связывание CD4-рецепторов с gp120, а также антигенная стимуляция инфицированных Т-клеток, могут стимулировать апоптоз («запрограммированную» смерть клеток).

- *Образование синцитиев.* Экспрессия gp120 на мембранах Т-клеток инициирует слияние мембран заражённых или незаражённых клеток, несущих молекулы CD4. Образование синцитиев обуславливает прямую передачу вируса от клетки к клетке и вызывает гибель Т-хелперов. Образование синцитиев - показатель поздней стадии развития ВИЧ-инфекции; указывающий на быстрое развитие СПИДа (в среднем через 23 мес).

- *Аутоиммунные реакции.* Появление вирусных гликопротеинов на мембране заражённых Т-клеток запускает активацию ЦТЛ и реакции антителозависимой цитотоксичности, направленные против инфицированных CD4+-клеток.

- *Инфицирование клеток-предшественников.* ВИЧ инфицирует клетки-предшественники Т-лимфоцитов в вилочковой железе и костном мозге, вызывая нарушения пролиферации и дифференцировки пула CD4+-клеток.

Следствием уменьшения количества CD4+-клеток выступает глубокий вторичный иммунодефицит, проявляющийся резким снижением сопротивляемости организма оппортунистическим микроорганизмам и развитием опухолей (саркома Капоши, карциномы кожи или В-клеточной лимфомы). *Помимо иммунотропности ВИЧ, проявляет выраженную нейротропность.* ВИЧ длительно сохраняется в макрофагах и с их помощью диссемирует по всему организму, в том числе заносится в ЦНС. Вирус инфицирует астроциты, вызывает образование симпластов и последующую гибель клеток.

Клинические проявления

Вопреки распространённым заблуждениям ВИЧ-инфекция не принадлежит к уникальным болезням; это инфекционное заболевание, отличающееся характерной клинической картиной. Течение ВИЧ-инфекции напоминает клиническую картину многих хорошо известных инфекционных заболеваний. Её своеобразие заключается лишь в тропности возбудителя к определённым клеткам организма, что отличает инфекционные заболевания друг от друга.

- Инкубационный период продолжается 2-4 нед, но может затягиваться до нескольких месяцев.

- Стадия первичных проявлений продолжается от нескольких дней до 1-2 мес. Её развитие обусловлено диссеминированием ВИЧ и сероконверсией. Продолжительность стадии - от нескольких дней до 1-2 мес. Характерны лимфаденопатии, повышение температуры тела. Клинические симптомы аналогичны таковым при инфекционном мононуклеозе или банальной простуде (наблюдает у 53-93% больных). В сыворотке крови пациентов обнаруживают Аг ВИЧ, а через 2 нед от начала острых проявлений - противовирусные АТ.

- Стадия вторичных проявлений (латентный период) продолжается от нескольких месяцев до 8-10 лет. Характерны нарушения иммунные расстройства, вызываемые ВИЧ. Наиболее характерный симптом - генерализованная лимфаденопатия. Возможны поражения ЦНС, чаще в виде подострого диффузного энцефалита с нарастающей деменцией, а также истощение без объективных причин. В крови определяют АТ к ВИЧ и уменьшение количества CD4+-клеток.

- Поздняя ВИЧ-инфекция проявляется развитием оппортунистических инфекций, развивающихся вследствие прогрессирующем снижении количества CD4+-клеток менее 50/мм³. Наиболее типичны: пневмоцистная пневмония, токсоплазмоз, кандидоз (патогномичны поражения пищевода и дыхательного тракта), криптококкоз, гистоплазмоз, атипичные микобактери-озы, генерализованные ЦМВ- и герпетические инфекции. Поздняя стадия заканчивается развитием СПИДа.

- СПИД. В результате некорректного употребления медицинских терминов, особенно в средствах массовой информации, понятия ВИЧ и СПИД часто ошибочно рассматривают как тождественные. На самом деле *СПИД развивается в терминальной стадии ВИЧ-инфекции*. На развитие СПИДа указывают развитие у пациента оппортунистических инфекций; прогрессирующего синдрома истощения у взрослых или задержки развития у подростков, неоплазий

(саркома Капоши, *неходжкенская* лимфома и др.), психических расстройств (например, деменции). Однако развитие вышеуказанных состояний, являющихся маркёрами СПИДа, значительно зависит от выраженности иммунодефицита, что лишь подчёркивает всю условность понятия СПИД.

Микробиологическая диагностика

Основу диагностики составляет выявление вирусоспецифических АТ и Аг вируса на различных стадиях ВИЧ-инфекции. АТ к Аг gp41, gp120 и gp24 выявляют, начиная с периода серокон-версии, стадии первичных проявлений и в течение всех последующих стадий. Аг gp41 и gp120 выявляют в стадии первичных проявлений и в стадии поздней ВИЧ-инфекции. Основные диагностические методы - ИФА и иммуноблот.

ИФА - основной метод диагностики. Он позволяет выявить вирусные Аг и АТ к ним. Поиск АТ менее предпочтителен для ранней диагностики, так как у 95% инфицированных АТ появляются лишь через 2-5 мес.

Вестернблот-(иммуноблот-)тест применяют для подтверждения факта ВИЧ-инфекции. Метод позволяет обнаружить специфические АТ в сыворотке и является только подтверждающим тестом. Результаты рассматривают как положительные после обнаружения АТ к p24, p31, а также к gp41 либо к gp120.

Альтернативные подходы к ранней диагностике ВИЧ-инфекции. Методы, выявляющие АТ, практически неприемлемы для диагностики ВИЧ-инфекции у новорождённых, так как материнские IgG могут присутствовать в сыворотке крови ребёнка до 1 года и более.

Альтернативные диагностические подходы включают выделение вируса *in vitro* и выявление генетического материала возбудителя с помощью ПЦР; результаты положительны у 35-55% инфицированных новорождённых в возрасте менее 1 нед и у 90-100% детей в возрасте 3-6 мес. Информативно выявление специфических в плазме и моче. У заражённых детей достоверный рост титров АТ отмечают после 3 мес жизни. В некоторых случаях положительные результаты у неинфицированных новорождённых обусловлены трансплацентарным транспортом некоторой части материнского А. В противоположность этому, плод может *in utero* реагировать с растворимыми ВИЧ-Аг, проникающими через плаценту.

Лечение

До настоящего времени эффективные средства этиотропной химиотерапии отсутствуют. Наиболее перспективны препараты, подавляющие активность обратной транскриптазы, - зидовудин, азидотимидин, залцитабин, диданозин, ставудин. Препараты оказывают временный терапевтический эффект, который уменьшается уже через 6-12 мес. Химиорезистентность обусловлена образованием мутантных популяций, появление которых обусловлено частыми «сбоями» генетического кода обратной транскриптазы. Кроме того, у 40% пациентов и более на поздних стадиях отмечают развитие анемий и нейтропений, индуцированных приёмом препаратов.

Большие перспективы имеет комбинированное применение антивирусных препаратов, иммунокорректирующих средств (иммуномодуляторы, ИФН), позволяющих избежать развития резистентности и увеличить продолжительность жизни больного.

Адекватное лечение поздней ВИЧ-инфекции и СПИДа требует как проведения терапии этиотропными препаратами, так и профилактики развития угрожающих жизни больного оппортунистических инфекций. Наиболее часто применяют ко-тримоксазол, эффективный для профилактики токсоплазмоза, нокардиоза, бактериальных диарей и бактериальных респираторных инфекций.

Иммунопрофилактика

В течение длительного времени предпринимаются попытки разработать вакцину против ВИЧ, однако до сих пор надёжной и безопасной вакцины против ВИЧ не существует. Разработка эффективных вакцин сложна из-за отсутствия адекватных животных моделей и невозможности оценить их эффективность у человека. К испытаниям предложены аттенуированные живые вакцины из рекомбинантных штаммов, лишённых инфекционности, убитые вакцины, рекомбинантные вирусные вакцины и субъединичные вакцины. Общие методы профилактики включают выявление ВИЧ-инфицированных и больных со СПИДом среди групп риска, контроль препаратов крови, более широкое внедрение разового медицинского инструментария, использование персоналом ЛПУ индивидуальных средств защиты (перчатки, пластиковые забрала и др.), проведение просветительской работы по профилактике инфекций, передающихся половым путём.

ГЛАВА 34. ОСНОВЫ ВИРУСНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Способность вирусов вызывать развитие опухолей впервые доказал американский вирусолог П. Раус в 1911 г., а в 1946 г. отечественный вирусолог Л.А. Зильбер сформулировал теорию вирусного канцерогенеза. Согласно ей геномы вирусов в виде провируса встраиваются в хромосомный аппарат клетки, вызывая его трансформацию и создавая опухолевый фенотип. Вирусы, проявляющие подобные свойства, известны как онкогенные [от греч. *onkos*, объёмная масса]. *Основное свойство онкогенных вирусов - способность вызывать развитие опухолей у лабораторных животных, у природных хозяев и трансформировать клетки в культуре тканей.*

В настоящее время выявлено более 200 видов онкогенных вирусов, входящих в состав различных семейств. Они вызывают развитие опухолей у самых различных теплокровных животных - птиц, грызунов, травоядных и плотоядных. Сложнее обстоит дело с вирусами в развитии опухолей у человека, так как среди множества причин, приводящих практически ко всем известным болезням злокачественного роста у человека, роль вирусов остаётся предметом дискуссии. Возможно, от многих вирусиндуцированных опухолей человека защищает иммунная система, разрушающая инфицированные вирусами клетки, которые могли бы стать источником опухолей. Тем не менее, на настоящий момент получены веские доказательства того, что причиной возникновения некоторых типов опухолей человека выступают вирусы (см. табл. 34-1). Большую их часть составляют ДНК-геномные вирусы, среди РНК-геномных вирусов эти свойства установлены только у ретровирусов.

ГЕНЕТИКА КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Каждая эукариотическая клетка содержит набор генов, кодирующих синтез веществ, обеспечивающих всю жизнедеятельность клетки, а также её запрограммированную гибель - апоптоз [от греч. *apo*, от-; *vy-*;+ *ptosis*, падение]. Под воздействием различных факторов генетическая программа клетки может изменяться, и клетка преждевременно погибает либо начинает бесконтрольно делиться, давая начало неопластическому росту. В клоне трансформированных клеток происходит дополнительное накопление генных мутаций, усиливающих неограниченную пролиферацию. Для таких клеток характерна высокая частота мутаций, вызывающих изменения в структуре или локализации одного или нескольких генов, увеличение количества их копий (амплификация) либо увеличении экспрессии генов.

Нарушение регуляции деления клеток при опухолевом росте связано с относительно небольшим количеством генов, прямо или косвенно регулирующих клеточную пролиферацию. Белки, кодируемые одной группой генов, непосредственно заставляют клетку вступать очередной цикл деления. Белки, кодируемые другой группой, действуют опосредованно, например ингибируя вступление клетки в апоптоз. В результате мутаций этих генов и развивается *неконтролируемая пролиферация - основное свойство опухолевых клеток*.

Мутации первого типа приводят к гиперактивности «стимулирующих» генов. По своей природе эти гены доминантны, и для фенотипического проявления достаточно мутации в одной из двух клеточных копий таких генов. Изменённая копия получила название «онкоген», а его нормальный аллель - «протоонкоген». *Именно мутации протоонкогена в онкоген или его чрезмерная активация могут дать начало опухолевому росту*.

Мутации второго типа приводят к инактивации «ингибирующих» генов. Эти гены рецессивны, поэтому обе клеточные копии гена должны быть инактивированы или удалены, чтобы освободить клетку от ингибирующего контроля. Ингибирующие гены обозначают как гены-супрессоры опухолевого роста.

Помимо обычных мутаций, существуют генетические изменения другого типа, также приводящие к опухолевому росту. Они включают нарушение контроля клеточной пролиферации вирусной ДНК, вводимой в клетку онкогенным вирусом.

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОТООНКОГЕНОВ

Классификация протоонкогенов, подвергающихся влиянию вирусных промоторов, основана на следующих критериях: сходстве (гомологии) первичной структуры клеточных и вирусных генов, ферментативных свойствах продуктов протоонкогенов и антигенном родстве

опухолевых белков с другими клеточными белками. В соответствии с этим выделяют следующие группы протоонкогенов.

Протоонкогены, кодирующие протеинкиназы. Представлены протоонкогенами, гомологичными по первичной структуре онкогенам, белковые продукты которых обладают или могут обладать протеинкиназной активностью и локализуются в основном на мембранах трансформированных клеток.

- Тирозинспецифические фосфопротеинкиназы нерецепторного типа представлены протоонкогенами семейства *src* (*yes*, *ros*, *sea* и др.), а также рядом других генов (*fes*, *abl*, *kit* и др.).

- Рецепторы фактора роста - протоонкогены, белки которых представляют собой гомологи рецепторов факторов роста (например, *erbB*).

- Нетирозиновые фосфопротеинкиназы - белки протоонкогенов, неспособных фосфорилировать субстраты по тирозину. Например, продукты генов *mos* и *raf* являются серин/треонин киназами.

Ядерные протоонкогены - представлены генами, кодирующими белки, локализованные в ядре.

- Регуляторы транскрипции - протоонкогены, белки которых специфично взаимодействуют с регуляторными элементами клеточного генома (например, *fos*).

- ДНК-связывающие белки - протоонкогены, кодирующие белки, способные связываться с ДНК (например, гены семейства *mys* и др.).

- ГТФ-связывающие белки представлены протоонкогеном *ras*, продукты которого связывают ГТФ - непосредственный предшественник гуаниловой кислоты в синтезе РНК (гуаниловая кислота является одним из основных компонентов РНК).

Протоонкогены, кодирующие факторы роста, представлены генами, продукты которых служат факторами роста. Например, ген *sis* кодирует синтез фактора роста тромбоцитов.

Вставочные (инсерционные) протоонкогены представлены генами (например, *int-1* и др.), в месте локализации которых происходит встраивание онкогенных ретровирусов.

Протоонкогены транслокации - участки (локусы) клеточного генома (*ber* и др.), способные вовлекаться в процесс транслокации (перемещения) генов.

МЕХАНИЗМЫ ОНКОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВИРУСОВ

Онкогенные вирусы могут оказывать либо прямое трансформирующее, либо не прямое промоторное действие.

Онкогенную активность вирусов определяет особый трансформирующий ген (онкоген). *Принципиальное отличие вирусных онкогенов от клеточных онкогенов - отсутствие гомолога в геноме нормальной клетки.* Вирусы, содержащие онкоген в своём геноме, обозначают как опс⁺-вирусы. Большинство из них ДНК-геномные. Однако довольно часто эти вирусы утрачивают онкоген и, соответственно, трансформирующую активность; в этом случае их обозначают как опс⁻-вирусы. *Онкоген не кодирует репродукцию жизненно важных для вируса белков, и его утрата не лишает вирус способности репродуцироваться в чувствительных клетках.* В зависимости от особенностей структуры вирусного генома выделяют независимые и слитые онкогены. Независимые онкогены транслируются в виде отдельного белка, не содержащего продуктов

экспрессии соседнего гена. При этом независимый онкоген может быть локализован как на конце вирусного генома (например, ген *src* у вируса саркомы Рауса), так и в его середине (например, ген *ras* у вируса саркомы мышей). Слитые онкогены транскрибируются в виде РНК, кодирующей опухолевый белок в составе

единой молекулы, несущей аминокислотную последовательность структурных белков вирусов.

Опс⁻-вирусы

Опс⁻-вирусы неспособны к непосредственной трансформации клеток, так как лишены онкогенов. Большинство из них составляют РНК-геномные ретровирусы. Онкогенный эффект опс⁻-вирусов реализуется без захвата клеточных генов и переноса их из клетки в клетку. Мишенями опс⁻-вирусов служат клеточные протоонкогены, кодирующие синтез протеинкиназ и факторов роста, т.е. продуктов, контролирующих процессы деления и дифференцировки клеток. Наиболее часто подчинение клеточных протоонкогенов происходит под действием вирусных промоторов (участков оперонов, ответственных за инициацию транскрипции генетической информации). Промоторы вируса работают с большей активностью, чем промоторы клетки, что определяет большая скорость размножения вирусов. Поэтому при встраивании опс⁻ вируса в хромосому рядом с протоонкогеном, вирусный промотор подчиняет работу клеточного протоонкогена, что приводит к избыточному накоплению белка, кодируемого геном (протоонкогеном), либо создаёт условия, не подходящие для нормального функционирования протоонкогена. Подобный феномен встраивания и изменения работы генов известен как «вставочный, или ин-серционный, мутагенез» (более подробно см. главу 4), а изменённый таким образом геном наследуется всеми потомками данной клетки.

Встраивание ДНК-копий вирусной РНК в геном инфицированной клетки составляет часть нормального жизненного цикла ретровирусов, и если оно происходит в интервале 10 000 пар оснований от протоонкогена, то возможна аномальная активация гена. Другой механизм включает перенос (транслокацию) блока клеточных генов в хромосоме, что обусловлено способностью вирусов проявлять свойства транспозонов. Также возможны амплификация протоонкогена и точечные мутации в нём (более подробно см. главу 4).

Опс⁺-вирусы

Механизм трансформации клеток опс⁺-вирусами во многом напоминает специфическую трансдукцию у бактерий (подробнее см. главу 4). Онкоген, внесённый в хромосому, придаёт клетке способность бесконтрольно размножаться. Гены опс⁺-вирусов, обладающие трансформирующей активностью в отношении клеток человека, имеют следующие свойства.

- Вирусные гены присутствуют в трансформированных клетках и отсутствуют в нормальных; они могут быть интегрированы в клеточный геном или находиться в плаزمиде.

- Клонированные вирусные гены из опухолевых клеток вызывают злокачественную трансформацию клеток человека.

- Из трансформированных клеток можно получить клеточные линии, онкогенные для других видов животных, что связано с присутствием в трансформированных клетках вирусных генов и межклеточным обменом генетической информацией.

- Репродукция онкогенных вирусов в трансформированных клетках может и не происходить;

опухолевый статус клетки поддерживает функционирование отдельных вирусных генов.

При заражении опс⁺-вирусами чувствительных клеток развивается продуктивная инфекция. В результате образуются дочерние популяции вирусов, но трансформации клеточного генома не происходит, так как клетки погибают после завершения репродуктивного цикла вируса. При заражении опс⁺-вирусами нечувствительных или слабо чувствительных клеток развивается трансформирующая инфекция.

Начальные этапы инфицирования нечувствительных или слабо чувствительных клеток принципиально не отличаются от таковых при заражении чувствительных клеток. Вирусная ДНК интегрирует в клеточный геном, где экспрессируются вирусные гены, кодируемые трансформированной областью. Интеграцию вирусной ДНК или её части в состав клеточной хромосомы облегчают частичные нарушения синтеза клеточной ДНК. Однако активность «ранних» вирусоспецифических процессов не вызывает полного нарушения синтеза ДНК в клетке и её гибели. Более того, заражение клетки опс⁺-вирусом активирует некоторые клеточные ферменты (ДНК-полимеразы, тимидинкиназы, протеинкиназы), в результате чего усиливается синтез ДНК и белков, связанных с хромосомами. При этом возникают частичные нарушения синтеза хромосомных белков, что приводит к появлению протеинов с изменённой структурой и свойствами. В результате этого трансформирующая инфекция и вызывает бесконтрольную пролиферацию клеток. Поскольку в нечувствительных клетках блокируются поздние стадии репродукции и образование дочерних популяций, то гибель заражённых клеток не происходит. В устойчиво трансформированных клетках:

- устанавливается равновесие между клеточными и вирусоспецифическими синтетическими процессами,
- вирус не убивает клетку,
- клетка сохраняет вирусные гены при размножении (передаёт из поколения в поколение); обычно это осуществляется путём интеграции этих генов в одну или более клеточных хромосом.

В нечувствительных и малочувствительных клетках условия перехода вируса в позднюю фазу репликативного цикла практически отсутствуют. Все трансформированные клетки содержат генетический материал онкогенного вируса в виде вирусоспецифических иРНК, белков и ДНК. *Геном онкогенного вируса не только всегда присутствует в трансформированных клетках, но и функционирует*, то есть осуществляет транскрипцию вирусоспецифических иРНК и трансляцию с образованием вирусоспецифических белков. Интегрированный геном также обеспечивает синтез вирусоспецифической мРНК. В ней закодированы один или два белка, подавляющие механизмы контроля роста и деления нормальной клетки, а также вызывающие изменения структуры и функции ЦПМ заражённой клетки. Для паповави и герпесвирусов характерно образование особых вирусоспецифических белков, обозначаемых как опухолевые Аг (Т-Аг) и опухолеспецифические трансплантационные Аг.

Т-Аг [лат. *tumor*, опухоль] - растворимые высокомолекулярные белки из группы «ранних» неструктурных белков. Сразу же после образования Т-Аг транспортируются из цитоплазмы в ядра заражённых или трансформированных клеток, где связываются с вирусными генетическим материалом. Т-Аг обладают АТФазной и протеинкиназной активностью, регулируют транскрипцию «ранних» и «поздних» вирусных генов, активируют репликацию клеточной и вирусной ДНК. Независимо от регуляторных клеточных механизмов, Т-Аг способствуют интеграции вирусной ДНК в геном клетки. Они связываются с клеточной протеинкиназой и клеточным фосфорилированным белком р53. Он появляется в клетках, трансформированных ДНК- и РНК-геномными онкогенными вирусами, в периоды высокой пролиферативной активности возбудителей. Белок р53 известен как опухолеассоциированный клеточный белок, регулирующий репликацию вирусной ДНК.

Опухолеспецифические трансплантационные Аг представлены двумя группами поверхностных невирусных белков плазматических мембран клеток - TSTA [от англ. *tumor specific transplant antigen*, опухолеспецифичные трансплантационные Аг] и TSSA [от англ. *tumor specific surface antigen*, опухолеспецифичные поверхностные Аг]. Синтез TSTA определяет не только тип вируса, но и видовая принадлежность клеток. Опухолеспецифические трансплантационные Аг распознают иммунокомпетентные клетки (см. также главу 10).

Фенотипические изменения трансформированной клетки

Трансформация сопровождается обширными фенотипическими изменениями, затрагивающими структуру и функции клетки. Основными из них выступают следующие.

- Неориентированный хаотичный рост монослоя клеток.
- Морфологические и цитологические изменения (появление хромосомных aberrаций, изменение структуры микрофиламентов и организации микротрубочек).
- Способность к синтезу факторов, стимулирующих рост клеток (например, активатора плазминогена).
- Изменение структуры и функций клеточных мембран (повышение проницаемости, изменение состава гликолипидов и гликопротеинов, снижение содержания фибронектина, уменьшение межклеточных контактов, появление TSTA и TSSA)
- Стимуляция синтеза хромосомной и митохондриальной ДНК, гистонов и ферментов, участвующих в синтезе ДНК; стимуляция синтеза мРНК.
- Снижение синтеза высокоспециализированных белков и усиление синтеза неспецифических белков.
- Биохимические изменения (изменение активного транспорта углеводов, повышение скорости аэробного гликолиза и повышение концентрации свободных радикалов, увеличение протеолитической активности, снижение концентрации цАМФ).
- Увеличение продолжительности жизни клетки (феномен «иммортализации», или «бессмертия»).

ОНКОГЕННЫЕ ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ

Среди ДНК-геномных вирусов развитие опухолей у человека могут вызывать вирусы из семейств *Papovaviridae*, *Herpesviridae* и *Hepadnaviridae*. Аденовирусы и полиомавирусы не вызывают развития опухолей у своих природных хозяев (включая человека), но способны трансформировать клетки других животных.

В естественных условиях размножение ДНК-геномных онкогенных вирусов не сопровождается развитием неоплазий. Проникнув в чувствительную клетку, вирус обычно не встраивается «жёстко» в клеточный геном. Вместо этого кодируемый вирусным геном белок (или группа белков) быстро активировывает клеточную систему репликации ДНК, и затем вирус использует её для репликации собственной ДНК, которая в свою очередь служит матрицей для синтеза других компонентов вируса за счёт клетки. Репродукция дочерних популяций вируса продолжается вплоть до гибели клетки.

Значительно реже вирус попадает в нечувствительные клетки, где может пребывать сколько угодно долго в результате устойчивого внедрения в одну или более клеточных хромосом. В этом случае вирусный ген, ответственный за активацию репликации клеточной ДНК, также может

транскрибироваться, «заставляя» таким образом клетку снова и снова совершать цикл деления. Вирусный ген *onc+* начинает работать как онкоген, вызывая опухолевую трансформацию. Та-

ким образом, нарушение контроля клеточного деления ДНК-геномными онкогенными вирусами - часть их стратегии выживания.

Паповавирусы

Само название вирусов указывает на способность вызывать опухолевые трансформации клеток [па(пиллома) + по(лиома) + ва(куолизирующие) вирусы]. Семейство *Papovaviridae* включает роды *Papillomavirus* и *Polyomavirus*, последние приводят к развитию папиллом и полиом у своих хозяев - различных млекопитающих (в том числе и человека). Геном образует кольцевая ДНК; капсид организован по типу кубической симметрии. Средний размер вирионов 4550 нм. Репликация реализуется в ядре инфицированных клеток, включает раннюю и позднюю фазы. Продукты ранней транскрипции - три неструктурных Т-Аг.

Полиомавирусы

В латентном состоянии полиомавирусы обнаружены в хромосомах различных млекопитающих. У человека полиомавирусы развития опухолей не вызывают. При заражении новорождённых мышей, крыс, кроликов и других лабораторных животных полиомавирусы вызывают развитие сарком и карцином. Наиболее известный полиомавирус - вирус симиан 40 [SV (от англ. *simian virus*) 40, или ОВ (обезьяний вирус) 40], выделенный из культуры клеток различных видов макак. Вирус безвреден для человека (в культурах клеток макак выращивают вакцинный штамм вируса полиомиелита), но вызывает острые вакуолизирующие нефриты у зелёных мартышек. Два вируса - ВК и JC (инициалы пациентов, от которых были выделены), вызывают поражения лишь у лиц с иммунодефицитами (нефриты), хотя АТ к вирусу обнаруживают у 80-100% здоровых лиц. При заражении клеток приматов вирусы ВК и JC обуславливают характерную дегенерацию клеток с образованием вакуолей в цитоплазме.

Папилломавирусы

В настоящее время известно более 30 типов вирусов папилломы человека, обуславливающих возникновение доброкачественных эпителиальных опухолей у людей, включая кожные бородавки, остроконечные кондиломы и папилломы гортани. Папилломавирусы широко распространены и эпителиотропны.

Поскольку известно, что большинство злокачественных опухолей человека представлено карциномами - злокачественными неоплазиями, состоящими из эпителиальных клеток, - можно предположить, что папилломавирусы принимают участие в развитии злокачественных опухолей мочеполовых путей и других форм рака. В большинстве случаев возбудитель передаётся через микротравмы кожи, при половых сношениях и перинатально. Особенно высокой трансформирующей активностью обладают вирусы 11, 16, 18 и 30 сероваров, геномы которых обнаружены в клетках остроконечных кондилом, карцином шейки матки и гортани, бородавчатой эпидермодисплазии и др.

Материалом для исследования служат ткани очагов поражений, где вирус содержится в форме полных вирионов. Культивировать вирус *in vitro* не удаётся. Несмотря на очевидную иммуногенность основных Аг возбудителей (особенно Т-Аг), титры образующихся АТ весьма низки, поэтому серологическая диагностика неинформативна. В последнее время в диагностике поражений применяют метод гибридизации ДНК.

Для папилломавирусов постоянная связь с клеткой организма-хозяина - неотъемлемая часть их жизненного цикла, а онкогенность вариабельна. Вирусы папилломы человека способны переключаться с инфекции «непродуктивного» типа к инфекции «продуктивного» типа и

наоборот. В первом случае вирус реплицирует синхронно с клеткой, не принося ей вреда, во втором случае он быстро размножается и убивает клетку. Папилломавирусы способны подчинять клеточную систему синтеза ДНК, а осуществляющие эту функцию вирусные гены могут действовать как онкогены. Онкогенность папилломавирусов обусловлена особенностями строения генома, представленного кольцевой двухцепочечной ДНК. В клетках бородавок и других доброкачественных образований геном вируса стабильно существует в виде самостоятельно реплицирующейся плазмиды. Лишь в редких случаях (под влиянием неизвестных факторов) вирусный геном может встраиваться в хромосому хозяина. При этом изменяется окружение вирусных генов и нарушается контроль экспрессии клеточных генов. Бесконтрольный синтез белков, регулирующих клеточный цикл, «подталкивает» клетку к вступлению в S-фазу клеточного цикла, способствуя тем самым возникновению опухолевого роста.

Герпесвирусы

Онкогены обнаружены у всех представителей этого семейства, исключая вирус герпеса 3 типа (вирус *varicella-zoster*). ВПГ 1-го и 2-го типов трансформируют многие клетки человека *in vitro*, и их геномы выявляют в различных опухолевых клетках. Повышенной онкогенной активностью обладают вирус герпеса 4-го типа (Эпштейна-Барр), вызывающий развитие лимфомы Бёркитта и назофарингеальной карциномы.

Вирусы гепатитов В и С

Хроническое воспаление и некротические процессы в паренхиме печени при хронических формах гепатитов В и С могут обуславливать развитие первичного рака печени.

ОНКОГЕННЫЕ РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ ЧЕЛОВЕКА

Они представлены ретровирусами, включёнными в подсемейство онковирусов. Онкогенные ретровирусы широко распространены в природе: они найдены как у различных позвоночных (птиц, человека), так и у беспозвоночных и способны вызвать развитие опухолей у своего хозяина. Их онкогенный потенциал обусловлен наличием обратной транскриптазы (РНК-зависимой ДНК-полимеразы), обеспечивающей образование из вирусной РНК ДНК-геномного про-вируса. Первоначально под контролем обратной транскриптазы в цитоплазме клетки происходит превращение вирусного РНК-генома в неинтегрированную линейную ДНК. В ходе этого процесса происходит дупликация последовательностей РНК, после чего ДНК принимает кольцевую, замкнутую форму. Затем вирусная ДНК интегрируется в клеточный геном. Встраивание определяет повторяющиеся ITR [от англ. *long terminal repeat*, длинные концевые повторы] последовательности, имеющиеся на концах провируса. За счёт инвертированных комплементарных повторов на концах LTR-последовательности проявляют свойства транспозонов и вставочных элементов. После интеграции в хромосомы клетки вирусная ДНК становится матрицей для синтеза вирусного РНК-генома и вирусной иРНК.

В редких случаях может происходить случайный «захват» ретровирусом регуляторного клеточного протоонкогена. Сам ген не используется в жизненном цикле вируса, но может кардинально влиять на судьбу клетки. Вирус, захвативший клеточный протоонкоген, становится $о\text{pe}^+$ -вирусом, и его легко обнаружить по трансформирующему эффекту на инфицированные клетки, которые начинают бурно размножаться.

Онкогенные ретровирусы вызывают развитие опухолей трёх групп: солидных опухолей (сарком и раков), острых лейкозов (лимфом, миелобластом) и хронического лимфоидного лейкоза. На основании морфологических и антигенных различий онкогенные ретровирусы разделены на пять типов: А, В, С, D и Т-лимфотропные вирусы. Наибольшее количество онкогенных вирусов относят к типу С (вызывают лимфоретикулярные новообразования). По своему онкогенному потенциалу все известные онкогенные ретровирусы разделяют на две разграниченные

группы: Высокоактивные опухолеродные вирусы, индуцирующие неопластические заболевания с коротким инкубационным периодом (например, вирус саркомы Рауса). Вирусы с умеренной активностью, вызывающие развитие неоплазий после длительного латентного периода (например, HTLV). За редким исключением все вирусы первой группы - двухкомпонентны и состоят из вируса-помощника и дефектного вируса, ответственного за патогенность (см. также главу 5). В отличие от ДНК-содержащих вирусов, большинство ретровирусов относительно безвредно для клетки-хозяина. Для большинства ретровирусов характерна высокая специфичность по отношению к чувствительным клеткам, и лишь некоторые из них могут инфицировать клетки разных видов животных.

По характеру распространения среди хозяев выделяют экзогенные и эндогенные ретровирусы.

Экзогенные ретровирусы

Эти вирусы распространяются горизонтально, и большинство из них не содержит ген *onc*. К экзогенным вирусам относят вирус саркомы Рауса, Т-лимфотропные вирусы человека и др. Т-лимфотропные вирусы человека 1 и 2 типов, или HTLV-I и HTLV-II [от англ. *human t-lymphotropic virus*, Т-лимфотропный вирус человека], получили своё название из-за избирательной тропности к субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов. HTLV стали первыми вирусами, участие которых в развитии опухолей человека было более или менее достоверно доказано. HTLV-I вызывает Т-клеточные лимфомы и миелопатии (тропический спастический парапарез) у взрослого населения юго-запада Японии и стран Карибского бассейна. Эпидемиология инфекций, вызванных HTLV-I, напоминает эпидемиологию ВИЧ-инфекции, так как вирус передаётся половым путём и парентерально. Основные группы риска - наркоманы, пациенты с гемофилией, гомосексуалисты и лица, практикующие бисексуальные контакты. Прямых доказательств патогенного действия HTLV-II нет, однако инфицирование вирусом связывают с развитием волосатоклеточного лейкоза. Т-лимфотропные вирусы обладают сравнительно низким онкогенным потенциалом и не проявляют непосредственного трансформирующего действия, так как не содержат ген *onc*. Вирусный геном интегрируется рядом с геном, кодирующим синтез ИЛ-2. Вирусный промотор активирует избыточную продукцию цитокина, усиливающего пролиферацию Т-лимфоцитов. Кроме генов *gag*, *pol* и *env*, общих для всех ретровирусов, HTLV имеют дополнительный ген *pX*. Продукты генов *env*, *pX* задействованы в индукции неконтролируемой пролиферации Т-клеток.

Эндогенные ретровирусы

Часть ретровирусов приобрела способность передаваться вертикально, а их генетическая информация стала составной частью клеточного генома всех органов и тканей человека и животных. Интегрированный онкогенный провирус может содержать гены, необходимые для формирования полноценного вириона, но в большинстве случаев ведёт себя как группа генов, находящихся под регуляторным контролем клетки. Однако клеточный контроль обычно приводит к частичному или полному подавлению экспрессии вирусных генов. Активация эндогенных ретровирусов может возникать спонтанно либо под воздействием внешних факторов. По своей организации (расположение кодирующих нуклеотидных последовательностей и др.) эндогенные и экзогенные провирусы ретровирусов сходны; но эндогенные вирусы не патогенны для природных хозяев и редко инфекционны для родительских клеток. В эксперименте онкогенный потенциал эндогенных ретровирусных последовательностей может реализоваться через трансформацию клеток (после захвата вирусами клеточных протоонкогенов) либо активацию клеточных протоонкогенов вирусными LTR.

ГЛАВА 35. ВОЗБУДИТЕЛИ МЕДЛЕННЫХ ИНФЕКЦИЙ

Термин «медленная инфекция» указывает на затяжной характер заболеваний, растягивающихся на месяцы и годы. *Медленные* инфекции имеют следующие особенности.

- Длительный инкубационный период (месяцы и годы).
- Своеобразные и необратимые поражения тканей, преимущественно ЦНС.
- Медленное прогрессирование болезни.
- Летальный исход.

Медленные инфекции разделяют на две группы: первую вызывают вирусы, вторую - прионы.

МЕДЛЕННЫЕ ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

В основе патогенеза медленных вирусных инфекций лежат длительное персистирование возбудителя в организме и замедленное повреждающее действие на клетки. По мере изучения этих болезней были установлены неожиданные, на первый взгляд, факты.

• Медленные инфекции могут вызывать возбудители острых вирусных заболеваний - кори (подострый склерозирующий и послеко-ревой панэнцефалит), краснухи (прогрессирующая врождённая краснуха, прогрессирующий краснушный панэнцефалит), герпеса (подострый герпетический энцефалит, хронический инфекционный мононуклеоз, цитомегаловирусное поражение мозга) и др.

• Многие вирусные инфекции, ранее считавшиеся острыми, можно с полным правом расценивать как медленные (клещевой энцефалит, бешенство, ВИЧ, гепатиты В, С, D, G и TTV, Т-клеточ-ные лимфомы, вызываемые лимфотропными вирусами человека I и II типа).

Наиболее типичными медленными вирусными инфекциями являются подострый склерозирующий панэнцефалит и прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия.

Подострый склерозирующий панэнцефалит

Подострый склерозирующий панэнцефалит - прогрессирующее дегенеративное заболевание нервной системы с характерной клинической картиной, включающей умственные и двигательные нарушения, миоклонические судороги, электроэнцефалографические диз-ритмии. Заболевание наблюдают у лиц в возрасте 2-30 лет; обычно оно заканчивается смертью пациента в течение года. Возбудитель подострого склерозирующего панэнцефалита - вирус кори с изменёнными свойствами, что способствует длительному персистированию в организме. Репродукция вируса в клетках нейроглии происходит с образованием вирусных белков и РНК, но без формирования дочерних популяций. Репродуктивный цикл заканчивается гибелью нейронов и олигодендроцитов. Аналогичные поражения также наблюдают как осложнения коревой инфекции и классифицируют как подострый после-коревой панэнцефалит. Диагностика основана на выявлении противокоревых АТ в сыворотке крови и СМЖ.

Прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия

Прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия - подостро протекающее демиелини-зирующее заболевание, возникающее у пациентов с различными нарушениями иммунного статуса: СПИДом, лейкоемиями, лимфомами и др. Болезнь проявляется тяжёлыми неврологическими нарушениями, приводящими к летальному исходу.

Возбудитель - полиомавирус JC, избирательно повреждающий клетки нейроглии (астроциты и олигодендроциты). Нейротропизм обуславливают специфические клеточные факторы, активирующие промоторы в геноме возбудителя. Основным механизмом, определяющим повреждение глиальных клеток, являются мутации гена-промотора, в результате которых репродукция вируса происходит более активно. Указанное объясняет тот факт, что заболевание развивается только у ограниченной части больных, хотя не менее 75% взрослых лиц сероположительны. У лиц с нормальным иммунным статусом геном вируса остаётся неинтегрированным в геном клетки, и инфекция протекает латентно. При иммунодефицитах возбудитель переходит в активную фазу репликации и гематогенно диссеминирует.

Диагностика включает обнаружение в биоптатах олигодендроцитов и астроцитов, содержащих тельца вclusions, а также выделение возбудителя путём заражения культур клеток приматов.

Прионовые инфекции

Особую группу медленных инфекций составляют поражения ЦНС, проявляющиеся вакуолизацией серого вещества - так называемым губкообразным перерождением нервных тканей. Ему предшествует развитие первично-дегенеративных процессов при полном отсутствии воспалительных реакций. Своеобразие патоморфологической картины обусловило первичное название заболеваний - трансмиссивные спонгиоформные [от греч. *spongia*, губка] энцефалопатии. Было установлено, что их возбудители проходят через бактериальные фильтры, не размножаются на искусственных питательных средах, воспроизводят феномен интерференции, что дало основание отнести их к вирусам. Однако американский вирусолог Гай-душек установил, что эти «вирусы» обладают необычными свойствами, так как они оказались устойчивы к действию многих вирулицидных факторов, а материалом, полученным от погибших животных и людей, невозможно заразить клеточные культуры. В начале 80-х годов американский биохимик Прузинер установил, что возбудителем скрепи (спонгиоформной энцефалопатии овец и коз) выступает не аномальный вирус, а безнуклеиновый низкомолекулярный белок, названный им инфекционным прионовым белком или прионом. Дальнейшие исследования позволили установить, что прионы вызывают все известные спонгиоформные энцефалопатии. В настоящее время эти заболевания обозначают термином «прионовые инфекции».

Патогенез прионовых инфекций

Патогенез поражений обусловлен способностью инфекционного прионового белка PrP^{Sc} [от англ. *scrapie*, скрепи, являющейся самой распространённой прионовой болезнью] вызывать мутацию гена, кодирующего синтез нормального нейронального прионового белка PrP^C [от англ. *cell*, клетка], в результате чего синтезируется инфекционный прионовый белок PrP^{Sc}, отличающийся нарушенной пространственной конфигурацией молекулы. Молекула PrP^{Sc} соединяется с молекулой с образованием димерного продукта, трансформирующегося в 2 молекулы PrP^{Sc}. В следующем цикле 2 молекулы PrP соединяются с 2 молекулами PrP^{Sc}, давая начало 4 молекулам PrP^{Sc}, что обеспечивает экспоненциальное образование молекул PrP^{Sc}. Таким образом, *образование инфекционных прионовых белков происходит не за счёт репродукции молекулы PrP^{Sc}, попавшей в организм, а за счёт синтеза новых молекул, кодируемых мутировавшим геном PrP^C.*

Физиологическое значение белка PrP¹ⁿ связывают с реализацией функций синапсов, сохранением клеток Пуркинью, регуляцией внутриклеточного содержания Ca²⁺ в нейронах, поддержанием трофики некоторых их популяций и сохранением резистентности нейронов и астроцитов к повреждающим факторам. Белок - короткоживущий (период полураспада 5-6 ч). В противоположность этому инфекционный прионовый белок PrP^{Sc} накапливается в цитоплазматических везикулах, что приводит к последующему нарушению функций синапсов и развитию

глубоких неврологических дефектов. Позднее PrP^c высвобождается во внеклеточное пространство и откладывается в амилоидных бляшках.

У человека прионы вызывают куру, болезнь Крейтцфельда-Якоба, синдром Герстмана-Штраусслера-Шайнкера и фатальную семейную бессонницу. Их характерная особенность - практически полное отсутствие иммунных реакций к инфекционным прионовым белкам, что связано с их внутриклеточной локализацией и структурным сходством с нейрональными белками. Гистологически в тканях мозга выявляют выраженную губчатую дегенерацию, генерализованную гипертрофию астроцитов и амилоидные бляшки, состоящие из белка PrP^{Sc}.

Изучение условий возникновения прионовых болезней выявило уникальные особенности их эпидемиологии, отличающие их от прочих инфекционных заболеваний. *Они могут формироваться как инфекционные, спорадические и наследственные поражения.* В последнем случае предполагают наличие генетической предрасположенности к прионовым инфекционным белкам.

Куру

Куру - инфекционная прионовая болезнь, эндемичная для горных регионов востока Новой Гвинеи. Заболевание зарегистрировано среди папуасов языковой группы Форе, практиковавших ритуальные каннибальские обряды (употребление в пищу мозга жертв). Заболевание проявляется расстройствами функций мозжечка - нарушениями походки, координации движений, артикуляции, а также тремором [папуасское *kuru*, дрожать, трястись]. Болезнь длится 9-24 мес и заканчивается смертью больного. Инфекционная природа куру доказана группой Гайдушека, подтвердившей возможность заражения шимпанзе клетками мозга больного.

Лабораторная диагностика основана на внутримозговом заражении мышат-сосунков или хомяков, вслед за чем развивается специфическая клиническая картина болезни. Средства специфической лекарственной терапии отсутствуют; лечение симптоматическое и патогенетическое. Борьба с каннибальскими обрядами привела к практически полной ликвидации болезни.

Болезнь Крейтцфельда-Якоба

Болезнь Крейтцфельда-Якоба - форма спонгиозной энцефалопатии, характеризующаяся слабоумием, миоклониями, атаксией и другими неврологическими проявлениями (быстро приводит к коме и смерти). Продолжительность инкубационного периода варьирует от 18 мес до 20 лет. Первоначально развиваются гиперестезия, нарушения зрения и боли в конечностях, затем присоединяются слабоумие, миоклония, атаксия, паркинсонизм и др. Пациент погибает через 7-24 мес. Инфекционная природа заболевания доказана группой Гайдушека.

Болезнь зарегистрирована во многих странах Нового и Старого Света. Средний возраст больных 50-60 лет. Заболевание может протекать по типу спорадических, наследственных или инфекционных (в том числе и ятрогенных) поражений.

- Спорадические и наследственные случаи заболевания возникают при мутациях (в том числе соматических) гена *PRNP*, кодирующего синтез прионового белка PrP^c в организме

(локализован в хромосоме 20). Для наследственной формы характерен семейный характер проявлений.

- Передача инфекционного прионового белка PrP^{Sc} при употреблении в пищу недостаточно хорошо термически обработанного мяса и мозга больных коров, коз и овец, а также при употреблении сырых морских моллюсков возможна, но остаётся предметом дискуссий. Также доказана возможность инокуляции белка PrP^{Sc} во время хирургических операций, при пересадках

роговицы или твёрдой мозговой оболочки, при прозекторских манипуляциях и после введения донорского соматотропина.

Лабораторная диагностика также основана на внутримозговом заражении мышат-сосунков или хомяков, у которых развивается специфическая картина болезни. Средства специфической лекарственной терапии отсутствуют - лечение симптоматическое и патогенетическое.

Синдром Герстманна-Штраусслера-Шайнкера

Синдром Герстмана-Штраусслера-Шайнкера - наследственная прионовая патология, носящая семейный характер. По сравнению с болезнью Кройтцфельда-Якоба заболевают лица более молодого возраста (в среднем на 10 лет раньше). Продолжительность инкубационного периода варьирует в пределах 5-30 лет. Типичны постепенная утрата рефлексов с нижних конечностей, нарушения глотания, мышечная гипотония, дизартрия и слабоумие. Заболевание медленно прогрессирует в течение 4-5 лет и заканчивается гибелью пациента. Диагностика, лечение и профилактика аналогичны мероприятиям, применяемым в распознавании и лечении болезни Кройтцфельда-Якоба.

Фатальная семейная бессонница

Фатальная семейная бессонница - наследственная прионовая болезнь, описанная в 1986 г. как аутосомно-доминантная патология и зарегистрированная у лиц в возрасте от 25 до 70 лет. Первое проявление - прогрессирующее нарушение сна, сопровождающееся повышенной утомляемостью и не поддающееся лечению. К ним присоединяются артериальная гипертензия, тахикардия, запоры, импотенция. Позднее к ним присоединяются двигательные расстройства (атаксия, дизартрия, судороги, дистонические приступы) и нарушения циркадных ритмов сердца. Смерть больного наступает в результате прогрессирующей лёгочно-сердечной недостаточности.

ГЛАВА 36. ВОЗБУДИТЕЛИ МИКОЗОВ ЧЕЛОВЕКА

Из многих тысяч известных видов грибов лишь около 100 (представители 15 родов) способно вызывать заболевания человека и животных. При этом патогенность большинства из них сравнительно невелика, и заболевания обычно развиваются на фоне нарушений обмена веществ, эндокринных расстройств или иммунодефицитных состояний. Предрасполагающими факторами также выступают нарушения питания, авитаминозы, дисбактериозы и многие другие. Чаще заболевания наблюдают у детей (кандидозы, дерматомикозы), а также у лиц некоторых профессий (например, у работающих на мукомольных предприятиях, у лиц, занятых в производстве антибиотиков, сотрудников микологических лабораторий и т.д.).

Патогенные грибы вызывают поражения кожи и её придатков, подкожной клетчатки, иногда поражения мышц и суставов, а также различных внутренних органов, ЦНС. При этом большинство видов не продуцирует каких-либо токсических веществ, а патогенез поражений включает развитие реакций гиперчувствительности на компоненты патогенных грибов, проявляющие свойства аллергенов.

Существуют разнообразные подходы к классификации заболеваний, вызываемых патогенными грибами. Наиболее часто их разделяют в соответствии с локализацией и характером поражений либо в соответствии с родовой принадлежностью возбудителя (например, эпидермофитии, бластомикозы и т.д.). Выделяют поверхностные, подкожные, глубокие и оппортунистические микозы, а также микотоксикозы.

ПОВЕРХНОСТНЫЕ МИКОЗЫ

Возбудители - плесневые грибы, способные разлагать кератин эпидермиса, волос и ногтей. По локализации инфекционных процессов заболевания разделяют на кератомикозы (сапрофитии) и дерматомикозы.

Кератомикозы

Для кератомикозов характерны поражения рогового слоя эпидермиса и поверхности волосяного стержня. Возбудители малоконтагиозны, а колонизация кожи и волос не сопровождается развитием выраженной воспалительной реакции. Поражения не представляют опасности для жизни, часто не требуют специального лечения и несут чисто косметические проблемы.

Разноцветный лишай

Разноцветный лишай - малоконтагиозное, часто встречающееся заболевание, наблюдаемое преимущественно у лиц молодого возраста при чрезмерной потливости, а также на фоне сахарного диабета. Возбудитель - диморфный дрожжеподобный гриб *Pityrosporum orbiculare* (*Malassezia furfur*). Микроорганизмы распространены повсеместно и колонизируют роговой слой эпидермиса практически всех взрослых людей, наиболее часто кожу подмышечных впадин, спины и груди.

Заболевание не имеет никакого отношения к истинным лишаям и проявляется в виде гипер- или гипопигментированных пятен на коже. При соскабливании на пятнах появляются чешуйки, похожие на отруби, в связи с чем заболевание также известно как отрубевидный лишай. Депигментация обусловлена ингибированием активности тирозиназы - фермента, необходимого для синтеза меланина. Очень редко наблюдают фунгемии, протекающие по типу сепсиса и вызванные механическим заносом грибов в кровоток (например, при использовании загрязнённых катетеров).

Микробиологическая диагностика включает микроскопию частичек кожи из очагов поражения, обработанных КОН. В препаратах обнаруживают короткие изогнутые гифы и толстостенные дрожжеподобные клетки-фиалоконидии («макаронны с фрикадельками»). При облучении очагов поражений лампой Вуда наблюдают жёлтое свечение. После посева чешуек рогового слоя на среду Сабуро через 4-8 дней появляются беловато-кремовые блестящие колонии, образованные почкующимися дрожжеподобными клетками. В терапии разноцветного лишая наиболее эффективно местное применение сульфида селена и 1% крема с тербинафином (лализилом).

Тропические микозы

Чёрный лишай. Возбудители чёрного лишая - плесневые грибы *Exophiala* (*Cladosporium*) *werneckii* и *Stenella arguata*. Заболевание проявляется тёмными безболезненными пятнами обычно на ладонях и ступнях. Шелушение отсутствует. Поражения чаще наблюдают у детей и юношей в тропических регионах.

Трихоспороз (белая пьёдра). Возбудитель трихоспороза - дрожжеподобный гриб *Trichosporon beigeli*, распространённый повсеместно. Грибы поражают поверхность волосяных стержней (на голове, конечностях и лобке) с формированием мягких беловато-жёлтых узелков. Последние образованы мицелием, содержащим овальные или круглые артроконидии. Заболевание чаще регистрируют в странах с тёплым или тропическим климатом. У лиц с иммунодефицитами возможны фунгемии с развитием эндофтальмитов, абсцессов головного мозга, эндокардитов и др. При микроскопии материала из очагов поражений обращают внимание

на наличие псевдогиф, иногда септированных гиф, многочисленные артроконидии и небольшое количество бластоконидий. Для лечения применяют амфотерицин В, иногда в комбинации с 5-фторцитозином.

Чёрная пьёдра. Возбудитель - плесневой гриб *Piedraia hortae*. Заболевание проявляется образованием плотно спаянных чёрных твёрдых узелков диаметром 1 мм, расположенных на волосах головы, бороды и усов. Заболевание регистрируют во влажных тропических регионах Южной Америки и Индонезии. Возбудитель способен как к поверхностному, так и к внутреннему росту (по ходу волосяного стержня), что приводит к повышенной ломкости волос. Для лечения удаляют волосяной покров на поражённых участках и обрабатывают кожу каким-либо поверхностным фунгицидом, например ртути дихлоридом.

Дерматомикозы

При дерматомикозах поражаются эпидермис, собственно кожа и волосяной стержень. Возбудители широко распространены в природе, поэтому дерматомикозы регистрируют повсеместно, но более часто в странах с жарким влажным климатом. Инфицирующие агенты - фрагменты гиф и конидии, передающиеся контактным путём. Основным условием для заражения является мацерация кожи, поэтому наиболее часто инфицирование происходит в банях, бассейнах и душевых. Возбудителей разделяют на три эпидемически значимые группы. • Геофильные дерматофиты обитают в почве; заражение происходит после контакта с инфицированной землёй. Основные возбудители - *Microsporum gypseum*, *Trichophyton ajelloi*, *T. terrestre*.

- Зоофильные дерматофиты - паразиты животных, выступающих источником заражения людей. Основные возбудители - *Microsporum canis* (кошки, собаки), *M. gallinae* (домашняя птица), *Trichophyton verrucosum* (крупный рогатый скот), *T. equinum* (лошади), *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* (грызуны).

- Антропофильные дерматофиты - паразиты человека, заражение происходит в результате контакта с больным. Основные возбудители - *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. rubrum*, *T. schoenleinii*, *T. violaceum*. Вирулентность дерматофитов низкая; как факторы их вирулентности можно рассматривать

Кератинолитические протеазы. Патогенез заболеваний до конца не изучен.

Дерматофиты поражают только кожу; во многом это обусловлено фунгицидным действием сыворотки крови (за счёт активности трансферрина, хелирующего ионы Fe^{2+} , необходимые грибам) и неблагоприятным влиянием температуры (37 °С). По типу роста в волосяном стержне возбудителей разделяют на три группы (рис. 36-1).

- Грибы типа *endothrix* (например, *Trichophyton mentagrophytes*) прорастают из кожи в волосяные фолликулы и волосы, развиваясь только внутри волосяного стержня. Волосы, поражённые по типу *endothrix*, имеют ямки и полости.

- Грибы типа *ectothrix* (например, *Trichophyton rubrum*) прорастают из волосяного фолликула по поверхности волоса, окружая его в виде футляра мицелием со спорами.

- Грибы типа *neoendothrix* (например, *M. audouinii*) растут как внутри волосяного стержня, так и по его поверхности.

Клинические проявления

Поражения кожных покровов (собственно дерматомикозы) характеризуются образованием эритем, мелких папул, трещин и очагов шелушений. Поражения волосистой части кожи головы

(трихомикозы) нередко проявляются ломкостью волос, обусловленной ростом возбудителя в волосяном стержне. Поражения ногтей (онихомикозы) характеризуются их утолщением и расслоением. *Обычно нозологические формы дерматомикозов выделяют по их локализации.*

Дерматомикоз волосистой части кожи головы. Основные возбудители - плесневые грибы родов *Trichophyton* и *Microsporum*. Поражение проявляется участками облысения, шелушения, иногда эритемой и пиодермией. Выделяют эпидемические (антропофильные) и неэпидемические (зоофильные) поражения волосистой части кожи головы.

- Эпидемические поражения вызывает *M. audouinii*; возбудитель передаётся через бытовые предметы (расчёски, полотенца). Выделяют детскую и взрослую формы, проявляющиеся серыми бляшками и хлопьями на волосах.

- Возбудители неэпидемического дерматомикоза - *T. mentagrophytes* и *M. canis*; переносчики - домашние и сельскохозяйственные животные. Клинически проявляется образованием пустул и рыхлых воспалительных инфильтратов, приводящих к облысению и формированию келоидных рубцов. Заболевание чаще регистрируют у детей, оно сопровождается выпадением волос с последующим заполнением волосяных фолликулов тёмными конидиями. Наиболее типичны хронические инфекции у взрослых. Дерматомикоз бороды и усов (фавус, парша) - инфекционное поражение волосяных фолликулов (возможно грану-лематозное поражение); возбудитель - *Trichophyton schoenleinii*; основные проявления - папулы и пустулы на коже лица.

Дерматомикоз тела (*tinea corporis*)- эпидермофития, локализованная на различных участках кожи тела; возбудители - *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum* и *M. canis*; характерны шелушение, пустулёзные высыпания, иногда эритема.

Рис. 36-1. Поражения волос дерматофитами по типу *endothrix* (А) и *ectothrix* (Б). При поражениях по типу *endothrix* грибы прорастают и развиваются внутри волосяного стержня. При поражениях по типу *ectothrix* грибы растут по его поверхности.

Паховый дерматомикоз - эпидермофития, локализованная в области наружных половых органов, внутренней поверхности бёдер, промежности и паховых областей; возбудители - *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Epidermophyton floccosum* и виды *Candida*.

Эпидермофития стоп - поражения области подошв, преимущественно кожи межпальцевых промежутков; характерны пузырьки небольших размеров, трещины, очаги шелушения и эрозии. Аналогичные поражения наблюдают и на верхних конечностях (эпидермофития кистей); возбудители - *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Epidermophyton floccosum*.

Эпидермофития ногтей (онихомикоз) - грибковое поражение ногтей пальцев рук и ног; возбудители - виды *Trichophyton*.

Микробиологическая диагностика

Диагностика поверхностных микозов основана на данных микроскопии поражённых тканей и идентификации культур грибов, выделенных из них. Возбудителей микроспории достаточно легко выявляют облучением волос УФ-лампой Вуда (поражённые участки светятся зелёным цветом). Морфологическая идентификация возбудителей в образцах тканей затруднена и требует выделения чистой культуры. Материалом для исследований служат волосы, фрагменты кожи и ногтей. Образцы микроскопируют в неокрашенных препаратах, обработанных КОН. В кератинизированных тканях грибы образуют только гифы и артрспоры - их наличие позволяет отличить грибковую инфекцию кожи от прочих поражений, например аллергических (рис. 36-2). Выделение

культур возбудителя осуществляют помещая отдельные волосы или фрагменты кожи на агар Сабуро, агар Сабуро с антибиотиками или картофельный декстрозный агар.

Образцы кожи получают осторожной скарификацией очага поражения стерильным скальпелем или предметным стеклом. Возбудителей идентифицируют микроскопически, по морфологии колоний и особенностям роста на дифференциально-диагностических средах (табл. 36-1).

- Виды *Trichophyton* вырастают за 2-3 нед, колонии разноцветные, конидии большие, гладкие и септированные (до 10 септ), по форме напоминают карандаши (10-50 мкм). Внутривидовая идентификация затруднена и требует изучения биохимических свойств.

- Виды *Microsporum* растут также медленно, макроконидии толстостенные, многоклеточные, веретенообразные, 30-160 мкм длиной и покрыты шипиками (рис. 36-3).

- *Epidermophyton floccosum* образует белые, жёлтые или оливковые колонии. Грибы идентифицируют по наличию множества гладких конидий, напоминающих дубинки (7-20 мкм длиной).

Лечение

При лечении дерматомикозов ЛС обычно применяют местно. При неосложнённых формах широко используют препараты, содержащие серу, селен, дёготь. Также эффективно применение толнафтата. Гризеофульвин и тербинафин внутрь достаточно эффективны при онихомико-зах, когда местное применение препаратов ограничено их низкой способностью проникать в ногтевые слои. Следует сочетать удаление ногтевой пластинки и очищение ногтевого ложа с назначением эффективной химиотерапии.

ПОДКОЖНЫЕ МИКОЗЫ

Возбудители подкожных микозов - сапрофитические грибы, обитающие в почве и на разлагающихся растительных остатках. Развитие заболеваний возможно только после попадания грибов в подкожные ткани, например при травмах, поэтому подкожные микозы также известны как болезни имплантации. Поражение первично локализовано в подкожных тканях, откуда возбудитель может медленно лимфогенно диссеминировать с развитием фунгемий и вовлечением в инфекционный процесс мышечных тканей, костей и суставов. Заболевание протекает хронически, характерно образование узлов, отёков и свищей.

Споротрихоз

Споротрихоз (болезнь *Шёнка-Берманна*) - хроническое гранулематозное поражение подкожной клетчатки, возникающее после имплантации возбудителя при травме (обычно уколы или царапины конечностей). Заболевание вызывает диморфный гриб *Sporothrix schenckii*, обитающий в почве, на гниющих органических остатках и поверхности растений (например, шипах розы). Заболевание наиболее распространено среди работников сельского хозяйства и садоводов-любителей (также известно как болезнь любителей роз). Продолжительность инкубационного периода варьирует от 1 до 12 нед. Первое проявление - красная изъязвляющаяся папула, позднее возникают вторичные поражения, локализованные проксимальнее по ходу лимфатического сосуда. Из первичного очага *S. schenckii* может лимфогенно диссеминировать, и в 15-20% случаев возможны вторичные поражения костей и суставов конечностей.

Микробиологическая диагностика

Материалом для исследований служит гнойное отделяемое и биоптаты поражённых тканей. Обнаруживают дрожжеподобные сигаровидные клетки длиной 3-5 мкм («челночки»). Диагностический признак споротрихоза - астероидные тельца звёздчатой формы; их образуют клетки, окружённые радиально расположенным аморфным клеточным детритом. При незначительном количестве *S.schenckii* в материале его выявление при микроскопии затруднено. Основанием для окончательного диагноза считают выделение и идентификацию возбудителя по морфологии колоний и в мазках из них. При комнатной температуре *S. schenckii* даёт плесневой рост, образуя медленно растущие бугристые или складчатые колонии серого, жёлто-коричневого или чёрного цвета. Мицелий ветвистый длиной 10-50 мкм. Конидии овальные или грушевидные размерами 2-4х6-8 мкм, располагаются попарно или группами в виде розетки на конце мицелиальной нити. Также можно обнаружить коремии - сросшиеся или тесно прилегающие нити с микроконидиями на концах воздушного мицелия. Взрослые культуры формируют интерка-латные хламидоспоры. Культивирование при 37 °С на обогащённых белком и витаминами средах способствует появлению на 4-6-е сутки мягких желтоватых колоний, образованных дрожжеподобными клетками (размерами 1-2х4-8 мкм). Позднее колонии становятся серыми и бугристыми. В жидких средах грибы образуют войлокообразный комок на дне и складчатую сероватую плёнку на поверхности.

Лечение

Локальные подкожные поражения поддаются лечению калия йодидом внутрь (механизм действия препарата неизвестен). При системном споротрихозе назначают амфотерицин В или производные имидазола.

Хромобластомикоз

Хромобластомикоз (хромомикоз, болезнь Педросо, веррукозный дерматит) - хроническая гранулематозная инфекция кожи и подкожной клетчатки обычно нижних конечностей. Возбудители - диморфные грибы *Fonsecaea pedrosoi*, *F. compacta*, *F. dermatitidis*, *Phialophora verrucosa*, *Cladosporium carrionii*, *Rhinocladiella aquaspersa*, *Exophiala jeanselmei*. Грибы распространены повсеместно в почве, разлагающихся растительных остатках (в том числе в гниющей древесине и лесной подстилке).

Заболевание у человека развивается после попадания в рану инфицированного субстрата (обычно фрагменты растений или их остатки). Поражения наблюдают повсеместно, но наиболее часто их регистрируют в тропиках и субтропиках. В месте проникновения инфекционного агента формируется папула, позднее принимающая вид бородавки. Для динамики процесса характерны сателлитные поражения, формирующиеся вокруг первичного очага и придающие ему вид цветной капусты. Гистологически отмечают гиперкератоз, псевдоэпителиоматозную гиперплазию, керато-литические микроабсцессы и воспалительную инфильтрацию. Обычно заболевание ограничивается кожей и подкожной клетчаткой; поражение лимфатических сосудов наблюдают редко. Кожные поражения обычно безболезненны, но присоединяющиеся бактериальные суперинфекции способны вызвать появление болей. Для заболевания характерно медленное развитие.

Выделяют пять форм заболевания - *узелковые поражения* (мягкие розовато-лиловые бородавчатые образования), *опухолевидные поражения* (более крупные, папилломатозные или дольчатые массы, часто покрытые корочками), *веррукозный дерматит*, *бляшковидные поражения* (розовые или фиолетовые приподнятые уплотнённые участки кожи) и *рубцовые поражения* (кольцевидные, извитые или дугообразные, концентрически расходящиеся; в центре наблюдают зону заживления с замещением грубой соединительной тканью).

Микробиологическая диагностика

Микроскопия образцов кожи, обработанных КОН, позволяет выявить овальные золотисто-коричневые грибковые клетки диаметром 4-15 мкм. Их часто окружают гигантские грибковые клетки (так называемые *склербции*) с поперечными и продольными септами. По Романовскому-

Гймзе стенки клеток окрашиваются в зелёный цвет, по Цйлю-Нильсену - в красный. Выделение возбудителя даёт основание для постановки окончательного диагноза.

Посев проводят на обычные микологические среды с последующей микроскопией мазков из колоний. В жидких средах грибы дают придонный рост в виде чёрных ватообразных комков. На 5-10-е сутки появляются сероватые микроколонины, а на 10-15-е сутки колонии созревают, становятся конусовидными, пушистыми и окрашиваются в серо-зелёный цвет. Наименьшей скоростью роста (14-21 дня) отличаются *Exophiala werneckii* и *Fonsecaea pedrosoi*. Зрелые колонии содержат чёрные длинные ветвящиеся гифы с терминальными конидиями.

Лечение

Обычно проводят хирургическое удаление очагов поражений в комбинации с химиотерапией флуцитозином. Результаты лечения скорее неудовлетворительны, и в далеко зашедших случаях единственной альтернативой остаётся ампутация конечности.

Эумикотическая мицетома

Эумикотическая мицетома (мадуromикоз, мадурская стопа) - хроническая инфекция, напоминающая хромомикоз без характерных кожных поражений. Обычны поражения стопы, реже - кисти. Заболевание регистрируют в странах с тёплым климатом. Основным возбудителем - плесневой грибок *Pseudoallescheria boydii*. Иногда схожие поражения вызывают виды *Curvularia*, *Phialophora cyanescens*, *Exophiala jeanselmei*.

P. boydii - сапрофит, обитающий в почве, навозе, гниющих растениях, сточных и прибрежных водах многих стран мира. Наиболее часто возникают поражения стоп, однако возможно инфицирование ран любой части тела. Характерны локальные очаги поражения с отёками и множественные абсцессы со свищами. Иногда наблюдают вторичные поражения костей и бактериальные суперинфекции, часто заканчивающиеся фатально. Кроме того, довольно часто возникают заболевания, вызванные ингаляцией конидий *P. boydii*. Для ингаляционных поражений характерны поражения дыхательных путей. Реже наблюдают абсцессы головного мозга, развивающиеся при нырянии в загрязнённых водах, а также при иммунодефицитах. У ВИЧ-инфицированных возможны фунгемии с развитием эндофтальмий, остеомиелитов, эндокардитов, абсцессов в лёгких и щитовидной железе. Гистологически поражения аналогичны таковым при аспергиллёзах.

Микробиологическая диагностика

Её основу составляют мероприятия, направленные на выделение и идентификацию возбудителя. Микроскопия биоптатов или гнойного отделяемого иногда помогает выявить гифы гриба, однако чаще их поиски оказываются безуспешными, поскольку возбудители склонны образовывать в тканях микроколонины в виде (в зависимости от возбудителя) жёлтых, красных, белых, коричневых и чёрных зёрен размерами 0,5-2,0 мкм. Возбудитель выращивают на средах без циклогексимида; колонии появляются на 5-10-е сутки. Микроскопия мазков из колоний позволяет выявить членистый мицелий, образованный толстыми гифами с хламидиоспорами.

Лечение

Лечение включает хирургическое иссечение очагов поражений и проведение курса химиотерапии. Препараты выбора - амфотерицин В, миконазол или кетоконазол. Ограничение лечебных мероприятий лишь консервативными методами оказывает слабый эффект.

Глубокие микозы

Возбудители глубоких микозов - диморфные грибы, обитающие в почве или на разлагающихся органических субстратах и встречающиеся в определённых географических областях. Таким образом, глубокие микозы можно рассматривать как природно-очаговые эндемичные инфекции. *Инфицирование человека происходит при ингаляции возбудителя.* Первичный очаг размножения - лёгкие, однако поражение дыхательных путей обычно протекает легко и проходит спонтанно. Реже возникают диссеминированные формы с вовлечением внутренних органов, поэтому группа заболеваний также известна как системные микозы. Прогноз при диссеминированных формах без лечения тяжёлый и часто фатальный.

Гистоплазмоз

Гистоплазмоз (болезнь Дарлинга) - обычно самоограничивающаяся инфекция дыхательных путей. Реже наблюдают хронизацию и диссеминирование процесса. Возбудитель - диморфный гриб *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Впервые возбудителя обнаружил С. Дарлинг (1905) в гистиоцитах и принял его за плазмодиеподобный организм (отсюда: гистоплазма).

Грибок обитает в почве, его рост стимулируют экскременты птиц и летучих мышей. *Природной (сапрофитической) формой выступает мицелиальная фаза гриба, а тканевой (паразитической) - дрожжеподобная фаза. Основной путь заражения - ингаляция почвенного аэрозоля, загрязнённого конидиями гриба.* Заболевание эндемично для США и стран Латинской Америки, но спорадические случаи зарегистрированы повсеместно, в том числе и в РФ. Среди них частота случаев диссеминированного поражения составляет 0,1%.

Ингалированные конидии активно поглощаются альвеолярными макрофагами, в цитоплазме которых они трансформируются в мелкие (3-6 мкм) дрожжеподобные клетки (рис. 34 вклейки). Гистоплазмы быстро внедряются в лёгочную ткань, вызывая формирование первичного лёгочного очага. Далее гриб может диссеминировать в лимфатические узлы средостения, а оттуда в печень и селезёнку, где образуются инфильтраты-гранулёмы. Последние не-кротизируются, изъязвляются или петрифицируются. Продолжительность инкубационного периода - 7-14 дней. У лиц с ослабленной резистентностью может возникать гематогенная диссеминация с поражением многих органов; процесс быстро прогрессирует и может привести к летальному исходу.

Первичный (острый) гистоплазмоз лёгких - гриппоподобное заболевание, длящееся несколько недель и имеющее благоприятный прогноз.

У пациентов с иммунодефицитами возможны острый диссеминированный гистоплазмоз (наиболее неблагоприятный) с поражениями различных органов, включая кожу и слизистые оболочки, хронический гистоплазмоз лёгких и хронический диссеминированный гистоплазмоз. Выздоровление от гистоплазмоза сопровождается развитием стойкой невосприимчивости.

Микробиологическая диагностика

Основанием для установления диагноза считают выделение и идентификацию возбудителя. Материалом для исследования служит мокрота, СМЖ, кровь, моча, костный мозг, биоптаты внутренних органов и отделяемое язв.

- Дрожжеподобные клетки *H. capsulatum* достаточно трудно обнаружить при микроскопии, что обусловлено небольшими размерами и внутриклеточным их расположением (обычно в фагоцитах). Наилучшие результаты приносит микроскопия мазков, окрашенных по Романовскому-Гимзе или Райту.

- Для выделения культуры материал засевают на обычные микологические среды и инкубируют при температуре 30-37 °С. В течение 2-6 нед появляются беловатые или рыжевато-коричневые колонии, образованные мелкими (5-6 мкм) овальными дрожжеподобными клетками. Культивирование при 25 °С способствует появлению белого волокнистого мицелия. Зрелые колонии содержат бугорчатые макроконидии либо мелкие каплевидные микроконидии.

- Исследуемым материалом можно внутрибрюшинно заражать мышей. Через 4 нед животных забивают и из печени и селезёнки выделяют чистую культуру.

- Вспомогательное значение имеют кожно-аллергические и серологические реакции. Кожные пробы с гистоплазмином, получаемым из гиф *H. capsulatum*, могут быть положительными в

течение 3 нед после выздоровления. Положительные пробы отражают состояние сенсibilизации организма Аг гистоплазм, поэтому их в основном используют для эпидемиологического анализа. Определение сывороточных АТ проводят в РСК, РИФ, РИД и реакции латекс-агглютинации с гистоплазмином и Аг клеток дрожжеподобной фазы. При активном процессе титры АТ в РСК составляют 1:32 и выше.

Основными недостатками аллергологических и серологических тестов считают перекрёстные реакции с прочими возбудителями микозов, а также большой интервал между началом заболевания и временем их появления в крови (например, комплементсвязывающие АТ появляются через 2-3 мес). Наиболее современным экспресс-методом является идентификация нуклеиновых кислот гистоплазм.

Лечение

Первичный лёгочной гистоплазмоз и очаговые лёгочные поражения не требуют специфической терапии. Препаратом выбора для лечения диссеминированных поражений остаётся амфоте-рицин В. У больных с иммунодефицитами предпочтительно применение кетоконазола.

Криптококкоз

Криптококкоз (*устар.* европейский blastomикоз, болезнь Буссё-Бушке) - диссеминированный микоз, обычно наблюдаемый у лиц с выраженным иммунодефицитом.

Возбудитель - дрожжевой гриб *Cryptococcus neoformans*. По структуре капсульных полисахаридных Аг выделяют четыре серовара *C. neoformans* (А-D). В странах с умеренным климатом среди возбудителей доминируют серовары А и D, тогда как серовары В и С вызывают спорадические поражения в тропиках и субтропиках. *C. neoformans* выделяют повсеместно из фекалий и птичьих гнёзд, в первую очередь голубей. Возбудитель обитает в почве, загрязнённой птичьим помётом (возможно искусственное заражение почв при использовании помёта в качестве органического удобрения). Сами птицы криптококкозом не болеют. Человек заражается вдыхая возбудитель в составе воздушно-пылевой смеси. К развитию заболевания предрасполагают тяжёлые нарушения иммунной системы.

Основной фактор патогенности - капсула, защищающая возбудитель от действия фагоцитов и гуморальных защитных факторов. Аг гриба неспецифически активируют Т-супрессоры, индуцируют расщепление компонентов комплемента и сывороточных опсоинов. Ингалированные грибы формируют первичный очаг воспаления в лёгких с возможным вовлечением лимфатических узлов корней лёгких. В большинстве случаев процесс заканчивается спонтанным излечением, однако при нарушениях иммунного статуса возбудитель может диссеминировать из первичного очага.

Первичный криптококкоз часто протекает бессимптомно либо с незначительными проявлениями и не требует лечения. Соответственно случаи выявления первичных форм чрезвычайно редки.

Клинически значимые формы заболевания представлены поражением мозговых оболочек, причём до 80% криптококковых менингитов наблюдают у больных со СПИДом. Для криптококкового менингита характерно медленное развитие и отсутствие менингеальных признаков в начальной стадии. Типичны перемежающиеся головные боли (усиливающиеся по интенсивности), головокружение, нарушения зрения, повышенная возбудимость. В динамике заболевания (через недели или месяцы после начала) наблюдают нарушения сознания. Клиническая картина включает типичные признаки менингита - высокую температуру тела и симптомы раздражения мозговых оболочек. Возможны эпилептоидные припадки, отёк диска зрительного нерва и симптоматика поражений черепномозговых нервов. После выздоровления более чем у 50% пациентов наблюдают остаточные неврологические расстройства.

Микробиологическая диагностика

Материал для исследований - СМЖ, гнойное отделяемое и биоптаты из поражённых органов.

- Микроскопия довольно легко позволяет выявить *C. neoformans* в мазках, окрашенных тушью, так как при инвазивном росте грибковые клетки достигают значительных размеров (до 25 мкм), обусловленных формированием большой капсулы (рис. 36-4).

- Для выделения культуры гриба материал засевают на микологические среды. При температуре 21 °С в течение 1-5 сут появляются гладкие блестящие выпуклые сочные беловато-жёлтые колонии. На агаре Сабуро гриб может образовывать кремово-коричневые колонии. Клетки, полученные из культур, более мелкие (4-6 мкм) и окружены капсулой. В отличие от непатогенных криптококков, *C. neoformans* хорошо растёт при 37 °С.

- Серологические исследования проводят либо при отрицательных результатах посевов, либо для уточнения диагноза, так как некоторые изоляты *Rhodotorula*, *Torulopsis glabrata* и *Trichosporon beigeli* могут образовывать капсулы и напоминать криптококки во влажных мазках. Для выявления АТ используют реакцию латекс-агглютинации с сывороткой пациента.

Лечение

Проводят химиотерапию амфотерицином В или флуцитозином либо их комбинацией. Для заболевания характерна высокая частота рецидивов и хронизации процесса, требующих повторных курсов химиотерапии.

Бластомикоз

Бластомикоз (болезнь Джилкрайста, устар. североамериканский бластомикоз)- локальный или системный микоз, наиболее часто проявляющийся поражениями кожи, лёгких и других внутренних органов. Возбудитель - диморфный гриб *Blastomyces dermatitidis*. Заболевание впервые описал Т. Джилкрайст (1894).

У человека выделяют следующие клинические формы: первичный лёгочный, прогрессирующий лёгочный, первичный кожный и диссеминированный бластомикоз. Эпидемиология заболевания остаётся малоизученной, что обусловлено отсутствием адекватных диагностических тестов. Эндемичные области располагаются в США, Канаде, Латинской

Америке, Африке и Азии. В соответствии со структурой экзоантигенов дрожжевых клеток у *B. dermatitidis* выделяют серовары А и В; повсеместно (кроме Африки) более распространён серовар А. *Природной (sap-рофитической) формой выступает мицелиальная фаза гриба, а тканевой (паразитической)- дрожжеподобная фаза.*

Заражение происходит при ингаляции конидий гриба. В лёгких они трансформируются в дрожжеподобную форму. При этом фагоциты более активно поглощают конидии, но не дрожжеподобные клетки. Последние проникают в подслизистую оболочку бронхиол, вызывая местное воспаление. При прогрессировании заболевания очаг острого воспаления развивается в гранулёму. У лиц с иммунодефицитами возбудитель активно диссеминирует в различные ткани, поэтому образование гранулём не наблюдают и болезнь принимает фатальный характер. Поражение кожи и слизистых оболочек носит выраженный псевдоэпителиоматозный характер (напоминают плоскоклеточную карциному).

Микробиологическая диагностика

Возбудитель можно обнаружить при микроскопии мокроты, гнойного отделяемого кожных поражений и биоптатов, обработанных КОН, или препаратов, окрашенных по Райту или Романбвскому-Гймзе. Наличие дрожжевидных клеток размерами 8-15 мкм с толстой двухслойной стенкой и одной почкой, отделённой широкой перетяжкой, даёт серьёзные основания для подозрений на бластомикоз. Выделение культуры проводят путём посева на питательные среды. При температуре 20-25 °С на плотных средах *B. dermatitidis* даёт мицелиальный рост, образуя белые складчатые либо восковидные макроколонии. По мере роста воздушных гиф они становятся серыми или коричневыми. Гифы септированные (1-2 мкм в диаметре), конидии одноклеточные овальные или грушевидные, напоминают «леденцы на палочках». При температуре 37 °С гриб даёт дрожжеподобный рост; образуя кремовато-жёлтые (цвета сливочного масла) колонии.

Для определения способности к диморфному росту инокулят плесневой культуры вносят в агар с экстрактом сердца и мозга, дополненный 10% эритроцитов барана, или в агар с цистеином

и гемоглобином. В течение 7-10 сут при температуре 37 °С появляются колонии, образованные типичными дрожжеподобными клетками.

В качестве дополнительных тестов применяют серологические реакции. Сывороточные АТ выявляют в РСК с коммерческим антигенным диагностикумом и в реакции иммунодиффузии. Проба с экзоантигенами позволяет быстро идентифицировать плесневые формы. Для этого проводят реакцию двойной иммунодиффузии с водным экстрактом 7-10-суточной мицелиальной колонии и стандартной антисывороткой. Проба положительна у всех больных. Наиболее совершенный экспресс-метод - идентификация нуклеиновых кислот бластомицетов.

Лечение

Возбудитель высокочувствителен к действию амфотерицина В и кетоконазола. Обычно химиотерапию проводят при прогрессирующем лёгочном и диссеминированном бластомикозах.

Кокцидиоидомикоз

Кокцидиоидомикоз (болезнь Вёрнике-Посады, кокцидиоидоз) - неконтагиозный системный микоз, проявляющийся первичной лёгочной инфекцией либо прогрессирующими гранулематозными поражениями кожи, костей, суставов, внутренних органов и мозговых оболочек.

Возбудитель - диморфный гриб *Coccidioides immitis*. Резервуар возбудителя - почва; особую эпидемическую опасность представляют археологические раскопки и земляные работы в эндемичных районах. Кокцидиоидомикоз эндемичен на Юго-Западе США, а также в Центральной и Южной Америке. В неэндемичных районах обычно регистрируют спорадические

случаи заболевания, вызванные завозом конидий с различными продуктами (например, в РФ зарегистрировано около 50 случаев). *Природной (сапрофитической) формой является мицелиальная фаза гриба, а тканевой (паразитической) - дрожжеподобная фаза.*

C. immitis - самый вирулентный инфекционный агент среди возбудителей микозов. Ингаляция одной артроконидии у мышей приводит к развитию летальной инфекции. Образованию дрожжеподобных форм предшествует фаза формирования сферул в поражённых тканях. Сферулы диаметром 12-100 мкм содержат эндоспоры, выполняющие роль репродуктивных структур после выхода их сферул. Факторы резистентности дыхательных путей эффективно ингибируют прорастание артроспор возбудителя в трахее и бронхах, но на уровне альвеол их активность значительно снижается. Грибковая инвазия вызывает развитие воспалительной реакции. В большинстве случаев удаление и элиминация инфекционного агента опосредованы клеточными иммунными реакциями. Наличие дефектов клеточного иммунного ответа способствует диссеминированию инфекционного процесса.

В большинстве случаев (60-70%) первичная инфекция протекает бессимптомно, у части инфицированных развивается своеобразная пневмония с образованием многочисленных мелких гранулём. Последние, сливаясь, могут формировать крупные очаги или же захватывать целую долю лёгкого. Участки воспаления некротизируются, образуя каверны и абсцессы. Последние могут сообщаться длинными свищевыми ходами с поверхностью кожи, вовлекая плевру, кости, подкожную клетчатку. При гематогенной диссеминации вторичные очаги могут возникнуть в любом органе. Почти всегда наблюдают инфильтраты и абсцессы кожных покровов, чаще они локализованы на голове, шее и конечностях. Продолжительность инкубационного периода варьирует в пределах 7-18 сут.

Клинически выделяют первичный кокцидиоидомикоз (лёгочная и генерализованная формы), вторичный хронический лёгочный кокцидиоидомикоз, костно-мышечный кокцидиоидомикоз, кокцидиоидный менингит и кожный кокцидиоидомикоз.

Микробиологическая диагностика

Микроскопия в капле КОН препаратов мокроты, СМЖ, биоптатов из очагов поражения позволяет выявить характерные сферулы возбудителя с утолщённой клеточной оболочкой. Мокрота содержит мелкие сферулы, лишённые оболочки, часто принимаемые за изменённые клетки собственно дыхательных путей. Для наилучшего распознавания препараты окрашивают по Романовскому-Гимзе или Райту.

C. immitis хорошо растёт на обычных питательных средах - через неделю после инкубации при температуре 25 °С грибы образуют сероватые плесневые колонии; гифы формируют толстостенные артроспоры с пятнистыми углами, содержащие бочкообразные артроконидии (4-6 мкм длиной).

Для выявления сенсibilизации организма Аг *C. immitis* применяют кожно-аллергические пробы с кокцидиоидином (Аг мицелиальной фазы) и сферулином (Аг тканевой фазы). При лёгочном кокцидиоидозе положительные результаты проб можно наблюдать через 1-4 нед после начала заболевания. Диссеминированные формы часто индуцируют состояние анаргии.

АТ в сыворотке и СМЖ определяют методом ИФА (IgM, IgG) либо в РП (IgM) и РСК (IgG). Для эпидемиологических исследований в эндемичных очагах наличие АТ определяют в реакции латекс-агглютинации и РИД. Для экспресс-дифференцировки от прочих грибов, образующих артроконидии, используют тест экзоантигенной флуоресценции Аг мицелия *C. immitis*.

Лечение

При первичных формах необходимости в специальном лечении нет. Хронический лёгочный и диссеминированный кокцидиоидомикозы нуждаются в проведении терапии амфотерицином В либо кетоконазолом. Применение химиопрепаратов достаточно эффективно, однако существует большой риск развития рецидивов. При поражениях головного мозга показана терапия флуконазолом.

Паракокцидиоидомикоз

Паракокцидиоидомикоз (устар. южно-американский бластомикоз, болезнь Лютца-Сплендоре-Алмёйды)- системный микоз с развитием доброкачественных самоограничивающихся лёгочных поражений и первичных диссеминированных форм. Возбудитель - диморфный гриб *Paracoccidioides brasiliensis*. Заболевание эндемично для тропических и субтропических регионов Центральной и Южной Америки. Эпидемиология инфекционного процесса остаётся мало изученной. К инфицированию более предрасположены мужчины (соотношение заболеваемости мужчин и женщин составляет 15:1), особенно работающие в сельском хозяйстве и старше 30 лет. В немалой степени развитию заболевания способствует привычка чистить зубы расщеплёнными веточками и листьями, часто загрязнёнными конидиями или фрагментами мицелия возбудителя.

Природной (сапрофитической) формой выступает мицелиальная фаза гриба, а тканевой (паразитической)- дрожжеподобная фаза. Заболевание развивается при ингаляции конидий гриба либо при имплантации их в слизистую оболочку полости рта во время чистки зубов расщеплённой веточкой. Основным фактором вирулентности считают полисахариды (α-глюканы) клеточной стенки, индуцирующие образование гранулём. Большинство случаев заболевания зарегистрировано у лиц с нарушениями иммунного статуса.

- Острые лёгочные поражения характеризуются развитием бронхопневмоний.
- Для хронических поражений более свойственно гранулематозное воспаление межуточной ткани с фиброзом и некротическими проявлениями. Поражения кожи и слизистых оболочек сопровождаются развитием реакций, напоминающих плоскоклеточную карциному.

Очаги первичного инфицирования обычно выявляют в лёгких, где они нередко самоограничиваются с замещением фиброзной тканью. При диссеминировании возникают множественные язвы кожи и слизистых оболочек; поражение развивается медленно и носит характер грануле-матозного воспаления. Кроме того часто наблюдают регионарные лимфадениты, поражения многих внутренних органов с вовлечением клеток макрофагально-моноцитарной системы.

В соответствии с возрастными группами выделяют ювенильный паракокцидиоидомикоз и паракокцидиоидомикоз взрослых.

Микробиологическая диагностика

Лабораторная диагностика основана на выделении и идентификации *P. brasiliensis*. Материалом для исследования служат мокрота, гнойное отделяемое и биоптаты очагов поражений.

Микроскопия материала, обработанного КОН, помогает выявить дрожжеподобные клетки (5-40 мкм) тканевой фазы с тонкой оболочкой и множеством почкующихся дочерних клеток с суженным основанием.

Выделение возбудителя проводят путём посева материала на питательные среды. Через 2-3 нед культивирования на агаре Сабуро при комнатной температуре появляются сначала сероватобелые, а позднее желтоватые плесневые колонии. Микроскопически в них обнаруживают

ветвящийся мицелий и овальные конидии. Идентификация возбудителя по конидиям не имеет диагностической ценности. Культивирование при температуре 37 °С в течение 3-4 нед способствует появлению беловато-кремовых гладких или складчатых колоний, образованных дрожжеподобными клетками (они крупнее, чем обнаруженные в биоптатах, и достигают 40-50 мкм в диаметре). Последние окружены множеством почкующихся клеток с суженным основанием, что в целом напоминает «корабельный штурвал» (диагностический признак возбудителя).

Среди серологических методов наиболее пригодна РИД, имеющая специфичность 99% и чувствительность 85%.

Лечение

Основные подходы в лечении аналогичны таковым при кокцидиоидомикозах.

ОПОРТУНИСТИЧЕСКИЕ МИКОЗЫ

Оппортунистические микозы вызывают сапрофитические виды, проникающие из внешней среды либо входящие в состав микробных сообществ организма человека. Патогенность возбудителей очень низкая, и они обычно не вызывают поражений у здоровых лиц (что, собственно, и отражает общее название заболеваний). *Оппортунистические микозы обычны для лиц с различными нарушениями иммунобиологической резистентности.* Инфекции, вызываемые кандидами и другими дрожжеподобными грибами, обычно развиваются как эндогенные заболевания. Плесневые грибы (аспергиллы и др.), конидии которых постоянно выделяют из воздуха, вызывают экзогенные поражения.

Как правило, большинство оппортунистических микозов протекает как моноинфекция, но при глубоких иммунодефицитах наблюдают смешанные инфекции, вызванные несколькими видами грибов.

Кандидоз

Кандидоз - антропонозный микоз, характеризующийся поражением слизистых оболочек и кожи. Возможны тяжёлые висцеральные формы, чаще с вовлечением лёгких и органов пищеварения. Кандидоз обычно возникает эндогенно как следствие дисметаболических расстройств и дисфункций иммунной системы.

Возбудители - дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Кандиды не относят к истинным диморфным грибам, так как в тканях можно выявлять как дрожжевые клетки, так и гифы. Переход в мицелиальную фазу можно наблюдать при культивировании при более низкой температуре (22-25 °С) или при истощении питательной среды. *In vivo* переход дрожжевой фазы в мицелиальную (плесневую) можно наблюдать при прорастании в ткани организма. Дрожжевая фаза представлена овальными или круглыми клетками-бластоспорами (4-8 мкм), размножающимися многополюсным почкованием. Клеточная стенка содержит 5-7 слоёв. Оптимальная температура для роста составляет 25-28 °С. Мицелиальная фаза представлена цепочками удлинённых клеток с трёхслойной клеточной стенкой, образующими псевдомицелий. На нём беспорядочно располагаются дрожжеподобные бластоспоры (рис. 35 вклейки). Некоторые виды, включая *C. albicans*, формируют терминальные хламидоспоры.

Поражения у человека вызывают *C. albicans* (более 90% поражений), *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii* и др. В начале XX в. кандидозы наблюдали сравнительно редко, но заболеваемость значительно возросла с началом применения антибиотиков и растёт в настоящее время. На сегодняшний день кандиды - наиболее распространённые возбудители оппортунистических микозов.

C. albicans - нормальный комменсал полости рта, ЖКТ, влагалища и иногда кожи. Любые нарушения резистентности организма либо изменения нормального микробного ценоза могут приводить к развитию заболевания. Возможность передачи возбудителя при бытовых контактах не определена, однако первичная колонизация детей кандидами происходит при прохождении через родовые пути матери или при кормлении грудью. Мочеполовой кандидоз передаётся половым путём.

Патогенез поражений

Факторы патогенности остаются малоизученными. У кандид выявлены адгезины (обуславливают адгезию на эпителии), олигосахариды клеточной стенки (ингибируют клеточные иммунные реакции), фосфолипиды и кислые протеазы. Кроме того, кандиды способны мас-

кировать поверхностные структуры, с которыми взаимодействуют компоненты комплемента и опсонины. Определённую предрасполагающую роль играют анатомические (например, стенозы), метаболические (например, сахарный диабет) и иммунные нарушения. Развитию кандидоза способствуют повреждения кожных покровов, повышенное потоотделение, мацерации, обменные и гормональные нарушения (например, сахарный диабет), беременность, а также приём пероральных контрацептивов. Чрезмерный рост кандид провоцируют также дисбактериозы, вызванные неадекватным применением антибиотиков широкого спектра действия или изменениями микробного окружения. Иммунодефициты или приём иммунодепрессантов способны вызывать молниеносные формы либо хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек. Клинически выделяют кандидоз кожных покровов, кандидоз ногтевых валиков и ногтей, кандидоз слизистых оболочек, хронический кожно-слизистый кандидоз, диссеминированный (висцеральный) кандидоз.

Кандидоз кожных покровов развивается на прилегающих друг к другу поверхностях тела и в кожных складках, то есть на участках, характеризующихся достаточно высокой температурой и повышенной влажностью (также кандидоз может возникать при мацерациях кожи). Кандидозное интриттро проявляется опрелостями с последующим присоединением эритематозных или везикулёзно-пустулёзных высыпаний. Последние трансформируются в эрозии с беловатыми некротизированными участками эпителия. Пелёночный дерматит характеризуется сыпью с шелушением или везикулёзно-пустулёзными высыпаниями с интенсивным воспалением и зудом.

Кандидоз ногтевых валиков и ногтей (паронихии и онихии) наблюдают при мацерациях кистей и стоп, вызванных постоянным контактом с водой (у мойщиков посуды, прачек, рыбаков). Характерно утолщение и обесцвечивание ногтевых пластинок, реже возникает выпадение ногтей.

Кандидоз слизистых оболочек (молочница). Заболевание развивается на фоне метаболических расстройств или при нарушении нормального микробного ценоза слизистых оболочек.

- Кандидоз слизистой оболочки полости рта - характерное следствие приёма антибиотиков широкого спектра или иммунодефицитных состояний. Типичные проявления - белые или желтоватые «творожистые» бляшки на поверхности слизистой оболочки (отсюда «молочница»). Поражение часто сочетается с диффузной эритемой и повышенной сухостью слизистой оболочки.

- Кандидозный вульвовагинит распространён среди женщин, принимающих гормональные или использующих внутриматочные контрацептивы, либо находящихся в последнем триместре беременности (состояние опосредовано иммунодепрессивным действием высоких концентраций прогестерона и фактора, связанного с α -глобулином сыворотки). Характерны чувство дискомфорта, зуд и творожистые бели.

Хронический кожно-слизистый кандидоз - редкая патология, опосредованная дефектами Т-лимфоцитов. Возможны поражения кожных покровов (включая кожу волосистой части головы), слизистых оболочек (хейлит, эзофагит), онихии и паронихии. В наиболее тяжёлых случаях наблюдают гранулематозный кожный кандидоз с появлением на коже и ногтях инфильтратов с нечёткими контурами, покрывающимися позднее серозно-кровянистыми корками.

Диссеминированный (висцеральный) кандидоз - следствие инвазии органов ЖКТ, дыхательных путей, мочеполовой системы и ЦНС, проявляющейся развитием микроабсцессов вследствие фунгемии. Состояние усугубляет сенсбилизация организма к аллергенам грибов с развитием очагов воспаления, в которых отсутствует возбудитель. Нелеченные случаи заканчиваются фатально. Поражения наблюдают при пересадках органов, операциях на сердце, катетеризации вен в течение продолжительного времени, имплантации протезов, переиздании, длительном приёме глюкокортикоидов, иммунодепрессантов. Наиболее часты поражения почек, глаз, головного мозга и сердца. Множественные очаги чаще выявляют при наличии постоянного инфицирования, например через катетер.

Микробиологическая диагностика

Поверхностный и кожно-слизистый кандидоз выявляют при микроскопии соскобов кожи и слизистой оболочки и выделением культуры возбудителя. Диагностику диссеминированных форм часто затрудняет недоступность поражённых органов для биопсии. В случаях, позволяющих получить образцы ткани, обнаруживают дрожжеподобные клетки и гифы. При летальных исходах посмертный диагноз устанавливают при микроскопии гистопатологических образцов секционного материала.

Кандиды хорошо растут как на простых (среды Сабуро и др.), так и на кровяных или сывороточных средах. Оптимальная температура составляет 30-37 °С, оптимальный рН - 6,0-6,8. Колонии *S. albicans* на агаре Сабуро беловато-кремовые [лат. *candidus*, снежно-белый], блестящие, напоминают капли майонеза (рис. 36-5). Отличительными признаками *S. albicans* считают следующие.

- Способность ферментировать глюкозу и мальтозу с образованием кислоты и газа.
- При росте в жидких белковых средах при 37 °С через 2-4 ч бластоспоры подавляющего большинства штаммов *S. albicans* образуют особые выросты - ростовые трубки. Штаммы, не образующие их, - авирулентны.
- При культивировании при температуре 22-25 °С либо по мере истощения глюкозы в среде (4-7-е сутки) или на «голодных» средах *S. albicans* образует хламидиоспоры.

Лечение

Выбор препаратов зависит от клинической формы и тяжести заболевания. Для лечения кожно-слизистых форм используют нистатин, леворин, амфоглюкамин, миконазол. При тяжёлых поражениях с высоким риском диссеминирования назначают курс амфотерицина В или флуконазола.

Аспергиллёз

Аспергиллёз - сапронозный микоз, вызываемый плесневыми грибами рода *Aspergillus*. Аспергиллы обитают повсеместно: их конидии выделяют из почвы, воздуха и даже серных источников и дистиллированной воды. Они неприхотливы, хорошо и быстро растут на обычных микологических средах. В настоящее время известно около 200 видов, но патогенно для человека

менее 20. Основными возбудителями аспергиллёзов у человека бывают *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* и *A. terreus*. Межвидовая дифференцировка основана на различиях в строении конидий. Последние окрашены в белый, бежевый, зелёный, чёрный и другие цвета, придавая соответствующую окраску колониям (табл.36-2).

Заражение происходит при ингаляции конидий либо при попадании последних на раневые поверхности. Заболевание неконтагиозно и от человека человеку не передаётся. Поскольку аспергиллы широко распространены, для пациентов с дефектами иммунной системы они особенно опасны.

Клинические проявления

Клинические проявления аспергиллёзов представлены широким спектром заболеваний от аллергических реакций до диссеминированных микозов. Неинвазивные поражения сопровождаются развитием аллергических реакций. Инвазивные поражения приводят к развитию гнойно-гранулематозного воспаления. Наиболее часто регистрируют бронхолёгочную патологию, реже отмечают поражения ушей, слизистой оболочки и придаточных пазух носа, а также поражения печени, селезёнки и почек.

- Диссеминированный аспергиллёз обычно наблюдают у пациентов с иммунодефицитами. Возбудитель распространяется гематогенно, возможны поражения любых органов (наиболее часто лёгких, ЦНС, почек, печени, эндокарда и щитовидной железы). Заболевание в этом случае практически всегда заканчивается смертью пациента.

- Аспергиллома (аспергиллёзная мицетома) - шарообразная масса мицелия (обычно *A. fumigatus*) и клеточного детрита, формирующаяся в уже имеющейся полости лёгкого, достигающая 2 см в диаметре. Обычно аспергилломы возникают у страдающих туберкулёзом или прочими грануле-матозными процессами в лёгочной ткани с образованием полостей. Развитие аспергилломы не сопровождается инвазивным ростом.

Микробиологическая диагностика

Основанием для постановки диагноза считают обнаружение в биоптатах и мокроте мицелия и характерных конидиеносцев, характерное строение которых обусловило название грибов (лат. *aspergillus*, лейка; рис. 36 вклейки). Выделение и культивирование аспергиллов не представляет особых сложностей, однако при интерпретировании результатов перед исследователями часто встаёт вопрос - выступают аспергиллы этиологическим агентом или банальным контаминантом, колонизирующим тот или иной орган либо попавший в образец извне. Более адекватно аспергиллёз устанавливают лишь при наличии положительных результатов посевов, сочетающихся с характерными клиническими проявлениями. Микологические исследования дополняют аллергическими кожными и ингаляционными пробами, РИД по Оухтерлони с Аг грибов.

Лечение

Препараты выбора - амфотерицин В, амфоглюкамин и итраконазол. При лечении аспергиллом наиболее эффективно их хирургическое удаление.

Фикомикозы (зигомикозы)

Фикомикозы (зигомикозы) - полиморфные сапронозные заболевания, вызываемые плесневыми грибами класса *Phycomycetes* (*Zygomycetes*). Чаще возбудителями выступают представители родов *Absidia*, *Mucor* и *Rhizopus*.

Фикомицеты распространены повсеместно, колонизируют различные органические субстраты, почву. Они представлены видами с хорошо развитым несептированным мицелием, распадающимся при созревании на отдельные клетки. Для них характерна зигогамия - особый тип размножения гриба посредством слияния двух недифференцированных на гаметы клеток (более подробно см. главу 2).

Фикомицеты хорошо и быстро растут на обычных питательных средах, образуя воздушный мицелий на поверхности среды. Гифы некоторых представителей рода *Rhizopus* образуют «усы», или столоны, протягивающиеся на расстояние порядка нескольких сантиметров.

Основные группы риска - пациенты с трансплантатами органов, иммунодефицитами и диабетическим кетоацидозом. Выделяют шесть основных типов поражений - риноцеребральные, лёгочные, кожные, подкожные, желудочно-кишечные и поражения ЦНС. Заболевание возникает после ингалирования и прорастания конидий в лёгких. Для возбудителя характерен быстрый инвазивный рост.

- Поражения дыхательной системы клинически напоминают инвазивный бронхолёгочный ас-пергиллёз.

- Кожные поражения проявляются развитием целлюлита.

- У лиц с иммунодефицитом возможно проникновение возбудителя через решётчатую пластинку решётчатой кости в головной мозг с последующей потерей зрения вследствие поражения глазного нерва. Заболевание протекает молниеносно и с высокой летальностью.

- У крайне истощённых лиц развиваются поражения ЖКТ, характеризующиеся клинической картиной пищевых токсикоинфекций и часто приводящие к гибели больного.

Микробиологическая диагностика

Выделение и идентификация зигомицетов не составляет особых трудностей. В биоптатах поражённых тканей выявляют беспорядочно ветвящиеся крупные несептированные гифы. Возбудители на микологических средах на 1-3-и сутки образуют «шерстистые» серые, коричневые или чёрно-серые колонии. Однако их повсеместная распространённость ставит специалиста перед теми же вопросами, которые возникают при диагностике аспергиллёзов. Косвенным доказательством может служить постоянное выделение микроорганизмов из поражённых органов.

Лечение

До настоящего времени методы и средства терапии молниеносных форм отсутствуют. Рекомендовано проведение химиотерапии амфотерицином В и хирургическое удаление поражённых участков. Эффективность проводимых мероприятий довольно низкая.

Пневмоцистоз

Пневмоцистоз - заболевание с поражением лёгких по типу пневмонии с первичными нарушениями газообмена. Возбудитель - дрожжевой грибок *Pneumocystis carinii* класса *Blastomycetes*. Поражение, вызванное *P. carinii*, возникает у ослабленных и истощённых лиц, страдающих различными тяжёлыми заболеваниями, при нарушениях иммунного реагирования (особенно часто у больных со СПИДом). Лица с нормальным иммунным статусом резистентны к возбудителю.

Возбудитель обнаруживают повсеместно, резервуар возбудителя - человек, овцы, собаки, грызуны. При попадании в организм здорового человека *P. carinii* вызывает латентную инфекцию.

Более 65% населения Земли имеют АТ к *P. carinii*. Заболеваемость может носить спорадический характер, также возможны вспышки заболевания.

Основной путь передачи - воздушно-капельный, иногда трансплацентарный. Инфекционной единицей выступает спорозбит, представленный овальными клетками (2-3 мкм), окружёнными слизистой капсулой. После проникновения в альвеолоциты они преобразуются в трофозбиты - плеоморфные клетки с тонкой клеточной оболочкой. Трофозоиты делятся, перешнуровываясь на две особи. После цикла делений наступает стадия спорогонии (половой цикл размножения). При этом паразитарное тельце увеличивается, заполняя всю цитоплазму альвеолоцита, формируется стенка цисты, и ядро вступает в цикл последовательных делений. Образуется циста диаметром 5-8 мкм, содержащая 8 спорозоитов (так называемая «розетка»). При её разрыве спорозоиты высвобождаются, давая при благоприятных условиях начало новой популяции трофозоитов. Заболевание прогрессирует медленно, что связано с низкой вирулентностью возбудителя. У детей чаще наблюдают стёртые формы с умеренными лихорадочными приступами и продолжительностью 3-4 нед.

У подростков и взрослых лиц заболевание начинается бурно. Типичны высокая температура тела (39-40 °С), симптомы интерстициальной пневмонии, вызванные поражениями межальвеолярных перегородок с развитием нарушением газообмена. В динамике заболевания альвеолы заполняют пенистые массы, образованные размножающимся грибом и клеточным детритом.

У лиц с тяжёлым иммунодефицитом пневмоцистоз носит фатальный характер со 100-процентной летальностью вследствие прогрессирующей лёгочной недостаточности.

Микробиологическая диагностика

Основу микробиологической диагностики составляет микроскопия окрашенных мазков мокроты и слизи, полученных при глубоком откашливании (лучше после паровых ингаляций), бронхоальвеолярном лаваже или ларингоскопии. Пневмоцистоз обычно диагностируют по наличию цист *P. carinii* в препаратах, окрашенных метенаминовым серебряным по Гомори; цисты содержат тёмные тельца (иногда парные), их оболочка может иметь складки различной конфигурации. *Следует помнить, что пневмоцисты можно обнаружить не ранее второй недели заболевания.*

Лечение

У пациентов с незначительными отклонениями в иммунном статусе хороший эффект даёт ко-тримоксазол. Препарат на 30% снижает летальность лиц с тяжёлыми иммунодефицитами, исключая больных со СПИДом.

микотоксикозы

Микотоксикозы - группа заболеваний, вызванных попаданием в организм токсичных метаболитов-микотоксинов, образуемых некоторыми плесневыми грибами, колонизирующими пищевые продукты или сельскохозяйственное сырьё. В настоящее время идентифицировано более 300 микотоксинов и более 350 видов их продуцентов. Наибольшее число токсинообразующих грибов обитает в почве, поэтому образуемые ими микотоксины накапливаются в растительном сельскохозяйственном сырьё, особенно при неправильном сборе, хранении и переработке. Особую опасность представляет их накопление в продуктах животного происхождения (молоко, мясо, яйца) вследствие скармливания скоту и птице кормов, содержащих микотоксины. Мико-токсины

устойчивы к термическим воздействиям, высушиванию и УФ-излучению. Наиболее распространённые возбудители микотоксикозов - грибы рода *Aspergillus* и *Fusarium*. Микробиологическая диагностика заболеваний основана на выделении токсинов и их продуцентов. Микотоксикозы не следует путать с мицетизмом - отравлениями после употребления в пищу ядовитых грибов.

Афлатоксикозы

Афлатоксикозы развиваются в результате употребления различных продуктов, контаминиро-ванных токсинами *Aspergillus flavus*, *A. parasitus* и *A. oryzae*. Наиболее часто регистрируют отравления метаболитами *A. flavus*, в связи с чем вся группа токсинов и получила своё название - афлатоксины [от *Aspergillus flavus* + токсин]. В настоящее время выделены и охарактеризованы афлатоксины В₁₋₂, G₁₋₂ и М₁₋₂. Их обнаруживают на зерне, арахисе, фасоли, моркови, бобах какао, а также в мясе, молоке, сыре. Интоксикации продуктами жизнедеятельности ас-пергиллов чаще наблюдают у сельскохозяйственных животных, но возможно развитие отравлений и у людей. Интоксикации протекают остро, с судорогами, парезами, кровоизлияниями, нарушениями функций печени и почек. Частым следствием тяжёлых отравлений афлатоксина-ми выступают цирроз и печёночноклеточная карцинома.

Фузариотоксикозы

Грибы рода *Fusarium* распространены повсеместно и вызывают заболевания у растений. Возбудитель образует розовато-белую грибницу, имеющую вид налёта на субстратах. Поражения человека связаны с употреблением растительных продуктов, контаминированных грибковыми токсинами (дезоксиниваленол, зеараленон, фузаренон Х и др.).

Споротрихиеллотоксикоз (алиментарно-токсическая алейкия)

Заболевание вызывают микотоксины гриба *F. sporotrichiella*. Отравления регистрируют при употреблении хлеба, испечённого из зерна, перезимовавшего под снегом либо собранного поздней осенью. Грибы проявляют выраженные психрофильные свойства и синтезируют токсины при температуре ниже 0 °С. Токсины весьма устойчивы - в зерне они сохраняются в течение 4-5 лет.

Алиментарно-токсическая алейкия включает три стадии (прогрессирование заболевания до третьей стадии возникает при длительном употреблении в пищу заражённых продуктов):

- 1) ангинозно-геморрагические поражения;
- 2) острые симптомы отравления или острого гастроэнтерита;
- 3) симптомы поражения ЦНС в сочетании с прогрессирующими тромбоцитопенией и лейкопенией. Нередки летальные исходы, обычно обусловленные вторичными инфекциями.

К действию микотоксинов *F. sporotrichiella* чувствительны многие животные, поэтому их наличие в пищевых продуктах определяют введением экстрактов токсинов различным лабораторным животным - мышам или морским свинкам.

Уровская болезнь (болезнь Кашина-Бека)

Заболевание вызывают микотоксины *F. sporotrichiella*, *F. tricinctum*, *F. rose*, паразитирующих на злаках. Микотоксины термостабильны и сохраняются при выпечке хлеба. Заболевание развивается при длительном употреблении хлеба, содержащего микотоксины, и зарегистрировано в Восточном Забайкалье и вдоль течения реки Урова, давшей название болезни. Клинически микотоксикоз проявляется задержкой роста костей и деформациями суставов. Диагностика основана на выделении и идентификации возбудителя.

Фузариограминейротоксикоз (отравление «пьяным хлебом»)

Заболевание обусловлено термостабильными микотоксинами гриба *F. graminearum*, действующими на ЦНС. При употреблении в пищу «пьяного хлеба» возникает синюшность или гиперемия лица, эйфория, нарушение сознания, координации движений - признаки, весьма напоминающие опьянение. В редких случаях отмечают проявления гастроэнтерита. Весьма близкое поражение - фузарионивалетоксикоз, вызываемый термостабильными токсинами гриба *F. nivale*, *F. graminearum* и *F. avenacium*. Грибы паразитируют на злаках, и употребление в пищу продуктов, изготовленных из контаминированного зерна, приводит к развитию рвоты, диареи, судорог. Диагностика основана на выделении и идентификации возбудителя.

Эрготизм

Заболевание обусловлено воздействием микотоксинов спорыньи - грибов *Claviceps purpurea* и *S.paspalum*, паразитирующих на ржи. Склероции гриба, имеющие вид слегка искривлённых «рожек» [старофр. *ergot*, петушиная шпора], содержат не менее пяти пар оптических изомеров алкалоидов. Наиболее известны лизергиновая кислота, эрготамин и агроклавин. Токсины действуют на ЦНС (галлюциногены) и гладкую мускулатуру (особенно кровеносных сосудов и матки). Употребление хлеба из контаминированного зерна приводит к развитию явлений гастро-рэнтерита, галлюцинаций (нередки самоубийства), некрозам конечностей, вызванным спазмом периферических сосудов.

ГЛАВА 37. ВОЗБУДИТЕЛИ ПРОТОЗОЙНЫХ ИНФЕКЦИЙ

К возбудителям протозойных [от греч. *protos*, первый, + *zoon*, животное] инфекций относят простейших - представителей под-царства *Protozoa*, включающего так называемые одноклеточные формы, состоящие из одной функциональной клеточной единицы или представленные агрегатами из недифференцированных клеток, отделённых друг от друга. Несмотря на то, что все микроорганизмы, имеющие медицинское значение, паразитируют в организме человека, изучением патогенных простейших занимается отдельная наука - медицинская паразитология.

СПОРОВИКИ

Споровики образуют класс *Sporozoea* типа *Apicomplexa*, включающий только паразитические виды. Для них характерны как исключительно половой путь развития, так и чередование полового и бесполого циклов, обычно связанное с переменой хозяев. Своим названием споровики обязаны способности образовывать особые структуры, защищённые плотной оболочкой, условно называемые спорами. Наибольший ущерб здоровью человека наносят малярийные плазмодии и токсоплазмы, поражающие до 35% населения Земли.

Малярийные плазмодии

Род *Plasmodium* [от греч. *plasma*, имеющий форму, + *eidosis*, сходство] включает более 100 видов, паразитирующих в клетках рептилий, птиц и животных. Четыре вида патогенны для человека и вызывают малярию - трансмиссивный антропоноз с преимущественным поражением ретикулогистиоцитарной системы и эритроцитов, приступами лихорадки, анемией и гепатоспленомегалией. *Plasmodium vivax* - возбудитель трёхдневной малярии, *P. malariae* - возбудитель четырёхдневной малярии, *P. falciparum* - возбудитель тропической малярии, *P. ovale* - возбудитель малярии овале (типа трёхдневной). Возбудители паразитируют в эритроцитах и других клетках. По Романовскому-Гимзе цитоплазма паразитов окрашивается в голубой цвет, ядро - в красно-фиолетовый. В Европейской медицине первое упоминание малярии связывают с именем Гиппократ. Позже древнеримский писатель Варрон указывал на наличие в болотистых местах неких мельчайших, невидимых глазу существ, проникающих с «дурным

воздухом» (*mal'aria*) в организм, что дало начало известной «миазматической» теории развития заболеваний. Цикл развития паразита в организме, стадии и закономерности появления приступов были установлены К. Гольджи (1889). Возбудителя малярии в крови человека впервые обнаружил А. Лаверан (1880).

Эпидемиология

Малярию выявляют в регионах от 45° северной до 40° южной широты, чаще в тропиках и субтропиках. В странах с умеренным климатом основной возбудитель - *P. vivax*, в тропиках - *P. falciparum*. Резервуар возбудителя - больной человек; основной механизм заражения - трансмиссивный. Переносчики - самки комаров рода *Anopheles*; этиологическую роль комаров доказал Р. Росс (1897). Человек - промежуточный, а комар - окончательный хозяин паразита. Также возможно вертикальное заражение от матери к плоду. В 104 эндемичных странах регистрируют около 250 млн новых случаев заболевания; смертность от малярии достигает 1-2 млн ежегодно. Заболеваемость напрямую зависит от размеров популяции комаров и количества больных, служащих резервуаром инфекции. В связи с развитием индустрии туризма заболевание стали выявлять в странах, лежащих за пределами естественного ареала.

Жизненный цикл

У различных видов малярийных плазмодиев жизненный цикл практически одинаков, а основные различия связаны с характером поражений эритроцитов. В организме человека происходит бесполовая стадия (шизогония), в организме комаров - половая стадия (спорогония).

- Спорогония происходит в клетках эпителия ЖКТ комара; её продолжительность 1-3 нед. С кровью больного в организм комара проникают мужские и женские гаметы (гамонты), попарно сливающиеся в зиготы, проникающие в стенку кишки и образующие там ооцисты. Содержимое ооцист претерпевает процесс спорогонии, то есть многократного деления с образованием веретенообразных спорозоитов. Спорозоиты - подвижные клетки длиной 11-15 мкм, диссеминирующие по всему организму насекомого. Часть из них проникает в слюнные железы комара, в результате чего он становится переносчиком болезни.

- Тканевая (экзоэритроцитарная) шизогония происходит в ге-патоцитах и продолжается 1-2,5 нед. Уже через час после укуса комара спорозоиты проникают с кровотоком в клетки печени, где происходит их размножение и деление. В результате деления образуются мерозоиты (каждый спорозоит может образовать от 2000 до 40 000 мерозоитов), разрушающие гепатоциты и проникающие в кровоток.

- Эритроцитарная шизогония (рис. 37-1) происходит после проникновения мерозоитов в эритроциты путём эндоцитоза, где образуется паразитоформная псевдовакуоль. Затем мерозоиты превращаются в трофозоиты (бесполовые формы), утилизирующие гемоглобин. В ходе развития паразитов в эритроцитах происходит накопление пигмента. Юные трофозоиты содержат ядро с одним хроматиновым зерном и внешне напоминают перстень или кольцо. Незрелые трофозоиты

имеют амёбовидную форму, а трофозоиты *P. vivax* способны передвигаться внутри эритроцитов [от лат. *vivax*, живой]. У зрелых трофозоитов ядра делятся; образуются многоядерные шизонты (делящиеся формы), дающие новое поколение мерозоитов. Выход мерозоитов из эритроцита сопровождается его разрушением. Цикл развития для *P. malariae* составляет 72 ч, для других видов - 48 ч. В некоторых эритроцитах развиваются мужские (микрогаметоциты) и женские (макрогаметоциты) гамонты, завершающие своё развитие только в организме комара в течение 7-45 сут.

• С наступлением эритроцитарной шизогонии размножение *P. malariae* и *P. falciparum* в печени прекращается, однако у *P. vivax* и *P. ovale* часть спорозоитов (гипнозбиты) остаётся в гепатоцитах, образуя «дремлющие» очаги, дающие отдалённые рецидивы.

Патогенез и клинические проявления

Проявления малярии обусловлены массовой гибелью эритроцитов, инфицированных паразитами. *Ведущий симптом заболевания - лихорадка* (обусловленная реакцией организма на поступление в кровь патологически изменённого белка эритроцитов, паразитов и их метаболитов). Главные патогенетические механизмы - гемолиз, анемия, гиперкоагуляция (вплоть до образований тромбов и кровоизлияний) и микроциркуляторные нарушения. Длительность инкубационного периода малярии варьирует от 6-40 сут до 6 мес и даже нескольких лет. Продромальный период (проявляющийся недомоганием, слабостью, головной болью) составляет 2-3 сут. В большинстве случаев типичным правильно чередующимся приступам предшествует лихорадка неправильного типа (инициальная лихорадка). Лихорадочный приступ характеризуется появлением озноба и повышением температуры тела до 38-41 °С, затем наступает обильное потоотделение с последующим критическим падением температуры. С 3-4-го дня болезни появляется гепатоспленомегалия. Большую опасность представляют злокачественные формы малярии: церебральная форма (с появлением признаков менингизма, коматозным состоянием), черноводная лихорадка (гемоглобинурическая форма с массивным внутрисосудистым гемолизом, выраженной желтухой и поражением почек), алгидная форма (с развитием инфекционно-токсического шока). Одно из частых осложнений малярии - разрыв селезёнки.

Микробиологическая диагностика

Основу микробиологической диагностики составляет микроскопия препаратов крови (толстой капли и мазка), окрашенных по Романовскому-Гимзе (пригодна капиллярная и венозная кровь). Некоторые дифференцирующие признаки малярийных плазмодиев в мазке периферической крови представлены в табл. 37-1. Для экспресс-диагностики проводят микроскопию крови в толстой капле (препараты окрашивают без фиксации). При всех формах малярии, кроме тропической, в крови обнаруживают все стадии возбудителя, а при неосложнённой тропической - лишь юные перстневидные шизонты, а через 8-10 сут и серповидные гаметоциты (рис. 37 вклейки). Возбудители трёхдневной малярии вызывают деформации клеток крови (рис. 38 вклейки). Методы серологической идентификации (РИФ, ИФА) применимы лишь со второй недели заболевания. Большие перспективы имеют ДНК-зонды, позволяющие выявить специфические последовательности нуклеотидов в ДНК плазмодиев.

Лечение и профилактика

Препараты выбора - производные 4-аминохинолина (хлорохин, гидроксихлорохин), 8-аминохинолина (примахин), хинин, пириметамин, сульфаниламиды и др. Эффективные средства вакцинопрофилактики отсутствуют. Их замещают химиопрофилактикой (хлорохин, фансидар, примахин). Большое значение имеют уничтожение мест вылода комаров и средства индивидуальной защиты (репелленты, сетки и др.).

Возбудитель токсоплазмоза

Токсоплазмоз - хроническая протозойная инфекция, проявляющаяся поражениями нервной системы, печени, селезёнки, скелетных мышц и миокарда. Возбудитель - *Toxoplasma gondii*. Впервые возбудителя выделили Ш Никбль и Л. Мансб (1908) у грызунов гунди (*Stenodactylus gundi*). *T. gondii* - внутриклеточный паразит длиной 4-7 мкм, напоминающий дольку апельсина или вытянутую луковицу [от греч. *toxon*, лук, + *plasma*, имеющий форму]. По Романовско-му-Гимзе цитоплазма токсоплазм окрашивается в голубой цвет, ядро - в красно-фиолетовый. Заражение человека происходит алиментарным путём при проникновении ооцист

или тканевых цист (при употреблении сырых или полусырых мясных продуктов, невымытых овощей и фруктов), реже через кожу (при разделке туш, работах с лабораторным материалом) или трансплацентарно. Заболевание распространено повсеместно, инфицированность населения разных стран составляет 4-68%. *Первичные и основные хозяева - домашние кошки и прочие представители семейства кошачьих. Промежуточные хозяева - человек, многие дикие и домашние животные и птицы.*

Жизненный цикл

Жизненный цикл состоит из стадий полового (гаметогония) и бесполого (шизогония, эдодиогения, спорогония) размножения. Половым путём токсоплазмы размножаются в организме кошачьих; бесполом путём - как у основных, так и промежуточных хозяев. В организме любого теплокровного животного токсоплазмы могут достигать стадии тканевых псевдоцист, в

которых бесполом путём образуются цистозиты (мерозби-

ты). Первичное заражение кошачьих происходит при поедании мяса промежуточных хозяев. Паразиты проникают в клетки кишечника и превращаются в трофозоиты, размножающиеся бесполом путём. В клетках слизистой оболочки кишечника также происходит половое размножение паразита. Размножившиеся цистозиты разрушают эпителиальные клетки и проникают в подлежащие слои кишечной стенки, где и трансформируются в гаметоциты. После слияния разнополюх гаметоцитов образуется зигота-ооциста - округлое образование с плотной бесцветной двухслойной оболочкой диаметром 9-14 мкм. Из организма основных хозяев ооцисты выделяются с испражнениями. Они хорошо сохраняются в почве, при их заглатывании происходит заражение промежуточных хозяев. Из ооцист выходят спорозиты, активно поглощаемые макрофагами, но фагоцитоз носит незавершённый характер, благодаря чему спорозиты диссеминируют по лимфотоку. В цитоплазме макрофагов начинается первый этап шизогонии. На более поздних этапах шизогонии макрофаги погибают, и высвободившиеся паразиты (тахизби-ты) инвазируют клетки организма (инвазии подвержены любые ядродержащие клетки).

- В острой стадии инфекции в инфицированных клетках образуются псевдоцисты в виде скоплений токсоплазм. При их разрушении паразиты инвазируют соседние клетки, и происходит повторение цикла. *Паразитемия развивается только в острой стадии.*

- При хронических процессах возбудитель образует истинные цисты с плотной оболочкой (средний размер 100 мкм). Каждая циста содержит более сотни паразитов (брадизбиты), расположенных так плотно, что на препаратах видны одни ядра. В организме цисты сохраняются годами и десятилетиями. Эта фаза конечная для паразита в организме всех животных, исключая окончательного хозяина, в котором завершается жизненный цикл.

Патогенез и клинические проявления

Проникновение токсоплазм в регионарные лимфатические узлы приводит к развитию воспалительно-гранулематозного процесса. Затем возбудитель гематогенно диссеминирует в различные органы. Воспалительные и дегенеративные изменения в тканях связаны как с непосредственным действием паразитов на клетки, так и с их метаболитами и вызываемой ими сенсibilизацией организма. Внутриутробное инфицирование при гематогенном заражении плода приводит к различным поражениям в зависимости от сроков беременности и массивности инвазии. Инкубационный период составляет 3-14 сут. *Большинство случаев токсоплазмоза*

протекает бессимптомно. На характер проявлений существенно влияет общее состояние организма.

- У лиц без сопутствующих заболеваний токсоплазмоз может проявляться умеренной лимфаденопатией (обычно шейных лимфатических узлов). Прочие проявления - фарингит, лихорадка, сыпь, гепатоспленомегалия и атипичный лимфоцитоз. Часто заболевание напоминает инфекционный мононуклеоз. В редких случаях наблюдают менингоэнцефалит, пневмонию, хориоретинит или эндокардит.

- У лиц с иммунодефицитами (в том числе СПИДом) заболевание приобретает тяжёлый, преимущественно фатальный характер. Наиболее часто происходит активизация латентной инфекции на фоне приёма иммунодепрессантов. У подобных пациентов острое заболевание может приводить к некротизирующему энцефалиту, эндокардиту и пневмониям. Наиболее частое и грозное осложнение - энцефалит (90% всех летальных исходов при токсоплазмозе).

Врождённый токсоплазмоз. При заражении беременной женщины возбудитель проникает в плод через плаценту. В результате плод либо погибает (выкидыш, мертворождение), либо рождается с симптомами острого врождённого токсоплазмоза (интоксикация, лихорадка, желтушность кожных покровов, поражения печени, селезёнки, лимфатических узлов и ЦНС). Нарушения более выражены при заражении в первый триместр беременности.

Микробиологическая диагностика

При подозрении на токсоплазмоз исследуют кровь, СМЖ, пунктаты лимфатических узлов, остатки плодных оболочек, а также трупный и биопсийный материалы.

- К результатам микроскопии следует относиться с осторожностью, так как необходимо отличать острую инфекцию от латентной хронической. Мазки и срезы окрашивают по Романовскому-Гимзе или Райту (рис. 40 вклейки).

- Выявление *T. gondii* в тканях мозга осуществляют электронной микроскопией либо различными иммунофлюоресцентными методами.

- Возможно выделение токсоплазм из биоптатов и биологических жидкостей заражением 7-8-суточных куриных эмбрионов или клеток HeLa.

- Наибольшую ценность имеет выделение токсоплазм от животных, заражённых клиническим материалом. Для этого мышам, хомякам или кроликам внутрибрюшинно или интрацеребрально вводят кровь лиц, подозрительных на наличие токсоплазм. После внутрибрюшинного заражения образуется экссудат, содержащий большое число паразитов. После внутримозгового заражения животные обычно погибают (в органах ЦНС находят большое количество цист и псевдоцист с токсоплазмами).

- АТ к токсоплазмам выявляют с помощью РСК, РПГА, РИФ, ИФА и латекс-агглютинации.

- Высокоспецифична и чувствительна проба Сэйбина-Фельдмана, основанная на способности специфических АТ модифицировать клеточную мембрану, в результате чего цитоплазма паразита не окрашивается щелочным метиленовым синим после совместной инкубации сыворотки больного с токсоплазмами. В отсутствие АТ токсоплазмы круглые и окрашиваются в тёмно-синий цвет.

- Наиболее доступный способ диагностики - кожная проба с токсоплазмином. Проба положительна с 4-й недели заболевания и сохраняется в течение многих лет. Положительный результат свидетельствует лишь о заражении в прошлом и указывает на необходимость более тщательного обследования.

Лечение и профилактика

Пациенты с нормальным иммунным статусом и отсутствием клинических проявлений не нуждаются в специфическом лечении. Пациенты с тяжёлыми формами, глазными поражениями или иммунодефицитами, а также беременные женщины нуждаются в проведении курса терапии. Препараты выбора - сульфаниламиды и пириметамин, применяемые комбинированно. Для профилактики всех форм токсоплазмоза важно соблюдать правила личной гигиены и правила содержания кошек. Особенно тщательно меры предосторожности следует соблюдать беременным женщинам, пациентам с иммунными расстройствами и медицинскому персоналу, контактирующему с инфицированным материалом.

САРКОДОВЫЕ

Саркодовые [от лат. *sa^{des}*, мясистый] представлены наиболее примитивными простейшими, более известными как амёбы [от греч. *amo[^]*, изменение]. Большинство видов - свобод-ноживущие организмы, но некоторые амёбы более или менее постоянно обитают в организме человека и животных (виды *Entamoeba*, *Endolimax*, *Iodamoeba*, *Dientamoeba*). Среди патогенных саркодовых наиболее известна дизентерийная амёба.

Возбудитель амёбной дизентерии

Амёбная дизентерия (амебиаз) - дизентериеподобное заболевание с характерным частым водянистым стулом, иногда с примесью крови и слизи, болями в животе, тенезмами, лихорадкой и дегидратацией. Возбудитель - *Entamoeba histolytica*; впервые его выделили Ф.А.Лёш (1875) и Ф. Шаудин (1875). *Резервуар и источник инфекции - больной человек; передача заболевания происходит фекально-оральным путём* (амебиаз возникает лишь после заглатывания цист паразита). Основную эпидемическую опасность представляют цистоносители, так как вегетативные формы, выделяемые больными, погибают в верхних отделах пищеварительного тракта. Ежедневно носители выделяют 8-45 млн цист. Заболевание распространено в тропических и субтропических регионах, но может возникать на Кавказе и в Средней Азии.

Морфология

E. histolytica существует в различных формах. От прочих амёб, обитающих в организме человека, возбудитель отличается размерами, цитоплазматическими включениями и свойства-

ми ядра. *Морфологически выделяют инвазив-ные* (большая вегетативная и тканевая) *и не-инвазивные формы.*

Неинвазивная просветная форма

(*forma minuta*) - основная форма существования *E. histolytica*, выявляемая у больных хроническим амебиазом или реконвалесцен-тов. *У носителей или больных острой формой её не выявляют.* Для идентификации возбудителя необходимо исследование образцов, полученных после глубоких промываний, или обследование последней порции испражнений после приёма

слабительных средств. Иногда цитоплазма может содержать бактерии, но не эритроциты. Движение замедленное, ложноножки мелкие. *E. histolytica* образует цисты.

Инвазивная большая вегетативная форма (*forma magna*) проникает в стенку толстой кишки с развитием специфических поражений. Эту форму выявляют на гистологических срезах, реже - в жидких испражнениях при распаде язв. Форма представлена крупными (2060 мкм) клетками с чётко различимыми экто- и эндоплазмой. От прочих амёб возбудители отличаются толчкообразным поступательным движением. При движении образуют «пальцеобразные» ложноножки (псевдоподии). У живых особей ядро не видно (у погибших оно визуализируется в виде кольцевидных скоплений блестящих зёрен). Инвазивная форма *E. histolytica* часто содержит эритроциты на разных стадиях переваривания в эндоплазме, в связи с чем инвазивные формы также известны как гемо-, или эритрофаги (рис. 37-2). Обычно возбудитель выделяют в свежих испражнениях при остром амёбиазе.

Цисты - неподвижные круглые (диаметр 8-15 мкм) прозрачные образования. Иногда в них заметны блестящие палочковидные или хроматоидные тельца (скопления РНК и белков). Для уточнения видовой принадлежности цисты окрашивают раствором Люголя, выявляя четыре хорошо окрашенных ядра в виде колец (типичный признак цист *E. histolytica*).

Жизненный цикл

Просветные формы амёбы обитают в верхнем отделе толстой кишки, питаются бактериями и клеточным детритом. Пассивно передвигаясь с кишечным содержимым, организмы проникают в дистальные отделы кишечника и при определённых условиях (обезвоживание, нарушение микробного ценоза, изменение pH) образуют цисты. С кишечным содержимым цисты попадают в воду и с ней проникают в организм человека. В тонкой кишке оболочка цисты растворяется, каждое ядро делится, и образуется восьмиядерная амёба, дающая начало восьми дочерним особям.

Патогенез поражений

Вирулентность возбудителя нестабильна. Вирулентные штаммы *E. histolytica* проникают в подслизистую оболочку кишечника (прежде всего в области слепой и верхней ободочной кишок), нарушая межклеточные взаимодействия, а также выделяя некротоксин, разрушающий эпителиальные клетки кишечника и вызывающий коагуляционный некроз прилежащих тканей. Проникновение амёб в микроциркуляторное русло вызывает серозно-фибринозное воспаление, ишемию и некроз отдельных участков подслизистой оболочки. Некротизированные ткани распадаются, образуя кратерообразные язвы с подрытыми краями (первичные поражения). Сообщение с просветом кишечника приводит к их вторичному бактериальному инфицированию. Из лимфо- и кровотока возбудитель может диссеминировать в печень и другие органы.

Клинические проявления

Общие симптомы амёбиаза аналогичны таковым при дизентериеподобных синдромах и язвенном колите. Характерны сильные боли в животе, лихорадка и диарея с примесью крови и слизи (диарея носит перемежающийся характер). Отличительный признак - жидкий стул, полностью окрашенный кровью («малиновое желе»), в отличие от бактериальных дизентерий, где кровь в каловых массах обнаруживают в виде отдельных скоплений. Наиболее частые осложнения амёбиаза - массивное кишечное кровотечение и перфорация стенки кишки. Примерно у 5% больных развивается абсцесс печени; он может быть первичным и абактериальным (содержатся только амёбы без примеси бактерий) либо вторично инфицированным (содержать бактерии, попавшие вторично или занесённые амёбами).

Микробиологическая диагностика

Заболевание диагностируют по наличию *E. histolytica* в испражнениях или аспиратах, полученных при ректороманоскопии. При приготовлении гистологических препаратов следует произвести быструю фиксацию мазков, что позволяет сохранить хрупкие трофозоиты возбудителя. Наиболее пригодна окраска по Хайденхайну. Характерную подвижность вегетативных форм выявляют в нативных препаратах. При выявлении цист *E. histolytica* наилучшие результаты получают при применении раствора Люголя (табл. 37-2). *E. histolytica* от прочих простейших позволяют отличить морфологические признаки (табл. 37-3). Специфические АТ можно выявлять в РГА и РИФ; методы наиболее пригодны в диагностике внекишечных поражений – более чем у 90% пациентов выявляют высокие титры АТ. У бессимптомных носителей АТ к *E. histolytica* обычно не обнаруживают.

Лечение

Препараты выбора - метронидазол, хлорохин, мономицин, тетрациклин, эметин, осарсол, энтеросептол. В тяжёлых случаях следует проводить коррекцию водно-электролитного баланса (инфузионная терапия) и переливание донорской крови.

Возбудитель первичного амёбного менингоэнцефалита

Возбудитель первичного амёбного менингоэнцефалита - свободноживущая *Naegleria fowleri*, обитающая в пресноводных озёрах, прудах, в сточных водах и влажной почве. Мелкие трофозоиты размножаются бинарным делением. В некоторых случаях у трофозоитов происходит формирование двух полярных жгутиков. Иногда неглерии образуют цисты. Случаи первичного амёбного менингоэнцефалита зарегистрированы в США, Австралии, Африке, Великобритании и Чехословакии. Основной путь инфицирования - купание или занятия водными видами спорта на озёрах (особенно болотистых и мелких). С помощью серологических исследований была выявлена широкую распространённость бессимптомного носительства неглерий в носоглотке. Пик заболеваемости приходится на летние месяцы. В последнее время возбудитель всё чаще выявляют в бассейнах (в том числе с хлорируемой водой) и воде из термальных источников, что связано с высокой устойчивостью цист. Попав в полость носа, возбудитель внедряется в слизистую оболочку и быстро там размножается, вызывая ринит. Затем амёбы проникают через носослёзный канал, слизистую оболочку носа и решётчатую пластинку решётчатой кости в органы ЦНС, вызывая тяжёлое геморрагическое воспаление обонятельных луковиц. По ходу обонятельного нерва возбудитель диссеминирует далее в ЦНС, вызывая развитие воспалительных реакций в мозговых оболочках и тканях мозга. Заболевание начинается внезапно, отличается бурным течением и обычно заканчивается смертью пациента. Первые симптомы (головная боль, насморк, тошнота) развиваются уже через 2 сут; летальный исход обычно наступает на 10-е сутки.

Микробиологическая диагностика

Клинические проявления не позволяют отличить протозойные поражения от прочих менингитов. СМЖ обычно содержит большое количество нейтрофилов. Тщательное изучение нативных препаратов позволяет выявить возбудитель. Особенность неглерий - увеличение размеров до 30-40 мкм при движении с образованием одной широкой ложноножки. В воде и СМЖ неглерии могут образовывать жгутиковые формы, характеризующиеся овальным или вытянутым телом, ядром, смещённым в передний конец, на котором расположено два жгутика. Диагноз подтверждают результаты посева СМЖ на питательные среды и микроскопии мазков СМЖ, окрашенных флюоресцирующими красителями.

Лечение

Некоторый эффект даёт назначение амфотерицина В, но большинство случаев заканчивается летально.

Возбудитель амёбных кератитов и вторичных менингоэнцефалитов

Возбудители - свободноживущие амёбы родов *Acanthamoeba* (*A. culbertsoni*, *A. castellanii*, *A. polyphaga* и *A. astronyxis*) и *Hartmannella*. Акантоамёбы и хартманеллы обитают в почве, канализационных стоках и пресной воде. Средний размер трофозоитов 10-50 мкм; движения медленные, во время передвижения заметно разделение на экто- и эндоплазму. В эндоплазме видны вакуоли и ядро, напоминающее пузырёк воздуха. Ядро амёб окружено тонкой ядерной мембраной; центральная кариосома круглая и большая. Цисты меньше трофозоитов, окружены неправильной внешней эктоцистой, придающей ей внешнее сходство с трофозоитами. При пересыхании водоёмов цисты переносятся с ветром и могут попадать в воздухоносные пути человека. Проникнув в ткани организма человека, возбудитель вызывает развитие локализованных гранулематозных поражений. Заболевания проявляются некротическими поражениями кожи, роговицы и внутренних органов; также возможны молниеносные и тяжело протекающие амёбные менингоэнцефалиты. Наиболее часто заболевание возникает у ослабленных лиц и пациентов с иммунодефицитами. Пути инфицирования неизвестны; зарегистрированы случаи заноса из почвы с грязными руками.

- Поражения глаз развиваются после купания в загрязнённой воде; при наличии микротравм (особенно у лиц, пользующихся контактными линзами) возбудитель внедряется в ткань роговицы, вызывая кератит и образование язв. В нелеченных случаях наступает необратимая потеря зрения.

- Возбудитель может гематогенно диссеминировать в ЦНС из первичных поражений (кожа и дыхательные пути). Амёбы вызывают развитие гранулематозного энцефалита и диссеминированные поражения. Типичное поражение - диффузный некротический гранулематозный энцефалит. Динамика процесса более продолжительна по сравнению с первичными амёбными поражениями, вызванными *N. fowleri*. Выздоровление наступает спонтанно; среди пациентов с нарушениями функций иммунной системы часто регистрируют летальные случаи.

Микробиологическая диагностика

Паразитов выявляют микроскопией СМЖ, содержащей большое количество моноцитов. Акантоамёбы покрыты мелкими шиповатыми ложноножками, вытягивающимися при движении с образованием 2-3 пальцевидных ложноножек. Возбудитель также можно обнаружить в биоптатах, полученных из поражений кожи и роговицы.

Лечение

Антибактериальные препараты не оказывают влияния на жизнедеятельность возбудителя. Доказана чувствительность возбудителя к сульфаниламидам, ко-тримоксазолу, полимиксину и флуцитозину *in vitro*, но их эффективность *in vivo* сомнительна в связи со способностью паразитов быстро образовывать цисты, резистентные к химиопрепаратам.

ЖГУТИКОНОСЦЫ

Особенность этих микроорганизмов - наличие одного или нескольких жгутиков. Принципиальное отличие жгутиков простейших от жгутиков бактерий - наличие в цитоплазме у основания жгутика особого органоида-кинетопласта, вырабатывающего энергию для его движения. У некоторых видов движение обеспечивает ундулирующая мембрана - тонкая перепонка, образованная продольным соединением одного из жгутиков с телом простейшего. Жгутиковые включают большое количество представителей, паразитирующих в организме человека, однако патогенными признано лишь четыре вида.

Возбудитель трихомоноза

Трихомоноз (трихомониаз) - венерическое заболевание, проявляющееся комплексным воспалительным поражением различных участков мочеполовой системы. Возбудитель - *Trichomonas vaginalis*, впервые его выделил А. Донне (1837). Трихомонады выделяют из влагалища и мочеиспускательного канала женщин, мочеиспускательного канала и предстательной железы мужчин (человек - единственный природный хозяин).

В организме человека также обитают трихомонады-комменсалы. В полости рта - *T. tenax* (*T. elongata*), выделяемая из зубных камней и кариозных дефектов зубов; в толстом кишечнике - *T. hominis*, выделяемая при диспептических расстройствах. Трихомоноз распространён повсеместно. До 25% женщин, ведущих активную половую жизнь, инфицированы трихомонада-ми. Риск заражения коррелирует с частотой половых контактов. Частота трихомоноза у мужчин и женщин одинакова.

Морфология и культуральные свойства

Возбудитель имеет грушевидное тело 14-30 мкм длиной, вытянутое ядро, смещённое в передний конец, и вакуолизованную цитоплазму (рис. 37-3). На переднем конце расположены четыре жгутика и ундулирующая мембрана, доходящая только до середины тела. Сквозь всё тело проходит осевая нить - аксостиль, выступающая на заднем конце в виде шипика. *T. vaginalis* можно культивировать на питательных средах, на клеточных культурах и куриных эмбрионах. Наиболее пригодная среда для культивирования - печёночная среда с цистеином, пептоном и мальтозой. Трихомонады предпочитают анаэробные условия, pH 5,56,0, температуру культивирования 35-37 °С.

Патогенез и клинические проявления

Попав на слизистую оболочку мочеполовых путей, *T. vaginalis* вызывает воспалительную реакцию. Клинически характерны зуд, жжение, дизурические расстройства, боли при половых актах. Выраженность симптомов варьирует в течение недель и месяцев. Примерно в 75% случаев «свежего» трихомоноза наблюдают серозно-гнойные выделения. У женщин *T. vaginalis* вызывает острый или подострый вагинит. У мужчин обычны поражения мочеиспускательного канала и предстательной железы, иногда эпидидимит. Хронизация процесса почти в 100% случаев приводит к развитию хронического простатита.

Микробиологическая диагностика

Наиболее распространённый метод - микроскопия нативных либо окрашенных метиленовым синим или по Романовскому-Гимзе мазков из мочеиспускательного канала, влагалища и сока предстательной железы. Определённые сложности представляет идентификация неподвижных паразитов, находящихся внутри эпителиальных клеток. Один из основных признаков внутриклеточных форм - ромбовидное ядро («косточка сливы»). Отрицательные результаты микроскопии не следует рассматривать как окончательные, обследование необходимо повторить через 2-3 нед. Для оптимизации диагностики желателен посев выделений или секрета предстательной железы на питательные среды.

Лечение

Препарат выбора - метронидазол. Препарат назначают внутрь, внутривенно или внутривагинально. Эффективность химиотерапии достигает 95%. Основное условие эффективного лечения - одновременное лечение обоих партнёров.

Возбудитель лямблиоза

Лямблиоз (гиардиоз) - паразитарная инвазия, протекающая в виде латентного паразитоносительства и манифестных форм, преимущественно в виде нарушений функций кишечника.

Возбудитель - *Giardia lamblia* (*Lambliа intestinalis*); его впервые открыл Д.Ф. Лямбль (1859). Лямблии распространены повсеместно, особенно в регионах с низкой санитарной культурой и областях, где соблюдение правил гигиены затруднено. *Резервуар и источник инфекции - человек, обезьяны и свиньи; основной механизм заражения - фекально-оральный* (через загрязнённые руки, игрушки, пищу и воду). Инвазированные лямблиями лица выделяют с испражнениями до 18 млрд цист в сутки.

Морфология

Трофозоиты лямблий имеют грушевидную форму; длина 9-21 мкм, ширина 5-15 мкм, толщина 2-4 мкм. Микроорганизмы имеют два ядра, придающие паразиту (в сочетании с парабазальным телом) вид «лица с гримасничающим ртом», особенно хорошо видным на окрашенных препаратах (рис. 37-4). Микроорганизмы передвигаются с помощью четырёх пар жгутиков, расположенных сверху, снизу, сзади и на боковых поверхностях. Движение характерное - гииардии постоянно переворачиваются боком за счёт вращательного движения вокруг оси тела; иногда движение напоминает полёт падающего листа. В верхнепереднем отделе имеется присасывательный диск, окружённый фибриллами, для прикрепления к кишечному эпителию. Пищу гииардии всасывают всей поверхностью тела, а размножаются продольным делением. При попадании в толстый кишечник происходит их дегидратация, в результате чего они трансформируются в неподвижные, овальные цисты длиной 10-14 мкм. Оболочка гииардий толстая, часто как бы отслоена от самой цисты. Этот признак помогает отличать их от цист прочих простейших. Зрелые цисты содержат четыре ядра, присасывательный диск, четыре парабазальных тела, особенно хорошо видимых при окраске раствором Люголя.

Жизненный цикл

Трофозоиты обитают в верхних отделах тонкой кишки, где с помощью присасывательного диска прикрепляются к эпителию кишечных ворсинок. В жёлчных протоках они быстро погибают под действием жёлчи. Частое их обнаружение при дуоденальном зондировании связано с попаданием гииардий из двенадцатиперстной кишки. Вегетативные формы с испражнениями не выделяются, но при диарее их можно обнаружить в свежих каловых массах. Попадая в неблагоприятные условия нижних отделов кишечника, они образуют цисты, выделяемые с испражнениями.

Патогенез поражений

Вероятность развития патологических проявлений зависит от вирулентности возбудителя, инфекционной дозы, образования соляной кислоты в желудке и иммунного статуса индивидуума. Попадание около десяти цист в организм вызывает заболевание. В организме человека лямблии размножаются в огромных количествах (более 1 млн паразитов на 1 см² слизистой оболочки), нарушая пристеночное пищеварение и двигательную активность тонкой кишки. Происходит ухудшение всасывания жиров, углеводов, витаминов С и В₁₂. Механизмы участия паразита в нарушениях всасывания до конца не изучены; возможно, что скопления больших количеств гииардий на эпителии ЖКТ приводит к разрушению кишечных микроворсинок.

Клинические проявления

Для лямблиоза характерен синдром мальабсорбции (нарушения всасывания), проявляющийся диареей, метеоризмом, болями в животе (иногда в правом подреберье), усталостью, отёками, апатией, снижением массы тела, пониженным аппетитом, бледностью, склонностью к кровотечениям, парестезиями и мышечными подёргиваниями.

Микробиологическая диагностика

Микробиологическая диагностика основана на обнаружении цист, а при диарее - и трофозоитов в испражнениях. Микроскопируют нативные препараты или препараты, окрашенные раствором Люголя. При хроническом гиардиозе необходимо проводить еженедельные контрольные обследования. Гиардий можно культивировать на искусственных средах либо выявлять их Аг (РИФ), но на практике эти методы не применяют, так как существуют более простые способы диагностики.

Лечение

Препараты выбора - метронидазол и фуразолидон. Эффективность метронидазола составляет 70-95%. Эффективность фуразолидона ниже, но его можно назначать в виде жидкой суспензии детям.

Возбудитель лейшманиоза

Лейшманиозы - группа протозойных инфекций, проявляющихся интоксикацией, лихорадкой, поражениями висцеральных органов или покровных тканей. Возбудители - простейшие рода *Leishmania*; все его виды - облигатные внутриклеточные паразиты млекопитающих. Впервые возбудителя открыл У. Лейшмен (1900); в честь него паразиты и получили своё название. Традиционно выделяют четыре типа лейшманиозов: висцеральный (кала-азар), кожный Старого Света, кожный Нового Света, а также кожно-слизистый. Каждый тип определён клинически и географически; этиологические агенты морфологически тождественны, передачу возбудителя осуществляют различные виды москитов. Лейшманиозы - трансмиссивные инфекции. Резервуар возбудителя - инфицированные люди и различные млекопитающие (собаки, шакалы, лисицы, крысы и др.); переносчики - москиты родов *Phlebotomus* и *Lutzomyia*. После выздоровления развивается пожизненная штаммоспецифическая невосприимчивость. При окраске по Романовскому-Гимзе цитоплазма голубовато-сиреневая, ядро и кинетопласт - красно-фиолетовые. Виды рода *Leishmania* во многом морфологически идентичны, что затрудняет их классификацию. В настоящее время выделяют четыре группы возбудителей.

Возбудители

Различают следующие группы возбудителей. Группа *L. tropica* (*L. tropica* подвид *tropica* [*L. tropica minor*], *L. tropica* подвид *major*, *L. aethiopica*) - возбудители кожных лейшманиозов Старого Света (Африка, Азия). Впервые подробное описание *L. tropica* сделал отечественный врач П.Ф. Боровский (1897).

Группа *L. mexicana* (*L. mexicana* подвид *mexicana*, *L. mexicana* подвид *amazonensis*, *L. mexicana* подвид *pifanoi*, а также *L. mexicana* подвид *venezuelensis*, *L. mexicana* подвид *garnhami*, *L. peruviana* и *L. uta*) - возбудители кожных и диффузных кожных лейшманиозов Нового Света. Группа *L. braziliensis* (*L. braziliensis* подвид *braziliensis*, *L. braziliensis* подвид *guyanensis*, *L. braziliensis* подвид *panamensis*) - возбудители кожно-слизистых лейшманиозов Нового Света.

Группа

L. donovani (*L. donovani* подвид *donovani*, *L. donovani* подвид *infantum*, *L. donovani* подвид *archibaldi*) - возбудители висцеральных лейшманиозов Старого Света. Первое описание *L. donovani* сделали У. Лейшмен (1900) и Ч. Донован (1903).

Морфология

В ходе своего развития лейшмании проходят безжгутиковую и жгутиковую стадии (рис. 37-5).

Жгутиковые формы (промастиготы) подвижны, развиваются в теле насекомого хозяина-переносчика (москита). Тело веретенообразное, длиной 10-20 мкм. Кинетопласт имеет вид короткой палочки и расположен в передней части тела; жгутик длиной 15-20 мкм. Размножаются продольным делением (рис. 37-5).

Безжгутиковые формы (амастиготы) - тканевые, внутриклеточно паразитируют в клетках млекопитающих. Клетки овальные, длиной 2-6 мкм, содержат кариосому и ядро. Ядро округлое, занимает 1/3 клетки. Размножаются простым делением.

Жизненный цикл

Москиты-переносчики заражаются при сосании крови на больных людях и животных. В первые же сутки заглоченные амастиготы превращаются в кишечнике в промастиготы, начинают делиться и через 6-8 сут скапливаются в глотке и хоботке москита. При укусе человека или животного возбудитель проникает в ранку и внедряется в клетки кожи или внутренних органов (в зависимости от вида лейшманий). Определённая роль в диссеминации возбудителя принадлежит мононукле-арным фагоцитам. После инвазии в клетки млекопитающих промастиготы превращаются в амастиготы. Размножение амастигот вызывает развитие острой воспалительной реакции.

Кожный лейшманиоз старого света

Заболевание эндемично в различных регионах Малой и Средней Азии, где распространено под названиями пендйнская или сартская язва, алеппский, багдадский, делийский или восточный фурункул. Выделяют антропоноз-ный, или городской (болезнь Боровского), вызываемый *L. tropica* подвид *major*, зоонозный, или пустынный, вызываемый *L. tropica* подвид *tropica* и *L. aethiopica*, лейш-маниозы. Лейшманиоз - эндемичная инфекция с наибольшей заболеваемостью в осенние месяцы. Эпидемиологически характерно ползучее распространение, постепенно охватывающее отдельные группы населения. Природный резервуар - мелкие грызуны (мыши, крысы, песчанки), переносчики - москиты рода *Phlebotomus* (*P. papatasi* и др.). Инкубационный период длится от 2 нед до 5 мес. По окончании инкубационного периода на коже образуется изъязвляющийся узел, достигающий размеров лесного ореха. Возможно формирование дочерних поражений. В зависимости от возбудителя наблюдают формирование «сухих» (*L. tropica* подвид *major*) или «мокрых» (*L. tropica* подвид *tropica*) безболезненных язв. Через 3-12 мес наступает спонтанное излечение с образованием грубого пигментированного шрама («печать дьявола»). Особая форма - рецидивирующий (волчаночный) лейшманиоз (возбудитель - *L. tropica* подвид *tropica*), характеризующийся появлением частичных заживающих очагов поражения и интенсивным образованием гранулём. Процесс длится годами без признаков излечения.

Кожный диффузный лейшманиоз Нового Света

Возбудители заболевания - *L. mexicana* подвид *amazonensis*, *L. mexicana* подвид *pifanoi*, *L. mexicana* подвид *venezuelensis* и *L. mexicana* подвид *garnhami*. Переносчики инфекции - москиты рода *Lutzomyia*. Клинические проявления лейшманиозов аналогичны таковым при азиатских и африканских типах кожного лейшманиоза. Исключение составляет «каучуковая язва», вызываемая *L. mexicana* подвид *mexicana* (переносчик - москит *Lutzomyia olmeca*). Заболевание регистрируют в Мексике, Гватемале и Белизе у сборщиков каучука (чиклёр) и лесорубов. Характерно образование безболезненных неметастизирующих хронических (существующих несколько лет) язв, обычно локализованных на шее и ушах. Как правило, наблюдают грубые деформации ушных раковин («ухо чиклёр»).

Кожно-слизистый лейшманиоз Нового Света

Кожно-слизистый лейшманиоз Нового Света - заболевание, эндемичное для зоны дождевых лесов Центральной и Южной Америки, где оно также известно как эспундия, носоглоточный лейшманиоз или болезнь Брёды. Возбудители заболевания - *L. braziliensis* подвид *braziliensis*, *L. braziliensis* подвид *guyanensis*, *L. braziliensis* подвид *panamensis*. В отдельную группу возбудителей выделяют *L. peruviana* и *L. uta*, вызывающие поражения кожи и слизистых оболочек в эндемичных высокогорных районах. Резервуар инфекции - крупные лесные грызуны. Переносчики заболевания - москиты рода *Lutzomyia*. Первичные поражения напоминают таковые при кожном лейшманиозе, появляются через 1-4 нед после укуса переносчика. Иногда клинические проявления заканчиваются на этом этапе. В большинстве случаев в течение месяцев и даже лет первичные поражения прогрессируют. Характерны безболезненные деформирующие поражения рта и носа (от 2 до 50% случаев), распространяющиеся на соседние участки. Возможны разрушение носовой перегородки, твёрдого нёба и деструктивные поражения глотки.

Висцеральные лейшманиозы

Висцеральные лейшманиозы - паразитарные болезни, проявляющиеся лимфаденопатией, лейкопенией, анемией, гепатоспленомегалией и развитием вторичных инфекций. Выделяют висцеральный, или общий лейшманиоз (болезнь Лейшмана-Донована, кала-азар, лихорадка дум-дум, лихорадка Ассам, тропическая спленомегалия), вызываемый *L. donovani* подвид *donovani*; восточно-африканский висцеральный лейшманиоз (возбудитель - *L. donovani* подвид *archibaldi*) и средиземноморско-среднеазиатский висцеральный лейшманиоз (детский лейшманиоз), вызываемый *L. donovani* подвид *infantum*. Клинические и эпидемиологические особенности существенно варьируют в зависимости от географии заболеваний. Кала-азар регистрируют на всех континентах, кроме Австралии. Заболевания человека протекают остро и тяжело, с возможными смертельными исходами. Основные резервуары в Евразии и Латинской Америке - грызуны, лисы, шакалы и собаки, в Восточной Индии и Бангладеш - человек. Формирование основного симптомокомплекса происходит через 3-12 мес после заражения. Практически всегда возникает лихорадка неправильного характера и синдром мальаб-сорбции с диареей. Также наблюдают гепатоспленомегалию, лимфаденопатию, анемию, тромбо-цитопению и отёки. У лиц со слабой пигментацией кожи иногда наблюдают сероватые пятна на лице и голове [от фарсы *кала-азар*, чёрная лихорадка].

Микробиологическая диагностика

Материал для исследования при кожных лейшманиозах - соскобы и отделяемое язв, биоптаты тканей и лимфатических узлов; при висцеральных лейшманиозах - биоптаты костного мозга, печени, селезёнки и лимфатических узлов. Окончательный диагноз ставят при обнаружении амастигот в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе. В затруднительных случаях заражают мышей и хомячков исследуемым материалом с последующим выделением чистой культуры. Ею можно засеять агар с дефибринированной кроличьей кровью. В положительных случаях на 2-10-е сутки развиваются промастиготы. При эпидемиологических обследованиях ставят кожно-аллергическую пробу с лейшманином (проба Монтегоро). Серологические реакции (РПГА, РНИФ) недостаточно специфичны.

Лечение и профилактика

Основу лечения составляет проведение химиотерапии (мономицин, солюсурьмин, акрихин, аминохинол). Для предупреждения всех видов лейшманиозов необходимо уничтожать переносчиков, места их выплода, проводить обработку эндемичных очагов ядохимикатами и предпринимать меры предохранения от укусов (репелленты, противомоскитные сетки и т.д.). Для предупреждения зоонозного лейшманиоза проводят уничтожение диких грызунов в районах, прилегающих к населённым пунктам. Профилактика висцеральных лейшманиозов должна включать подворные обходы для раннего выявления заболевших, отстрел бродячих собак и

регулярные осмотры ветеринарами домашних животных. Для профилактики кожных лейшманиозов предложена живая вакцина, которую следует применять не позднее чем за 3 мес до выезда в эндемичный район.

Возбудители трипаносомозов

Все виды рода *Trypanosoma* патогенны для млекопитающих. У животных они вызывают тяжёлые, часто смертельные заболевания - нагану (возбудитель - *T. brucei* подвид *brucei*), сурру (*T. evansi*), случную болезнь лошадей (*T. equiperdum*) и др. У человека возбудители вызывают сонную болезнь и болезнь Шагаса-Круза. Роль мух цеце (*Glossina*) в передаче трипаносом впервые выяснил Д. Брюс, что можно считать решающим открытием в этиологии и эпидемиологии трипаносомозов. В настоящее время выделяют африканский и американский трипаносомозы. Тело трипаносом продолговатое, узкое (15-30x1,3-3,0 мкм), снабжено жгутиком (10-40 мкм) и ундулирующей мембраной (рис. 37-6). Трипаносомы размножаются исключительно бесполом путём - продольным либо множественным делением (шизогония) и проходят сложный цикл развития, связанный с полиморфизмом и переменой хозяев (виды, патогенные для теплокровных). В кишечнике насекомых-переносчиков проходит кри-тидиальная стадия развития паразитов, где они образуют эпимастиготы - вытянутые клетки со жгутиком, расположенным в передней части тела (близко от ядра) и слабо выраженной ундулирующей мембраной. В крови окончательных хозяев проходит трипаносомная стадия, где паразиты образуют трипомастиготы - удлинённые клетки со жгутиком, расположенным сзади и чётко выраженной ундулирующей мембраной. Исключение составляет *T. cruzi*, образующая в организме человека амастиготы (лейшманиальные формы) - небольшие, овальные клетки. Несмотря на наличие блефаропласта, они неподвижны, так как в клетках развита лишь внутриклеточная часть жгутика. По Романовскому-Гймзе цитоплазма трипаносом окрашивается в голубой цвет; ядро, блефаропласт и жгутик - в красный.

Африканские трипаносомозы

Острый родезийский трипаносомоз (восточно-африканская сонная болезнь) вызывает *T. brucei* подвид *rhodesiense*. Возбудителя впервые открыл Г. Фантём (1910). Хронический гамбийский трипаносомоз (западно-африканская сонная болезнь) вызывает *T. brucei* подвид *gambiense*, которую открыл Д. Даттон (1902). Возбудители морфологически и серологически идентичны. Их идентифицируют по биологическим (заражение восприимчивых животных и насекомых-переносчиков) и биохимическим (сбраживание углеводов) признакам.

Эпидемиология

Заболевания регистрируют в странах Западного и Восточного побережья Африки. Резервуар возбудителя гамбийского трипаносомоза - больной человек; переносчики - мухи цеце

(*G. palpalis* и *G. tachinoides*), обитающие около водоёмов. Основной природный резервуар возбудителя родезийского трипаносомоза - мелкие антилопы. Переносчики - мухи цеце (*G. morsitans*, *G. pallipides* и *G. swynnertoni*), обитающие в саваннах Восточной Африки.

Жизненный цикл

T. brucei подвид *gambiense* и *T. brucei* подвид *rhodesiense* попадают в организм человека при укусе мухи цеце, а затем проникают в лимфатическую систему и далее в кровоток. Возбудители размножаются внеклеточно в кровяном русле и в тканях в виде трипомастигот. При сосании крови больного трипомастиготы проникают в организм мух цеце, превращаются в эпимастиготы и размножаются в кишечнике и слюнных железах. Через несколько недель в

организме переносчика происходит скопление дочерних популяций трипомастигот, в результате чего возбудители становятся способны заражать чувствительные организмы.

Клинические проявления

Инкубационный период продолжается 2-3 нед. Для заболеваний характерны паразитемия и диссеминированные поражения. Через 2-3 дня на месте укуса мухи цеце иногда образуется изъязвляющаяся папула (трипаносомидный шанкр). Паразиты бурно размножаются в месте проникновения и диссеминируют в кровотоки. Возможно увеличение регионарных лимфатических узлов, где происходит скопление трипаносом. Циркуляция возбудителя в кровотоке достигает своего пика через 2-3 нед. Пациенты испытывают приступы неправильно интермиттирующей лихорадки со стойкой тахикардией, болезненной лимфаденопатией, кожной сыпью и головной болью. Возможны психические расстройства. Проявления носят циклический характер: после удаления паразитов под действием иммунных механизмов, вызвавших приступ, наступает ремиссия. Рецидивы заболеваний вызваны выходом дочерних популяций, с абсолютно новым набором поверхностных Аг. Установлено, что генетический аппарат трипаносом кодирует появление 22 вариантоспецифических поверхностных Аг у каждого штамма. Поражения, вызванные гамбийской трипаносомой, развиваются медленно, и вовлечение ЦНС наблюдается по истечении нескольких лет после начала заболевания. Родезийская трипаносома вызывает прогрессирующую болезнь с поражениями мозга и миокарда, развивающимися уже через 3-6 нед после начала заболевания. Характерны кома, судороги, острая сердечная недостаточность и сильное истощение, приводящие к смерти больного в течение 6-9 мес. В динамике заболевания развиваются сонливость, тремор конечностей, транзиторные параличи, речь становится невнятной и т.д.

Микробиологическая диагностика

Обследованию подлежат кровь, биоптаты лимфатических узлов и СМЖ. В начальной стадии трипаносом обнаруживают в месте укуса, в крови (родезийский тип) или шейных лимфатических узлах (гамбийский тип). Основным методом диагностики - микроскопия препаратов толстой капли и мазков, окрашенных по Романовскому-Гимзе или Райту. *При поражениях ЦНС трипаносомы исчезают из крови и лимфатических узлов.* При невозможности обнаружить возбудителя при микроскопии исследуемый материал вводят белым мышам или крысам (подкожно или внутримышечно). На 2-3-е сутки в крови можно обнаружить паразитов. Специфические АТ в сыворотке (IgM и IgG) выявляют в РСК и РИФ.

Лечение и профилактика

При отсутствии поражений ЦНС назначают сурамин и пентадион. При поражениях ЦНС применяют сурамин и меларсопрол. Средства иммунопрофилактики отсутствуют. Проводят профилактический приём ЛС, уничтожение мест вылода мух цеце и отстрел инфицированных животных.

Американский трипаносомоз

Американский трипаносомоз известен также как южно-американский трипаносомоз, болезнь Шагаса-Круза. Заболевание протекает остро у детей и носит хронический характер у взрослых; характерны лихорадка и осложнения со стороны ЖКТ и сердечно-сосудистой системы. Возбудитель - *T. cruzi*; его впервые открыл К. Шагас (1909). Переносчики заболевания - клопы-хищ-нецы рода *Triatoma* (*T. dimidiata*, *T. infestans* и *T. megistus*). Особенность жизненного цикла *T. cruzi* - кровяные формы (трипомастиготы) активно циркулируют лишь на ранней стадии; в дальнейшем они появляются спорадически. Для размножения возбудитель обязательно должен проникнуть в клетки теплокровных и образовать амастиготы (рис. 37-7). Критидиальную стадию (стадия эпимастигот) паразит проходит в организме переносчиков. Заболевание

распространено в сельских районах Центральной и Южной Америки. Клопы обычно кормятся ночью, кусая человека чаще в области глаз и губ (отсюда их название «поцелуйные клопы»). Природные резервуары возбудителя - крысы, кошки, собаки, опоссумы, броненосцы и др. В эндемичных районах также выявляют случаи внутриутробного инфицирования и заражения с гемотрансфузиями. В месте проникновения паразитов возникает первичный аффект (шагома).

Клинические проявления

T. cruzi способна инфицировать и разрушать практически все типы ядродержащих клеток. Паразитемия сопровождается лихорадкой, гепатоспленомегалией, лимфаденопатиями, отёками и рецидивирующей сыпью. Через 1-3 нед после укуса развивается инъекция склер, отёки век и регионарная лимфаденопатия. Острые симптомы обычны у детей первого года жизни; в более старших возрастных группах регистрируют хронические формы. Инфекции у новорождённых часто приводят к менингоэнцефалиту с характерными поражениями миокарда и головного мозга.

Хроническую форму американского трипаносомоза наблюдают у взрослых, обычно болевших в детстве. Эта форма проявляется хронической деструкцией внутренних органов. Наиболее типична сердечно-сосудистая патология (аритмии, экстрасистолии). Реже возникает патология ЖКТ, обычно мегаколон (расширение части или всей ободочной кишки с гипертрофией её стенки) и мегаэзофагус (увеличение нижней части пищевода). Иногда преобладают проявления со стороны эндокринной (типа микседемы) и нервной (параличи) систем.

Микробиологическая диагностика

Распознавание острых форм аналогично диагностике африканских трипаносомозов. Поскольку в крови возбудитель присутствует в меньших количествах, то кровь разводят цитратом натрия, центрифугируют с последующей аспирацией верхней части супернатанта. Диагностика хронических форм затруднена и преимущественно основана на клинических, эпидемиологических данных и результатах серологических исследований. В некоторых случаях выращенных лабораторно клопов-хищнецов выкармливают на больном, и в экспериментах исследуют насекомых на наличие паразитов.

Лечение и профилактика

Основу терапии составляют симптоматические средства, так как препараты для специфической химиотерапии отсутствуют. Методы предупреждения заболевания аналогичны таковым при профилактике африканских трипаносомозов.

ИНФУЗОРИИ

Единственная инфузория, патогенная для человека, - ресничная инфузория *Balantidium coli*. Это самое крупное простейшее, паразитирующее на человеке. Возбудитель выделил П. Мальмстен (1857); его этиологическую роль доказал Н.С. Соловьёв (1910). Балантидиаз (инфузорная дизентерия) - протозойная инфекция толстой кишки с развитием диареи и изъязвлений кишечной стенки. Трофозоит *B. coli* имеет вытянутое, яйцеобразное, тело (30-150x30-100 мкм); передвигается с помощью ресничек, нередко вращаясь вокруг своей оси. Возбудитель питается различными пищевыми частицами, включая грибы, бактерии и форменные элементы крови, для заглатывания которых служит цитостом (клеточный рот), окружённый длинными

ресничками (в количестве 4-6). Ядерный аппарат представлен большим ядром (макронуклеус) и ядрышком (микронуклеус). В неблагоприятных условиях возбудитель образует округлые, толстостенные цисты, равномерно окрашиваемые раствором Люголя в жёлто-коричневый цвет. Балантидии обитают в кишечнике свиней, для которых они малопатогенны. С испражнениями цисты попадают в окружающую среду, где они могут сохраняться несколько недель. При попадании в организм человека в толстой кишке они дают начало вегетативной стадии. Заболевание чаще регистрируют в южных регионах, но спорадически - в местах, где развито свиноводство. *Источник заражения - загрязнённая вода или пища.* Больных и носителей не следует расценивать как источники заражения, так как в организме человека цисты образуются редко и в незначительных количествах, а передача трофозоитов вегетативными формами практически невозможна. Патогенез поражений и клинические проявления аналогичны таковым при амёбиазе. Некротизирующее действие на стенку кишечника оказывают токсические метаболиты и механические повреждения эпителия. Выделяют субклиническую, острую и хроническую формы. Подобно амёбной дизентерии, балантидиоз часто протекает бессимптомно иногда в течение многих лет (до 20), а выявляют его только на вскрытии. Поражений печени не бывает. Лабораторная диагностика основана на микроскопии испражнений. Каплю свежесделанных испражнений помещают в физиологический раствор на предметное стекло и исследуют под малым увеличением. Балантидии хорошо видны благодаря своим размерам и активному движению (рис. 37-8). *Цисты возбудителя периодически выделяются с фекалиями*, что требует проведения повторных анализов при отрицательных результатах исследования. Лечение аналогично таковому при амёбиазе; химиотерапия может быть дополнена коллоидно-дисперсной солью норсульфазола в водных микроклизмах. Профилактика состоит в соблюдении правил личной гигиены, правильном уходе за свиньями, разделке туш и изготовлении пищевых продуктов из свинины.

ГЛАВА 38. ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Как внутрибольничные, или госпитальные, инфекции

(ВБИ) следует рассматривать *любые клинически распознаваемые инфекционные заболевания, возникающее у больных после госпитализации либо посещения лечебного учреждения с целью лечения, а также у медицинского персонала в силу осуществляемой им деятельности, независимо от того, проявляются или не проявляются симптомы этого заболевания во время нахождения данных лиц в медицинском учреждении.* Заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи, также обозначают терминами ятрогенія [от греч. *iatros*, врач] или нозокомиальные [от греч. *nosokomeion*, больница] инфекции.

В последние десятилетия ВБИ становятся всё более значимой проблемой здравоохранения, в экономически развитых странах они возникают у 5-10% пациентов, что значительно отягощает течение основного заболевания, создавая угрозу для жизни больного, а также увеличивает стоимость лечения. Во многом это связано с демографическими сдвигами (увеличение числа лиц преклонного возраста) и накоплением в популяции лиц повышенного риска (люди с хроническими заболеваниями, интоксикациями или принимающие иммунодепрессанты). Выделяют следующие основные причины развития ВБИ.

- Формирование и селекция «госпитальных штаммов» микроорганизмов, обладающих высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью.
- Нерациональное проведение антимикробной химиотерапии и отсутствие контроля за циркуляцией штаммов с лекарственной устойчивостью.
- Значительная частота носительства патогенной микрофлоры (например, золотистого стафилококка) среди медицинского персонала (достигает 40%).

- Создание крупных больничных комплексов со своей специфической экологией - скученностью в стационарах и поликлиниках, особенностями основного контингента (преимущественно ослабленные пациенты), относительной замкнутостью помещений (палаты, процедурные кабинеты и т.д.).

- Нарушения правил асептики и антисептики, отклонения от санитарно-гигиенических норм для стационаров и поликлиник.

Эпидемиология

ВБИ регистрируют повсеместно, в виде вспышек или спорадических случаев. Практически любой пациент стационара предрасположен к развитию инфекционных процессов. *ВБИ характеризуют высокая контагиозность, широкий спектр возбудителей и разнообразные пути их передачи; возможность вспышек в любое время*

года, наличие пациентов с повышенным риском заболевания и возможность рецидивов. Особенности эпидемического процесса зависят от свойств возбудителя, типа учреждения, контингента больных, качества организации медицинской помощи, санитарно-гигиенического и противоэпидемического режимов. Необходимо отметить значительное обсеменение объектов окружающей среды вследствие активной циркуляции «госпитальных» штаммов условно-патогенной микрофлоры между больными и персоналом, способствующее формированию нового контингента носителей. Иначе говоря, происходит «естественный кругооборот» условно-патогенной микрофлоры по схеме «медицинский персонал (больные) - внешняя среда - медицинский персонал (больные)», поддерживающий постоянный эпидемический процесс в ЛПУ. Не меньшее значение имеют медицинские манипуляции и их характер. Часто ВБИ возникают после оперативных вмешательств и инвазивных лечебных и диагностических процедур (например, катетеризация вен и мочевого пузыря). Определённый «вклад» вносит новая медицинская аппаратура, требующая особых методов стерилизации.

- Как правило, ВБИ возникают на фоне основного заболевания либо, реже, первично развиваются у новорождённых.

- ВБИ может вызвать практически любой патогенный или условно-патогенный микроорганизм.

- Возбудители ВБИ могут передаваться воздушно-капельным, воздушно-пылевым, алиментарным путями, трансфузионно, трансплацентарно, при прохождении плода по родовым путям, половым и другими способами.

Возбудители госпитальных инфекций

Спектр возбудителей ВБИ охватывает вирусы, бактерии, грибы и простейших, представленных наиболее вирулентными «госпитальными» штаммами. Ежегодно их число увеличивается, преимущественно за счёт условно-патогенных микроорганизмов. Основные возбудители бактериальных инфекций - стафилококки, пневмококки, грамотрицательные энтеробактерии, псевдомонады и анаэробы. Ведущую роль играют стафилококки (до 60% всех случаев ВБИ), грамотрицательные бактерии, респираторные вирусы и грибы рода *Candida*.

- Штаммы бактерий, выделенные от пациентов с нозокомиальными инфекциями, как правило, более вирулентны и обладают множественной химиорезистентностью. Широкое использование антибиотиков с лечебной и профилактической целями лишь частично подавляет рост устойчивых бактерий и приводит к селекции устойчивых штаммов. Происходит формирование «порочного круга» - возникающие ВБИ требуют применения высокоактивных антибиотиков, способствующих, в свою очередь, появлению более устойчивых микроорганизмов. Не менее важным фактором следует считать развитие дисбактериозов, возникающих на фоне

антибиотикотерапии и приводящих к колонизации органов и тканей условно-патогенными микроорганизмами.

- Факторы, предрасполагающие к развитию инфекций, многообразны (табл. 38-1).

Клинические проявления

Клиническая картина ВБИ часто бывает стёртой либо атипичной и не соответствует проявлениям «классических» поражений, вызываемых конкретным возбудителем. Характер проявлений определяют локализация процесса, количество и вирулентность проникших микроорганизмов. Первичные симптомы развиваются быстро, часто внезапно; проявления у стационарных больных, как правило, более тяжёлые, чем у амбулаторных пациентов с аналогичными инфекциями. *Наиболее частое первое проявление ВБИ - повышение температуры тела.*

Микробиологическая диагностика

Инфекцию следует считать ятрогенной, если она развилась после медицинского вмешательства или посещения ЛПУ через промежуток времени продолжительностью не менее минимального инкубационного периода. Для оппортунистических инфекций он составляет 2-4 сут, для поражений, вызванных облигатными патогенами, он вариабелен и обусловлен характером инфекции. Состояния, предрасполагающие к развитию ВБИ, и основные этиологические агенты представлены в табл. 38-2. Для постановки окончательного диагноза проводят забор соответствующих проб и бактериологическое исследование. Образцы следует отбирать в стерильные контейнеры с соблюдением правил асептики, так как потенциальным возбудителем может быть любой микроорганизм. Необходимо обеспечить максимально быструю доставку образцов в лабораторию. Отбор проб следует проводить регулярно. *При подозрении на заболевание следует широко использовать серологические тесты; дифференциальный диагноз при их применении проводят методом исключения.*

Пациенты с иммунодефицитами

Имунодефициты - врождённые или приобретённые заболевания, развивающиеся в результате различных дефектов иммунного ответа (более подробно см. главу 10). В группу подобных больных следует относить не только лиц с системными иммунными нарушениями, но и пациентов с нарушениями функциональных свойств отдельных органов и тканей (например, лиц, страдающих муковисцидозом, с длительно сохраняемыми катетерами, ожоговых больных). Необходимо помнить, что иммунные нарушения могут возникнуть после проведения любой, даже рациональной антибиотикотерапии. Для данной группы больных характерна высокая степень риска развития инфекций, вызванных как патогенными или условно-патогенными, так и оппортунистическими микроорганизмами, обитающими в окружающей среде либо входящими в состав резидентной микрофлоры.

Эпидемиология

В последние годы выражена тенденция к увеличению количества больных с иммунодефицитами, что связано с достижениями медицины, позволяющими увеличить продолжительность жизни. *В подавляющем большинстве случаев нарушения иммунного статуса - следствие неинфекционных сопутствующих заболеваний.* Нарушения структуры и функций анатомичес-

Таблица 38-2. Состояния, предрасполагающие к развитию ВБИ, и основные возбудители нозокоми-

string language="ru">string language="ru">string language="ru">

string language="ru">

Наличие мочевого катетера Наличие инородных тел (внутривенные катетеры, канюли, протезы) Оперативные вмешательства

Ожоги

Спленэктомия Сахарный диабет

Нарушения кроветворения

Алкоголизм

Приём глюкокортикоидов

string language="ru">string language="ru">string language="ru">

string language="ru">

Serratia marcescens, *Pseudomonas aeruginosa*, виды *Proteus Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Propionibacterium acnes*, виды *Candida*, виды *Aspergillus*

Staphylococcus epidermidis, *S. aureus*, виды *Bacteroides*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, прочие аэробные, факультативно-анаэробные и анаэробные бактерии *Pseudomonas aeruginosa Streptococcus pneumoniae*

Staphylococcus aureus, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, фикомицеты

Cryptococcus neoformans, вирус ветряной оспы, ЦМВ, *Listeria monocytogenes*

Streptococcus pneumoniae, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*

Staphylococcus epidermidis, *S. aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*, различные грибы и вирусы

ГЛАВА 39. КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

В настоящее время нет конкретного метода, позволяющего сразу выделять патогенные микроорганизмы или дифференцировать их от непатогенных микроорганизмов. Обычно перед проведением микробиологических исследований и выбором конкретных методов персонал лаборатории узнаёт у лечащего врача предположительный диагноз заболевания. При выделении возбудителей обычно проводят многоступенчатые исследования; нередко микроорганизмы растут медленно, поэтому врач обычно начинает лечение, не дожидаясь результатов, препаратами, эффективными в отношении предполагаемого возбудителя. В процессе лечения лечащий врач использует промежуточные результаты микробиологических исследований, позволяющие, в случае необходимости, быстро скорректировать терапию. Основные задачи клинической микробиологии

- Выделение и идентификация возбудителя, включая выявление иммунных сдвигов (АТ, кожные реакции) у больного.

- Выявление эффективных химиотерапевтических средств на основе результатов лабораторных исследований.

ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

Кровь - один из наиболее распространённых образцов клинического материала, исследуемых в бактериологической лаборатории. Ежегодно в мире отмечают не менее миллиона клинически проявляющихся случаев проникновения бактерий в кровоток, 30-50% которых заканчивается летально. Основные показания для проведения бактериологического исследования крови - лихорадка (38 °С и выше), гипотермия (36 °С и ниже), лейкоцитоз (особенно со сдвигом влево) и гранулоцитопения.

Бактериемии и септицемии

Бактериемия - присутствие бактерий в крови; она может проявляться клинически либо протекать бессимптомно. Бактерии проникают в кровь экзогенным (например, при травмах) или эндогенным путями (из существующего в организме очага инфекции). Значительно чаще развивается транзиторная бактериемия (например, после физических нагрузок, переохлаждения или перегревания), обычно протекающая бессимптомно. При этом в крови практически здоровых пациентов могут транзиторно циркулировать *S. epidermidis*, *P. melaninogenica*, *C. perfringens* и др. Бактериемии разделяют на грамотрицательные и грамположительные.

Септицемия - циркуляция и активное размножение бактерий в крови, сопровождающиеся характерными клиническими проявлениями различной выраженности, течением процесса и склонностью к образованию вторичных очагов. Наиболее часто возбудители септицемии диссеминируют в кровоток из очагов инфекции.

Бактериемия и септицемия часто выступают звеньями патогенеза многих инфекционных процессов. Внутрисосудистое диссеминирование свёртывание отмечают при пневмококковой пневмонии, брюшном тифе, сифилисе, лептоспирозах, менингококковой инфекции и т.д. В таких случаях именно циркуляция бактерий в кровотоке обуславливает характерную клиническую симптоматику.

Грамотрицательные бактериемии. Наиболее распространённые возбудители - *E. coli*, виды *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* и *P. aeruginosa*. Источники бактерий - ЖКТ, мочеполовая система и кожные покровы. Предрасполагающие факторы - оперативные вмешательства и медицинские манипуляции (например, катетеризация) на мочевыводящих путях и сопутствующие заболевания.

Грамположительные бактериемии. Основной возбудитель - коагулаза-положительный *S. aureus*. Коагулаза-отрицательные стафилококки (*S. epidermidis* и *S. saprophyticus*) редко вызывают поражения. Стафилококковые бактериемии разделяют на первичные (возбудитель проникает с кожных покровов) и вторичные (из очага существующей инфекции). Наиболее частые источники - абсцессы кожных покровов (даже их лёгкая пальпация может вызвать диссеминирование возбудителя). В условиях стационара практически все случаи бактериемии обусловлены контаминацией медицинских инструментов. Основные возбудители - коагулаза-отрицательные стафилококки.

Септицемии развиваются при наличии предрасполагающих факторов и высокой вирулентности возбудителей. *Большинство возбудителей септицемии способно вызывать и бактериемии.* Основные возбудители бактериоидных септицемий - *B. fragilis* и *P. melaninogenica*. Септицемии чаще возникают у пациентов с сопутствующими заболеваниями, нарушениями иммунного статуса, обычно при попадании бактерий в кровоток из абсцессов, после гинекологических операций и манипуляций, при травмах бедренной и поясничной областей. Более 90% всех клостридиальных септицемий вызывает *C. perfringens*. Источники инфекции - толстая кишка, желчевыводящие пути, матка.

Фунгемии и паразитемии

Фунгемии и паразитемии обычно наблюдают у лиц с выраженными нарушениями иммунного статуса при развитии генерализованных поражений, вызванных гистоплазмами, кокцидиоидомиями, кандидами и некоторыми другими. Диссеминирование грибков с кровотоком наблюдают сравнительно редко. В противоположность грибам, многие паразитические простейшие диссеминируют с кровотоком, длительно сохраняются в кровяном русле, вызывая развитие характерного симптомокомплекса.

Принципы микробиологической диагностики

Точный диагноз устанавливают только при обнаружении возбудителей в крови пациентов. Важное условие - своевременный забор пробы. Для проведения анализа используют только венозную кровь; наиболее адекватные результаты получают при двух или трёхкратном заборе крови по 20-30 мл с интервалом 3-4 ч. Кровь немедленно помещают в сосуд с питательной средой (не меняя иглы) в соотношении 1:10 и перемешивают. Отобранный материал быстро доставляют в лабораторию, сохраняя при комнатной температуре. Образцы крови замораживать нельзя. Микроскопию мазков крови проводят при распознавании паразитарных инфекций (малярии, трипаносомозов). При бактериальных инфекциях микроскопию мазков крови обычно не проводят, так как число бактерий, циркулирующих в кровотоке, невелико. Единственная бактерия, обнаруживаемая в мазках, - *Borrelia recurrentis*. Для культивирования образцов используют обогащённые питательные среды. При подозрении на конкретную инфекцию можно использовать соответствующие среды, например среду для выращивания бруцелл. Посевы проводят в 2 сосуда (по 5 мл крови в каждом) для дальнейшего культивирования в аэробных и анаэробных условиях. Посевы инкубируют при температуре 35-37 °С и в течение 7 дней ежедневно осматривают. Помутнение среды указывает на рост бактерий; при отсутствии роста проводят повторное исследование на 14-й день. Факт циркуляции грибков в кровотоке устанавливают посевом крови больного на питательные среды. Для обнаружения простейших проводят микроскопию мазков крови, окрашенных по Романбвскому-Гймзе или Райту.

На бактериемию или септицемию указывают следующие признаки.

- Повторное выделение одних и тех же микроорганизмов (в том числе и в больших количествах) при заборе крови из разных мест.
- Обнаружение представителей кожной флоры (например, стафилококков или дифтероидов) в нескольких пробах, особенно при наличии сосудистых катетеров или протезов.
- Выявление «ожидаемых» микроорганизмов (например, зелёнющих стрептококков) при подозрении на эндокардит.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Характерная особенность системы воздухоносных путей - обнаружение разнообразных бактерий (в том числе патогенных) в верхних отделах и относительная стерильность зон газообмена. Поражения дыхательных путей доминируют среди всей инфекционной патологии.

Материал отбирают с учётом симптомов, указывающих на поражение тех или иных отделов дыхательного тракта. Чаще исследуют слизь из носа, носоглотки, зева, мокроту и промывные воды бронхов. Значительно реже изучают биоптаты лёгких, аспираты трахеи.

Верхние дыхательные пути

Материал забирают натошак до чистки зубов и споласкивания полостей рта, носа и глотки.

При заборе материала из носа используют тампоны, отдельные для каждой ноздри. При отсутствии секрета тампоны можно смочить 0,9% раствором NaCl.

Правильная техника забора материала из зева имеет решающее значение. Нельзя прикасаться тампоном к слизистой оболочке полости рта и языка. Поскольку микроорганизмы располагаются неравномерно, следует, используя один тампон, сначала обтереть правую миндалину, затем - нёбную дужку, язычок, левую миндалину и заднюю стенку глотки.

Носовые ходы. Наиболее часто выделяют дифтероиды, коагулаза-отрицательные стафилококки, а-гемолитические стрептококки, нейссерии и др. Также можно обнаружить носительство коагулаза-положительного *S. aureus*, кишечной палочки, р-гемолитических стрептококков и др. У детей обнаруживают более разнообразный спектр микроорганизмов с доминированием грамотрицательной микрофлоры.

Зев. Поскольку в этой области смешивается микрофлора ЖКТ и воздухоносных путей, то из зева выделяют комменсалы и патогены, относящиеся к обеим системам. Резидентные бактерии - микоплазмы, дифтероиды (включая палочку Хбфманна), коагулаза-отрицательные стафилококки, а-гемолитические и негемолитические стрептококки, нейссерии, *M. catarrhalis*, микрококки, энтерококки, бактероиды, превотеллы, боррелии, трепонемы и актиномицеты. Несколько реже выделяют *S. aureus*, *S. pneumoniae*, кандиды, р-гемолитические стрептококки, нокардии, менингококки, *H. influenzae* и бактерии кишечной группы.

Нижние дыхательные пути

Нижние отделы дыхательных путей обычно стерильны. Основным материалом для бактериологических исследований - мокрота. Следует помнить, что мокрота должна происходить из нижних отделов; для облегчения её отхождения можно предварительно провести ингаляцию горячего 0,9% раствора NaCl. Мокрота содержит микроорганизмы, ответственные за развитие инфекционного процесса, и виды, обитающие в полости рта. При хронических процессах отхождение мокроты затруднено; в этих случаях прибегают к бронхоальвеолярному лаважу (что препятствует контаминации образца микрофлорой верхних дыхательных путей и полости рта). Мокроту помещают в чашки Пётри. Из слизисто-гнойных образцов выделяют гнойные комочки, которые промывают 0,9% раствором NaCl (что способствует удалению контаминирующей микрофлоры). При изучении слизисто-гнойной мокроты всегда обнаруживают гнойные тяжи, используемые для дальнейшего исследования, которое начинают не позднее 1-2 ч после изъятия образца. *Из материала необходимо готовить мазки для микроскопии, так как некоторые патогены могут не прорасти при посевах на среды.*

Бронхиты и трахеиты

Основные возбудители острых бактериальных трахеитов и бронхитов - *H. influenzae* типа b, виды *Neisseria*, *M. catarrhalis*, а-гемолитические и другие стрептококки.

Хронические поражения наиболее часто вызваны длительным воздействием неблагоприятных факторов (например, курение). Микробная флора в трахеи и в бронхах неспецифична и в большинстве случаев происходит из носоглотки. При обострениях часто преобладают возбудители острых процессов, а также пневмококки, клебсиеллы, псевдомонады, *S. aureus*, кандиды и др.

Бактериальные пневмонии

Пневмококк - основной возбудитель поражений у детей до 10 лет и пожилых (65-90% всех случаев). У 30-40% населения *Streptococcus pneumoniae* входит в состав резидентной микрофлоры верхних дыхательных путей. Особенность возбудителя - возможность передачи от детей взрослым, у которых при наличии предрасполагающих факторов развивается пневмония.

Грамотрицательные бактерии. «Классические» возбудители пневмоний у детей младше 5 лет и у пожилых старше 60 лет (4,1-15,5% всех случаев) - *H. influenzae* и *M. catarrhalis*. До 15%

случаев пневмоний у детей вызывает *E. coli*. В стационарах часто регистрируют пневмонии, вызванные *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*. До 5-10% поражений вызывают виды *Morganella*, *Proteus* и *Enterobacter*. В последние годы отмечают рост количества прогрессирующих токсических пневмоний, вызываемых *Legionella pneumophila* (1,8-4,5% случаев пневмоний в России). До 2% поражений вызывает *Chlamydia psittaci*.

Микоплазменные пневмонии часто возникают в форме эпидемий, возникающих с периодичностью 1 раз в 4 года. Возбудитель - *Mycoplasma pneumoniae*.

Вирусные пневмонии

Вирусные пневмонии ежегодно поражают 0,1% населения и наиболее часто детей младше 5 лет (заболеваемость в 4 раза выше, чем в остальных возрастных группах). Основные возбудители - РС-вирус, аденовирусы, вирусы парагриппа и гриппа (типы А и В). Реже пневмонии вызывают герпесвирусы, риновирусы, вирус краснухи, ЕСНО-вирусы, вирусы Коксаки и коронавирусы.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОВ ПОЛОСТИ РТА

Полость рта, её слизистая оболочка и лимфоидные ткани челюстно-лицевой области играют важнейшую роль во взаимодействии организма человека с окружающей средой. Микроорганизмы, обитающие в полости рта, с одной стороны способствуют перевариванию пищи и синтезу витаминов, с другой - образуют продукты, повреждающие ткани зубов. Аг этих микроорганизмов стимулируют активность факторов иммунобиологической резистентности организма, но в полости рта проявляют иммуносупрессивное и токсическое действие на ткани десны и периодонт. Микроорганизмы, обитающие в полости рта, - антагонисты патогенной флоры, и в то же время резидентная микрофлора полости рта сама способна вызывать развитие серьезных заболеваний.

Плотность микробной колонизации полости рта сравнима с таковой в кишечнике. В частности, 1 мл слюны содержит от 4 млн до 5 млрд микроорганизмов; 1 г зубного налёта - 10-1000 млрд. В полости рта доминируют бактерии, представленные относительно стабильной группой аэробов и анаэробов, спектр которых может варьировать в пределах 120-200 видов. Многообразие видов объясняют гигиеническими привычками, состоянием зубов, возрастом и т.д.

Нормальная микрофлора полости рта

Микробные сообщества в полости рта образуют аутохтонные и аллохтонные микроорганизмы.

Аутохтонную флору образуют резидентные (постоянно обитающие) и транзиторные (временно присутствующие) микробы. Последние наиболее часто включают условно-патогенные и патогенные виды и проникают в полость рта прежде всего из окружающей среды; эти микроорганизмы не вегетируют в полости рта и быстро удаляются из неё. Аллохтонные микробы попадают в полость рта из других микробных биотопов (например, из кишечника или носоглотки).

Бактероиды представлены *B. fragilis* и *B. oralis*, а также близкими к ним видами *Porphyromonas* (*P. asaccharolytica*, *P. endodontalis* и *P. gingivalis*) и *Prevotella melaninogenica*. У лиц с неудовлетворительной гигиеной полости рта и повреждёнными зубами *P. melaninogenica* выделяют в большом количестве.

Leptotrichia buccalis - строгий анаэроб, не проявляет тенденции к ветвлению и в качестве основного метаболита образует молочную кислоту. *L. buccalis* - центр осаждения зубного налёта и зубного камня. Доказано их участие в развитии кариеса за счёт значительного кис-

лотообразования, причём *L. buccalis* является синергистом лактобацилл и участвует в процессах деминерализации тканей зуба.

Ветвящиеся анаэробные грамположительные бактерии полости рта представлены актиномицетами и бифидобактериями. Актиномицеты ферментируют углеводы с образованием кислот, способствующих повреждению эмали зубов, и проявляют умеренную протеолитическую активность. За счёт выраженной способности к адгезии они быстро колонизируют слизистую оболочку, вытесняя другие бактерии. Актиномицеты - основная группа бактерий, выделяемых в налёте зубов и зубном камне. Актиномицеты нередко выделяют из кариозных полостей, поражений слюнных желёз и пародонта. Основные возбудители - *A. israelii* и *A. viscosus*. Спирохеты появляются в полости рта после прорезывания зубов, а у здоровых взрослых лиц встречаются лишь в редких случаях. При воспалительных процессах и, в особенности, при фузоспирохетозах, количество спирохет возрастает.

Среди трепонем доминируют *T. macrodentium*, *T. microdentium* и *T. mucosum*, среди лептоспир - *Leptospira dentium* (*L. buccalis*). Среди микоплазм в полости рта присутствуют *M. orale*, *M. hominis*, *M. pneumoniae* и *M. salivarium*.

У 60-70% лиц обнаруживают значительную грибковую колонизацию полости рта, особенно спинки языка. Наиболее часто выявляют *Candida albicans*. Другие виды (*C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. quillermondii*) выделяют лишь у 5% лиц. Реже выделяют *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, виды *Aspergillus*, *Penicillium* и *Geotrichum*. При поражениях дыхательного тракта и на фоне длительного приёма антибиотиков частота обнаружения грибов существенно возрастает.

Среди простейших, обитающих в полости рта, доминируют *Entamoeba gingivalis* и *Trichomonas tenax*. Количество простейших возрастает при воспалении дёсен, но это увеличение не имеет патогенетического значения.

География микробной колонизации полости рта

Полость рта объединяет несколько микробиоценозов, различающихся по физико-химическим показателям (рН среды, вязкость, температура, наличие остатков пищи, парциальное давление газов и др.) и, соответственно, по составу микрофлоры. Основные микробные биотопы полости рта - собственно слизистая оболочка полости рта; протоки слюнных желёз и содержащаяся в них слюна; десневая жидкость и зона десневого желобка; ротовая жидкость полости рта и зубные бляшки.

- Поверхность слизистой оболочки колонизируют грамотрицательные анаэробные и факультативно-анаэробные бактерии и микроаэрофильные стрептококки. В подъязычной области, на внутренней поверхности щёк, в складках и криптах слизистой оболочки полости рта доминируют облигатно-анаэробные кокки (вейлонеллы, пептострептококки), лактобактерии (преимущественно *L. salivarius*) и зеленышние стрептококки (*S. mitis* и *S. hominis*). Другой стрептококк *S. salivarius* обычно колонизирует спинку языка. На слизистой оболочке твёрдого и мягкого нёба, нёбных дужек и миндалин обитают разнообразные бактерии (стрептококки, коринебактерии, нейссерии, гемофилы и псевдомонады, нокардии) и дрожжеподобные грибы (преимущественно кандиды).

- Протоки слюнных желез и содержащаяся в них слюна у здорового человека обычно стерильны либо содержат незначительное количество облигатно-анаэробных бактерий (преимущественно вейлонелл). Скудность микробного пейзажа обусловлена бактерицидным действием ферментов, лизоцима, секреторных Ig и др.

- Десневая жидкость - транссудат, секретуемый в области десневого желобка и практически сразу контаминируемый микробами со слизистой оболочки десны и из слюны. Среди микрофлоры доминируют строгие анаэробы - бактериоиды (представители родов *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*), фузобактерии, лептотрихии, актиномицеты, спираиллы, спирохеты и др. В десневой жидкости также обитают микоплазмы, дрожжеподобные грибы и простейшие.

- Ротовая жидкость состоит из секрета околоушных, подъязычных и подчелюстных слюнных желёз, а также секрета слизистых желёз, содержащихся в полости рта в большом количестве. Ротовая жидкость - важнейший биотоп полости рта. Микрофлору ротовой жидкости составляют обитатели слизистой оболочки полости рта, десневых желобков и карманов и зубных бляшек - вейлонеллы, микроаэрофильные и факультативно-анаэробные стрептококки, вибрионы, псевдомонады, спирохеты, спираиллы и микоплазмы. В ротовой жидкости бактерии не только длительно сохраняются, но и размножаются.

Зубная бляшка

Зубная бляшка - наиболее сложный и многокомпонентный биотоп полости рта, в состав которого входят практически все представители микрофлоры полости рта. Количество бляшек и их соотношение значительно варьирует у разных людей и в разные периоды их жизни.

Зубные бляшки - скопления бактерий в конгломерате протеинов и полисахаридов. Матрицу бляшки составляют вещества, попадающие на поверхность зубов со слюной, а также частично образующиеся как метаболиты микроорганизмов. *Выделяют над- и поддесневые бляшки, а также бляшки, образующиеся на поверхности зубов и в межзубных щелях.* Количественные и качественные изменения микробиоценоза играют решающую роль в возникновении кариеса зубов и пародонтита.

Зубная бляшка начинает формироваться уже через 1-2 ч после чистки зубов. Бляшкообразование начинается с взаимодействия кислых групп гликопротеинов слюны с ионами Ca^{2+} зубной эмали, одновременно основные группы гликопротеинов реагируют с фосфатами гидроксиапатитов. В результате на поверхности зуба образуется тонкая плёнка - пелликула, а присутствие микробов, особенно кислотообразующих, стимулирует её образование. Плёнка облегчает микробную колонизацию поверхности зуба и десневых карманов. Первыми там появляются стрептококки - *S. sanguis* и *S. salivarius*, а затем прочие представители аэробной и факультативно-анаэробной флоры. Жизнедеятельность микроорганизмов снижает окислительно-восстановительный потенциал, что создаёт условия для колонизации региона анаэробами - вейлонеллами, актиномицетами и фузобактериями.

При различных значениях рН микробный пейзаж зубных бляшек может значительно варьировать, в частности на верхних зубах преобладают аэробы и факультативные анаэробы (стрептококки и лактобациллы), на нижних - анаэробы (вейлонеллы и фузобактерии). При образова-

нии бляшек в межзубных щелях микробная колонизация протекает гораздо интенсивнее, но замены аэробных микроорганизмов анаэробами не происходит.

Значительное влияние на развитие зубных бляшек оказывает диета. При высоком содержании в ней углеводов происходит образование большого количества молочной кислоты в результате их ферментации стрептококками и лактобациллами. Молочную кислоту разлагают вейло-неллы, нейссерии и фузобактерии до уксусной, муравьиной, пропионовой и других органических кислот, что обуславливает резкий сдвиг рН среды в кислую сторону. Из углеводов микроорганизмы также могут образовывать различные полисахариды. Внутриклеточные полисахариды аккумулируются в виде запасных гранул. Их разложение также приводит к

образованию различных органических кислот. Внеклеточные полисахариды частично утилизируются бактериями, например стрептококками, облегчают их адгезию к субстратам.

В процессе бляшкообразования происходит существенное изменение состава микрофлоры. В первой фазе длительностью 2-4 ч образуется так называемая «ранняя» зубная бляшка, в которой преобладают аэробные и факультативно-анаэробные бактерии - стрептококки, стафилококки, нейссерии и лактобактерии. Общее содержание бактерий не превышает 100-1000 в 1 г. Во второй фазе (4-5-е сутки) их сменяют анаэробные лептотрихии и фузобактерии. Общее содержание бактерий увеличивается до 1-10 млн в 1 г. В третьей фазе (6-7-е сутки и далее) микробиоценоз приобретает качественный окончательный состав, но в нём постоянно происходят количественные сдвиги. Резко снижается содержание аэробов и факультативных анаэробов (нейссерии, стрептококки) с преобладанием облигатных анаэробов (бактероиды, фузобактерии, вейлонеллы, актиномицеты, пептострептококки). Последние выделяют комплекс токсических субстанций и ферментов (коллагеназа, протеаза, гиалуронидаза и др.), повреждающие прилежащие ткани. Протеазы способны разрушать АТ (IgA и IgG), что облегчает дальнейшую микробную колонизацию. Общее содержание бактерий достигает десятков и сотен миллиардов в 1 г. Зубные бляшки могут образовываться и на поверхности пломб; микробный состав бляшек зависит от характера и качества пломбирочного материала.

Возрастные изменения микрофлоры полости рта

Полость рта эмбриона обычно стерильна. Первичное инфицирование происходит при прохождении через родовые пути. Сначала полость рта колонизируют бифидобактерии, кишечная палочка, энтерококки, зеленящие стрептококки, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* и *Candida albicans*. Через несколько недель полость рта колонизируют анаэробные бактерии, спирохеты, гемофилы и нейссерии.

У младенцев на спинке языка наиболее часто выделяют стафилококки и стрептококки (особенно *Streptococcus salivarius*). На слизистой оболочке щёк преобладают стрептококки. На твёрдом нёбе около сагиттальной линии у младенцев преобладают грамположительные кокки. При формировании молочных зубов появляются условия для колонизации полости рта другими микроорганизмами, в том числе анаэробами. У взрослых с полным прикусом преобладают грамотрицательные кокки. В 10,5% случаев выделяют грамотрицательные палочки. Аналогичные соотношения на вестибулярной поверхности верхнего альвеолярного отростка. На миндалинах у младенцев преобладают кокки (в 58% случаев грамположительные; в 39,6% - грамотрицательные). У детей с молочным прикусом на миндалинах обнаруживают практически все виды микроорганизмов; в 12,1% случаев выделяют грамотрицательные палочки.

Обильный рост анаэробов, а также появление простейших наблюдают при прорезывании зубов. Содержание стафилококков варьируемо: их выделяют у 70-80% младенцев, у 30-50% детей младшего возраста; у подростков их содержание снижается, а позднее оно вновь повышается. С возрастом увеличивается содержание анаэробных бактерий, лактобацилл, стафилококков, кандид и простейших.

Потеря зубов в пожилом возрасте приводит к значительному уменьшению содержания облигатных анаэробов. Наличие съёмных протезов приводит к развитию хронического воспаления под основой (базисом) протеза с нарушением слюноотделения и орошения слизистой оболочки. В подобных ситуациях резко возрастает колонизация грибами *Candida*, а также бактериями, происходящими из ЖКТ, - эшерихиями, энтерококками и др.

Микрофлора полости рта при патологических состояниях

Анатомически и физиологически слизистая оболочка полости рта тесно связана со слизистой оболочкой полости носа, глотки, пищевода, желудка; болезненные процессы,

происходящие в этих органах, вызывают изменения и в полости рта. Например, при заболеваниях органов кроветворения, как правило, наблюдают поражения слизистой оболочки полости рта. Гиповита-минозы, острые и хронические заболевания всего организма также обуславливают симптомы и со стороны полости рта. Специфические гранулёмы (сифилис, туберкулёз, глубокие микозы) располагаются в полости рта.

Инфекции, развивающиеся в полости рта, разделяют на первичные, входными воротами которых является слизистая оболочка полости рта, и вторичные, когда поражения слизистой оболочки - лишь проявление системных поражений (кишечных, респираторных и др.). По характеру клинических проявлений инфекции разделяют на острые и хронические, а по этиологии - на вирусные, бактериальные и грибковые.

Халитозис

Халитозис - наиболее распространённое неблагоприятное состояние полости рта, наблюдаемое у большей части людей; проявляется неприятным запахом изо рта [лат. *halitus*, испарение, дыхание + *osis*, состояние]. Состояние может быть косвенным показателем общих расстройств, так как его часто отмечают при метаболических расстройствах, поражениях органов желудочно-кишечного и дыхательного трактов. Халитозис характерен для курильщиков и злоупотребляющих алкоголем. Неприятный запах объясняют повышенным содержанием в выдыхаемом воздухе метилмеркаптана и сероводорода, образующихся в результате разложения в полости рта остатков пищи и микробов, разрушающихся под действием местных защитных факторов. Халитозис вызван дисбактериозом микрофлоры полости рта, когда по различным причинам (особенно при несоблюдении элементарных правил личной гигиены) в микробных сообществах начинают доминировать облигатные анаэробы родов *Veillonella*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* и др. Выраженные нарушения качественного состава могут приводить к поражениям дёсен и зубов.

Инфекционные поражения зубов

Кариес [от лат. *caries*, сухая гниль] - локализованное прогрессирующее разрушение зубов, начинающееся с растворения неорганической основы эмали органическими кислотами. Органические кислоты образуются на поверхности зубов в результате ферментации углеводов микроорганизмами в зубной бляшке. За деминерализацией следует ферментативное разрушение органической матрицы зуба с образованием полости и последующим её инфицированием.

В динамике поражений выделяют следующие стадии: кариес в стадии пятна (сопровождается появлением безболезненных пятен на зубах), поверхностный кариес (проявляется поражением эмали), средний кариес (с поражением эмали и периферической части дентина) и глубокий кариес (с поражением глубокой части дентина).

Кариозные поражения вызваны действием комплекса факторов, но основным фактором - жизнедеятельность кариесогенных стрептококков (*S. mutans*, *S. macacae*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. ferus* и *S. rattus*). Основным возбудителем - *S. mutans*, включающий 8 сероваров (a-h); в зубных бляшках человека наиболее часто выделяют бактерии серовара с.

Пульпит [лат. *pulpa*, плоть, + греч. *-itis*, воспаление]. Пульпа - рыхлая соединительная ткань полости зуба, содержащая кровеносные и лимфатические сосуды, нервы и периферический слой одонтобластов, способных к внутреннему восстановлению дентина. В большинстве случаев воспаление пульпы вызывают кариесогенные стрептококки, лактобактерии, стафилококки и другие бактерии, проникающие в пульпу из кариозной полости по дентинным канальцам либо ретроградно через апикальные отверстия или дельтовидные ответвления корневого канала. Иногда пульпит развивается как осложнение гайморита или других воспалительных процессов либо является следствием гематогенного заноса при выраженных бактериемиях.

Одонтогенные заболевания - группа гнойно-воспалительных поражений, включающая периодонтиты, периоститы, остеомиелиты челюстей, а также флегмоны и абсцессы околозубных мягких тканей. Все поражения обусловлены лимфо- и гематогенным диссеминарованием возбудителей из зубного канала в мягкие ткани, на периодонт, надкостницу и костные ткани челюстей. Состояния вызывают ассоциации бактерий, обитающих в полости рта, - стафилококки, стрептококки, бактериоды, актиномицеты и др.

Инфекционные поражения пародонта

Пародонт состоит из десны, альвеолярной кости, периодонта и зубов. Эти ткани выполняют однотипные функции, имеют общую систему кровоснабжения и иннервации. Слизистая оболоч-

ка десны снаружи покрыта эпителием; другие её отделы образуют собственно слизистая оболочка и сосочковый слой. Десна плотно сращена с подлежащей надкостницей. Эпителий десны подходит к зубным тканям не по прямой линии, а под углом, образуя складку - физиологический десневой карман. При заболеваниях пародонта дно кармана разрушается и образуется патологический десневой карман. Заболевания пародонта наблюдают у 80% детей и почти у 100% взрослых; они могут быть воспалительными, дистрофическими, атрофическими либо комбинированными. Микроорганизмы обуславливают развитие воспалительных поражений - гингивитов и пародонтитов. При этом состояния не связаны с каким-либо конкретным возбудителем. Все состояния начинаются с образования субгингивальных бляшек. Поверхность бляшек колонизируют факультативные анаэробы (стрептококки, актиномицеты, фузобактерии и др.), что создаёт условия для колонизации центральной части бляшек строгими анаэробами (бактериоды, спирохеты и др.).

Гингивиты [от лат. *gingiva*, десна, + греч. *-itis*, воспаление] - воспаление тканей десны. Гингивиты могут быть вызваны как воздействиями местного травматического характера, так и системными заболеваниями. Дёсны - частая локализация кожных и стоматологических заболеваний, поэтому не существует общепринятой классификации гингивитов, так как разделение их только по этиологическому признаку повторило бы медицинскую классификацию болезней. *Все гингивиты протекают без нарушения целостности зубодесневого прикрепления*, то есть без образования патологических десневых карманов. Выделяют катаральные, гипертрофические и язвенные поражения. Поражения могут протекать остро или хронически с обострениями и ремиссиями. Наиболее часто наблюдают катаральные и гипертрофические гингивиты. При инфекционных поражениях, вызванных вирусами, бактериями и грибами, развиваются острые катаральные поражения, обусловленные непосредственным цитотоксическим действием возбудителей и их метаболитов. Наиболее часто поражения вызывают не отдельные виды, а ассоциации трёх и более видов микроорганизмов.

Пародонтиты [греч. *para*, около, + *-odont*, зуб, + *-itis*, воспаление] - воспаление пародон-та. Пародонтиты обычно развиваются как осложнения гингивитов и могут протекать остро и хронически с рецидивами и ремиссиями. При пародонтитах нарушается целостность зубодесневого прикрепления, происходит разрушение соединительная ткани, окружающей корень зуба и прикрепляющей его к костным стенкам зубной альвеолы, а также резорбция костных тканей. Патогенез поражений аналогичен таковым при гингивитах, но при пародонтитах чаще наблюдают хронические поражения. Острые пародонтиты развиваются в результате лимфо- и гематогенного заноса микроорганизмов из расположенных рядом очагов инфекционного воспаления. Возбудители - ассоциации фузобактерий, бактериодов, пептострептококков, стафилококков, актиномицет, спирохет и др.

Острые инфекционные поражения слизистой оболочки полости рта

Стоматиты [от греч. *stoma*, рот, + *-itis*, воспаление] - воспаление слизистой оболочки полости рта. Стоматиты - наиболее частое поражение полости рта. Серозные стоматиты

наблюдает при многих острых инфекциях, особенно часто при кори, скарлатине, дифтерии, дизентерии, тифах, пневмонии, гриппе, септических состояниях и др. Клиническая картина острого серозного стоматита - вся слизистая оболочка полости рта ярко-красного цвета и слегка отёчна; в тяжёлых случаях появляются пузырьки, пустулы, эрозии; дёсны отёчны и окружают зубы в виде валика, межзубные сосочки дёсен гипертрофированы и легко кровоточат.

Вирусные стоматиты. Основной возбудитель - ВПГ 1-го типа; реже - ВПГ 2-го типа и *varicella-zoster*. Вирусные стоматиты чаще наблюдаются у лиц с иммунодефицитными состояниями. Обычно высыпания образуются на пограничных участках, где кожа переходит в слизистую оболочку, например на красной кайме губ и около неё. Одновременно высыпания могут появиться на слизистой оболочке полости рта, чаще на слизистой оболочке губ и щёк, реже - на глотке и миндалинах. Первоначально развивается ограниченная гиперемия и отёчность слизистой оболочки. Затем быстро появляются несколько мелких округлых везикул, наполненных желтовато-мутной жидкостью. Появлению пузырьков предшествует лёгкое покалывание и чувство жжения на ограниченных участках высыпаний. Пузырёк возникает внутри мальпигиева слоя; в сосочковом слое формируется полиморфнонуклеарный инфильтрат. Везикулы трансформируются в пустулы, образуя эрозии. Течение заболевания могут осложнять пародонтоз, кариес, наличие съёмных протезов. Герпетические поражения напоминают герпангины, проявляющиеся везикулярными высыпаниями на задней стенке глотки, дисфагиями и анорексией. Возбудители - вирусы Коксаки группы А. В динамике заболевания везикулы лопаются с образованием афт с белёсым дном. Заболевание самоограничивается через 7-10 сут.

Бактериальные стоматиты вызывают различные бактерии, в большинстве случаев - виды, перманентно обитающие в полости рта. Возможен и экзогенный занос возбудителей. Слизистая оболочка полости рта устойчива к действию микроорганизмов, и лишь нарушение её целостности (обычно после микротравм) предрасполагает к развитию инфекционного процесса.

Стоматиты, вызываемые стафилококками и стрептококками, составляют основную группу поражений. Стоматиты могут быть поверхностными и кратковременными либо тяжёлыми, объединяемыми понятием «ротовой сепсис». В детском возрасте наблюдают импети-гинозный стоматит. Для заболевания характерно появление на слизистой оболочке губ, щёк, дёсен, твёрдого нёба и языка поверхностных эрозий, часто сливающихся вместе. Эрозии покрыты желтовато-серым налётом, при его соскабливании возникает кровотечение. Поражения не распространяются на миндалины и глотку. Дёсны, особенно на свободном крае, нередко изъязвляются. Первоначально из очагов поражения выделяют стрептококки, а на более поздних сроках - стафилококки. *Streptococcus pyogenes* также способен вызывать рожистое воспаление слизистой оболочки полости рта. Поражения могут быть продолжением воспаления на коже лица либо начинаться с мелких трещин и ссадин на слизистых оболочках полости рта и носа. Нередко входными воротами могут быть кариозные зубы и гнойное воспаление десневых карманов. Иногда рожистое воспаление развивается после хирургических и ортопедических вмешательств в полости рта. На слизистой оболочке рта развивается серозно-геморрагическое воспаление с выраженным отёком. В глубоких слоях слизистой оболочки развивается лейкоцитарная инфильтрация. Слизистая оболочка приобретает тёмно-малиновый цвет. В тяжёлых случаях на ней появляются пузыри и участки некроза. Местные проявления сопровождаются симптомами общей интоксикации. У ослабленных лиц возможна генерализация процесса с развитием сепсиса. Другое, часто встречающееся заболевание, вызываемое стрептококками, - заеда. Заболевание начинается с появления в углу рта маленькой стрептококковой пустулы, быстро трансформирующейся в эрозию с обрывками эпидермиса по краям. При отсутствии лечения и несоблюдении основных правил гигиены, а также вследствие растягивания кожи при раскрытии рта и мелких травм в центре эрозии образуется трещина, переходящая на слизистую оболочку щеки. Трещина легко кровоточит и покрывается кровянистой или гнойной коркой. Усиленное

слинотечение и неопрятное содержание полости рта способствуют постоянному раздражению стрептококковой эрозии, которая может привести к стрептококковому импетиго на коже лица.

Язвенно-некротический стоматит (болезнь Венсана) - острое, иногда рецидивирующее, поражение дёсен с изъязвлением, некрозом десневого края и деструкцией десневых сосочков. Основные возбудители - ассоциация *Fusobacterium plautii* и *Treponema vincentii*. Часто развитию заболевания предшествует воспаление, вызванное стафилококками и стрептококками. Процесс быстро прогрессирует, чему способствуют выделение фузобактериями большого количества коллагеназы, разрушающей коллаген соединительной ткани, и анаэробные условия, создающиеся в некротизированных тканях. Нередко наблюдают поражение миндалин и гортани с развитием состояния, известного как ангина Симановского-Венсана-Плаута. Состояния чаще возникают при нарушениях резистентности организма (иммунодефициты, стрессы, гиповитаминозы и др.).

Гонококковый стоматит. Поражение слизистой оболочки полости рта - наиболее редкая форма гонореи. Заболевание чаще наблюдают у грудных детей в результате инфицирования от больной матери. При этом возможно сочетание инфекции слизистой оболочки полости рта и конъюнктивы. Наиболее часто очаги воспаления локализованы на мягком нёбе, на центральной части спинки и уздечке языка, на нижней губе и дёснах. Воспалительный процесс на слизистой оболочке полости рта схож с поражением мочеиспускательного канала. Слизистая оболочка ярко-красная и отёчная. В гнойном экссудате обнаруживают гонококки. Мацерация и мелкие травмы способствуют появлению ссадин, эрозий, трещин, которые легко кровоточат и покрываются желтовато-серым налётом. В этих случаях клиническая картина может напоминать язвенно-некротический стоматит. У взрослых гонорейный стоматит иногда осложняется вторичными инфекциями.

Грибковые стоматиты. Большинство микозов слизистой оболочки полости рта вызывают грибы-сапрофиты, постоянно присутствующие в составе резидентной микрофлоры. При снижении активности факторов иммунобиологической резистентности, метаболических расстройствах либо при нерациональной антибиотикотерапии грибы-сапрофиты вызывают оппортунистические микозы слизистой оболочки. Большинство грибковых заболеваний слизистой оболочки полости рта возникает не экзогенно, а в результате аутоинфекции, развивающейся только при появлении неблагоприятных для организма условий. Основные возбудители - грибы рода *Candida*. Наиболее типичная форма кандидозов полости рта - псевдомембранозный кан-дидоз (молочница). Первоначально участки слизистой оболочки становятся более тёмными и блестящими («лакированная слизистая»), затем на них появляются белые кремообразные или творожистые бляшки, которые могут сливаться, образуя значительные зоны поражений. Бляшки могут локализоваться на языке, мягком и твёрдом нёбе, дёснах, щеках, миндалинах, глотке. Бляшки легко снимаются, оставляя кровоточащие эрозии. При локализации поражений на языке больные жалуются на изменение вкусовых ощущений или повышение чувствительности к острой или горячей пище. При тяжёлых иммунодефицитах поражается почти вся слизистая оболочка полости рта, миндалина, глотка, пищевод, желудок, бронхи и лёгкие.

Хронические инфекционные поражения слизистой оболочки полости рта

Туберкулёз. Туберкулёзные поражения полости рта - проявления системного заболевания, вызванные эндогенным, вторичным лимфо- и гематогенным заносом микобактерий. Наиболее известные поражения слизистых оболочек - волчанка и язвенный туберкулёз. Гораздо реже наблюдают изолированные туберкулёзные гуммы («холодные абсцессы») - разновидность колликативного туберкулёза на слизистой оболочке, и совсем редко - узлы индуративной эритемы и первичную туберкулёзную язву. Первичная туберкулёзная язва может возникать у детей в возрасте 2-3 лет вследствие проникновения микобактерий через мелкие травмы и кариозные зубы. Поражения обычно локализованы на языке или дёснах и представляют типичный первичный

туберкулёзный комплекс с небольшим инфильтратом в основании и регионарной лимфаденопатией. В дальнейшем язва может углубиться, лимфатические узлы размягчаются и нагнаиваются.

Сифилис. В месте внедрения бледной трепонемы через 2-4 нед развивается твёрдый шанкр (первичная сифилома). В полости рта твёрдый шанкр чаще возникает на красной кайме, слизистой оболочке губ и на языке, но также может формироваться на дёснах, щеках и миндалинах. Развитие шанкра в полости рта начинается с появления ограниченного покраснения на слизистой оболочке, которое переходит в уплотнение 2-3 см в диаметре за счёт формирования воспалительного инфильтрата. Полностью сформированный шанкр - безболезненное возвышающееся образование хрящевидной плотности, в центре которого находится эрозия, не покрытая корочкой или налётом. При травмировании и присоединении вторичной инфекции эрозия может углубиться с образованием язвы, покрывающейся грязно-серым некротическим налётом и разрушающей большую часть инфильтрата, на котором находится язва. Форма поражений бывает различной: на губах и языке, как правило, круглая или овальная; на десне - с преимущественной локализацией в области резцов удлинённая (шанкр располагается в виде полумесяца или параллельно линии смыкания зубов, захватывая несколько межзубных сосочков); на слизистой оболочке в углу рта - в виде кровоточащей трещины с инфильтрированными краями. Шанкр языка почти всегда одиночный, располагается большей частью на передней трети спинки языка, реже - на кончике, совсем редко - на боковых сторонах языка. Первичная сифилома на дёснах всегда бывает одиночной. На миндалинах твёрдый шанкр почти всегда располагается односторонне; *выделяют три формы твёрдого шанкра на миндалинах: эрозивную, язвенную и ангиноподобную.* Однако классическую картину образования твёрдого шанкра наблюдают не всегда. Часто наблюдают появление очень мелких язв с незначительным инфильтратом (карликовый шанкр), что делает их похожими на травматическую эрозию, развившуюся после повреждения острым краем кариозного зуба, протезом или любым твёрдым предметом. На языке твёрдый шанкр может иногда развиваться в толще слизистой оболочки без образования эрозии или язвы (склерозная форма). В этих случаях часть языка, на которой располагается первичная сифилома, утолщается, похожей на опухоль. *Важный признак - регионарная лимфаденопатия, наблюдаемая при всех видах поражений.*

Помимо твёрдого шанкра в полости рта могут возникать сифилитические проявления при свежем вторичном сифилисе и вторичном рецидивном сифилисе, представленные папулами и розеолами. Папулы и розеола наблюдаются у половины больных с явлениями вторичного сифилиса полости рта. Наиболее часто на слизистой оболочке полости рта появляются папулы. Чаще всего папулы располагаются на губах, языке, дужках и миндалинах. Папулы могут иметь зна-

чительный инфильтрат и возвышаться над слизистой оболочкой. Центр папул покрыт беловато-серым налётом, а по периферии расположен синюшно-красного цвета инфильтрат. Папулы могут сливаться в инфильтрированные бляшки, которые на дужках мягкого нёба могут располагаться дугами и гирляндами, значительно уплотняя нёбную занавеску и язычок. На дёснах папулы образуют форму дуги, инфильтрируя дёсны и межзубные сосочки, нередко подвергаясь эрозии и даже изъязвлению. На нижней губе бляшки могут вызвать значительное уплотнение и отёк губы, а в углах рта образовать массивные инфильтрации с болезненными глубокими трещинами. Такие гипертрофические папулы могут локализоваться также на любой части слизистой оболочки полости рта. На эрозированных папулах иногда происходит и более глубокий распад инфильтрата, что приводит к образованию язвенно-папулёзных сифилидов. Как правило, в этих случаях присоединяется вторичная инфекция, и тогда изъязвившиеся папулы покрываются гнойным налётом желтовато-серого цвета с ясно выраженными воспалительными явлениями. Однако в основании язвы и по её периферии можно обнаружить плотный специфический инфильтрат. На слизистой оболочке щёк папулы располагаются чаще по линии смыкания зубов, образуя плотную зубчатую ленту сероватого цвета. На миндалинах белые плотные налёты покрывают всю поверхность, а глубокий специфический инфильтрат вызывает небольшие воспалительные явления (сифилитическая папулезная ангина), несколько напоминая катаральную

ангину и дифтерию. На языке папулы располагаются чаще всего на его кончике или на боковых сторонах. Поверхностные папулы круглых или овальных очертаний могут почти не возвышаться; нитевидные и грибовидные сосочки языка в области папулы исчезают, вследствие чего образуется гладкая блестящая бляшка ярко-красного цвета, резко отграниченная от здоровой слизистой оболочки языка. Сифилитические розеолы на мягком нёбе и на дужках имеют вид резко ограниченных пятен ярко-красного цвета, часто сливающихся в эритему (эритематозная сифилитическая ангина). Розеолы могут возникнуть и при рецидивах вторичного сифилиса в виде резко ограниченных пятен без острых воспалительных явлений и субъективных ощущений. Без лечения розеолы сохраняются в течение 1 мес и более, причём розеолы мало меняются в цвете и форме. Вторичные сифилиды в полости рта - наиболее заразны. Большинство заражений происходит во вторичном периоде сифилиса, из них на сифилиды в полости рта приходится значительная часть случаев.

Третичный сифилис в полости рта проявляется бугорковым и гуммоznым сифилисом. Бугорковый сифилис может локализоваться в полости рта, чаще всего на губах. Синюшно-красные плотные безболезненные бугорки располагаются группами. На слизистой оболочке полости рта бугорки быстро распадаются, образуя маленькие глубокие язвы с неподрытыми краями. После заживления бугоркового сифилиса остаются рубцы, сохраняющиеся на всю жизнь. Сифилитические гуммы в полости рта могут быть одиночными и множественными, размерами от мелкого ореха до голубиногo яйца и более. Гуммозная язва имеет инфильтрированные неподрытые гладкие края, которые покрыты мелкими грануляциями и окружают дно плотным валиком синюшно-красного цвета. Без лечения развивается гуммозная перфорация твёрдого и мягкого нёба. Иногда гумма вскрывается через 1-2 узкие фистулы. Даже при значительных разрушениях язычка, прободениях твёрдого и мягкого нёба, перфорациях нёбной занавески, разрушении значительной части языка и губ не отмечают сильной болезненности, что отличает гуммы от туберкулёзных язв в полости рта. Наиболее характерные гуммозные поражения возникают на языке. Они характеризуются появлением изолированных гумм и развитием склерозного глоссита - образованием в толще языка сплошного глубокого интерстициального инфильтрата.

При врождённом сифилисе слизистая оболочка полости рта поражается с различной частотой в зависимости от возраста ребёнка. При манифестных формах раннего врождённого сифилиса у детей грудного возраста сифилитические высыпания наблюдают не более чем у 30%. Сифилиды имеют вид папул, аналогичные таковым при вторичном сифилисе. Наиболее частое проявление раннего врождённого сифилиса - диффузная сифилитическая инфильтрация кожи на ладонях, подошвах, ягодицах и вокруг рта, где образуются характерные околоротовые рубцы. Сифилитическая инфильтрация захватывает также красную кайму губ, а нередко и слизистую оболочку губ и щёк в углу рта. Глубокий инфильтрат в толще кожи и слизистой оболочки, непрерывное растягивание губ при крике и сосании наряду с неопрятным содержанием полости рта создают благоприятные условия для образования линейных рубцов, расположенных перпендикулярно к линии рта и в углах рта. В результате вторичного инфицирования трещины могут быть глубокими и оставляют рубцы на всю жизнь.

Актиномикоз. Основные возбудители - *A. israelii* и *A. viscosus*. Большинство поражений вызывают бактерии, обитающие в полости рта в качестве сапрофитов, особенно в полости кариозных зубов, в отложениях зубного камня. Патогенный потенциал микроорганизмов очень низкий, и актиномикозы развиваются лишь на фоне снижения резистентности в результате авитаминозов, тяжёлых заболеваний и т.д. Наиболее часто наблюдают актиномикоз шейно-лицевой области и нижней челюсти. Возбудитель преодолевает эпителиальный барьер слизистой оболочки полости рта при травмах, хирургических вмешательствах, инъекциях. В слизистой оболочке или в глубоких мягких тканях развивается один, а чаще несколько плотных узлов-гранулём (актиномикомы) без острых воспалительных явлений, повышения температуры тела и нарушения самочувствия. Признаки интоксикации с головными болями, общей слабостью и

субфебрильной температурой тела проявляются лишь при распаде узлов с выделением гноя через несколько узких фистул. При локализации узлов на нижней челюсти нередко развивается судорожный спазм мышц рта (тризм), затрудняющий приём пищи. В области слияния нескольких узлов воспалительный инфильтрат имеет значительную плотность, что является важным диагностическим признаком. В центре инфильтрата образуется несколько отверстий, представляющих выпячивания красного цвета («цвет мяса») в виде сосков. Из фистул выделяется жидкий гной с большим содержанием желтовато-серых зёрен диаметром до 1 мм, так называемых «серных гранул» (тельца Боллингера). Зёрна - скопления-друзы, образованные мицелием с булавовидными периферическими вздутиями. При их обнаружении диагноз очевиден. В сомнительных случаях проводят кожно-аллергические пробы с актинолизатом (белковый экстракт культуры). При положительной реакции через 24 ч на месте инъекции возникают гиперемия и отёк.

Проказа. При лепроматозной форме проказы нередко наблюдают поражения в полости рта, проявляющиеся образованием инфильтратов на слизистой оболочке по ходу нервных стволов. Инфильтраты чаще обнаруживают на мягком и твёрдом нёбе, на губах и языке. Лепрома-тозный узел - воспалительная гранулёма, включающая большое количество так называемых лепрозных клеток и бактерий, что объясняет высокую контагиозность распавшейся лепромы. Наряду с отдельными узлами-лепромами встречаются также легко распадающиеся разлитые леп-розные инфильтраты. При разлитой инфильтрации язык может достигать огромных размеров, особенно при присоединении элифантиаза языка и губ. Изолированно в полости рта лепромы наблюдают редко, обычно они возникают совместно с поражением на коже, что значительно облегчает диагноз.

Инфекционные поражения полости рта при ВИЧ-инфекции

У 50% ВИЧ-инфицированных и у 80% больных на стадии СПИДа развиваются различные поражения слизистой оболочки ротоглотки. Большинство поражений проявляется образованием изъязвлений. Изъязвления слизистых оболочек, обусловленные вирусами, наблюдают при герпетических инфекциях, вызываемых ВПГ 1-го и 2-го типа, *varicella-zoster* и ЦМВ.

Поражения, вызываемые грибами, отмечают у 40-60% ВИЧ-инфицированных. Основной возбудитель - *C. albicans* (60-90% случаев); поражения могут вызывать также *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* и др. Часто обнаруживают ассоциации из двух или более видов. У больных наблюдают как банальные псевдомембранозные поражения типа молочницы, так и атрофический и хронический гиперпластический кандидозы, а также ангулярный хейлит. Атрофический кандидоз проявляется формированием ярко красных очагов, локализующихся преимущественно на твёрдом нёбе и спинке языка. При хроническом гиперпластическом кандидозе отмечают красные и белые пятна, симметрично расположенные на слизистой оболочке щёк. Ангулярный хейлит проявляется покраснением и образованием трещин в углах рта.

Поражения, вызываемые бактериями. Кроме банальных инфекций, вызываемых стафилококками и стрептококками, у ВИЧ-инфицированных могут развиваться некротизирующие гингивиты и периодонтиты, вызываемые нетипичными возбудителями: *Mycoplasma salivarium*, *Enterobacter cloacae*, видами *Clostridium*, *Klebsiella* и *Pseudomonas* (отличными от синегнойной палочки).

Поражения, вызываемые вирусами. Основные возбудители - ВПГ и вирус *varicella-zoster*. Поражения протекают в форме стоматитов, часто осложняющихся бактериальными суперинфекциями. Вирусные стоматиты у ВИЧ-инфицированных чаще протекают в тяжёлой форме. Изъязвления на слизистой оболочке полости рта сопровождаются сильной болью, затрудняющей

жевание и проглатывание пищи, что приводит к резкому похуданию. Поражения особого типа - «волосатая» лейкоплакия. Заболевание обусловлено интенсивной репродукцией вируса Эпштейна-Барр в клетках эпителия языка. Развитие «волосатой» лейкоплакии непосредственно связано с ВИЧ-инфекцией, так как у 98% больных выявляют АТ к ВИЧ. Лейкоплакия проявляется формированием на слизистой оболочке щёк либо на боковых сторонах языка белых пятен, способных распространяться на спинку языка. Поверхность пятен сморщенная или «волосистая» вследствие неравномерного ороговения.

Принципы выделения возбудителей инфекционных поражений полости рта

Как было указано выше, большинство бактерий, обитающих в полости рта, не способны вызывать моноинфекции. Чаще наблюдают поражения, вызванные микробными ассоциациями. Соответственно для выявления конкретного этиологического агента необходимо установить его доминирование и определить соотношение с прочей микрофлорой по всей слизистой оболочке или в отдельном секторе. Материал для бактериологических исследований отбирают ватным тампоном, обтирая поверхность слизистой оболочки щёк, дёсен и языка. Из налёта или язв мазки желателно отбирать отдельным тампоном. Из десневых карманов забор материала проводят платиновой петлёй, из зубных каналов - с помощью стоматологических зондов, обёрнутых стерильной ватой, либо ватных или бумажных фитильков.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОВ ЖКТ

Пищевод

В проксимальной части пищевода можно обнаружить незначительное количество бактерий, обитающих в ротоглотке, в дистальных отделах - стафилококки, дифтероиды, молочнокислые бактерии, сарцины, *Bacillus subtilis* и кандиды. Бактериологическое исследование проводят для выявления возбудителей эзофагитов. Основные возбудители - ВПГ, ЦМВ и грибы рода *Candida*. На герпетическую инфекцию указывают глубокие множественные небольшие язвы; при ЦМВ-инфекции они более крупные и склонны к слиянию. Кандидозные эзофагиты характерны для больных с выраженными иммунодефицитными состояниями. Для выделения кандид отбирают биоптаты при эзофагоскопии, микроскопируют мазки, окрашенных по Граму, и засевают материал на питательные среды.

Желудок

В желудке бактерии практически отсутствуют, либо их количество не превышает 10^3 - 10^4 /мл содержимого, что обусловлено кислой рН. Больше количество бактерий выявляют в пилорической части. При гипохлоргидрии в желудке выявляют лактобациллы, сарцины, энтеробактерии, синегнойную палочку, энтерококки, спорообразующие бациллы и различные грибы. Особое значение имеет *Helicobacter pylori* - возбудитель рецидивирующих язвенных гастродуоденитов. Для обнаружения *H. pylori* наиболее оптимальным считают забор биоптатов при фиброгастроскопии. При пищевых токсикоинфекциях, вызванных *S. aureus* и *B. cereus*, изучают промывные воды желудка, которые исследуют немедленно. Образцы центрифугируют, осадок микроскопируют и проводят посев на питательные среды. При невозможности немедленного анализа рН образцов доводят до нейтральных величин и замораживают. Рвотные массы доставляют в лабораторию на льду; при необходимости их можно заморозить.

Кишечник

Состав нормальной микрофлоры кишечника здорового человека стабилен и, если условия и качество его жизни существенно не изменяются, не подвержен существенным колебаниям (см. также главу 5). За небольшим исключением двенадцатиперстная и тощая кишки содержат не более 10^3 - 10^5 бактерий в 1 мл содержимого. Часть микрофлоры пополняется за счёт поступления с

пищевыми массами, другие берут своё начало из нижних отделов тонкой кишки. Проксимальные отделы подвздошной кишки также содержат незначительное количество бактерий, но в дистальном отделе микробные сообщества значительно разнообразнее. Общее количество бактерий может достигать 10^7 в 1 мл содержимого и включать виды, обитающие в толстой кишке. Видовой состав бактерий увеличивается в направлении прямой кишки. По составу бактерий испражнения не отличаются от микрофлоры толстой кишки. Резидентная флора кишечника может принимать участие в развитии некоторых патологических процессов. Значительная часть их развивается на фоне сопутствующей патологии (резекции желудка, дивертикулов двенадцатиперстной кишки, цирроза и др.). *Взаимодействия организма с энтеропатогенными возбудителями в большинстве своём достаточно универсальны и проявляются диареями и дизентериями.* Диареи - самые распространённые поражения. Основные возбудители диарей - энтеротоксигенные штаммы кишечной палочки, шигеллы, иерсинии, вибрионы, сальмонеллы, лямблии и др. К ним близки пищевые токсикоинфекции (основные возбудители - стафилококки, бациллы и клостридии), так как патогенез поражений обусловлен действием энтеротоксина. Дизентерии наблюдают реже, что, очевидно, опосредовано меньшим числом их возбудителей (шигеллы, дизентерийная амёба, балантидии и некоторые др.). Материал из тонкой кишки отбирают при фиброгастроскопии либо специальными зондами, открывающимися и закрывающимися в нужном месте. Данные о составе микрофлоры толстой кишки получают бактериологическим исследованием испражнений. Пробы отбирают из нескольких мест в каловых массах. Также отбирают гнойные, слизистые и кровавые включения. Материал можно отбирать из прямой кишки тампоном и стеклянной палочкой. *Бактериологические исследования следует начинать не позднее 0,5-1ч после забора материала.* При невозможности немедленного проведения анализа пробы можно замораживать и сохранять до 1 сут и более. В некоторых случаях (например, при бактериальной дизентерии) используют консервирующие жидкости (например, 30% раствор глицерина с рН 7,6).

Жёлчные протоки и печень

Бактериологическое исследование жёлчи проводят при воспалительных процессах в жёлчном пузыре и печени. В большинстве случаев они развиваются после проникновения микрофлоры из кишечника, но не из кровотока. В результате вторичного заноса в паренхиму печени из воротной системы могут проникать бактерии, устойчивые к действию фагоцитов (возбудители брюшного тифа, бруцеллёза, туберкулёза и Ку-лихорадки). Развитию инфекционного воспаления жёлчного пузыря и жёлчных протоков предшествуют застойные явления, особенно часто развивающиеся при обструкции. Наиболее часто из жёлчи выделяют *E. coli*, виды *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Peptostreptococcus*, бактероиды, актиномицеты и *S. perfringens*. Следует отметить, что жёлчь - наиболее благоприятная среда для сальмонелл, способных колонизировать как протоки, так и жёлчные камни. До 40% подобных поражений вызывают ассоциации аэробов и анаэробов. При нарушении функциональной активности макрофагов печени либо при проникновении в систему воротной вены большого количества бактерий могут развиваться диффузные воспалительные процессы или, чаще, абсцессы печени. Нередко подобные ситуации наблюдают при хроническом гепатите и циррозах. Основные возбудители - *E. coli*, *S. perfringens*, *S. aureus*, виды *Klebsiella* и *Proteus*, пептострептококки и аспергиллы. Забор жёлчи проводят зондированием двенадцатиперстной кишки, для исследования отбирают порции А, В и С. Результаты бактериологического анализа разных порций могут существенно отличаться и не дают достоверной информации о локализации процесса. При интерпретации результатов необходимо учитывать все патологические состояния, способные вызвать избыточный рост бактерий. Колонизация жёлчных камней сальмонеллами тифо-паратифозной группы обуславливает стойкое бациллоносительство и требует немедленного удаления конкрементов. Основной способ диагностики абсцессов и диффузных поражений печени - посев биоптатов из очагов, выявленных рентгенографией.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦНС

Большинство инфекций ЦНС протекает тяжело и вызывает серьёзные осложнения. Во многом тяжесть поражений обусловлена специфичностью строения и свойствами самих тканей ЦНС, а также особенностями их анатомического расположения. Несмотря на то, что органы ЦНС надёжно укрыты от внешней среды костным скелетом и оболочками, любое воспаление в этих областях приводит к серьёзным, часто необратимым повреждениям. ГЭБ препятствует проникновению патогенов и токсинов к тканям ЦНС и затрудняет проникновение фагоцитов, сывороточных АТ и многих антимикробных препаратов. Первично возбудители размножаются в периферических тканях и лишь затем проникают в ЦНС с кровотоком или по периферическим нервам. В зависимости от локализации инфекции ЦНС разделяют на энцефалиты, менингиты и миелиты.

Бактериальные менингиты

Бактериальные менингиты - обычно острые, опасные для жизни инфекции. Даже на фоне проводимой адекватной антимикробной терапии смертность может достигать 15%. Заболевание чаще регистрируют у детей. Возбудитель бактериальных менингитов - капсулированные бактерии. Основным возбудителем поражений у детей в возрасте 6-12 мес - *Haemophilus influenzae* типа b. Дети младше 2 мес обычно не болеют (что обусловлено циркуляцией АТ, трансплацентарно полученных от матерей); по достижении 5-летнего возраста вероятность развития заболевания снижается с каждым годом. Другой важный патоген - *Neisseria meningitidis*, способный вызывать эпидемический менингит. Большинство случаев вызывают бактерии серогрупп А, В, С и Y. Первичные инфекции характерны для молодых; наиболее высокую заболеваемость регистрируют у детей. Часто гнойные менингиты вызывает *Streptococcus pneumoniae*; пневмококки - основные возбудители бактериальных менингитов у пожилых. Факторы, предрасполагающие к развитию пневмококкового менингита, - спленэктомия, серповидноклеточная анемия, алкоголизм, черепно-мозговые травмы. Группу риска составляют дети, страдающие запущенными отитами, вызванными *S. pneumoniae*. Реже поражения вызывают *Listeria monocytogenes*, энтеробактерии (эшерихии, клебсиеллы, сальмонеллы, протеи), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Mycobacterium tuberculosis*, виды *Brucella*, *Leptospira*, *Mycoplasma*, бактериоиды, дифтероиды и др. Материал для исследований - СМЖ; при её изучении выявляют факт поражения мозговых оболочек, но результаты не имеют прогностического значения. Образцы следует забирать, соблюдая правила асептики. Изменение состава и давление СМЖ варьирует в зависимости от стадии заболевания - у большинства давление СМЖ повышается постепенно (при тяжёлых поражениях может быть чрезмерно высоким). СМЖ обычно мутная и характеризуется выраженным лейкоцитозом (как правило, 1000-10 000/мл).

- Если СМЖ мутная, то из неё готовят мазки для микроскопирования; если прозрачная - то мазки готовят из осадка, полученного после центрифугирования. Мазки следует окрашивать по Граму, Цйлю-Нильсену и Романовскому-Гймзе. Также не следует пренебрегать окраской тушью на наличие капсул. *Нельзя проводить идентификацию возбудителя, основываясь только на результатах микроскопии.*

- Если СМЖ была загрязнена при взятии пробы, то микроорганизмы обычно не выявляют при микроскопии и обнаруживают лишь на следующий день в культурах. При менингитах, вызванных *Mycobacterium tuberculosis* и *Listeria monocytogenes*, проводят посев на соответствующие среды.

Вирусные менингиты и энцефалиты

Нередко в качестве синонима вирусных поражений употребляют уже устаревший термин асептический менингит, указывающий на «стерильность» СМЖ при исследовании обычными бактериологическими методами. Помимо вирусов менингиты и энцефалиты вызывают патогенные грибы, лептоспиры и бледная трепонема. Состояния также могут вообще не иметь

инфекционной этиологии, например при болезнях злокачественного роста или коллагенозах. Вирусы также вызывают и поражения головного мозга, так что более уместен термин вирусные менингоэнцефалиты. Основные возбудители - энтеровирусы (Коксаки, ЕСНО, полиови-русы) и вирус эпидемического паротита. Реже поражения вызывают герпесвирусы, ЦМВ, вирусы бешенства, коревой краснухи, оспы коров, арбовирусы (восточного, западного и Калифорнийского лошадиного энцефалитов) и др. «Золотой стандарт» - выявление этиологического агента; эффективность выделения на культурах клеток с последующей идентификацией возбудителя не превышает 25-30%. Обычно ограничиваются исследованиями СМЖ с определением давления и цитоза (обычно 100-500/мл; повышение до 1000/мл и выше нетипично). Характерно преобладание нейтрофилов в первые 48 ч, позднее около 50% от общего количества клеток составляют мононуклеары.

Менингиты, вызванные патогенными грибами

Большинство грибов, вызывающих системные и оппортунистические микозы, способно к диссеминированию и поражает ЦНС; некоторые виды грибов обладают изначальным тропизмом к тканям мозговых оболочек. Основные возбудители - *Cryptococcus neoformans* и *Coccidioides immitis*. Оба возбудителя проникают в ЦНС путём гематогенного диссеминирования из первичного очага инфекции в лёгких. *C. neoformans* распространён повсеместно. У большей части населения можно выявить АТ к Аг грибов при полном отсутствии соответствующей симптома-

тики. Грибок - классический оппортунистический патоген; более 50% пациентов с криптококк-ковыми менингитами страдают иммунодефицитами с нарушением клеточного иммунного ответа. *C. immitis* эндемичен для некоторых районов юго-запада США и Центральной Америки. Однако только 1% первичных инфекций приводит к кокцидиоидному менингиту. Материал для исследований - СМЖ; среди клеток преобладают мононуклеары; содержание лейкоцитов - 50-500/мл. Обнаружение капсулированных клеток в мазках СМЖ, окрашенных тушью, подтверждает диагноз. Микроскопия окрашенных мазков позволяет выявить заболевание у 50-70% пациентов. Однако обнаружение *C. immitis* микроскопией мазков СМЖ представляет большую редкость. *C. neoformans* легко выделить на соответствующих средах и определить его физиологические и биохимические свойства. Гораздо труднее выделять возбудитель кокцидиоидозного менингита; в 70% клинических случаев попытки безуспешны. Выросшие культуры *C. immitis* идентифицируют микроскопией и по морфологии колоний. У 94% пациентов с криптококковым менингитом можно обнаружить капсульный Аг в СМЖ методом латекс-агглютинации. Следует помнить, что наличие ревматоидного фактора в образце может обусловить ложноположительные результаты. Серологическая диагностика кокцидиоидозного менингита основана на выявлении комплементсвязывающих АТ в СМЖ; у 70% пациентов АТ можно выявить уже при первом исследовании. В некоторых случаях первичная диагностика заболевания затруднена, но при прогрессировании процесса АТ выявляют практически у всех пациентов.

Бактериальные абсцессы головного мозга

Абсцессы головного мозга - обычно следствие хронического остеомиелита костей черепа, септической эмболии из других очагов инфекции, например лёгких, сердца, почек, костей (необходимо пытаться обнаружить первичный очаг). Реже встречаются случаи прямого обсеменения мозговой ткани при травмах или хирургических вмешательствах. Поражения наиболее часто вызывают стрептококки и виды *Bacteroides*. У новорождённых и ослабленных пациентов пожилого возраста основными возбудителями считаются анаэробные штаммы *Escherichia coli*. Посттравматические абсцессы наиболее часто вызывают стафилококки и стрептококки. Иногда наблюдают смешанные аэробные и анаэробные (или факультативно-анаэробные) поражения. К более редким возбудителям относят *Haemophilus influenzae* (выделяют только у детей 1-5 лет), *Actinomyces israelii*, *Nocardia asteroides*, дифтероиды, аспергиллы и микобактерии. Бактериологические исследования включают микроскопию мазков гнойного отделяемого,

окрашенных по Граму, и посев материала на среды для культивирования аэробных и анаэробных бактерий. Следует помнить, что *при подозрении на абсцесс мозга проведение поясничной пункции для забора СМЖ противопоказано.*

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОВ МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ

Моча здорового человека стерильна. Как правило, бактерии проникают в неё при прохождении через дистальные отделы мочевыводящих путей. Проникшие в мочу микроорганизмы быстро размножаются, так как она содержит основные вещества, необходимые для роста (углеводы, мочевины, минеральные соли и т.д.). Росту бактерий также способствует благоприятное значение рН (5,3-6,5). К резидентной микрофлоре относят стафилококки, микрококки, дифтероиды, сарцины, энтеробактерии, нейссерии, микобактерии, микоплазмы, бактероиды, фузиформные бактерии и трепонемы. Обилие бактерий, колонизирующих наружные половые органы и передний отдел мочеиспускательного канала, а также способных быстро размножаться в моче, затрудняет правильную интерпретацию результатов бактериологического исследования. Для проведения дифференциальной диагностики между истинными возбудителями и бактериями, случайно попавшими в мочу, следует *правильно проводить забор мочи, использовать методы количественного определения микроорганизмов и знать возбудителей инфекций мочевыводящих путей.*

Подготовка

Перед проведением забора мочи больного просят обмыть наружные половые органы с мылом. В стерильный сосуд отбирают 3-5 мл средней порции утренней мочи, так как она содержит повышенное количество микроорганизмов, скопившихся за время сна. Критическая величина нормального содержания бактерий - 10^5 /мл. Полученный образец быстро (в течение

30 мин) доставляют в лабораторию, исследование начинают не позднее 1 ч после забора. При невозможности начать работу немедленно мочу можно сохранять в холодильнике не более 24 ч. Некоторые методики позволяют проводить посев у постели больного: чаще используют метод предметного стекла (стекло, покрытое слоем питательной среды, погружают в мочу, извлекают, дают моче стечь и инкубируют) и метод калиброванных флаконов (используют сосуды ёмкостью 30 мл, стенки которых покрыты питательной средой; в сосуд вносят 3-5 мл мочи, ополаскивают стенки и сливают; сосуды инкубируют в термостате). При невозможности самостоятельного мочеиспускания показаны катетеризация и надлобковая пункция мочевого пузыря. На факт контаминирования образца часто указывает наличие нескольких видов бактерий. Наличие в моче клеток эпителия влагалища указывает, что забор образца был проведён неправильно.

Количественные методы бактериологического исследования мочи

Наибольшее распространение получил метод калиброванной петли. Образец мочи высевают на подходящую плотную среду платиновой калиброванной петлёй диаметром 2 мм. Следует соблюдать технику посева. Дальнейшее исследование проводят обычным методом, подсчитывая число выросших колоний (зная, скольким колониям соответствует определённое количество бактерий в 1 мл мочи). Быстрый метод определения количества бактерий в образце - микроскопия нецентрифугированной мочи; выявление хотя бы одной бактерии в поле зрения при большом увеличении микроскопа (тысячекратном) эквивалентно наличию 10^5 бактерий в 1 мл мочи. При поражениях в моче часто обнаруживают лейкоциты и эритроциты, что может указывать на наличие патологического процесса, но не считается диагностическим показателем.

Экспресс-тесты

При профилактических осмотрах можно использовать экспресс-тесты для скрининговых обследований, выявляющие основные биохимические характеристики, например содержание ферментов (нитратазы, трифенилтетразолийхлорид редуктазы).

Бактериурия

В 1 мл мочи здорового человека содержится не более 10^4 бактерий (критическое количество - 10^5 бактерий), превышение этих величин считают патологией, а состояние рассматривается как клинически значимая бактериурия. При выявлении 10^6 - 10^8 бактерий в правильно отобранных образцах наличие инфекции мочевыводящих путей можно считать несомненным. Неясные, пограничные значения требуют проведения многократных повторных исследований.

- Транзиторная бактериурия в зависимости от количества микроорганизмов может быть явной или незначимой. Транзиторная бактериурия нередко развивается при различных патологиях, например энтероколитах, а также при проведении различных медицинских манипуляций. При отсутствии патологии мочевыводящих путей бактерии быстро выводятся из организма.

- Неясная бактериурия: содержание бактерий в моче не превышает 10^4 , к находке следует отнестись серьёзно и повторить исследования 2-3 раза через различные интервалы (учитывая время проведения последнего курса антибиотикотерапии). Особое внимание следует обратить на наличие бактериурии неясного генеза у детей младшего возраста.

- Значимая бактериурия, как правило, сопровождается объективными или субъективными признаками поражения мочевыводящих путей. К этой группе относят и бессимптомные бактериурии, сопровождающиеся выделением 10^5 и более бактерий (обычно соответствует бессимптомной стадии цистита или пиелонефрита). При поражениях, вызванных не энтеробактериями, наблюдают менее выраженную бактериурию. У пациентов, предрасположенных к развитию инфекций, также наблюдают бактериурию с выделением меньшего количества микроорганизмов. При поражениях мочевыводящих путей часто большее значение имеют биологические свойства возбудителя, а не его содержание в моче.

Инфекции мочевыводящих путей

Основные клинические проявления - уретриты, циститы и пиелонефриты. Женщины болевают в 30 раз чаще, чем мужчины, что обусловлено, в частности, относительно небольшими размерами мочеиспускательного канала. Частота инфекций мочевыводящих путей у женщин с

возрастом линейно возрастает. Поражения диагностируют у 1% девочек школьного возраста, к 30-ти годам поражения регистрируют у 20% женщин; заболеваемость достигает пика у женщин старше 60 лет. У мужчин поражения мочевыводящих путей наблюдают значительно реже, пик заболеваемости (1%) приходится на возраст старше 60 лет. В течение первых недель после рождения мальчики более предрасположены к развитию инфекции.

Предрасполагающие факторы

Предрасполагающие факторы включают анатомические аномалии, нарушения метаболизма, несоблюдение правил личной гигиены и сопутствующие заболевания.

- К развитию поражений предрасполагает аномальное строение мочевыводящих путей, особенно обструкции, рефлюксы и неполное опорожнение мочевого пузыря. Основным фактором, обуславливающим частые, рецидивирующие или хронические инфекции мочевыводящих путей - анатомические аномалии.

- Развитие инфекций мочевыводящих путей могут вызвать несоблюдение элементарных гигиенических правил. Неправильное использование тампонов способствует попаданию в мочеиспускательный канал факультативной влагалищной микрофлоры. Проникновению микробов в мочеиспускательный канал и мочевого пузыря (с возможным развитием поражений) также могут способствовать медицинские манипуляции с использованием катетеров, тампонов и др.

- Некоторые обменные нарушения значительно повышают риск развития инфекций. Например, у мужчин, страдающих сахарным диабетом, поражения развиваются в 30 раз выше, чем у здоровых. Мочекаменная болезнь и другие обструктивные заболевания, обусловленные метаболическими нарушениями, также повышают риск развития инфекций мочевыводящих путей.

- *Группу риска составляют больные с урологической патологией.* У подобных пациентов риск развития поражений намного выше, чем у больных, получающих амбулаторное лечение. У пациентов с мочевыми катетерами они возникают неизбежно, несмотря на асептические условия введения и соответствующую дезинфекцию устройства. Риск инфицирования возрастает с увеличением продолжительности нахождения катетера в мочеиспускательном канале.

Этиология

Типичные возбудители. Большинство случаев инфекций мочевыводящих путей вызывают представители семейства *Enterobacteriaceae*, происходящие из ЖКТ. В частности, около 50-85% всех поражений вызывают *Escherichia coli*, 8-13% - *Klebsiella pneumoniae*. У госпитализированных пациентов спектр возбудителей значительно шире и включает виды *Proteus*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* и др. Среди грамположительных бактерий подобные поражения наиболее часто вызывают *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus* и стрептококки группы В.

Нетипичные возбудители. В некоторых случаях из мочи выделяют *Staphylococcus aureus*, коринебактерии и лактобациллы; следует помнить, что их наличие в мочевыводящих путях часто бывает следствием основной патологии. Возбудители уретритов - *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* - редко вызывают истинные инфекции мочевой системы. У лиц, страдающих сахарным диабетом, пациентов с мочевыми катетерами и беременных женщин в моче нередко обнаруживают грибки рода *Candida*. Следует помнить, что наличие кандид обычно свидетельствует о колонизации мочеиспускательного канала сапрофитического характера. Восходящий кандидоз мочевого тракта наблюдают редко; повторное выделение дрожжеподобных грибов может означать наличие вторичного пиелонефрита при диссеминированном кандидозе.

Роль вирусов в развитии инфекций мочевыводящих путей остаётся до конца не выясненной (исключая конкретные заболевания, обусловленные проникновением иммунных комплексов, содержащих возбудитель, в почечные клубочки).

Инфекции мочевыводящих путей - основной фактор, обуславливающий проникновение грамотрицательной микрофлоры в кровоток. Тяжёлые осложнения, особенно у пациентов с анатомическими аномалиями мочевыводящих путей, - бактериемии, уросепсис и септический шок. Как правило, шок развивается при массивном проникновении бактерий в кровоток, например при травматизации стенок мочевыводящих путей при хирургической коррекции дефектов инфицированных органов. Как редкое осложнение после острого пиелонефрита наблюдают тяжёлое повреждение почечной ткани в результате папиллярного некроза. Поражения обусловлены образованием абсцессов в почках и паранефральной клетчатке с последующим развитием бактериемии. В редких случаях инфекции мочевого тракта могут приводить к развитию хронического пиелонефрита.

Принципы микробиологической диагностики

Диагностика основана на выделении возбудителя (обычно из мочи) и его идентификации.

Лечение

Лечение направлено на предотвращение осложнений и ранних рецидивов инфекции.

Общие принципы. Концентрации большинства используемых антимикробных препаратов в моче должны быть в 10-100 раз выше пикового сывороточного содержания (следует помнить, что определение чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам методом антибиотиковых дисков основано на средней концентрации препарата в сыворотке). При банальных инфекциях нет необходимости проводить тест на чувствительность, но он приобретает существенное значение при пиелонефрите и рецидивирующих хронических инфекциях. Лечение основных форм инфекций мочевыводящих путей

- Уретриты и циститы. Обычно применяют низкие или умеренные дозы антимикробного препарата в течение 10-15 дней. Нередко при лечении банальных или неосложнённых уретритов и циститов терапевтический эффект оказывает одна доза препарата.

- Острый пиелонефрит. Цель антимикробной терапии - скорейшая стерилизация мочевых путей во избежание развития рецидивов и осложнений. Необходимо применять комбинации синергичных препаратов, что снижает риск развития резистентности у возбудителей.

Простатит

Воспаление предстательной железы может быть инфекционной или неинфекционной этиологии. Обычно острый и хронический бактериальные простатиты вызывают основные возбудители инфекций мочевыводящих путей. Самые распространённые возбудители - энтеробактерии (*Escherichia coli*, виды *Klebsiella* и *Proteus*) и синегнойная палочка. Реже поражения вызывают энтерококки и *Staphylococcus epidermidis*. В более редких случаях возбудителями являются анаэробные бактерии, микоплазмы и хламидии. В запущенных случаях поражения вызывают *Trichomonas vaginalis* и *Candida albicans*. Остаётся недоказанной возможная этиологическая роль вирусов, однако во многих случаях простатит проявляется после перенесённой вирусной инфекции верхних дыхательных путей. При отсутствии адекватного лечения типичное осложнение бактериального простатита - пиелонефрит. Прочие осложнения аналогичны таковым при тяжёлых инфекциях мочевыводящих путей.

Принципы микробиологической диагностики

Идентификация возбудителя необходима для назначения эффективной терапии. Важно правильно проводить исследование мочи (до и после массажа предстательной железы, сопоставляя результаты) и секрета предстательной железы.

Лечение

Для лечения острых поражений проводят антимикробную терапию, основанную на определении чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам. При лечении хронических поражений антимикробную терапию сочетать с профилактикой цистита и коррекцией сопутствующих симптомов. Эффективное лечение небактериальных поражений возможно только после выяснения этиологии поражения.

Невенерические инфекции женских половых органов

К нормальной микрофлоре женских половых органов относят *Staphylococcus epidermidis*, энтерококки, зеленящие стрептококки, виды *Neisseria* и *Veillonella*, дифтероиды, микоплазмы (обычно *M. hominis*), *Escherichia coli*, бактероиды, фузобактерии, трепонемы, клебсиеллы и клостридии. Более разнообразна микрофлора нижней трети влагалища, малых половых губ и области гиме-нального кольца. В верхних отделах влагалища доминируют лактобациллы и бифидобактерии. В канале шейки матки обитают лактобациллы, пептострептококки, дифтероиды и стафилококки. В некоторых ситуациях, особенно при беременности, в состав микрофлоры могут входить кандиды. Обсеменение половых органов происходит сразу после рождения; первоначально доминируют стафилококки, энтерококки, эшерихии, клебсиеллы и сарцины. Как правило, поражения половых

органов вызывают микроорганизмы, попадающие извне, паразитирующие в соседних органах либо распространяющиеся гематогенным путём. Развивающиеся инфекции обычно носят гнойный или гранулематозный характер. Большинство пиогенных и гранулематозных инфекций вызывает факультативная влагалищная микрофлора. Манипуляции при акушерских и гинекологических процедурах могут привести к заносу инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и другими микроорганизмами. Специфические патогены проникают при половых контактах и бытовым путём (очень редко), при несоблюдении правил личной гигиены и при использовании загрязнённых гинекологических инструментов и перчаток.

Микробиологическая диагностика

Используют методы, направленные на выделение и идентификацию микроорганизмов, а также на установление их возможной этиологической роли. Следует помнить, что большая часть возбудителей быстро погибает во внешней среде. Поэтому исследования необходимо начинать немедленно или помещать образцы в консервирующие жидкости (например, глицериновую среду).

• **Мочеиспускательный канал.** Материал забирают утром, до мочеиспускания; образец берут стерильной петлёй (иногда уместно провести массаж через влагалище).

• **Вульва.** Секрет забирают тампоном или петлёй; при бартолинитах проводят пункцию или иссечение с забором материала.

• **Влагалище.** Образец забирают из верхней трети и заднего свода влагалища тампоном или пипеткой.

• **Шейка матки.** Материал забирают тампоном.

• **Матка.** Используют устройства, раскрывающиеся на определённой глубине; менструальную кровь можно собрать в специальные пессарии, закреплённые на шейке матки.

Заболевания, передающиеся половым путём и вызывающие поражения органов мочеполовой системы

Некоторые из подобных инфекций характеризуются локализованными поражениями и схожей симптоматикой. Другие вызывают специфические и нередко системные заболевания. Нередко возбудители могут сопутствовать друг другу или вызывать смешанные инфекции. *Единственный резервуар возбудителей - больной человек.* Следует помнить, что подавляющее большинство заболеваний, особенно системных, редко приводят к поражениям мочевыводящих путей. *Однако они типичны для гонореи и негонококковых уретритов.* Основные возбудители - *Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma hominis, Trichomonas vaginalis, Candida albicans* и ВПГ. В 20% случаев при бактериологическом исследовании материала возбудитель не выявляют.

Гонорея. При диагностике гонореи проводят микроскопию мазков с обнаружением большого количества нейтрофилов и грамотрицательных диплококков, что предполагает наличие гонореи. При изучении мазков шеечного секрета часто получают ложноотрицательный результат (при ректальной и фарингеальной форме гонореи исследование окрашенных мазков не проводят). Однако большая распространённость инволюционных форм (особенно после самолечения) обуславливает необходимость выделения культуры возбудителя. При бессимптомном носительстве проводят неоднократные исследования; идентификация выращенных культур иммунофлюоресцентным методом получение ускоряет результатов.

Хламидиоз. При хламидиозах в клетках эпителия обнаруживают включения. Хламидии стимулируют образование АТ, титр которых колеблется в зависимости от стадии развития процесса. При диагностике хламидиозов отдают предпочтение комплексному выявлению телец включений, Аг возбудителя и АТ к ним.

Микоплазмоз. *Mycoplasma hominis* часто обнаруживают в мочеиспускательном канале у мужчин и женщин, во влагалище и шейке матки при отсутствии клинических проявлений. Возбудителей также выделяют из матки, придатков, *дугласова* пространства, предстательной железы, придатков яичка и парауретральных желёз при многих заболеваниях, вызываемых другими микроорганизмами.

Трихомониаз. Выявление *Trichomonas vaginalis* может быть затруднено, например вследствие утери подвижности возбудителем либо перехода его во внутриклеточную форму. Диагностику не ограничивают микроскопией полученного материала, необходимо также проводить посев на селективные питательные среды.

Генитальный герпес. Возбудитель генитального герпеса - ВПГ 2-го типа. Для поражений характерны различные цитопатические эффекты, включая образование многоядерных гигантских клеток и внутриклеточных телец Коудри типа А. Наиболее специфичным диагностическим тестом считают выделение и идентификацию ВПГ 2-го типа. Выделение возбудителя проводят на клеточных культурах, например на первичных клетках почек эмбриона человека с анализом типичных цитопатических эффектов. Также можно использовать методы выявления вирусоспецифических белков и ДНК, но в обычных лабораториях их обычно не применяют. Самый простой и быстрый диагностический приём - микроскопия соскоба со дна везикулы (проба Цанка); окрашивание мазков флюоресцирующими АТ обеспечивает более точную идентификацию. Материал, взятый со стенок влагалища и шейки матки, можно исследовать в мазках, окрашенных по Папаниколау.

ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ИНФЕКЦИИ

Факторы, способствующие инфицированию ран. Частоту возникновения инфекционных осложнений у хирургических больных обуславливают разнообразные *эндогенные* и *экзогенные факторы*. К эндогенным факторам относят состояние иммунитета пациента и его аутофлоры, к экзогенным - физические, химические характеристики окружающей среды, обсеменённость её объектов и гигиенический режим, поддерживаемый в стационаре.

Барьеры. Первый барьер, практически полностью блокирующий проникновение патогенов, - кожа и слизистые оболочки. Хирургическое рассечение нарушает целостность кожных покровов, повреждает химические барьеры, ограничивающие колонизацию кожи микроорганизмами, а также изменяет характеристики нормальной микрофлоры кожи. Нарушение кровообращения резко снижает способность тканей отвечать развитием адекватных воспалительных и иммунных реакций. При интубации ингибируется выделение слизи в воздухоносных путях (иммобилизирующей микроорганизмы) и мукоцилиарный транспорт. Сопутствующая патология (особенно метаболические расстройства, например сахарный диабет, ожирение, а также нарушения питания) значительно повышает риск развития послеоперационных инфекций. Особо значимую группу составляют пациенты с различными дефектами иммунного реагирования.

Инородные тела. Роль различных имплантированных агентов как предрасполагающего фактора детально не изучена. Очевидно, что инородные тела - субстрат для размножения микроорганизмов, не способных нормально развиваться в тканях организма. Искусственные имплантаты из синтетических материалов или животных тканей нередко становятся средой для роста микроорганизмов. Полное отсутствие васкуляризации препятствует проникновению в них АТ, фагоцитов, иммунокомпетентных клеток и химиотерапевтических средств. Внутривенные и мочевые катетеры, желудочные зонды, дренажные трубки, шовный материал и другие инородные тела, временно введённые пациентам, могут быть изначально обсеменены патогенными микроорганизмами. Обязательное следствие каждой операции - повреждение тканей, окружающих место хирургического вмешательства; например, нарушение целостности защитных барьеров облегчает выживание и проникновение микроорганизмов в подлежащие ткани.

Антимикробные средства. Применение различных антисептиков для обработки операционного поля и антибиотиков широкого спектра действия для лечения и профилактики бактериальных осложнений создаёт предпосылки для проникновения в раневое поле микроорганизмов, вызывающих оппортунистические инфекции. С одной стороны, подавление факультативной микрофлоры облегчает колонизацию тканей патогенными микроорганизмами, с другой - длительное пребывание в стационаре приводит к замещению факультативной аутомикрофлоры множественно устойчивыми микроорганизмами.

Хирургические инфекции

Выделяют *два типа хирургических инфекций: локальные, обусловленные обсеменением операционной раны и приводящие к развитию местных гнойных инфекций, и системные* поражения, характеризующиеся развитием септицемий.

Локализованные инфекции

Раневые инфекции. Признак микробного обсеменения раны - гнойное отделяемое;

раны подразделяют на четыре категории: чистые, условно контаминированные, инфицированные, гнойные.

- Чистые раны. К ним относят непроникающие ранения груди и живота, нанесённые в асептических условиях или без каких-либо признаков воспаления. Частота инфицирования - 5-7%.

- Условно контаминированные раны - поражения с вовлечением мышечной стенки полых органов без значительного обсеменения факультативной микрофлорой. К ним относят разрезы, наносимые при вмешательствах на воздухоносных путях и органах ЖКТ, характеризующиеся заносом минимального количества бактерий, контаминирующих стерильные ткани. Частота развития инфекции 11%.

- Инфицированные раны. К ним относят поражения с острыми воспалительными реакциями тканей, значительным обсеменением из полых мышечных органов, но без гнойного

отделяемого. К контаминированным ранам относят также и обширные поражения в асептических условиях. Частота инфицирования 15,2-21,9%.

- Гнойные раны характеризуются наличием обильного гнойного отделяемого. К ним также относят раны, возникающие при перфорации органов либо в очагах хронического воспаления, например изъязвления пролежней. Частота инфицирования- 22-40%.

Абсцессы - форма локальных инфекций кожи и мягких тканей, развивающихся после травм, гематогенного или лимфогенного заноса возбудителей либо после хирургических вмешательств. Для поражений характерно локальное скопление гнойного экссудата; прогрессирование процесса может приводить к образованию одного или более дренирующих свищей. Для своевременной диагностики необходимо тщательное наблюдение за пациентом, так как ранние признаки образования абсцесса часто своевременно не обнаруживают.

Микробиологическая диагностика. Появление признаков воспаления указывает на инфекционный процесс и предвещает появление гнойного отделяемого. Значительное обсеменение раны проявляется обильным ростом бактерий и грибов на раневой поверхности и перевязочном материале. *Обсеменение не всегда ведёт к развитию инфекции, но его необходимо рассматривать как фактор риска.* При наличии раневого отделяемого проводят забор образцов, готовят мазки для микроскопии и проводят посев на питательные среды. Выросшие микроорганизмы идентифицируют и определяют их чувствительность к антибактериальным препаратам. После выявления абсцесса проводят аспирацию содержимого и исследование на наличие аэробных и анаэробных бактерий, грибов или паразитов.

Системные инфекции

Системные инфекции чаще всего возникают вследствие диссеминирования возбудителя гематогенным путём. Поражения классифицируют в соответствии с биологией возбудителя.

Бактериальные инфекции. Наиболее часто наблюдают бактериемии и септицемии, дающие тяжёлые и опасные для жизни осложнения. Бактериемии и септицемии могут развиваться в результате занесения возбудителей с загрязнённым операционным инструментарием или диссеминирования их из раны или абсцесса. Диагностика основана на выделении и идентификации возбудителя в гемокультурах.

Грибковые инфекции. Фунгемии, как осложнения операционных вмешательств, наблюдают относительно редко, но их возникновение часто приводит к летальному исходу. Основные возбудителя - грибы рода *Candida* (особенно *C. albicans*). Как правило, генерализованные поражения развиваются из эндогенного источника; возбудители также могут попадать в кровоток через контаминированный инструментарий либо из колоний, образовавшихся на введённых катетерах. Многие авторы рассматривают экзогенные фунгемии как оппортунистические инфекции, возникающие при нарушениях клеточных иммунных реакций. Диагностика основана на выделении и идентификации возбудителя в гемокультурах с использованием специальных сред.

Вирусные инфекции. Этиология большинства вирусемий остаётся неустановленной. Вирусемии могут быть инаппарантными либо (в зависимости от иммунного статуса пациента) вызывать тяжёлые поражения. Наиболее часто вирусемии диагностируют на основе клинической симптоматики после исключения возможных бактериальных и грибковых инфекций.

Основные возбудители хирургических инфекций

Наиболее частые возбудители послеоперационных эндогенных инфекций - представители микробных ценозов воздухоносных путей, органов мочеполовой системы и ЖКТ. 2-5% поражений

вызывают микроорганизмы, обитающие на кожных покровах и объектах окружающей среды; частоту развития подобных инфекций легко снизить адекватным применением дезинфектан-

тов и антисептиков. Несмотря на то что вирусы и грибы из хирургических ран выделяют часто, их роль как первичных возбудителей невелика. Клинически значимые хирургические инфекции

- Наиболее распространены стафилококковые инфекции, вызывающие гнойные осложнения 10-15% хирургических ран. Стафилококковые инфекции носят выраженный нозокомиальный характер, так как носительство среди больничного персонала во много раз превышает таковое у остальных лиц. В последние годы часто регистрируют инфекции, вызванные коагулаза-отрицательными штаммами *S. aureus* и *S. epidermidis*, ранее считавшимися непатогенными.

- Инфекции, вызванные грамотрицательными бактериями. Подобные осложнения хирургических вмешательств наблюдают чаще всего у ослабленных пожилых пациентов. Основные возбудители - *Escherichia coli*, виды *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* и *Pseudomonas*; часто наблюдают микст-инфекции совместно с пептострептококками и *Bacteroides fragilis*.

- Инфекции, вызванные стрептококками группы А, могут быть эндо- и экзогенными; р-гемолитические *Streptococcus pyogenes* выделяют с кожных покровов и носоглотки носителей. Стрептококки группы А часто обнаруживают на различных объектах, в воздухе и пыли медицинских учреждений.

- Прочие стрептококковые инфекции. Основные возбудители - энтерококки, микроаэрофильные стрептококки, пептострептококки и другие анаэробные стрептококки. Обычно энтерококки (наиболее часто *Enterococcus faecalis*) выделяют в ассоциациях с энтеробактериями; микроаэрофильные стрептококки почти всегда вызывают синергичные поражения со *Staphylococcus aureus* и видами *Proteus*.

- Мионекроз и клостридиальные целлюлиты. Загрязнение ран землёй или фекалиями приводит к развитию тяжёлых поражений. Наибольшую опасность представляет инфицирование различными видами *Clostridium*, особенно *C. perfringens*.

- Редкие виды хирургических инфекций не являются действительно «редкими» и могут составлять до 40% всех хирургических инфекций. Однако их возбудители считаются в определённой степени «случайными». Наиболее часто поражения вызывают *Mycobacterium tuberculosis* (после операций на тканях, поражённых туберкулёзным процессом), актиномицеты (после хирургических вмешательств на полости рта, пищеводе, желудке, органах грудной клетке, половых органах, толстой кишке) и коринебактерии.

ГЛАВА 40. САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Санитарная микробиология - направление медицинской микробиологии, изучающее микрофлору окружающей среды и её влияние на здоровье человека и состояние среды его обитания. Началом развития санитарной микробиологии можно считать 1883 г., когда французский врач Э. Масё предложил рассматривать кишечную палочку как показатель фекального загрязнения воды. Изучение микрофлоры и микробиологических процессов в среде обитания человека необходимо для гигиенической оценки его взаимоотношений с окружающей средой. Санитарная микробиология разрабатывает методы контроля за состоянием воды, почвы, воздуха, пищевых продуктов и различных предметов обихода. Основные задачи санитарной микробиологии.

- Изучение биоценозов, в которых существуют микробы, патогенные для человека, и изучение его роли в их накоплении.

- Разработка методов микробиологических исследований внешней среды, микробиологических нормативов и мероприятий по оздоровлению объектов окружающей среды.

ПРИНЦИПЫ ПРОВЕДЕНИЯ

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ

ИССЛЕДОВАНИЙ

На результаты анализов могут существенно повлиять различные факторы. На современном этапе задачи санитарной микробиологии значительно осложняет интенсивное загрязнение окружающей среды, влияющее не только на аутохтонную (нормальную), но и аллох-тонную (санитарно-показательную и патогенную) микрофлору. Поэтому при проведении санитарно-микробиологических исследований следует помнить о следующих основных принципах.

- Пробы следует отбирать с соблюдением всех необходимых условий, регламентированных для каждого исследуемого объекта. Исследования необходимо проводить быстро; при невозможности немедленного проведения анализа материал сохраняют в холодильнике не дольше 6-8 ч.

- Для получения объективных результатов следует отбирать несколько проб из разных участков объекта.

- Более адекватные результаты можно получить проведением повторных отборов и анализов проб.

- При проведении анализов следует использовать только стандартные и унифицированные методы исследования.

- В работе необходимо использовать комплекс тестов - прямых (выявляющих патогены) и косвенных (указывающих на загрязнение объектов окружающей среды выделениями человека и животных и его степени).

- Интерпретацию результатов санитарно-микробиологических исследований следует проводить с учётом других гигиенических показателей (органолептических, химических, физических и т.д.).

МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Базовые санитарно-микробиологические методы направлены на определение общей микробной обсеменённости (общее микробное число), определение и титрование СПМ, выявление в исследуемых объектах патогенных микроорганизмов и их метаболитов, определение степени недоброкачества изучаемых объектов или продуктов, вызванной деятельностью микробов. *Практическая санитарная микробиология использует два основных метода оценки санитарно-эпидемического состояния внешней среды: прямое обнаружение патогенных микроорганизмов и выявление косвенных признаков пребывания патогенов во внешней среде.*

Методы прямого обнаружения патогенных микроорганизмов

Методы прямого обнаружения - наиболее точные и надёжные критерии оценки эпидемиологической опасности внешней среды. Наиболее часто проводят посев исследуемого материала на питательные среды. Однако на ожидаемые результаты исследований влияют следующие факторы.

- *Содержание патогенных микроорганизмов во внешней среде относительно невелико, так как они составляют лишь 1 / 30 000 всего видового состава микрофлоры внешней среды. При этом патогенная микрофлора распределена во внешней среде неравномерно, что делает необходимым проведение серийных исследований в динамике определённого периода.*

- *Выделение одного возбудителя далеко не всегда свидетельствует о присутствии других патогенных видов. Указанное делает необходимым проведение разнонаправленных исследований, что практически сложно осуществимо. Ситуацию значительно усугубляет возрастание роли условно-патогенных микроорганизмов, способных вызвать эпидемические вспышки заболеваний.*

Методы косвенной идентификации

Эти методы предусматривают применение двух критериев, по которым можно косвенно судить о возможном присутствии возбудителя во внешней среде: общее микробное число (ОМЧ) и содержание санитарно-показательных микроорганизмов (СПМ).

ОМЧ определяют путём подсчёта всех микроорганизмов (растущих на питательных средах) в 1г или 1мл субстрата. Используя этот критерий, обычно исходят из предположения, что чем больше объект загрязнён органическими веществами, тем выше ОМЧ и тем вероятнее присутствие патогенов. Например, ОМЧ для воды не должно превышать 100. Однако это не всегда так: ОМЧ может быть большим за счёт сапрофитов, а патогены могут отсутствовать, либо преобладание сапрофитов значительно укорачивает сроки выживания патогенов во внешней среде. Поэтому более адекватно расценивать ОМЧ как показатель интенсивности загрязнения внешней среды органическими веществами.

Санитарно-показательными называют микроорганизмы, по которым можно косвенно судить о возможном присутствии патогенов во внешней среде. То есть при их определении исходят из предположения, что чем больше объект загрязнён выделениями человека и животных, тем больше будет СПМ и тем вероятнее присутствие патогенов. Содержание СПМ определяют двумя методами.

Прямой подсчёт количества бактерий. Проводят с помощью специальных камер (например, Петрова или Гельбера) либо специальных электронных счётчиков. *Метод применяют в экстренных случаях при необходимости срочного ответа о количественном содержании бактерий* (например, при авариях в системе водоснабжения, при оценке эффективности работы очистных сооружений и др.).

Посев на питательные среды. Менее точный метод, так как выявляет только группы микроорганизмов, растущих при заданном режиме (на определённых питательных средах и при определённой температуре). Содержание СПМ выражают в титрах и индексах.

Титр СПМ - наименьший объём исследуемого материала (в мл) или весовое количество (в г),

в котором обнаружена хотя бы одна особь СПМ. Индекс СПМ - количество СПМ, обнаруженное в определённом объёме или количестве

исследуемого объекта. Для непитьевой воды - в 1 г. Индекс - величина, обратная титру.

Зная один показатель, можно вычислить другой.

Основные характеристики санитарно-показательных микроорганизмов

- СПМ должен постоянно обитать в естественных полостях человека и животных и постоянно выделяться во внешнюю среду.

- СПМ не должен размножаться во внешней среде (исключая пищевые продукты), или его репродукция носит незначительный и кратковременный характер.

- Длительность выживания и устойчивость СПМ во внешней среде должна быть не меньше, а даже несколько больше, чем у патогенных микроорганизмов.

- У СПМ не должно быть во внешней среде "двойников" или аналогов, с которыми их можно перепутать.

- СПМ не должен изменяться во внешней среде, во всяком случае в сроки выживания патогенных микроорганизмов.

- Методы идентификации и дифференциации СПМ должны быть простыми.

Индикаторы загрязнения

Между группами СПМ нет чётко очерченных границ. Некоторые микроорганизмы являются показателями как фекального, так и орального загрязнения. Некоторые - показателями процессов самоочищения. В связи с этим *все СПМ расценивают как индикаторы биологического загрязнения.*

- Группа А. *Включает обитателей кишечника человека и животных.* Микроорганизмы расценивают как индикаторы фекального загрязнения. В неё входят БГКП - эшерихии, энтерококки, протеи, сальмонеллы. Также в группу А включены сульфитвосстанавливающие клостридии (*Clostridium perfringens* и др.), термофилы, бактериофаги, бактериоды, синегнойная палочка, кандиды, акинетобактеры и аэромонады.

- Группа В. *Включает обитателей верхних дыхательных путей и носоглотки.* Микроорганизмы расценивают как индикаторы орального загрязнения. В неё входят зеленящие, а- и р-стрептококки, стафилококки (плазмокоагулирующие, лицитиназаположительные, гемолитические и антибиотикоустойчивые; в некоторых случаях также определяют вид золотистого стафилококка).

- Группа С. *Включает сапрофитические микроорганизмы, обитающие во внешней среде.* Микроорганизмы расценивают как индикаторы процессов самоочищения. В неё входят бактерии-протеолиты, бактерии-аммонификаторы и бактерии-нитрификаторы, некоторые спорообразующие бактерии, грибы, актиномицеты, целлюлозобактерии, бделловибрионы и синезелёные водоросли.

Основные группы санитарно-показательных микроорганизмов

К основным СПМ относят БГКП, энтерококки, протеи, сальмонеллы, *Clostridium perfringens*, термофильные бактерии и бактериофаги энтеробактерий (колифаги).

Бактерии группы кишечной палочки

Кишечная палочка положила начало всей группе СПМ. В состав БГКП включены различные представители семейства *Enterobacteriaceae*. В зависимости от цели и объекта исследования к санитарно-показательным БГКП предъявляют различные требования. Их условно разделяют на три подгруппы и при различных обстоятельствах используют факт их наличия для бактериологической характеристики объекта или субстрата.

Подгруппа I включает БГКП, которые пытаются выявить, но которых не должно быть при исследовании объектов и субстратов, "чистых" по своей природе или ставших чистыми в результате их обработки (например, термической). В группу объектов, обладающих такими свойствами, входят следующие.

Питьевая (артезианская, водопроводная хлорированная, колодезная) и дистиллированная вода

(взятая из дистиллятора или трубопровода). Термически обработанные пищевые продукты (котлеты, колбасы, рыба и т.д.). Анализируют пробы, отобранные из толщи продукта.

Молоко (взятое из пастеризатора до поступления в молокопроводы), супы, соусы, компоты, вторые блюда (отобранные из котлов). Смывы, отобранные при проведении контроля эффективности дезинфекционной обработки в положенные сроки (не ранее 45 мин и не позднее 1 ч после обработки).

Бактерии этой подгруппы ферментируют лактозу и глюкозу или только глюкозу до газа при 37 °С и не проявляют оксидазную активность. В эту подгруппу входят *Escherichia coli*, клебсиеллы, цитробактеры, энтеробактеры и другие представители семейства *Enterobacteriaceae*. Их наличие допускается в объектах, не относящихся к разряду «чистых».

Подгруппа II включает БГКП, указывающие на неопределённое по времени фекальное загрязнение. Микроорганизмы сбраживают лактозу и глюкозу до кислоты и газа при 43-44,5 °С. В эту подгруппу входят бактерии (*E. coli*, клебсиеллы, цитробактеры, энтеробактеры и др.), сохранившие способность к газообразованию при повышенном температурном режиме. Подобные требования предъявляют к БГКП при невозможности уберечь субстрат от загрязнения. При этом следует ограничиться определением лишь показателей эпидемиологического неблагополучия. К таким объектам относят: воду открытых водоёмов, сточные воды, почву и все пищевые продукты, для которых высок риск обсеменения после термической обработки. В подобных случаях исследуют твёрдые пищевые продукты (поверхностный слой), жидкие пищевые продукты, вторые и третьи блюда на раздаче, смывы с оборудования и посуды. Посевы культивируют при 43-44,5 °С. *E. coli* дифференцируют от других бактерий по способности ферментировать лактозу и глюкозу или только глюкозу.

Подгруппа III включает БГКП, указывающие на свежее фекальное загрязнение. Отличительная особенность бактерий этой группы - способность расщеплять лактозу до газа при 43-44,5 °С.

Бактерии рода *Enterococcus*

Все виды и варианты энтерококков имеют санитарно-показательное значение и отвечают целому ряду требований, предъявляемых к СПМ. Энтерококки постоянно обитают в кишечнике человека несмотря на то, что в количественном отношении их меньше, чем кишечных палочек. Энтерококки не проявляют выраженной изменчивости и не имеют аналогов во внешней среде, что облегчает их распознавание. Лишь на растениях обнаруживают похожие на них стрептококки, но эти растительные стрептококки не растут на щелочных средах, используемых для выделения энтерококков. Энтерококки отмирают во внешней среде значительно быстрее, чем *Escherichia coli*, поэтому они всегда свидетельствуют о свежем фекальном загрязнении. По количеству кишечной палочки и энтерококка судят о массивности свежего фекального загрязнения.

Бактерии рода *Proteus*

Протеи относят к третьей (по значимости) группе СПМ. Наибольшее санитарно-показательное значение имеют *Proteus vulgaris* и *P. mirabilis*. При этом *P. vulgaris* обычно рассматривают как показатель загрязнения объекта органическими веществами (так как его чаще обнаруживают в гниющих остатках), а *P. mirabilis* - как показатель фекального загрязнения (так как его чаще обнаруживают в фекалиях). *P. rettgeri* чаще выявляют в испражнениях при кишечных инфекциях, поэтому его обнаружение свидетельствует об эпидемиологическом неблагополучии. Присутствие

протеев в воде, пищевых продуктах, смывах всегда свидетельствует о загрязнении объекта разлагающимися субстратами и о крайне неблагоприятном санитарном состоянии. Пищевые продукты, загрязнённые протеем, обычно выбраковывают, а воду, содержащую протей, нельзя пить.

Clostridium perfringens

Для идентификации бактерий предложен энтеритный тест, включающий посев на молоко и обнаружение бурного сбраживания субстрата ("штормовая реакция"). Для дифференцирования клостридий фекального происхождения от клостридий, обитающих во внешней среде, используют среды Уйлсона-Блэра. *Кишечные клостридии вызывают почернение среды Уйлсона-Блэра* (за счёт восстановления сульфитов), *а свободноживущие клостридии не изменяют её цвет* (так как не имеют сульфит редуктазы). О давности фекального загрязнения объекта предложено судить по сопоставлению количества споровых и вегетативных форм *C. perfringens*. С этой целью определяют количество клостридий в непрогретых и прогретых пробах. О давности фекального загрязнения также судят по сопоставлению индекса *Escherichia coli* и индекса *C. perfringens*. *Высокое значение индекса E. coli и низкое значение индекса*

C. perfringens указывают на давнее загрязнение. Если оба показателя имеют высокое значение, то это свидетельствует о свежем фекальном загрязнении. В отечественной практике количественный учёт клостридий предусмотрен при исследованиях почвы, лечебных грязей, воды открытых водоёмов.

Термофилы

Термофилы представлены полиморфной группой преимущественно спорообразующих бактерий, способных размножаться при 50-70 °С. Термофилы выделяют с объектов внешней среды, реже из кишечника животных и человека. Во внешней среде термофилы обнаруживают на субстратах, загрязнённых навозом или компостом. В процессе гниения в этих субстратах поднимается температура, оптимальная для размножения бактерий. По количеству термофилов судят о степени загрязнения объекта навозом или компостами. Как индикатор эффективности авто-клавирования поиск термофилов также проводят в консервах.

Бактерии рода *Salmonella*

Сальмонеллы попадают во внешнюю среду только с фекалиями человека и животных. *Их обнаружение всегда свидетельствует о фекальном загрязнении*. Сальмонеллы не размножаются в почве; в воде они размножаются лишь при высокой температуре и высоком содержании органических веществ (при этом они хорошо сохраняются даже в чистой воде).

Бактериофаги кишечных бактерий (колифаги)

В качестве СПМ используют бактериофаги кишечных бактерий (эшерихий, шигелл и сальмонелл). Колифаги постоянно обнаруживают там, где есть бактерии, к которым они адаптированы. Однако как показатели возможного присутствия патогенных бактерий они имеют ряд недостатков. Колифаги выживают во внешней среде дольше (8-9 мес), чем соответствующие бактерии (4-5 мес), а также способны адаптироваться к другим видам бактерий.

основные объекты санитарно-микробиологических исследований

К основным объектам санитарно-микробиологических исследований относят объекты внешней среды (почву, воду, воздух), пищевые продукты, ЛПУ, аптеки и ЛС.

Санитарно-микробиологическое исследование почвы

Почва представляет собой наиболее насыщенный микроорганизмами биотоп, отличающийся стабильностью состава микрофлоры. На формирование микробных почвенных биоценозов, имеющих в том числе и санитарное значение, на их качественный и количественный состав влияет множество факторов.

- *Тип почвы и степень её окультуренности.* Чем она выше, тем больше общая микробная обсеменённость. Соответственно, исходный «нормальный» показатель ОМЧ для разных почв различен.

- *Физико-химические свойства почвы:* структурированность, аэрация, влажность, водопроницаемость, наличие свободного и связанного кислорода.

- *Возраст, географическое расположение почвы.* В направлении с юга на север содержание органических веществ в ней, а соответственно и микроорганизмов уменьшается.

- *Климатические условия и сезонность.* Весной в почве преобладают анаэробные, летом - спорообразующие бактерии. К концу лета увеличивается содержание актиномицетов, усваивающих органические вещества, не утилизированные бактериями. Биологическая активность всех почвенных микроорганизмов увеличивается осенью и заметно снижается в зимний период.

- *Глубина почвенного слоя.* В толще почвы выделяют три основных горизонта: А (0-10 см), В (10-20 см) и С (20-30 см). На поверхности и в горизонте А микроорганизмов мало вследствие низкой влажности и микробицидного действия прямого солнечного света. В необработанной почве горизонта А их содержание наиболее велико на глубине 5-10 см (то есть в зоне, пограничной с горизонтом В). В обработанной почве микроорганизмов особенно много на границе горизонтов В и С. На глубине 1 м выделяют единичные микроорганизмы. Виды, выделяемые на глубине 4 м и более, рассматривают не как почвенные, а как имеющие геологическое значение.

Группы почвенных микроорганизмов

Почвенные микроорганизмы оказывают непосредственное влияние на собственно образование и формирование почвы, на минерализацию (разложение) органических остатков и образование гумуса. Поэтому, не имея представления об основных экологических, физиологических, морфологических группах почвенной микрофлоры невозможно объективно оценить санитарное состояние почвы, активность процессов её самоочищения от патогенных микроорганизмов. При проведении санитарно-микробиологических исследований особое внимание уделяют физиологическим группам почвенных микроорганизмов.

Физиологические группы почвенных микроорганизмов включают виды, участвующие в круговороте азота, углерода, серы и фосфора (см. главу 6). Однако для полномасштабной оценки санитарного состояния почвы и процессов её самоочищения необходимо определять наличие не только видов, участвующих в круговороте веществ, но и отдельных групп микроорганизмов, способствующих быстрому разложению органических веществ: спорообразующих бактерий (прежде всего бацилл), актиномицетов, грибов (в первую очередь пенициллов и кандид).

Группы почвенных микроорганизмов, патогенных для человека. Как правило, в почве патогенные микроорганизмы длительно не выживают. Однако некоторые виды включаются в почвенные биоценозы, становясь её постоянными обитателями. Подобные микроорганизмы разделяют на три группы.

- Микроорганизмы, для которых почва служит природным биотопом - возбудитель ботулизма, актиномицеты, возбудители глубоких микозов, образующие микотоксины аспергиллы.

- Микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями человека, животных и сохраняющиеся там длительное время (годами и десятилетиями) - сибиреязвенная палочка, возбудитель столбняка, газовой гангрены.

- Микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями человека, животных, но сохраняющиеся в ней сравнительно недолго (недели и месяцы) - кишечная палочка (до 8 мес), сальмонеллы (до года при минусовой температуре), шигеллы (до 100 дней), холерный вибрион (2 мес).

Индикаторные микроорганизмы для оценки санитарного состояния почвы

Осуществление санитарного надзора за состоянием почвы населённых мест имеет важное значение в профилактике кишечных инфекций и других заболеваний. Поэтому для адекватной оценки почвы особую значимость имеет выбор индикаторных микроорганизмов. К СПМ, указывающим на фекальное загрязнение почвы относят: БГКП, *Clostridium perfringens*, термофильные бактерии и нитрифицирующие бактерии (табл. 40-1). Из всех энтеробактерий наиболее долго сохраняется в почве кишечная палочка, поэтому по её содержанию судят о наличии в почве прочих энтеробактерий. Термофильные бактерии попадают в почву с перепревшим навозом или компостом, поэтому их целесообразно выявлять для выяснения характера и давности органического загрязнения почвы. Свежий навоз, сточные воды обычно содержат много БГКП, но мало термофильных бактерий. По мере разложения органических веществ количество термофилов увеличивается. Появление нитрифицирующих бактерий (нитрификаторов) указывает на развитие процесса самоочищения, так как они завершают цикл разложения азотсодержащих соединений, превращая аммиак в азот. При свежем фекальном загрязнении нитрификаторов не будет, поскольку субстрат для их развития отсутствует. В ходе жизнедеятельности микроорганизмов, разлагающих органические вещества, образуется аммиак, что приведёт к развитию нитрификаторов.

- На свежее фекальное загрязнение почвы указывают высокие титры БГКП при низких титрах нитрификаторов, термофилов, а также относительно высокое содержание вегетативных форм *C. perfringens*.

- Обнаружение энтерококков всегда свидетельствует о свежем фекальном загрязнении, каковы бы ни были другие показатели.

- Большое содержание всех СПМ свидетельствует об окончании самоочищения почвы и её освобождении от патогенных энтеробактерий и органических веществ.

Цели санитарно-микробиологического исследования почвы

Цели санитарно-микробиологического исследования почвы следующие.

- Санитарная оценка почвы населённых пунктов и новых участков для заселения, размещения санаториев, детских лагерей, дошкольных детских учреждений, водохранилищ и т.д.

- Решение вопросов водоснабжения, канализации и очистки населённых пунктов.

- Санитарная оценка почвы, загрязнённой химическими веществами.

- Контроль процессов самоочищения почвы, подвергшейся биологическому загрязнению.

- Эпидемиологическое обследование почвы для выяснения путей её заражения. Проводят индикацию и идентификацию патогенных микроорганизмов, в распространении которых почва играет значительную роль - сальмонелл, шигелл, патогенных клостридий и палочек сибирской язвы. Исследование также включает проведение санитарно-вирусологического исследования

почвы. Санитарно-микробиологическое исследование почвы в зависимости от целей исследования предполагает краткий и полный анализ.

Краткий санитарно-микробиологический анализ предусматривает определение ОМЧ, титров БГКП, энтерококков, *Clostridium perfringens*, термофильных бактерий, нитрифицирующих бактерий. *Полученные показатели указывают на наличие и степень фекального загрязнения.* По ним можно определить также и состояние процессов самоочищения почвы от патогенных энтеробактерий и органического загрязнения. *Краткий анализ почвы осуществляют при проведении текущего санитарного надзора за состоянием почвы.* Полный санитарно-микробиологический анализ включает определение всех показателей краткого анализа, а также общей численности сапрофитов; ОМЧ и процентного содержания споровых микроорганизмов; аэробных бактерий, разрушающих клетчатку; бактерий-ам-монификаторов. Кроме того, исследуют токсичность почв для микроорганизмов. *Полный анализ проводят при осуществлении предупредительного санитарного надзора, первичном обследовании при выборе территории для размещения отдельных объектов и др.* Периодичность контроля. Для контроля загрязнения почвы детских садов, ЛПУ, зон отдыха отбор проб проводят не менее двух раз в год - весной и осенью. На других контролируемых объектах анализ почвы проводят с периодичностью, регламентированной нормативами, но не реже одного раза в год. При изучении динамики самоочищения почвы на загрязнённых территориях пробы берут в течение первого месяца после предшествующего загрязнения - еженедельно, в последующие месяцы - один раз в месяц в течение вегетационного периода до завершения активной фазы самоочищения.

Санитарно-микробиологическое исследование воды

Вода - естественная среда обитания для разнообразных микроорганизмов. В воде рек, открытых водоёмов, морей, океанов обнаруживают представителей всех таксономических групп бактерий, а также грибы, водоросли и простейшие. Совокупность всех микроорганизмов, заселяющих водоёмы, обозначают термином "микробиальный планктон". Микрофлора природных вод в значительной степени зависит от их происхождения. Различают пресные и морские воды. Пресные воды разделяют на поверхностные, включая проточные (реки, ручьи) и стоячие (озёра, пруды, водохранилища); подземные (почвенные, грунтовые, артезианские) и атмосферные (дождь, снег). Регулярному санитарно-микробиологическому надзору подвергают.

- *Воду питьевую:* централизованного водоснабжения и местного с забором воды из открытых водоёмов (реки, водохранилища) или из подземных источников (скважины, родники, колодцы).

- *Воду плавательных бассейнов; лёд медицинский и хозяйственный.*

- *Сточные воды:* хозяйственно-фекальные, промышленные, смешанные (хозяйственно-фекальные и промышленные), талые и ливневые.

Все санитарно-микробиологические исследования воды регламентируют соответствующие нормативные документы. Основания для санитарно-микробиологических исследований воды следующие.

- Выбор источника централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения и периодический контроль над ним.

- Контроль эффективности обеззараживания питьевой воды централизованного водоснабжения.

- Наблюдение за подземными источниками централизованного водоснабжения (артезианские скважины, почвенные воды и т.д.).

- Определение состояния и степени пригодности воды источников индивидуального водопользования (колодцев, родников и т.д.).
- Наблюдение за санитарно-эпидемиологическим состоянием воды открытых водоёмов.
- Контроль эффективности обеззараживания воды плавательных бассейнов.
- Проверка качества и степени очистки сточных вод.
- Расследование водных вспышек инфекционных болезней.

Микрофлора и гигиеническая характеристика воды различны в зависимости от её происхождения и использования. Для хозяйственно-питьевого водоснабжения можно использовать межпластовые, грунтовые подземные воды, достаточно хорошо защищённые от микробного загрязнения фильтрующими слоями почвы (например, в артезианских скважинах в 1 мл воды содержатся единичные бактерии). Более широко для водоснабжения используют открытые поверхностные водоёмы. Характер микрофлоры поверхностных водоёмов зависит от особенностей конкретной водной среды. Микрофлору водоёмов образуют две группы микроорганизмов: аутохтонные (или водные) и аллохтонные (попадающие извне при загрязнении различных источников).

Аутохтонная микрофлора открытых водоёмов

Аутохтонная микрофлора - совокупность микроорганизмов, постоянно живущих и размножающихся в воде. Как правило, микробный состав воды напоминает микрофлору почвы, с которой вода соприкасается. То есть большинство водных микроорганизмов также является распространёнными обитателями почв. Микроорганизмы, приспособившиеся к условиям существования в воде и регулярно обнаруживаемые в ней, можно считать специфической для воды флорой. К ним относят аэробные кокки: микрококки, сарцины, *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, бактерии родов *Pseudomonas*, *Proteus*, *Leptospira*. Анаэробных бактерий в незагрязнённых водоёмах мало; наиболее часто в них обнаруживают клостридии. Количество микроорганизмов в открытых водоёмах варьирует в широких пределах: от нескольких десятков, сотен до миллионов в 1 мл, что зависит от вида водоёма, степени его загрязнения, смены метеорологических условий, сезона и т.д. Следует помнить, что в воде водоёмов могут содержаться вещества, препятствующие размножению микробов и даже оказывающие губительное на них действие. Например, сероводород или серная кислота, образующиеся в результате жизнедеятельности одних бактерий, неблагоприятно влияют на другие микроорганизмы. Микрофлора водоёмов зависит также и от биоценоза, то есть видового состава и численности других живых существ. Так, находящиеся в воде фаги, хищные бактерии (например, бделловиб-рионы) и простейшие уничтожают миллионы и миллиарды бактерий. Микроорганизмы, способные образовывать антибиотики, вызывают гибель бактерий, чувствительных к этим веществам. На дне, а также в прибрежной зоне водоёмов обнаруживают большое количество микробов, что связано с постоянным попаданием бактерий из почвы берега, с дождевой водой, с поверхностными стоками, поэтому флора любого поверхностного водоёма периодически изменяется и обновляется. Вдали от берегов в воде содержится небольшое количество микробов. Микроорганизмы воды играют значительную роль в круговороте веществ в природе. Они расщепляют органические вещества с образованием субстратов, которые используют в питании другие водные микроорганизмы. Биологическая активность в водоёмах максимальна в летне-осенний период.

Аллохтонная микрофлора открытых водоёмов

Воды поверхностных водоёмов открыты для всех видов контаминации. Загрязнение их микроорганизмами, попадающими со сточными, ливневыми, тальными водами, резко изменяет

микробный пейзаж и санитарный режим водоёма. Основным путём микробного загрязнения водоёмов - попадание неочищенных городских отходов и сточных вод в близлежащие озёра, пруды, реки. При паводках, разливах рек, наводнениях или сильных ливнях возможно переполнение колодцев, родников и попадание в них сточных вод. Количество микроорганизмов в воде поверхностных стоков в весенне-паводочный период увеличивается до 2,8-3 млн в 1 мл. В период паводка возможно вторичное загрязнение водопроводной сети. Микрофлора хозяйственно-фекальных сточных вод состоит из микроорганизмов, выделяемых из кишечника человека и животных, среди которых имеются представители нормальной и условно-патогенной флоры (эшерихии, энтерококки, клебсиеллы, клостридии, грибы рода *Candida*, простейшие и др.), но могут находиться и патогенные - возбудители кишечных инфекций (сальмонеллы, шигеллы, вибрионы, возбудители туляремии, иерсинии, лептоспиры, вирусы полиомиелита, гепатитов А, Е и др.). Опасность заражения последними особенно велика, если в водоёмы попадают недостаточно обеззараженные сточные воды инфекционных больниц. Контаминация воды водоёмов происходит также при купании людей, скота и стирке белья. Однако вода не является средой, благоприятной для размножения патогенных микроорганизмов, для которых естественные биотопы - организмы человека или животных. На жизнеспособность патогенных бактерий влияет сопутствующая, конкурентная флора (микробы-антагонисты, фаги, простейшие, водоросли), а также температура, инсоляция, различные химические вещества и т.д.

Самоочищение открытых водоёмов

Освобождение от контаминирующих микроорганизмов наблюдают после органического загрязнения водоёмов. Основным фактором очистки - конкурентная активация сапрофитической микрофлоры, которая приводит к быстрому разложению органических веществ, уменьшению численности бактерий различных видов, особенно фекального происхождения. Способность водоёма к самоочищению связана с присутствием в ней аутохтонных микроорганизмов, входящих в конкретный биоценоз. Однако количественные и качественные соотношения в биоценозах нестойки и изменяются под действием различных факторов, то есть меняются по сапробности. Термином «сапробность» [от греч. *sapros*, гнилой] обозначают комплекс особенностей водоёма, в том числе состав и количество микроорганизмов в воде, содержащей органические и неорганические вещества в определённых концентрациях. Процессы самоочищения воды в водоёмах происходят последовательно и непрерывно, с постепенной сменой биоценозов. Различают полисапробные, мезосапробные и олигосапробные зоны.

- *Полисапробные зоны (зоны сильного загрязнения).* Содержат большое количество легко разлагающихся органических веществ и почти полностью лишены кислорода. Микробный биоценоз подобных зон особенно обилен, но видовой состав ограничен анаэробными бактериями, грибами, актиномицетами. *Количество бактерий в 1мл воды в полисапробной зоне достигает миллиона и более.*

- *Мезосапробные зоны (зоны умеренного загрязнения).* Характеризуются доминированием окислительных и нитрификационных процессов. Качественный состав разнообразен. В основном это нитрифицирующие, облигатно аэробные бактерии, а также виды *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Streptomyces*, *Candida* и др. *Общее количество микроорганизмов сотни тысяч в 1 мл.*

- *Олигосапробные зоны (зоны чистой воды).* Характеризуются окончившимся процессом самоочищения, небольшим содержанием органических соединений и окончанием процесса минерализации. Вода отличается высокой степенью чистоты. *Количество бактерий от 10 до 1000 в 1мл воды.*

Патогенные микроорганизмы, попадающие в водоёмы, достаточно обильны в полисапробных зонах, постепенно отмирают в мезосапробных и практически не обнаруживаются в олигосапробных зонах.

Санитарно-микробиологический контроль над водами открытых водоёмов

В контроль над поверхностными водоёмами входят исследование и заключение о возможности использовать водоём (для питьевых, хозяйственных или других нужд), выяснение причин фекального загрязнения, определение способности водоёма к самоочищению. Проводят определение ОМЧ, выделяют БГКП, кишечную палочку, энтерококки, стафилококки и патогенные микроорганизмы (сальмонеллы, холерные вибрионы, лептоспиры, шигеллы и энтеровирусы). Количество последних не должно превышать 100 в 1л в зоне купания и не более 20 в 1л воды бассейнов и морской воды. В последние годы разработаны и предложены дополнительные критерии оценки санитарного состояния водоёмов, в которые включены показатели титра энтерококков и *Clostridium perfringens*, а также индекс бактериофагов.

Санитарно-микробиологический контроль качества питьевой воды

Санитарно-микробиологическое исследование питьевой воды включает определение ОМЧ, количества энтеробактерий, спор сульфитредуцирующих клостридий и колифагов.

Определение ОМЧ при оценке качества питьевой воды. ОМЧ позволяет оценить уровень микробного загрязнения питьевой воды, дополняя показатели фекального загрязнения, и одновременно позволяет выявить загрязнение из других источников (например, промышленные сбросы). Неожиданное увеличение ОМЧ (даже в пределах норматива), выявленное повторно, служит сигналом для поиска причины загрязнения. Также этот показатель незаменим для срочного обнаружения в питьевой воде массивного микробного загрязнения неизвестной природы. Из каждой анализируемой пробы должен быть сделан посев не менее, чем на две чашки Пётри объёмом 1 мл. Через 24 ч проводят подсчёт выросших колоний на обеих чашках, результаты суммируют и делят на два. Окончательный результат выражают числом колониобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл исследуемой пробы воды. *В 1мл питьевой воды должно быть не более 50 КОЕ.*

Определение количества энтеробактерий. При проведении исследований не ограничиваются обнаружением БГКП, но используют более широкое понятие - бактерии семейства *Enterobacteriaceae* и термотолерантные колиформные бактерии.

- Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* включают грамотрицательные, оксидазоотрицательные, споронеобразующие палочки, растущие на средах с лактозой (например, Эндо) и ферментирующие глюкозу до кислоты и газа при температуре 37 °С в течение 24 ч. Обнаружение в питьевой воде бактерий семейства *Enterobacteriaceae* указывает на потенциальную эпидемическую опасность водопользования. Показатель "бактерии семейства *Enterobacteriaceae*" - основной нормируемый показатель, обеспечивающий наиболее надёжный контроль присутствия в воде практически всех представителей кишечных бактерий.

- Термотолерантные колиформные бактерии обладают всеми признаками бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, и, кроме того, ферментируют лактозу с образованием альдегида, кислоты и газа при температуре 44 °С в течение 24 ч. Термотолерантность быстро утрачивается, поэтому обнаружение бактерий с таким свойством свидетельствует о недавнем попадании в воду кишечных бактерий (свежее фекальное загрязнение).

Численное выражение результата анализа характеризует степень фекального загрязнения воды. *Бактерии семейства Enterobacteriaceae и термотолерантные бактерии должны отсутствовать в 300 мл питьевой воды.*

Выявление спор сульфитредуцирующих клостридий. Споры сульфитредуцирующих клостридий более устойчивы к обеззараживанию и действию неблагоприятных факторов окружающей среды, чем другие индикаторные бактерии. На основании этого свойства показатель

рекомендован для оценки эффективности технологических процессов очистки воды. Особое значение этот показатель имеет при оценке первичного хлорирования, так как оно инактивирует практически все индикаторные бактерии. Обнаружение клостридий в воде перед поступлением в распределительную сеть указывает на недостаточную очистку и на то, что устойчивые к обеззараживанию патогенные микроорганизмы, вероятно, не погибли при очистке. *Споры сульфитредуцирующих клостридий должны отсутствовать в 20 мл исследуемой питьевой воды.*

Определение количества колифагов. Наиболее часто содержание колифагов в питьевой воде определяют титрационным методом, включающим предварительное подраствивание их в среде обогащения (культура *Escherichia coli* на питательном агаре) с последующим выявлением бляшек колифага на газоне *E. coli*. *В 100 мл исследуемой воды должны отсутствовать БОЕ колифагов.*

Санитарно-бактериологическое исследование воды плавательных бассейнов

Пресная вода, поступающая в бассейн, должна отвечать гигиеническим требованиям, предъявляемым к качеству воды централизованных систем водоснабжения. Морская вода в системах водозаборов должна содержать колиформные бактерии в количестве не более 1000 КОЕ в литре. В процессе эксплуатации бассейна как с пресной водой, так и с морской, она должна соответствовать следующим требованиям.

- В 100 мл воды должны отсутствовать бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, термотолерантные колиформные бактерии, лецитиназоположительные стафилококки, а также любые возбудители инфекционных заболеваний человека.

- В 100 мл допускается наличие не более двух БОЕ колифагов.

При производственном контроле основные микробиологические показатели определяют один раз в десять дней. Отбор проб воды на анализ проводят не менее чем в двух точках с расстояния 25-30 см от поверхности воды; забор проводят в мелкой и глубокой частях бассейна. При лабораторном контроле основные микробиологические показатели определяют один раз в месяц. Пробы отбирают из бассейна в точках указанных выше, а также отбирают пробы воды, поступающей на выводные фильтры и после них (для бассейнов с морской водой). Отбор проб проводят в ёмкости в объёме 1 л, с соблюдением правил стерильности.

Санитарно-бактериологическое исследование сточных вод

Основная задача санитарно-микробиологического исследования сточных вод - проверка эффективности очистки и обеззараживания сточных вод и их осадков перед спуском в водоёмы и на поля орошения. В ряде случаев исследуют сточные воды неочищенные или на этапах очистки до хлорирования для контроля работы очистных сооружений на наличие только лактозоположительных колиформных бактерий, а после хлорирования определяют бактерии семейства *Enterobacteriaceae* как в питьевой воде.

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха

Основная задача санитарно-микробиологического исследования воздуха - гигиеническая и эпидемиологическая оценка воздушной среды, а также разработка комплекса мероприятий, направленных на профилактику аэрогенной передачи возбудителей инфекционных болезней. При оценке санитарного состояния закрытых помещений в зависимости от задач исследования определяют ОМЧ, наличие СПМ (стафилококков, а- и р-гемолитических стрептококков, являющихся показателями контаминации микрофлорой носоглотки человека). В связи с развитием биотехнологической промышленности, использующей различные микроорганизмы-продуценты БАВ, существенно возрос риск выброса в атмосферу больших концентраций микробов, в том

числе с изменённым генотипом. При этом, технология производства некоторых веществ прямо включает периодический «выпуск» микроорганизмов. Указанное придаёт проблеме контроля за микрофлорой атмосферного воздуха и обеззараживания выбросов биотехнологических предприятий особую актуальность.

Микрофлора воздуха

Микробная загрязнённость воздуха имеет непостоянный и локальный характер, то есть микрофлора воздуха зависит от места и времени отбора проб. Летом обсеменённость воздуха в несколько раз выше, чем зимой. Особенно насыщен атмосферный воздух микроорганизмами над крупными городами. При рассмотрении качественного состава микрофлоры воздуха следует различать микрофлору атмосферного воздуха и воздуха жилых помещений.

Микрофлора атмосферного воздуха. *В атмосферном воздухе СПМ (стафилококки и стрептококки) обнаруживают лишь в 3,7% проб, взятых в местах большого скопления людей. Среди микроорганизмов доминируют виды, обитающие в почве.* В атмосферном воздухе в основном встречаются три группы микроорганизмов.

- *Пигментообразующие кокки* в солнечные дни составляют до 70-80% всей флоры (пигмент защищает бактерии от инсоляции).

- *Почвенные споровые и гнилостные микроорганизмы.* Их содержание резко увеличивается в сухую и ветреную погоду.

- *Плесневые грибы и дрожжи.* Их содержание увеличивается при повышении влажности воздуха.

В отличие от воздуха закрытых помещений, *в атмосферном воздухе постоянно происходят процессы самоочищения.* Этот процесс происходит благодаря осадкам, инсоляции, температурным воздействиям и другим факторам. В свою очередь атмосферный воздух сам по себе - фактор очищения воздуха жилых помещений.

Микрофлора воздуха закрытых помещений более однообразна и относительно стабильна. *Среди микроорганизмов доминируют обитатели носоглотки человека, в том числе патогенные виды, попадающие в воздух при кашле, чихании или разговоре.* Основным источником загрязнения воздуха патогенными видами - бактерионосители. Уровень микробного загрязнения зависит главным образом от плотности заселения, активности движения людей, санитарного состояния помещения, в том числе пылевой загрязнённости, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещённости и других условий. Так, регулярные проветривания и влажная уборка помещений снижает обсеменённость воздуха в 30 раз (по сравнению с контрольными помещениями). *Самоочищения воздуха закрытых помещений не происходит.*

Условия циркуляции микроорганизмов в воздухе

Микроорганизмы в воздухе находятся в состоянии аэрозоля. Выделяют три основные фазы бактериального аэрозоля.

Капельная, или крупноядерная фаза состоит из бактериальных клеток, окружённых водно-солевой оболочкой. Диаметр частиц около 0,1 мм и более. Частицы оседают довольно быстро: длительность пребывания в воздухе составляет несколько секунд, а скорость перемещения - в среднем 30 см/с.

Мелкоядерная фаза образуется при высыхании частиц первой фазы и состоит из бактериальных клеток, сохранивших только химически связанную воду на своей поверхности и свободную воду внутри клеток. В этой фазе частицы имеют наименьшие размеры, легко

перемещаются потоками воздуха, длительное время находятся в нём во взвешенном состоянии. Это наиболее устойчивая фаза, так как диаметр большинства частиц не превышает 0,05 мм, а скорость оседания частиц составляет, в среднем, 0,013 см/с. При этом скорость их передвижения превышает 30 см/с, поэтому они могут рассеиваться на большие расстояния. *Эта фаза представляет наибольшую эпидемиологическую опасность, так как в её составе распространяется большинство возбудителей воздушно-капельных инфекций, особенно мало устойчивых к внешним воздействиям* (например, возбудитель коклюша).

Фаза «бактериальной пыли». Из первых двух фаз бактерии могут переходить в состав более крупных частиц, оседающих в виде пыли на различных предметах, образуя так называемую «бактериальную пыль». Её важное свойство - способность легко диспергироваться под воздействием даже малых токов воздуха. Размер частиц варьирует от 0,01 до 1 мм. В зависимости от размера частиц и скорости воздушных течений, скорость их перемещения находится в пределах 0,5-30 см /с. *Вследствие длительного пребывания во взвешенном состоянии и способности частиц проникать в дистальные отделы лёгких, мелкодисперсная «бактериальная пыль» также представляет эпидемиологическую опасность. Эта фаза бактериального аэрозоля преобладает в воздухе жилых помещений и с ней рассеиваются патогенные микроорганизмы, устойчивые к высушиванию* (микобактерии, клостридии, стафилококки, стрептококки, грибы).

Индикаторные микроорганизмы санитарного состояния воздуха

Исследование воздуха в ЛПУ проводят один раз в квартал при текущем санитарном надзоре центром Государственного санитарно-эпидемиологического надзора; один раз в месяц бактериологическими лабораториями больниц и по эпидемиологическим показаниям. В системе гигиенических и противоэпидемических мероприятий при текущем санитарном надзоре определяют количество СПМ в 1 м³ воздуха. При текущем надзоре к СПМ относят золотистый стафилококк, стрептококки, грамотрицательные бактерии и грибы (в аптеках). *ОМЧ - нормируемый, но всё-таки относительный показатель.*

- В воздухе больничных помещений доминируют золотистый стафилококк и стрептококки. Соотношение микроорганизмов составляет, в среднем, 70 и 30% соответственно. При этом в 1 м³ воздуха операционных залов, послеоперационных палат, перевязочных, отделениях реанимации, родильных залов они должны отсутствовать.

- В связи с ростом частоты заболеваний, вызываемых грамотрицательными бактериями, в нормативы включено определение их количества в 1 м³ воздуха помещений ЛПУ.

- Особый случай - воздух аптечных помещений, где из-за наличия антимикробных препаратов могут быстро погибать бактерии, но сохраняться грибы, поэтому их обязательно необходимо выявлять при исследовании воздуха аптек.

- Дополнительные критерии. Как показатель запылённости и отсутствия влажной уборки расценивают присутствие спорообразующих палочек, а показателем повышенной влажности - плесневых грибов. Показатель плохой освещённости - отсутствие пигментообразующих форм бактерий (иногда этот показатель может быть определён по заданию фтизиатров).

Методы выделения микроорганизмов из воздуха

Для выделения микроорганизмов из воздуха используют следующие методы.

Седиментационный метод (метод Коха). Обычно используют для установления состава микрофлоры в закрытых помещениях. Чашки Пётри со средой раскладывают в различных местах и открывают на определённое время; затем инкубируют и выявляют видовую принадлежность микроорганизмов. Чаще всего в воздухе определяют ОМЧ (применяют чашки с МПА; время экспозиции 10-30 мин), содержание стафилококков (применяют чашки с желточно-солевым

агаром (ЖСА); время экспозиции 15 мин), по эпидемическим показаниям определяют содержание стрептококков (применяют чашки с КА; время экспозиции 10-15 мин). При обследовании воздуха аптек производят определение содержания грибов, используя чашки со средой Сабурб. При спокойном состоянии воздуха на площадь 100 см² оседает столько микроорганизмов, сколько их содержится в 0,01 м³ воздуха.

Фильтрационный метод. Пропускают струю забранного воздуха через слой воды, затем проводят выделение и идентификацию микроорганизмов, попавших в воду.

Методы, основанные на ударном действии струи воздуха. Специальные аппараты (например, конструкций В.С. Киктёно, Л.М. Соколинского и др.) позволяют точно определить количественное обсеменение воздуха конкретными микроорганизмами. Механизм улавливания микрофлоры основан на "ударно-прибивном" действии струи воздуха, который проходит через узкую щель и ударяется о влажную поверхность питательной среды. Во время отбора чашка Пётри вращается вместе со столиком, что обеспечивает равномерное распределение микроорганизмов по поверхности среды. Большое преимущество этого метода - возможность посева определённого объёма воздуха.

Санитарно-микробиологические исследования пищевых продуктов

Пищевые продукты - самые сложные объекты в санитарной микробиологии. Это объясняется не только разнообразием и обилием микрофлоры в них, но также использованием микроорганизмов в производстве многих продуктов и, к сожалению, отсутствием полноценных методик выявления микробов. Через пищевые продукты могут передаваться возбудители многих инфекционных болезней - брюшного тифа и паратифов, сальмонеллёзов, дизентерии, эшерихиозов, ботулизма, холеры, бруцеллёза, туберкулёза, сибирской язвы, некоторых риккетсиозов (Ку-лихорадка) и вирусных инфекций (ящур, полиомиелит и др.). Пищевые токсикоинфекции, вызываемые стафилококками и многочисленными условно-патогенными микроорганизмами, возникают после употребления в пищу заражённых пищевых продуктов. Обсеменение их микробами может происходить на всех этапах заготовки, хранения и приготовления. Пищевые продукты обычно невозможно полностью освободить от присутствия микроорганизмов без риска изменения их вкусовых качеств.

Наличие в пище большого количества различных факторов роста и витаминов способствует росту микроорганизмов. Этот факт является основным отличием изучения пищевых продуктов от прочих санитарно-микробиологических исследований, так как ни в воде или почве, ни тем более в воздухе столь бурного размножения микробов не происходит. При этом следует помнить, что естественная и безвредная для человека микрофлора пищи служит биологической защитой от нежелательных «гостей». Как во всяком биоценозе, в ней могут доминировать те или иные виды, влияющие на качество пищевых продуктов. Представление о микрофлоре пищевых продуктов может дать качественное или количественное изучение её популяции. При этом следует помнить, что роль конкретного микроорганизма необходимо оценивать не только после всестороннего анализа биоценоза, но учитывать качество и характер исследуемых продуктов. Например, энтерококки можно рассматривать как признак фекального загрязнения, но их культуры также применяют при изготовлении некоторых продуктов, например, диетической простокваши или сыра «чэддер». Соответственно, в продуктах питания различают специфическую и неспецифическую микрофлору.

Специфическая микрофлора пищевых продуктов

Представлена «культурными» микроорганизмами, используемыми для приготовления различных продуктов и являющихся обязательным звеном в технологии их приготовления. Специфические микроорганизмы используют в приготовлении всех кисломолочных продуктов, хлеба, пива, вина, в квашении овощей и т.д. При приготовлении кефира, простокваши, кумыса,

творога, сметаны, масла используют *Lactococcus* (устар. *Streptococcus*) *lactis* (молочно-кислый стрептококк). В эти же продукты для получения сметанообразного состояния добавляют *Streptococcus cremoris* (сливочный стрептококк). Для заквашивания кефира используют так называемые кефирные зёрна, состоящие из казеина, в котором находятся ассоциации микроорганизмов: молочно-кислые стрептококки, лактобациллы, молочные грибки и дрожжеподобные грибки. Молочно-кислые кокки и палочки, гидролизуя лактозу, снабжают грибки кислотой, необходимой им для жизнедеятельности, а грибки, вызывая спиртовое брожение, насыщают продукт углекислотой, что придаёт кефиру особый вкус. В приготовлении некоторых кисломолочных продуктов (ацидофилина, кислого молока) используют *Lactobacillus bulgaricus* (болгарская палочка) и *Lactobacillus acidophilus* (ацидофильная палочка). Контроль над чистотой этих культур и их сохранением осуществляют микробиологи лабораторий соответствующих предприятий пищевой промышленности. Санитарный микробиолог должен знать специфическую микрофлору для того, чтобы уметь отличить её от неспецифической, загрязняющей продукты.

Неспецифическая микрофлора пищевых продуктов

Включает микроорганизмы, случайно попадающие на пищевые продукты из окружающей среды. Её составляют сапрофиты, патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, а также виды, вызывающие порчу пищевых продуктов. Во многих пищевых продуктах присутствует обильная сапрофитическая микрофлора, вызывающая образование разнообразных биоценологических взаимосвязей. Присутствие некоторых сапрофитов способствует развитию биохимических процессов, закономерных для пищевого продукта, от которых зависит его качество и нередко сохранность в результате антагонистического противодействия патогенным бактериям, попадающим в продукты. Степень загрязнённости посторонней микрофлорой зависит от многих факторов: правильности заготовки самого пищевого продукта, его транспортировки, хранения, технологии последующей обработки и, на всех этапах, от соблюдения санитарного режима.

Санитарно-микробиологический анализ качества пищевых продуктов

Наиболее часто изучают два основных показателя - наличие, а также степень обсеменённости продуктов микроорганизмами и наличие патогенных микроорганизмов. Выявление патогенов безусловно более точное, но и более трудоёмкое занятие, поэтому его используют лишь при первичной переработке мяса, а также при проведении некоторых анализов молока, мясных продуктов и контроле консервного производства. Исследование преследует три цели.

1. Контроль качества сырья, используемого в производстве пищевых продуктов и оценка санитарно-гигиенических условий их изготовления.
2. Контроль режимов хранения пищевых продуктов и оценка санитарно-гигиенических условий их транспортировки и реализации.
3. Контроль над обеспечением эпидемической безопасности пищевых продуктов.

При проведении исследований используют качественные и количественные методы. Качественными методами определяют характер технологической микрофлоры и возбудителей порчи продуктов. Количественными методами в сочетании с другими показателями определяют сроки хранения и реализации продуктов. Общее количество микроорганизмов исследуют в 1 г или 1 см³ продукта методом кратных разведений. Конкретные виды определяют с использованием специфичных тестов.

Следует помнить, что на характер микробной обсеменённости влияют физико-химические свойства продуктов. Большинство микроорганизмов плохо выживает в продуктах с очень низкими и высокими значениями рН. Особенно обильно они размножаются в продуктах с жидкой

и полужидкой консистенцией. В плотных, особенно сухих или порошкообразных продуктах, условия для размножения микробов затруднены и в них они располагаются «гнездами». На обсеменённость пищевых продуктов влияют некоторые особенности технологии их производства и хранения.

- Механическая переработка (изготовление фарша, пюре и др.) увеличивает вероятность обсеменённости и способствует гомогенному распространению микроорганизмов по всему продукту.

- Химическая обработка (солёние, маринование) способствует резкому уменьшению числа микроорганизмов. Нередко солёные продукты дополнительно коптят, что ещё более снижает обсеменённость.

- На рост микроорганизмов существенно влияет температурный режим их производства и хранения. *Повышение температуры более неблагоприятно действует на микробов, чем понижение*, поэтому действие высоких температур широко используют для обработки пищевых продуктов.

Гигиенические нормативы по микробиологическим показателям включают контроль над 4 группами микроорганизмов.

- СПМ, к которым относят мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (МАФМ) и БГКП (колиформы), бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, энтерококки.

- Условно-патогенные микроорганизмы, к которым относят *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, протеи, сульфитредуцирующие клостридии, *Vibrio parahaemolyticus*.

- Патогенные микроорганизмы, в первую очередь сальмонеллы, *Listeria monocytogenes* и виды *Yersinia*.

- Микроорганизмы, вызывающие порчу продуктов, в первую очередь дрожжи и плесневые грибы.

Для различных групп пищевого сырья и продуктов питания существуют конкретные ГОСТы на эти продукты. При отсутствии ГОСТов используют гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Регламентирование по показателям микробиологического качества и безопасности пищевого сырья и продуктов питания для большинства групп микроорганизмов осуществляют по альтернативному принципу, то есть нормируют массу продукта, в которой не допускается содержание БГКП, большинства условно-патогенных микроорганизмов, а также патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл. В других случаях норматив отражает допустимое количество КОЕ в 1 г (мл) продукта (табл. 40-2, 40-3 и 40-4).

Особое значение имеет санитарно-бактериологический контроль над производством консервов. Консервы - пищевые продукты, расфасованные в герметически укупоренную тару и консервированные тепловой обработкой или комбинированными методами. Консервное производство имеет целью создание пищевых продуктов, длительно сохраняющих высокие питательные свойства и одновременно безопасные для здоровья потребителя. Пищевые продукты, подготавливаемые к изготовлению консервов, содержат самые различные по видовому составу и количеству микроорганизмы, происходящие из микрофлоры сырья и различных источников. Режимная тепловая стерилизация убивает микроорганизмы в консервируемом продукте, а герметическая укупорка банок исключает проникновение микроорганизмов внутрь. В большинстве случаев консервы изготавливают из продуктов различных по качеству, и практически в каждой партии консервов часть банок оказывается нестерильной. Это обусловлено

тем, что среди множества микроорганизмов, учитывая термостойкость которых устанавливают режим стерилизации, встречаются и более термостойкие виды. Именно они составляют остаточную микрофлору консервов. Если споронеобразующие микроорганизмы неустойчивы к нагреванию, то споры мезо- и термофильных бацилл и клостридий отличаются особой стойкостью к высоким температурам (от 115 до 130 °С). Соблюдение заданных условий хранения консервов препятствует развитию ослабленной после стерилизации остаточной микрофлоры, и консервы остаются доброкачественными (в этом случае их называют промышленно стерильными).

Среди остаточной микрофлоры консервов наиболее часто обнаруживают следующие.

• Мезофильные бациллы: группа *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*); группа *Bacillus cereus* (*B. cereus*, *B. anthracis*, *B. megaterium*, *B. thuringiensis*); группа *Bacillus polymixa* (*B. polymixa*, *B. macerans*, *B. circulans*).

- Бактерии рода *Lactobacillus*.
- Клостридии.
- Дрожжи.
- Плесневые грибы.

В зависимости от режима тепловой обработки и величины рН консервированные продукты разделяют на группы: А, Б, В, Г, Е (полные консервы) и Д (неполные консервы). Это деление позволяет проводить микробиологические исследования в определённом направлении. В зависимости от цели группы консервов исследуют на:

- промышленную стерильность,
- возбудителей порчи консервов,
- патогенную микрофлору по эпидемиологическим показаниям.

Отбор проб для исследования

Кусковые продукты. Образцы вырезают стерильным ножом в объёме (массе), достаточном для проведения анализа в соответствии с нормативной документацией. У изделий с квадратной формой производят разрез к одной из граней. У изделий с прямоугольной производят разрез по продольной оси; у шарообразных изделий производят клинообразный разрез, направленный к центру.

Жидкие и полужидкие. Перед забором образца пробы тщательно перемешивают. Забор производят стерильной пипеткой или металлическим половником.

Сыпучие продукты. Перед забором образца пробы тщательно перемешивают стерильной мешалкой или половником.

Продукты смешанной консистенции. Пробы отбирают таким образом, чтобы в образец входили все компоненты в соотношении, соответствующем их содержанию в продукте.

Проведение анализа. Перед исследованием осматривают тару, проверяют герметичность (если тара оказывается негерметичной, консервы не подлежат оценке на промышленную стерильность) и термостатируют невскрытые консервы (для проявления жизнедеятельности мезофильных аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов консервы термостатируют при 30-37 °С от 5 до 7 сут, а для проявления жизнедеятельности термофильных аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов - при 55-62 °С не менее 3

сут). После этого приступают к вскрытию банок и посеву на соответствующие питательные среды с дальнейшей идентификацией. Для определения промышленной стерильности в каждой единице упаковки устанавливают присутствие (отсутствие) тех микроорганизмов, наличие которых оговаривает нормативная документация. Если такие требования отсутствуют, в консервах проводят выявление следующих микроорганизмов:

- в консервах группы А (мясные, рыбные и овощные с рН 4,2 и выше; фруктовые с рН 3,8 и выше; сгущённые стерилизованные молочные консервы) - мезофильных аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов;

- в консервах группы Б (неконцентрированные и концентрированные томатопродукты) - мезофильных анаэробных и молочнокислых бактерий, а также плесневых и дрожжевых грибов;

- в консервах группы В (слабокислые овощные маринады, салаты, винегреты и другие с рН 3,74,2) - мезофильных анаэробных и молочнокислых бактерий, а также плесневых и дрожжевых грибов;

- в консервах группы Г (квашеная капуста, овощные маринады с рН менее 3,7; фруктовые консервы с рН менее 3,8) - плесневых и дрожжевых грибов, молочнокислых бактерий;

- в консервах группы Е (пастеризованные газированные фруктовые соки и напитки с рН 3,7 и ниже) - ОМЧ, наличие плесневых, дрожжевых грибов, молочнокислых бактерий и БГКП. Оценку результатов осуществляют по каждой упаковочной единице консервов отдельно. Если

в нормативном документе на определённые виды консервов не приведены требования к видовому составу и количеству обнаруженных микроорганизмов, то при оценке руководствуются следующими указаниями.

Для групп А и Б допускается наличие бацилл группы *B. subtilis*; их количество не должно превышать 11 КОЕ в 1 г или 1 см³ продукта. Содержание клостридий (исключая *C. botulinum* и *C. perfringens*) не должно превышать одну клетку в 1 г или 1 см³ продукта (в детском питании наличие клостридий недопустимо). Также в продуктах этой группы не допускается наличие споронеобразующих бактерий, кокков, дрожжевых и плесневых грибов.

Для группы В допускается наличие газонеобразующих мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных бацилл (не более 90 КОЕ в 1 г или 1 см³ продукта), клостридий, исключая *C. botulinum* и *C. perfringens* (не более одной клетки в 1 г или 1 см³ продукта). В детском питании наличие клостридий недопустимо. В консервах не должны присутствовать споронеобразующие бактерии, кокки, дрожжевые и плесневые грибы.

Для группы Г недопустимо наличие споронеобразующих бактерий, кокков, дрожжевых и плесневых грибов.

Для группы Е - ОМЧ не должно превышать 50. В 1 см³ продукта не допускается наличие молочнокислых бактерий и дрожжей; допустимо присутствие плесневых грибов не более 5 КОЕ. Наличие БГКП в 1 л (дм³) продукта недопустимо.

Санитарно-микробиологический контроль ЛПУ

Цель санитарно-микробиологических обследований ЛПУ - предупреждение ВБИ, ликвидация эпидемиологически опасных ситуаций. Для этого проводят регулярную проверку санитарно-гигиенического состояния в ЛПУ любого профиля. Бактериологические лаборатории центров госсанэпиднадзора контролируют ЛПУ два раза в год. Бактериологические лаборатории

ЛПУ исследуют обсеменённость воздуха и объектов один раз в месяц, стерильность инструментов, перевязочного материала, операционного белья, рук хирургов - один раз в неделю. В акушерских стационарах бактериологические лаборатории ЛПУ проводят проверку один раз в месяц, бактериологические лаборатории центров госсанэпиднадзора - один раз в квартал. Внеочередные санитарно-бактериологические обследования акушерских стационаров проводят по эпидемиологическим показаниям, при неудовлетворительном соблюдении санитарно-гигиенического и противоэпидемического режима, с целью контроля качества заключительной дезинфекции перед открытием акушерского стационара. Объектами бактериологического обследования являются воздух, поверхности различных предметов, руки хирурга и всех работающих в операционном блоке, кожные покровы операционного поля. Также осуществляют контроль стерильности изделий медицинского назначения, эффективности влажной текущей уборки и заключительной дезинфекции. Отдельную группу составляет обследование персонала на носительство золотистого стафилококка.

- В ЛПУ бактериологическому обследованию подлежат операционный блок, послеоперационные палаты, отделения и палаты реанимации и интенсивной терапии, перевязочные, кабинеты физиотерапии и лечебной физкультуры.

- В акушерских стационарах бактериологическому обследованию подлежат родильные залы, операционный блок, процедурные, детские палаты и палаты интенсивной терапии; комнаты сбора, пастеризации и хранения грудного молока; палаты послеродового отделения.

Перечень объектов, подлежащих обязательному бактериологическому контролю

Обязательному бактериологическому контролю подлежат различные устройства, специфичные для тех или иных помещений ЛПУ.

Наркозная комната: интубационная трубка, маска наркозного аппарата, ларингоскоп, роторасширитель, дыхательный мешок. Предоперационная палата: тазы для мытья рук хирургов, чистые щётки для мытья рук, фартуки (клеёнчатые или полиэтиленовые). Операционный зал: рабочий стол анестезиолога, операционный стол, шланг вакуум-насоса, шланг кислородной подводки, хирургические инструменты и шовный материал. Послеоперационные палаты: кровать, подготовленная для больного, полотенце для рук персонала, щётка на раковине, шланг кислородной подводки, градусники. Перевязочная: кушетка для перевязок, полотенца для рук персонала, щётка на раковине, халат медсестры, рабочий стол, внутренняя поверхность холодильника для хранения лекарств. Обследованию также подлежат лекарственные формы для инъекций, обработки слизистых оболочек и ухода за кожей новорождённых; растворы для питья, шовный материал, перевязочный материал, хирургические перчатки, наборы для первичной и повторной обработки новорождённых, материалы для новорождённых в биксах, материалы для операционной в биксах, зонды, катетеры, другие изделия медицинского назначения.

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха в операционных блоках, родильных залах и других местах массового использования стерильных изделий проводится по показаниям. И только в централизованных стерилизационных отделениях исследование воздуха проводят регулярно: бактериологическими лабораториями ЛПУ не реже одного раза в месяц, лабораториями центров госсанэпиднадзора и дезинфекционных станций - два раза в год.

Отбор проб для исследования

В ЛПУ, где имеются централизованные стерилизационные отделения, контролю на стерильность подлежит не менее 1% от числа одновременно простерилизованных образцов одного наименования. В ЛПУ, где нет подобных отделений и стерилизацию проводят в хирургических отделениях, контролю подлежат не менее трёх образцов одного вида.

Шовный материал доставляют в бактериологическую лабораторию в упаковке, в которой осуществляли его стерилизацию (пакеты, биксы). Предварительно его дополнительно заворачивают в стерильную упаковку. Если стерилизацию осуществляли в отделении, то забор проводят в чистой операционной в стерильные ёмкости с соблюдением строжайших правил асептики.

Смывы с рук берут у всех участвующих в операции. Марлевой салфеткой (5x5 см) тщательно протирают руки (ладони, околоногтевые и межпальцевые пространства) и кожу операционного поля. После забора проб марлевые салфетки помещают в пробирки или колбы с широким горлом, наполненные стерильной водопроводной водой или 0,9% раствором NaCl и стеклянными бусами. 10 мин встряхивают, проводя отмыв марлевой салфетки. Затем салфетку и 0,5 мл отмывной жидкости засевают в две пробирки с 5 мл питательной среды, либо засевают на две чашки с МПА. *В отобранных пробах не должны присутствовать золотистый стафилококк, синегнойная палочка, протей и БГКП.*

Исследование персонала на носительство золотистого стафилококка

Для выявления носителей персонал хирургических отделений, отделений реанимации, интенсивной терапии обследуют один раз в квартал. Исследованию подвергают слизь из передних отделов носа. Отбор проводят сухим или смоченным в 0,9% растворе NaCl стерильным тампоном из обеих ноздрей. Исследование слизи из зева проводят только по показаниям, прежде всего при наличии воспалительных процессов в нём. Сбор материала из зева проводят с поверхности миндалин натошак или не ранее, чем через 2-3 ч после еды. Посев проводят на ЖСА (МСА) непосредственно тампоном, которым забирали материал (многократно поворачивая его). Либо тампон помещают в 5 мл стерильного 0,9% раствора NaCl, 10 мин встряхивают, жидкость перемешивают пипеткой и 0,1 мл наносят на среду, растирая шпателем. Для определения массивности обсеменения верхних дыхательных путей стафилококком подсчитывают число выросших на чашках однотипных, однородных колоний идентичных по морфологии и пигменту. Затем для каждого типа подсчитывают КОЕ, выросших при посеве с тампона.

Санитарно-микробиологическое исследование аптек

Санитарно-бактериологический контроль аптек осуществляют не реже двух раз в квартал. Объектами исследования являются.

- Вода дистиллированная для приготовления ЛС кроме инъекционных растворов и глазных капель.
- Вода дистиллированная для приготовления инъекционных растворов и глазных капель - инъекционные растворы до стерилизации; глазные капли, приготовленные в асептических условиях на стерильных основах (то есть изготавливаемые в самих аптеках).
- Сухие ЛС, используемые для приготовления инъекционных растворов.
- Аптечная посуда, пробки, прокладки, прочие вспомогательные материалы.
- Инвентарь, оборудование, руки и санитарная одежда персонала.
- Воздух аптечных помещений.

Объекты санитарно-микробиологического исследования

Вода дистиллированная для приготовления ЛС кроме инъекционных растворов и глазных капель. Пробы отбирают из бюретки, заполненной исследуемой водой; выводной конец которой предварительно обжигают ватно-спиртовым факелом. Пробы забирают в стерильные бутылки в

объёме 300 мл. Если результаты оказываются неудовлетворительными, то пробы отбирают из приёмника дистиллятора. Определяют содержание МАФАМ, плесневых и дрожжевых грибов. Результаты оценивают по общему количеству микроорганизмов путём суммирования числа выросших колоний бактерий и грибов. Предельно допустимо содержание 10-15 КОЕ в 1 см³. *Наличие бактерий группы БГКП в дистиллированной воде не допускается.*

Вода дистиллированная для приготовления инъекционных растворов и глазных капель. Отбор проб проводят в стерильные флаконы в объёме 15-20 мл непосредственно из тех ёмкостей, в которых осуществляют стерилизацию.

- Инъекционные растворы до стерилизации отбирают во время их приготовления, но не позднее 1,5 ч и доставляют в тех флаконах, в которых их будут стерилизовать.

- Инъекционные растворы, глазные капли после стерилизации и приготовленные асептическим способом доставляют в аптечной упаковке.

- Глазные капли из торгового зала аптек доставляют в тех упаковках, в которых их отпускают (3-4 наименования как со стола ассистента, так и с прилавка).

Исследование сухих ЛС проводят по показаниям, например в случае неоднократных неудовлетворительных бактериологических анализов. Отбор проб проводят стерильными ложками в количестве 30-50 г, затем растворяют стерильной дистиллированной водой до концентрации, используемой в соответствующем растворе инъекций и глазных капель.

Исследование аптечного оборудования. Посуду, пробки, прокладки, воронки, цилиндры исследуют в момент подготовки к разливу инъекционных растворов и глазных капель. Посуду отбирают в укупоренном виде, но без содержимого в количестве трёх штук одинаковой ёмкости; пробки и уплотнители по пять штук, помещая их в стерильную закупоривающуюся посуду. Исследование проводят путём споласкивания оборудования 10 мл стерильной водопроводной воды. В смывной жидкости определяют МАФАМ и БГКП. *Бактерий группы МАФАМ не должно быть более 150 КОЕ в смывах с трёх флаконов, пяти пробок и пяти прокладок. Присутствие БГКП не допускается.*

Исследование воздуха. Пробы отбирают в асептическом блоке, стерилизационной комнате, в ассистентской, фасовочной, материальной, моечной, в зале обслуживания. Отбор проводят аспирационным методом в чистом, подготовленном к работе помещении (не ранее чем через 30 мин после влажной уборки помещения), при закрытых дверях и форточках. Уровень отбора проб - высота рабочего стола, скорость протягивания воздуха - 25 л/мин. ОМЧ определяют в 100 л воздуха, золотистый стафилококк - в 250 л, плесени и дрожжи - в 250 л.

Прочие объекты. Санитарно-микробиологическим исследованиям также подлежит тара для хранения аптечного оборудования, ступки, весы, руки персонала, полотенца, спецодежда и рабочие места. Проводят исследования на наличие БГКП, синегнойной палочки, протеев и золотистого стафилококка (по показаниям). Пробы берут методом смыва с помощью ватных тампонов, помещённых в пробирки с 2 мл 0,85% раствора NaCl или 0,1% пептонной воды. Проводят посев на жидкие и плотные питательные среды. *В исследуемых образцах наличие бактерий группы БГКП, синегнойной палочки, протеев и золотистого стафилококка не допускается.*

Микрофлора лекарственных средств

Источники загрязнения лекарственных средств

Современный арсенал ЛС включает большой ассортимент препаратов. При этом технология их производства далеко не всегда гарантирует полную микробную

чистоту. *Инъекционные и офтальмологические препараты должны быть абсолютно стерильными*, что учитывают при их изготовлении. Для остальных препаратов микробное загрязнение также крайне нежелательно, но возможно, так как регламент их изготовления не требует поддержания строгой стерильности. Основные источники загрязнения ЛС: *сырьё* (чаще растительного и животного происхождения), *технологическая вода, производственное оборудование, воздух в производственных помещениях, рабочий персонал, контейнеры и упаковка готовой продукции.*

- *Микробная контаминация лекарственного препарата может вызвать заболевание у принимающего его человека.* В клинической практике известны случаи заболевания, вызванные энтеробактериями, синегнойной палочкой, золотистым стафилококком, споровыми анаэробами, плесневыми грибами и др.

- *Микробная контаминация ЛС нарушает его стабильность.*

В жидких и мягких лекарственных формах условия для роста и размножения микроорганизмов более подходящие. Это связано с высоким содержанием воды, растительных масел и отсутствием консервантов в составе многих мазей. Более того, содержание в составе мазей антимикробных веществ не всегда гарантирует их микробную чистоту. Размножение микробов изменяет консистенцию мазевых основ, вызывает их прогоркание, появление неприятного запаха и т.д. В жидких лекарственных формах метаболиты микроорганизмов могут изменить его химический состав, а также привести к образованию токсичных продуктов. В твёрдых лекарственных формах риск микробной порчи минимален, так как отсутствуют условия для размножения микробов. Высокая загрязнённость сырья, его неправильное хранение может приводить к изменению свойств.

Микрофлора лекарственного растительного сырья

Микробы, обитающие на лекарственном растительном сырье могут включать представителей нормальной эпифитной и фитопатогенной микрофлоры. Микробная обсеменённость растительного лекарственного сырья зависит от исходной загрязнённости, но может повышаться на этапах первичной обработки, измельчения, приведения в стандартное состояние. Порча сырья происходит в основном при повышенной влажности, способствующей размножению гнилостных микроорганизмов.

Эпифитная микрофлора [от греч. *epi*, на + *phyton*, растение] представлена микроорганизмами, обитающими на поверхности растений. *Микроорганизмы-эпифиты не причиняют вреда растению, а в некоторых случаях составляют конкуренцию фитопатогенным микробам.* В качестве источников питания эпифитная микрофлора утилизирует выделения растений и различные их поверхностные загрязнения. Основной представитель эпифитной микрофлоры - *Erwinia herbicola* - подвижная грамотрицательная палочка, образующая золотисто-жёлтые колонии на МПА. Реже на поверхности растений выделяют *Pseudomonas fluorescens* - подвижную грамотрицательную палочку. Бактерии образуют зелёный пигмент пиовердин, вызывающий флуоресценцию колоний при коротковолновом УФ-облучении. Пиовердин обладает свойством бактериоцина, действующего на грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также проявляет умеренную фунгицидную активность. Иногда на поверхности растений выделяют *Bacillus mesentericus* - аэробные подвижные спорообразующие грамположительные палочки. Как было указано выше (см. главу 6), наиболее обильно микроорганизмы представлены в почве, особенно в прикорневой зоне. В её состав входят различные микобактерии, псевдомонады, спорообразующие, азотфиксирующие и нитрифицирующие бактерии, актиномицеты и грибы. Вокруг корней растений находится зона интенсивного роста и повышенной активности микробов. Поверхность корневой системы колонизируют преимущественно псевдомонады и грибы. Последние вступают в симбиотические отношения с растениями и образуют микоризу (грибокорень), стимулирующую рост обоих партнёров.

Фитопатогенная микрофлора. Способностью вызывать болезни растений обладают различные вирусы, бактерии и грибы. Поражения, вызываемые фитопатогенными бактериями называют бактериозами. Фитопатогенные грибы вызывают микофитозы. По локализации процесса выделяют общие и местные поражения. Первые вызывают гибель всего растения или отдельных его частей, вторые - отдельных участков растения. По механизму поражения бактериозы разделяют на паренхиматозные заболевания, сосудистые поражения и опухоли. *Паренхиматозные заболевания*. Развиваются при попадании бактерий в ткани растений через различные анатомические отверстия (устьица, чечевички, нектарники) и повреждения покровных тканей. Возбудители выделяют ферменты и токсины, облегчающие их распространение по межклеточным пространствам. Проникновение бактерий вглубь вызывает массовую гибель клеток. К ним относят: гнили (основные возбудители - бактерии родов *Pseudomonas* и *Erwinia*), ожоги (основные возбудители - виды *En\>Bla* и *Corynebacterium*) и пятнистости (основные возбудители - виды *Pseudomonas* и *Xanthomonas*). *Сосудистые поражения*. Развиваются при распространении бактерий по сосудам растений. Основные возбудители - виды *Corynebacterium* (*C. fascians*, *C. insidiosum*, *C. michiganense*). Бактерии размножаются в сосудах, вызывая их закупорку за счёт повреждения стенок, что приводит к увяданию растения. *Опухоли*. Основные возбудители - бактерии рода *Agrobacterium* (наиболее часто *A. tumoralis*). Агробактерии содержат онкогенные плазмиды. После их переноса в растительных клетках развиваются специфические опухоли - корончатые галлы.

Возбудители микофитозов также вызывают паренхиматозные и сосудистые поражения растений. Использование сырья, обсеменённого грибами, в качестве пищевых продуктов может вызвать тяжёлые заболевания - микотоксикозы (см. главу 36).

Фитопатогенные вирусы вызывают мозаичные болезни, желтуху, карликовость. Их характерная особенность - появление слабоокрашенных пятен или целых участков, а также задержка роста растений. Помимо вирусов, к фитопатогенам относят и вириды (см. главу 2).

Пути повышения микробной чистоты нестерильных лекарственных средств

В зависимости от источников и путей попадания микроорганизмов в ЛС возможны различные подходы к обеспечению требуемого уровня микробной чистоты нестерильных ЛС. Если микробное обсеменение вызвано попаданием вместе с сырьём, то для достижения требуемого уровня микробной чистоты достаточно очистить от микроорганизмов сырьё. Если обсеменение микробами происходит в процессе изготовления, то проводят деконтаминацию готовой лекарственной формы. Предварительной деконтаминации можно достичь прессованием сыпучих материалов (при отсутствии спорных микроорганизмов, низкой влажности исходного порошка и высоком давлении). На практике применяют четыре способа деконтаминации сырья и готовых ЛС.

Термический способ. Широко распространённый метод промышленной деконтаминации. Не пригоден для обработки термолабильных лекарственных форм, для которых применяют прогревание до 60-70 °С горячим воздухом, инфракрасное и высокочастотное излучение.

Химический способ. Более пригоден для стерилизации посуды, трубопроводов и прочих изделий из полимерных материалов. Стерилизующий агент - окись этилена или смесь окиси этилена и бромистого метила (в соотношении 1:25). Для непосредственной деконтаминации ЛС этот способ применяют ограничено, так как окись этилена взаимодействует с веществами, содержащими галогенные, гидроксильные и карбоксильные группы.

УФ-облучение. Существенным ограничением для более широкого использования метода признана его неэффективность при обработке светонепроницаемых веществ (бактерицидное действие реализуется лишь на глубине 1 мм). Наиболее часто его используют для обработки упаковочного материала и технологической воды. Возможна обработка УФ-лучами

формообразующих веществ (крахмала, талька, сахара) в дисперсном состоянии (при перемешивании).

Ионизирующее излучение. Наиболее перспективный способ деконтаминации сырья и готовых лекарственных форм. Ионизирующее излучение обладает высокой проникающей способностью. При облучении не образуются канцерогенные, мутагенные, токсичные вещества, сохраняются физико-химические и биологические свойства обрабатываемых лекарств. Метод используют для обработки антибиотиков, витаминов, ферментов, гормонов и алкалоидов.

ГЛАВА 41. ИТОГОВЫЙ ЭКЗАМЕН

ВОПРОСЫ

За каждым из перечисленных вопросов следуют обозначенные буквой ответы. Выберите один или несколько ответов, наиболее соответствующих каждому случаю.

1. Какой из перечисленных ниже способов сосуществования микроорганизмов взаимовыгоден?

А. Комменсализм. Б. Мутуализм.

В. Эндосимбиоз. Г. Эктосимбиоз.

Д. Антагонистический симбиоз. Е. Паразитизм.

2. Какие из перечисленных ниже свойств характерны для смешанных инфекций?

А. Возникают на фоне существующего заболевания.

Б. Формируются из первичного очага инфекции, подвергшегося неадекватному лечению антибиотиками.

В. Характеризуются антагонизмом между возбудителями. Г. Характеризуются синергизмом возбудителей.

Д. Характеризуются удлинённым инкубационным периодом. Е. Ни одно из указанных определений.

3. Для структуры клеточной стенки бактерий характерны все нижеуказанные свойства, КРОМЕ:

А. Включает сложный полимер пептидогликан.

Б. Строение обуславливает способность воспринимать окраску по Граму.

В. Представляет уникальную гибкую и пластичную структуру. Г. Содержит D-изомеры аминокислот.

Д. Клеточная стенка грамотрицательных бактерий более чувствительна к действию лизоцима, чем

грамположительных бактерий. Е. Имеет поры.

4. Какая структура клеточной стенки бактерий определяет способность прикрепляться к поверхности клеток?

А. Капсулы. Б. Жгутики.

В. Микроворсинки (пили). Г. Мезосомы.

Д. Пермеазы.

Е. Никакие из указанных выше.

5. Какие структуры обязательны для обычных бактериальных клеток?

А. Жгутики. Б. Капсула.

В. Микроворсинки (фимбрии). Г. Клеточная стенка.

Д. ЦПМ.

Е. Генофор (нуклеоид).

Правильные ответы: 1 - Б; 2 - Е, 3 - В; 4 - А, В; 5 - Г, Д, Е

6. Какие структуры обязательны для L-форм бактерий?

А. Капсула.

Б. ЦПМ.

В. Цитоплазма.

Г. Генофор (нуклеоид). Д. Клеточная стенка. Е. Волутиновые зёрна.

7. Какие компоненты образуют клеточную стенку грамотрицательных бактерий?

А. Пептидогликан. Б. Липиды.

В. Тейхоевые кислоты. Г. Белок А.

Д. ЛПС.

Е. Флагеллин.

8. Какие морфологические структуры бактерий несут признаки антигенной чужеродности?

А. Жгутики. Б. Капсула.

В. Клеточная стенка.

Г. ЦПМ.

Д. Генофор. Е. Лизосомы.

9. Какие морфологические структуры бактерий и особенности их строения обуславливают положительную или отрицательную окраску по Граму?

А. Клеточная стенка.

Б. ЦПМ.

В. Цитоплазма. Г. Генофор.

Д. Капсула. Е. Жгутики.

10. Укажите локализацию наследственной информации в бактериальной клетке.

- А. ЦПМ.
- Б. Генофор (нуклеоид).
- В. Митохондрии. Г. Мезосомы.
- Д. Плазмиды.
- Е. Шероховатая эндоплазматическая сеть.

11. Какой тип изменчивости наблюдают при мутациях у бактерий?

- А. Генотипический. Б. Фенотипический.
- В. Рекомбинационный. Г. Модифицирующий. Д. Дегенерирующий.
- Е. Ни один из вышеперечисленных.

12. Укажите основные характеристики О-Аг.

- А. Представлены белками.
- Б. Представлены углеводами.
- В. Представлены ЛПС. Г. Термолабильны.
- Д. Термостабильны. Е. Являются гаптенами.

13. Укажите основные свойства плазмид.

- А. Продуцируют различные БАВ.
- Б. Несут определённую генетическую информацию.
- В. Постоянно присутствуют в бактериальной клетке. Г. Являются фактором патогенности.
- Д. Способны встраиваться в генетический аппарат бактериальной клетки. Е. Определяют образование жгутиков.

Правильные ответы: 6 - Б, В, Г; 7 - А, Б, Д; 8 - А, Б, В; 9 - А; 10 - Б, Д; 11 - А, Б; 12 - В, Д;

13 - Б, Г, Д

14. Какой из факторов влияет на рост бактерий?

- А. Давление кислорода.
- Б. Содержание в окружающей среде неорганических ионов.
- В. Парциальное давление двуокиси углерода.
- Г. Содержание в окружающей среде органических соединений. Д. Наличие ростовых факторов. Е. Все перечисленные.

15. Какая из перечисленных ниже стадий репликации вирусов не является температурозависимым процессом?

- А. Адсорбция.

- Б. Проникновение.
- В. Высвобождение нуклеиновой кислоты.
- Г. Интеграция вирусной ДНК в геном клетки.
- Д. Сборка дочерних популяций.
- Е. Высвобождение дочерних популяций.

16. Взаимодействие между какими вирусами может привести к фенотипическому смешиванию?

А. Между близкородственными вирусами с «голыми» капсидами. Б. Между «голым» и «одетым» вирусами.

В. Между близкородственными ДНК-содержащими вирусами.

Г. Между любыми вирусами, инфицирующими одну и ту же клетку. Д. Только между ДНК-содержащими вирусами. Е. Только между РНК-содержащими вирусами.

17. Укажите типы симметрии, по которым организованы нуклеокапсиды вирусных частиц.

А. Кубическая. Б. Спиральная.

В. Двойная (смешанная). Г. Двусторонняя.

Д. Лучевая.

Е. Асимметричная организация нуклеокапсида.

18. Какое из перечисленных положений неверно применительно к ИФН?

А. α-ИФН продуцируют лейкоциты.

Б. γ-ИФН продуцируют стимулированные лимфоциты.

В. ρ-ИФН продуцируют фибробласты.

Г. ИФН проявляет высокую специфичность к различным вирусам. Д. ИФН действует на заражённые клетки. Е. ИФН действует на вирусы.

19. Какие вирусы могут вызвать персистирующие инфекции?

А. Высоковирулентные литические.

Б. Значительно изменяющие метаболизм клетки.

В. Инфицирующие нечувствительные клетки. Г. Вирусы, высвобождающиеся почкованием. Д. Дефектные вирусы.

Е. Интерферирующие вирусы.

20. Какие варианты нуклеиновых кислот могут присутствовать в вирусном геноме?

А. Несегментированная двухнитевая ДНК.

Б. Несегментированный двухнитевый гибрид ДНК-РНК.

В. Сегментированная двухнитевая РНК. Г. Сегментированная двухнитевая ДНК. Д. Однонитевая РНК.

Е. Сегментированный двухнитевый гибрид ДНК-РНК.

21. Каким образом можно выявить наличие вируса в заражённой культуре клеток?

А. По цитопатическим изменениям клеток.

Б. По способности эритроцитов адсорбироваться на ЦПМ инфицированных клеток.

В. Обнаружением вирусных белков в монослое инфицированных клеток.

Г. Выявлением изменения питательных потребностей инфицированных клеток. Д. По способности вирусов агглютинировать эритроциты. Е. При электронной микроскопии.

Правильные ответы: 14 - Е; 15 - А; 16 - А; 17 - А, Б, В; 18 - Г, Е; 19 - Г, Д; 20 - А, В, Г, Д;

22. Какой путь передачи возбудителя наиболее часто вызывает развитие эпидемических вспышек?

А. Воздушно-капельный.

Б. Заражение через повреждения кожных покровов.

В. Фекально-оральный. Г. Трансмиссивный.

Д. Ятрогенный. Е. Половой.

23. Укажите наиболее важный фактор, обеспечивающий невосприимчивость к инфицированию патогенными вирусами в популяции.

А. Внутривидовая резистентность.

Б. Невосприимчивость к повторному заражению.

В. Формирование иммунной прослойки.

Г. Проведение активной иммунопрофилактики.

Д. Проведение пассивной иммунопрофилактики.

Е. Профилактическое применение противовирусных химиопрепаратов.

24. Укажите основные характеристики микроорганизмов, относящихся к нормальной микрофлоре человека.

А. Доминируют в исследуемых образцах.

Б. Представлены сапрофитическими видами.

В. Представлены патогенными видами с пониженной вирулентностью. Г. Представлены условно-патогенными микроорганизмами.

Д. Микроорганизмы более или менее часто выделяют из организма здорового человека. Е. Микроорганизмы сравнительно редко выделяют из организма здорового человека.

25. Укажите характерные особенности заселения бактериями организма человека.

А. Колонизируют все органы.

Б. Колонизируют отдельные области.

В. Состав микробных сообществ одинаков в каждом отдельном органе. Г. Состав микробных сообществ в каждом отдельном органе различен. Д. Различия в составе микробных сообществ индивидуальны.

Е. Состав микробных сообществ остаётся стабильным на протяжении всей жизни.

26. Укажите микроорганизмы, доминирующие в дистальных отделах кишечника человека.

А. Виды *Bacteroides*. Б. Виды *Clostridium*.

В. Виды *Streptococcus*. Г. Виды *Lactobacillus*. Д. Виды *Enterobacter*. Е. Виды *Candida*.

27. Какие бактерии, входящие в состав нормальной микробной флоры, способны вызвать заболевания?

А. Патогенные виды. Б. Сапрофиты.

В. Условно-патогенные. Г. Любые.

Д. Термофилы. Е. Никакие.

28. Какая из следующих характеристик лучше всего определяет свойства гаптенов?

А. Иммуногенны и реагируют с АТ.

Б. Иммуногенны, но не реагируют с АТ.

В. Реагируют с АТ, но неиммуногенны. Г. Не реагируют с АТ и неиммуногенны.

Д. Представлены сложными макромолекулярными веществами. Е. Представлены простыми низкомолекулярными веществами.

29. Для чего применяют элективные (селективные) питательные среды?

А. Для предупреждения отмирания патогенных бактерий и подавления роста сапрофитов. Б. Для накопления определённой группы бактерий.

В. Для первичного посева материала или для пересева с консервирующих сред или сред обогащения. Г. Для изучения и идентификации отдельных типов, видов и групп бактерий.

Д. Для изучения биохимических свойств бактерий. Е. Для изучения патогенных свойств бактерий.

Правильные ответы: 22 - А, В; 23 - В, Г; 24 - Б, В, Г, Д; 25 - Б, В, Д; 26 - А; 27 - А, Б, В, Г;

28 - В, Е; 29 - В

30. Простые серологические реакции. Укажите наиболее корректное утверждение.

А. Включают только два компонента - Аг и АТ. Б. Протекают только в жидкой среде.

В. В реакционной смеси могут содержать три компонента.

Г. Могут представлять собой последовательность нескольких простых реакций. Д. Непосредственно выявляют взаимодействие Аг с АТ. Е. Протекают только при 37 °С.

31. Какое природное соединение считают базовым для получения полусинтетических и синтетических пенициллинов?

- А. β -Лактамное кольцо.
- Б. Феноксиметилпенициллин.
- В. 6-Аминопенициллановая кислота. Г. Оксациллин.
- Д. Этамбутол.
- Е. ПАСК.

32. Укажите основные свойства молекулы-димера IgA.

- А. Взаимодействует с Ag во внешней среде. Б. Секретируется эпителиальными клетками.
- В. Входит в состав слёзной жидкости.
- Г. Проникает через плацентарный барьер.
- Д. Обуславливает антителозависимую цитотоксичность.
- Е. Синтезируется плазматическими клетками.

33. Укажите основные свойства В-лимфоцитов и плазматических клеток.

- А. Плазматические клетки синтезируют и секретируют Ig. Б. γ -ИФН подавляет активность плазматических клеток.
- В. В-клетки - предшественники плазматических клеток.
- Г. Долгоживущие В-клетки лизируют инфицированные, чужеродные и опухолевые клетки.
- Д. Короткоживущие В-клетки продуцируют γ -ИФН.
- Е. В-лимфоциты проявляют антителозависимую цитотоксичность.

34. Укажите условия, при которых Т-киллер убивает чужеродную клетку.

- А. Если её спектр Ag МНС отличается от спектра Ag МНС хозяина. Б. После распознавания Ag МНС на её поверхности.
- В. Путём формирования перфориновых пор в мембране клетки-мишени. Г. После опсонизации.
- Д. Путём выделения цитотоксинов.
- Е. При фиксировании на её поверхности компонентов комплемента.

35. Какие правила взятия материала обеспечивают адекватность результатов бактериологического исследования?

- А. Материал забирают из очагов поражения и прилежащих тканей. Б. Материал следует забирать до начала антимикробной терапии.
- В. Материал следует немедленно направлять в лабораторию.
- Г. Взятие материала проводят многократно на фоне антимикробной терапии.

Д. Материал забирают в ограниченном количестве для предотвращения травматизации очага поражения. Е. При необходимости материал замораживают и хранят неограниченно долго.

36. Для какого типа микроскопической техники готовят нативные неокрашенные препараты?

- А. Для световой микроскопии.
- Б. Для темнопольной микроскопии.
- В. Для люминесцентной микроскопии.
- Г. Для фазово-контрастной микроскопии.
- Д. Для электронной микроскопии.
- Е. Для поляризационной микроскопии.

37. Какие среды наиболее часто применяют для выделения неприхотливых бактерий?

- А. КА.
- Б. Среда Эндо.
- В. Среда Плоскирева. Г. Среда Бордё-Жангу.
- Д. КУА. Е. МПА.

Правильные ответы: 30 - А; В 31 - В; 32 - А, В, Е; 33 - А, В; 34 - А, Б, В; 35 - А, Б, В; 36

Б, Г, Е; 37 - А, Б, В, Е

38. Какие методы считают основными при выявлении патогенных микроорганизмов?

А. Изучение морфологических и тинкториальных свойств возбудителей. Б. Определение биохимической активности возбудителей.

В. Серологическое типирование основных Аг возбудителей. Г. Выявление Аг возбудителя в исследуемом материале.

Д. Изучение культуральных свойств. Е. Биологическая проба.

39. Укажите способы полной стерилизации материалов, используемых в микробиологических исследованиях.

- А. Обработка влажным паром. Б. Фильтрация.
- В. Облучение.
- Г. Пастеризация. Д. Прокаливание. Е. Обработка антисептиками.

40. Какие факторы обуславливают резистентность бактерий к ЛС?

- А. Наличие плазмид лекарственной устойчивости.
- Б. Уменьшение количества либо полное отсутствие рецепторов для взаимодействия препарата с микробной клеткой.
- В. Индуцированная применением антимикробных препаратов селекция устойчивых штаммов. Г. Спонтанные мутации генома бактерии и/или хозяина.

Д. Замедление транспорта препарата в клетку. Е. Все вышеперечисленные.

41. Какое из свойств характерно для золотистого стафилококка?

А. Ферментация маннита в анаэробных условиях. Б. Гемолитическая активность.

В. Коагулазная активность. Г. Каталазная активность.

Д. р-Лактамазная активность.

Е. Образование жёлтого пигмента.

42. Для каких бактерий характерно терминальное расположение спор, придающее им вид «барабанных палочек»?

А. *Bacillus anthracis*.

Б. *Clostridium botulinum*.

В. *Clostridium perfringens*. Г. *Bacillus subtilis*.

Д. *Clostridium tetani*. Е. *Bacillus cereus*.

43. В какой стадии клеточного цикла *Clostridium tetani* происходит образование нейротоксина?

А. В лаг-фазе.

Б. В логарифмической фазе.

В. В фазе покоя.

Г. В фазе смерти клетки. Д. При прорастании споры. Е. В фазе спорообразования.

44. Укажите основные факторы патогенности возбудителя ботулизма.

А. Жгутики. Б. Капсула.

В. Эндотоксин. Г. Экзотоксин.

Д. Протеолитические ферменты. Е. Факторы адгезии.

45. Какие виды клостридий вызывают развитие газовой анаэробной инфекции?

А. *Clostridium tetani*. Б. *Clostridium difficile*.

В. *Clostridium septicum*. Г. *Clostridium perfringens*. Д. *Clostridium histolyticum*. Е. *Clostridium sordelli*.

Правильные ответы: 38 - А, Б, В; 39 - А, В, Д; 40 - Е; 41 - А, Б, В, Г; 42 - Д; 43 - Б, Е; 44 - Г;

45 - В, Г, Д, Е

46. Какие из нижеперечисленных микроорганизмов образуют гранулы жёлтого цвета в отделяемом из очагов поражений, что служит их дифференциально-диагностическим признаком?

А. *Nocardia asteroides*.

Б. *Mycobacterium tuberculosis*.

В. *Listeria monocytogenes*. Г. *Actinomyces israelii*.

Д. *Clostridium histolyticum*. Е. *Bacteroides fragilis*.

47. Какой фактор определяет способность *Neisseria gonorrhoeae* инфицировать эпителий мочеиспускательного канала?

А. Ферменты, расщепляющие молекулы АТ.

Б. Антифагоцитарное действие капсульных полисахаридов.

В. Способность выживать и размножаться внутри клеток.

Г. Пили и микроворсинки, обуславливающие адгезию бактерий к эпителиальным клеткам. Д. Устойчивость к бактерицидным факторам сыворотки крови. Е. Цитотоксин, разрушающий эпителиальные клетки.

48. Укажите основной фактор вирулентности менингококка.

А. ЛПС эндотоксина.

Б. Антифагоцитарные свойства капсулы.

В. Белки клеточной стенки.

Г. Способность к выживанию внутри клетки.

Д. Ворсинки, обеспечивающие адгезию на эпителии.

Е. Экзотоксин.

49. Что представляет собой вакцина БЦЖ, используемая для иммунопрофилактики туберкулёза?

А. Убитая культура *Mycobacterium tuberculosis*. Б. Убитая культура *Mycobacterium bovis*.

В. Ослабленная культура *M. tuberculosis*. Г. Ослабленная культура *M. bovis*.

Д. Смесь убитых культур *M. tuberculosis*, *M. bovis* и *M. avium*.

Е. Смесь ослабленных культур *M. tuberculosis*, *M. bovis* и *M. avium*.

50. Укажите основные факторы патогенности синегнойной палочки.

А. Капсула. Б. Жгутики.

В. Эндотоксин. Г. Экзотоксин.

Д. Протеолитические ферменты. Е. Микроворсинки.

51. Укажите характерные свойства возбудителя классической холеры.

А. Чувствительность к полимиксину. Б. Агглютинация О1-антисывороткой.

В. Гемолитическая активность.

Г. Чувствительность к бактериофагу IV группы Мукерджи. Д. Образование экзотоксина. Е. Образование эндотоксина.

52. Какая из нижеперечисленных бактерий выступает возбудителем мягкого шанкра?

А. *Haemophilus influenzae* биовар *aegyptius*. Б. *Gardnerella vaginalis*.

В. *Yersinia pseudotuberculosis*. Г. *Haemophilus ducreyi*.

Д. *Treponema pallidum*. Е. *Chlamydia trachomatis*.

53. Укажите микробиологические методы, используемые для лабораторной диагностики сибирской язвы.

А. Бактериоскопический. Б. Бактериологический.

В. Серологический. Г. Биологический.

Д. Аллергологический. Е. Иммунохимический.

Правильные ответы: 46 - Г; 47 - Г; 48 - Б; 49 - Г; 50 - Б, В, Г, Д; 51 - А, Г; 52 - Г; 53 - А, Б, В, Г, Д, Е

54. Каков основной путь заражения человека лептоспирами?

А. Через укусы кровососущих членистоногих. Б. При употреблении инфицированной воды.

В. При контактах с мочой больного животного. Г. Воздушно-капельный путь.

Д. С инфицированной пищей.

Е. Через укусы больного животного.

55. Какая бактерия вызывает лаймоборрелиоз?

А. *Borrelia latyschewii*. Б. *Borrelia burgdorferi*.

В. *Borrelia recurrentis*. Г. *Borrelia caucasica*. Д. *Borrelia hispanica*. Е. *Borrelia persica*.

56. Какой лабораторный тест считают ключевым для дифференцировки *Mycobacterium tuberculosis* от прочих микобактерий?

А. Ферментация эритрола.

Б. Гидролиз миколевой кислоты.

В. Образование пигмента на свету.

Г. Образование никотиновой кислоты. Д. Окраска по Цйлю-Нильсену. Е. Окраска по Граму.

57. Укажите неверное утверждение относительно туберкулиновой пробы.

А. Пробу считают положительной при появлении папулы, превышающей по размерам 10 мм. Б. Наибольшее распространение нашло внутрикожное введение туберкулина (реакция Манту).

В. Повторное введение туберкулина способно вызвать конверсию отрицательной пробы в положительную. Г. Отрицательный результат не следует рассматривать как факт, указывающий на отсутствие туберкулёзного процесса.

Д. Проба имеет больше эпидемиологическое, чем диагностическое значение.

Е. Положительная туберкулиновая проба указывает на активный туберкулёзный процесс.

58. Какие токсины менингококка определяют токсические проявления менингококковой инфекции?

А. Нейротоксин. Б. Гемолизин.

В. Лейкоцидин. Г. Цитотоксин. Д. Эндотоксин. Е. Экзотоксин.

59. Укажите лабораторный тест, положительные результаты которого с высокой вероятностью указывают на пневмококковую инфекцию.

А. Наличие в мазках грамположительных кокков, располагающихся цепочками. Б. Чувствительность к бацитрацину.

В. р-Гемолиз на КА.

Г. Рост в присутствии солей жёлчных кислот. Д. Образование жёлтого пигмента. Е. Чувствительность к полимиксину.

60. Какие из перечисленных признаков позволяют дифференцировать энтерококки и стрептококки?

А. Способность к росту в присутствии 6% NaCl. Б. Неприхотливость к питательным средам.

В. Способность гидролизовать эскулин в присутствии 40% солей жёлчных кислот. Г. Образование каталазы.

Д. Образование оксидазы.

Е. Обесцвечивание лакмусового молока.

61. Укажите правильные утверждения относительно свойств дифтерийного токсина.

А. Его образование кодирует ген tox+. Б. Токсин состоит из двух компонентов.

В. Обладает свойствами экзотоксина, синтезирующегося при инфицировании клеток р-фагом. Г. Обуславливает демиелинизацию периферических нервов.

Д. Нарушает биосинтез белка.

Е. Представляет собой термолабильный белок.

Правильные ответы: 54 - В; 55 - Б; 56 - Г; 57 - В; 58 - Д; 59 - А, Б, В; 60 - А, Б, В; 61 - А,

Б, В, Г, Д, Е

62. Какие из перечисленных мероприятий могут предотвратить развитие столбняка?

А. Введение гипериммунного Ig.

Б. Трансплацентарный перенос антитоксических АТ.

В. Иммунизация столбнячным анатоксином.

Г. Применение химиопрепаратов, уничтожающих клостридии. Д. Иммунизация убитой вакциной из убитых бактерий. Е. Хирургическая обработка раны.

63. Укажите морфологические и тинкториальные свойства сальмонелл.

А. Грамотрицательные неподвижные споронеобразующие коккобактерии с капсулами. Б. Грамотрицательные подвижные споронеобразующие палочки без капсул.

В. Грамположительные подвижные капсулированные спорообразующие палочки. Г. Грамположительные споронеобразующие бактерии неправильной формы.

Д. Грамположительные споронеобразующие кокки.

Е. Грамотрицательные подвижные споронеобразующие вибрионы.

64. Укажите факторы, определяющие вирулентность *Bordetella pertussis*.

А. Коклюшный токсин. Б. Микроворсинки.

В. Гистамин-сенсibiliзирующий фактор. Г. Эндотоксин.

Д. Жгутики.

Е. Протеолитические ферменты.

65. Какие из нижеперечисленных бактерий выступают возбудители зоонозов?

А. *Brucella melitensis*. Б. *Bacillus anthracis*.

В. *Francisella tularensis*. Г. *Yersinia pestis*.

Д. *Bacillus subtilis*. Е. *Escherichia coli*.

66. Укажите признаки, характерные для всех патогенных энтеробактерий.

А. Ферментация глюкозы. Б. Наличие О-Аг.

В. Наличие ЛПС.

Г. Ферментация лактозы.

Д. Подвижность.

Е. Образование экзотоксинов.

67. Укажите факторы патогенности холерного вибриона.

А. Нейраминидаза. Б. Эндотоксин.

В. Экзотоксин.

Г. Протеолитические ферменты. Д. Капсула. Е. Жгутики.

68. Какие методы применяют для обнаружения возбудителя сифилиса?

А. Окраска флюоресцеинами. Б. Импрегнация серебром.

В. Темнопольное микроскопирование. Г. Окраска по Граму.

Д. Окраска по Цйлю-Нильсену. Е. Окраска по Романовскому-Гймзе.

69. Какие методы применяют в диагностике лептоспирозов?

А. Микроскопия окрашенных мазков или нативных препаратов. Б. Выделение гемокультуры.

В. Биологическая проба на морских свинках.

Г. Выявление специфических АТ в сыворотке крови. Д. Выявление Аг в сыворотке крови. Е. Окраска по Цйлю-Нильсену.

Правильные ответы: 62 - А, Б, В, Е; 63 - Б; 64 - А, Б, В, Г; 65 - А, Б, В, Г; 66 - А, Б, В, Е; 67

А, Б, В; 68 - А, Б, В; 69 - А, Б, В, Г

70. Какое из перечисленных утверждений наилучшим образом характеризует антигенный дрейф возбудителей гриппа?

А. Антигенные изменения вирусных гемагглютининов незначительны.

Б. Связан с незначительными антигенными изменениями белков вирусного капсида.

В. Основная причина возникновения пандемий.

Г. Результат рекомбинации между вирусами гриппа человека и птиц. Д. Вызывает появление новых антигенных типов вирусов гриппа. Е. Не приводит к возникновению пандемий.

71. Какой фактор обеспечивает контроль над распространением бешенства?

А. Иммунизация людей, начиная с подросткового возраста. Б. Иммунизация людей, начиная с периода новорожденности.

В. Иммунизация диких животных - естественных хозяев вируса. Г. Иммунизация домашних и сельскохозяйственных животных. Д. Уничтожение животных, являющихся природным резервуаром.

Е. Осуществление жестких карантинных мероприятий в очаге инфекции.

72. Для какого из перечисленных заболеваний характерно наличие в клетках телец Бабеша-Негри?

А. Бешенство.

Б. Инфекционный мононуклеоз.

В. Врожденная краснуха.

Г. Подострый склерозирующий панэнцефалит.

Д. Ветряная оспа.

Е. Клещевой энцефалит.

73. Из сыворотки пациентов выделено три различных Аг вируса гепатита В. Укажите, какие Аг будут содержать все образцы.

А. HBsAg. Б. HBeAg.

В. HBcAg.

Г. HBsAg и HBeAg. Д. HBcAg и HBeAg. Е. HBsAg и HBcAg.

74. Укажите, какие структуры образуют геном ВИЧ.

А. Однонитевая -РНК. Б. Двухнитевая -РНК.

В. Линейная ДНК.

Г. Спирализованная ДНК. Д. Сегментированная РНК. Е. Две нити +РНК.

75. Укажите основные пути передачи ВИЧ.

А. Половой.

Б. Трансмиссивный (через препараты крови).

В. Трансмиссивный (через загрязнённые шприцы). Г. Фекально-оральный.

Д. Трансмиссивный (через укусы членистоногих-переносчиков). Е. Воздушно-капельный.

76. Укажите клеточные популяции, наиболее чувствительные к инфицированию ВИЧ.

А. CD4+-лимфоциты (Т-хелперы). Б. Эндотелиоциты.

В. Клетки макрофагально-моноцитарной системы. Г. Гепатоциты.

Д. В-лимфоциты. Е. Нейроны.

77. Какие из указанных лабораторных методов исследования применяют на практике для диагностики вирусных инфекций?

А. Определение титра противовирусных АТ в парных сыворотках. Б. Выделение и идентификация возбудителя в клеточных культурах.

В. Выявление Аг и нуклеиновых кислот возбудителей в клинических образцах. Г. Оценка иммунного статуса больного.

Д. Заражение лабораторных животных.

Е. Гистологическое изучение биоптатов поражённых органов.

Правильные ответы: 70 - А; 71 - В; 72 - А; 73 - А; 74 - Е; 75 - А, Б, В; 76 - А, В; 77 - А, В

78. Для какого грибкового заболевания характерно наличие капсулированных дрожжевых клеток в СМЖ, выявленных в мазках, окрашенных тушью?

А. Гистоплазмоз.

Б. Кокцидиоидомикоз.

В. Кандидоз.

Г. Криптококкоз. Д. Бластомикоз. Е. Аспергиллёз.

79. Какие патогенные грибы вызывают микозы кожи и её придатков?

А. Виды *Trichophyton*. Б. Виды *Microsporum*.

В. Виды *Epidermophyton*. Г. Виды *Candida*.

Д. Виды *Aspergillus*. Е. Виды *Mucor*.

80. Для каких патогенных грибов характерен истинный диморфизм?

А. *Histoplasma capsulatum*. Б. *Candida albicans*.

В. *Coccidioides immitis*.

Г. *Cryptococcus neoformans*. Д. *Aspergillus flavus*. Е. *Microsporum canis*.

81. Каким путём происходит заражение человека *Toxoplasma gondii*?

А. При употреблении в пищу невымытых овощей и фруктов. Б. Трансплацентарно от матери плоду.

В. При употреблении недостаточно термически обработанного мяса. Г. При нарушении режима содержания кошек.

Д. При употреблении сырой воды. Е. Всё вышеперечисленное.

82. Каким путём происходит заражение дизентерийной амёбой?

А. При употреблении пищи, содержащей трофозоиты паразита. Б. При употреблении воды, содержащей трофозоиты паразита.

В. При употреблении воды, содержащей цисты паразита. Г. При купании в водоёмах, в которых обитает паразит.

Д. При нарушении технологии приготовления пищевых продуктов. Е. При употреблении в пищу невымытых овощей и фруктов.

83. Какой микроорганизм выступает возбудителем диссеминированного висцерального лейшманиоза?

А. *Leishmania braziliensis* подвид *braziliensis*. Б. *Leishmania mexicana* подвид *mexicana*.

В. *Leishmania tropica* подвид *tropica*.

Г. *Leishmania donovani* подвид *donovani*. Д. *Leishmania donovani* подвид *infantum*. Е. *Leishmania aethiopica*.

84. Какие функции выполняют запасные гранулы у бактерий?

А. Депо метаболитов. Б. Депо воды.

В. Депо питательных веществ. Г. Депо ферментов.

Д. Депо экзотоксинов.

Е. Образованы плазмидами.

85. Какое количество грамотрицательных палочек в моче считают показателем бактериурии?

А. 10^3 /мл. Б. 10^4 /мл.

В. 10^5 /мл. Г. 10^6 /мл. Д. 10^7 /мл. Е. 10^8 /мл.

Правильные ответы: 78 - Г; 79 - А, Б, В, Г; 80 - Г; 81 - А, Б, В, Г; 82 - В; 83 - В, Г; 84 - А, В, Д; 85 - В, Г, Д, Е

86. В чём заключается основное преимущество активной иммунизации перед пассивной?

А. Снижает риск развития аллергических реакций.

Б. Обеспечивает эффективную невосприимчивость ко многим организмам.

В. Обеспечивает более длительную невосприимчивость и более эффективна для профилактики здоровых лиц.

Г. Обеспечивает развитие более специфичных иммунных реакций.

Д. Обеспечивает высокоспецифичную кратковременную невосприимчивость.

Е. Повышает риск развития аллергических реакций.

87. Укажите основные признаки конституциональных факторов защиты.

А. Включают гуморальные и клеточные компоненты. Б. Проявляют неспецифический защитный эффект.

В. Специфически подавляют жизнедеятельность возбудителя.

Г. Активацию факторов индуцирует проникновение патогенных микроорганизмов.

Д. Постоянно пребывают в «активированном» состоянии.

Е. Образованы комплексом специализированных клеток и тканей.

88. Что означает термин «инфекционный иммунитет» («инфекционная невосприимчивость»)?

А. Невосприимчивость к инфекционным агентам вообще.

Б. Иммунитет, приобретённый в результате введения готовых АТ против какого-либо возбудителя.

В. Иммунитет, приобретённый в результате введения Аг какого-либо возбудителя.

Г. Иммунитет к повторному заражению, обусловленный наличием этого же возбудителя в организме. Д. Иммунитет, развившийся в результате передаче АТ к инфекционным агентам от матери плоду. Е. Иммунитет, развившийся в результате выздоровления после инфекционной болезни.

89. Какие факторы обеспечивают рост бактерий в тканях организма человека?

А. Выработка антифагоцитарных факторов. Б. Адгезия к эпителиальным клеткам.

В. Конкуренция с клетками различных органов и тканей за источники питания. Г. Инактивация лизосомальных ферментов.

Д. Длительная циркуляция в кровотоке. Е. Образование эндотоксинов.

90. Какие методы используют для серодиагностики ВИЧ-инфекции?

А. Радиоиммунный метод.

Б. Иммуноферментный метод.

В. ПЦР.

Г. Встречный иммуноэлектрофорез.

Д. РТГА.

Е. Реакция латекс-агглютинации.

91. Какие инфекции, вызываемые нижеперечисленными бактериями, можно предупредить иммунизацией вакцинами из капсульных Аг?

А. *Streptococcus pneumoniae*. Б. *Neisseria meningitidis*.

В. *Haemophilus influenzae*. Г. *Bacillus anthracis*.

Д. *Klebsiella pneumoniae*. Е. *Neisseria gonorrhoeae*.

92. Какие тесты наиболее специфичны для серодиагностики сифилиса?

А. Реакция Вассерманна. Б. VDRL-реакция.

В. Тест на реакины плазмы.

Г. Реакция иммобилизации бледной спирохеты. Д. РИФ с адсорбированной сывороткой. Е. Реакция Видаля.

93. Укажите основные критерии, используемые для диагностики гарднереллёза.

А. Наличие «ключевых» клеток.

Б. Образование аномальных аминов.

В. Повышенное содержание лейкоцитов в отделяемом. Г. Изменение рН отделяемого.

Д. Снижение содержания лактобацилл в составе микробных сообществ. Е. Увеличение общего содержания бактерий в отделяемом.

Правильные ответы: 86 - В; 87 - А, Б, Д; 88 - Г; 89 - А, Б, В; 90 - Б, В; 91 - А, Б, В; 92 - Г,

Д; 93 - А, Б, Г, Д

94. Какой метод считают наиболее оптимальным при диагностике бактериемий?

А. Окраска мазков по Граму.

Б. Посев на плотные среды с кровью.

В. Биологическая проба.

Г. Посев на жидкие питательные среды.

Д. Серологические реакции.

Е. Окраска мазков по Романовскому-Гимзе.

95. Как называют инфекции, вызванные проведением медицинских процедур?

А. Нозокомиальные.

Б. Оппортунистические.

В. Антропонозы. Г. Суперинфекции.

Д. Ятрогенные инфекции. Е. Хирургические инфекции.

96. Укажите эндогенные источники возбудителей хирургических раневых инфекций.

А. Мочеполовая система. Б. ЖКТ.

В. Воздухоносные пути. Г. Кожные покровы.

Д. Полость рта.

Е. ЦНС.

97. Укажите основные механизмы угнетения факторов резистентности организма при проведении общей анестезии.

А. Образование трещин и чрезмерная сухость кожных покровов. Б. Снижение секреторной активности слизистых оболочек.

В. Торможение миграции нейтрофилов.

Г. Угнетение активности реснитчатых клеток воздухоносных путей. Д. Подавление фагоцитарных реакций. Е. Иммунодепрессия.

98. В какой из перечисленных биологических форм обычно пребывает *Trichomonas vaginalis* в организме человека?

А. Циста с 4 ядрами. Б. Циста с 8 ядрами.

В. Одноядерная циста. Г. Мерозоит.

Д. Трофозоит. Е. Амастигота.

99. Укажите основные культуральные особенности бактерий рода *Haemophilus*.

А. Требуют присутствия ростовых факторов в среде. Б. Требуют внесения сыворотки в среду.

В. Нуждаются во внесении в среду угля или прочих адсорбентов метаболитов. Г. Требуют создания анаэробных условий для культивирования.

Д. Нуждаются в принудительной аэрации.

Е. Не растут на искусственных питательных средах.

100. Какое утверждение относительно ретровирусов верно?

А. Имеют диплоидный геном.

Б. Содержат РНК-зависимую ДНК-полимеразу.

В. Для адекватной репликации вирусный геном встраивается в геном клетки-хозяина. Г. Геном образован -РНК.

Д. Репродукция происходит в ядре заражённой клетки. Е. Геном образован двумя нитями ДНК неравной длины.

Правильные ответы: 94 - Г; 95 - Д; 96 - А, Б, В, Д; 97 - Б, Г; 98 - Д; 99 - А; 100 - А, Б

ОТВЕТЫ И ПОЯСНЕНИЯ

1. Правильный ответ - Б. Взаимовыгодным для микроорганизмов способом сосуществования считают мутуализм. Для комменсализма характерно извлечение большей выгоды одним из членов сообщества без нанесения видимого ущерба другому. Термин «эндосимбиоз» подразумевает пребывание одного из членов сообщества внутри другого, а термин «эктосимбиоз» - вне его. Понятие «антагонистический симбиоз» подразумевает извлечение выгоды одним из членов сообщества с нанесением видимого ущерба другому; его крайнее проявление - паразитизм.

2. Правильный ответ - Е. Ни одно из указанных определений не характерно для смешанных инфекций. Инфекции, возникающие на фоне существующих заболеваний, называют вторичными. Заболевания, вновь развившиеся из очагов, подвергшихся неадекватному лечению, называют рецидивами первичного процесса. В некоторых случаях смешанных инфекций отмечают синергичные взаимоотношения между возбудителями (например, вирусами гриппа и стрептококками), а в других - антагонизм (например, между кишечной палочкой и стафилококками). В большинстве случаев смешанных инфекций продолжительность инкубационного периода (по сравнению с поражениями, вызываемыми отдельными возбудителями) не изменяется или несколько укорачивается. Смешанными называют инфекции, вызванные одновременным заражением несколькими микроорганизмами.

3. Правильный ответ - В. Клеточная стенка бактерий - уникальная ригидная структура, образованная пептидогликановым комплексом (содержит D-изомеры аминокислот). Клеточная стенка обуславливает форму клетки, имеет поры, через которые осуществляется транспорт различных веществ, также она обеспечивает осмотическую резистентность бактериальной клетки. Растворение клеточной стенки лизоцимом обычно приводит к лизису бактерии, исключая ситуации, при которых окружающая среда изотонична для клеточного содержимого. Напротив, разрушение бактериального содержимого без нарушения целостности клеточной стенки оставляет изолированные «клеточные тени» с морфологией и размерами оригинальных микроорганизмов: например, кокки сохраняют сферическую форму, а бациллы - палочковидную, что обусловлено ригидностью комплекса пептидогликана. К действию лизоцима более чувствительны клеточные стенки грамположительных бактерий.

4. Правильный ответ - А, В. Многие бактерии имеют поверхностные макромолекулы, важные для прикрепления бактерий к субстратам; большинство из поверхностно-адгезивных макромолекул ассоциировано с капсулами и микроворсинками. Адгезия бактерий на клеточной поверхности особенно важна для колонизации полостей организма человека бактериями, входящими в состав нормальной микрофлоры, а также для инвазии патогенных организмов. Жгутики облегчают проникновение бактерий внутрь клеток, например эпителия кишечника. Мезосомы - особые инвагинаты ЦПМ, образующие перегородки между делящимися клетками; к ним обычно прикрепляется бактериальная хромосома. Пермеазы - особая группа ферментов, облегчающих транспорт веществ через клеточную стенку и ЦПМ.

5. Правильный ответ - Г, Д, Е. Для обычной бактериальной клетки обязательными морфологическими структурами являются клеточная стенка и ЦПМ и генофор. При нарушении их структуры или целостности бактерия погибает. Без ЦПМ жизнь бактерии невозможна, тогда как известны бактерии без клеточной стенки - L-формы и микоплазмы, но они представляют собой специализированную группу прокариотических клеток.

6. Правильный ответ - Б, В, Г. L-формы - бактерии, лишённые клеточной стенки; подобное преобразование может быть обратимым (например, у хламидий) или необратимым (например, у трепонем). Морфологическими структурами, присутствие которых обязательно для существования L-форм, выступают ЦПМ, цитоплазма и нуклеоид. Волутиновые зёрна - запасные гранулы, содержащие пирофосфаты; их наличие необязательно для существования L-форм.

7. Правильный ответ - А, Б, Д. Клеточную стенку грамотрицательных бактерий образуют пептидог-ликаны, липопротеины и ЛПС. Некоторые представители могут содержать и другие компоненты (например, различные белки), образующие наружную мембрану. Наличие тейхоевых кислот и белка А характерно для грамположительных бактерий, в первую очередь, для стафилококков. Флагеллин входит в состав жгутиков и отсутствует в клеточной стенке.

8. Правильный ответ - А, Б, В. Основные Аг бактерий расположены в жгутиках (Н-Аг), капсуле (К-Аг) и клеточной стенке (О-Аг). Нуклеоид (хромосома) проявляет слабую способность индуцировать иммунные реакции, а ЦПМ и лизосомы не обладают иммуногенными свойствами.

9. Правильный ответ - А. Способность воспринимать красители, то есть тинкториальные свойства бактерий, определяют структура и состав элементов клеточной стенки. В основу одного из основных

принципов дифференциации бактерий положена способность воспринимать и удерживать клеточной стенкой красящий комплекс генцианового фиолетового с йодом либо терять его после обработки спиртом (окраска по Граму). Соответственно выделяют грамположительные (окрашиваются в фиолетово-пурпурный цвет) и грамотрицательные (красного цвета после дополнительного окрашивания фуксином или сафранином) бактерии.

10. Правильный ответ - Б, Д. В обычной бактериальной клетке наследственная информация заключена в генофоре (хромосоме), образованном замкнутой (кольцевой) молекулой ДНК. Последняя не организована в морфологически выраженную структуру (типа ядра у эукариотических клеток) и не имеет оболочки, обособляющей её от цитоплазмы. Некоторые бактериальные клетки могут содержать плазмиды - молекулы ДНК, располагающиеся вне генофора либо включающиеся в бактериальную хромосому (интегрированные плазмиды, эписомы). Их наличие придаёт бактериям новые биологические свойства, отличающие их от основных популяций (например, устойчивость к ЛС).

11. Правильный ответ - А, Б. При мутациях бактерий возможны генотипические и фенотипические виды изменчивости. Рекомбинационные изменения возможны при обмене генетической информацией, чего не наблюдают при делении бактерий. Модификации у бактерий происходят довольно часто, они контролируются генофором бактерий, но, в отличие от мутаций, не сопровождаются изменениями первичной структуры макромолекул и быстро утрачиваются. Дегенерирующие мутации возможны, но они быстро приводят к гибели бактериальной клетки.

12. Правильный ответ - В, Д. О-Аг представлены ЛПС и выражены наиболее сильно у грамотрицательных бактерий. ЛПС состоит из липидной части (липид А), насыщенной полисахаридами сердцевины и боковых полисахаридных цепей. Наиболее выраженные иммуногенные свойства проявляет полисахаридная часть, обуславливающая специфичность О-Аг. Липидная часть обеспечивает термостабильность О-Аг и отвечает за биологические эффекты бактериальных ЛПС. О-Аг - полные Аг и, в отличие от гаптенов, иммуногенны.

13. Правильный ответ - Б, Г, Д. Плазмиды - сравнительно небольшие молекулы ДНК, выполняющие регуляторные и кодирующие функции. Первые компенсируют метаболические дефекты, вторые вносят в бактерию информацию о новых признаках. Выделяют плазмиды, находящиеся в виде отдельной замкнутой молекулы ДНК, и плазмиды, встроенные в хромосому бактерии (интегрированные плазмиды, или эписомы). Плазмиды часто детерминируют способность продуцировать экзотоксины или бактериоцины либо резистентность к антибактериальным агентам. Удвоение ДНК некоторых плазмид индуцирует деление бактерий, то есть увеличивает их «плодовитость» (F-плазмиды).

14. Правильный ответ - Е. Сбалансированный и оптимальный бактериальный рост требует среды, обеспечивающей специальное питание и соответствующие газовые условия. Бактерии

значительно варьируют по своим потребностям в кислороде и двуокиси углерода. Например, богатая кислородом среда часто хороша для роста аэробных бактерий, но может ингибировать рост анаэробных организмов. Соответствующие неорганические элементы настолько же важны для роста бактерий, как и источник углерода или азота, которыми обычно служат органические соединения.

15. Правильный ответ - А. Адсорбция вирусов на клетке включает молекулярное «узнавание» поверхностных рецепторных структур; процесс не требует затрат энергии. Все следующие стадии вирусной репликации, начиная с пенетрации клеточной мембраны, обусловлены ферментативными или энергозависимыми процессами, и поэтому температурозависимы.

16. Правильный ответ - А. Фенотипическое смешивание является результатом смешивания белков капсидов близкородственных вирусов (например, полио- и коксакивирусов). Замена белков приводит к незначительным структурным эффектам. Фенотипическое смешивание требует замены идентичных структурных субъединиц (капсомеров) и ограничено только близкородственными вирусами с «голым» капсидом.

17. Правильные ответы - А, Б, В. Нуклеокапсиды вирус могут быть организованы по типу кубической (например, у аденовирусов), спиральной (например, у рабдовирусов) и смешанной (например, у Т-бактериофагов) симметрии.

18. Правильный ответ - Г, Е. ИФН не проявляют прямого противовирусного эффекта, но индуцируют «антивирусное состояние» клеток. Поэтому ИФН характеризует типовая, а не противовирусная специфичность. Выделено три типа ИФН - а, р и у, синтезируемых соответственно лейкоцитами, фибробластами и стимулированными лимфоцитами.

19. Правильный ответ - Г, Д. Персистирующая инфекция обусловлена стабильным взаимодействием между вирусом и клеткой, то есть в клетке проходят нормальные обменные и синтетические процессы (образование РНК, ДНК и белков) и поддерживается репродукция возбудителя. Заражённые клетки делятся, образуя инфицированный клон; таким образом, увеличение количества заражённых клеток обуславливает рост численности общей популяции возбудителя в организме. Наиболее часто персистирующие инфекции вызывают вирусы, высвобождающиеся почкованием, дефектные вирусы, реплицирующиеся только в присутствии инфекционного «вируса-помощника», а также вирусы, заражающие клетки без экспрессии молекул I класса МНС. Высоковирулентные возбудители и вирусы, изменяющие метаболизм клетки, обычно вызывают её лизис и развитие продуктивной инфекции (если их циркуляция не ограничена нейтрализующими АТ и ИФН). Вирусы, размножающиеся в нечувствительных клетках, обычно вызывают abortивные инфекции. Интерферирующие вирусы обычно обуславливают литические инфекции.

20. Правильный ответ - А, В, Д. Несмотря на то что вирус может содержать нуклеиновую кислоту любой конфигурации, геном никогда не включает более одного типа нуклеиновых кислот (то есть ДНК или РНК, но не их гибриды). РНК или ДНК могут быть одноили двухцепочечными. РНК может быть сегментированной, но ни один известный вирус не содержит сегментированной ДНК.

21. Правильный ответ - А, Б, В, Е. Наличие вируса в культуре клеток можно обнаружить по структурным изменениям клеток (например, по цитопатическому эффекту), по агглютинации эритроцитов вирусами, присутствующими в культуральной жидкости клеточных монослоев. Также можно идентифицировать вирусные белки в монослоях инфицированных клеток либо обнаружить вирионы электронной микроскопией. Несмотря на то что во время вирусной инфекции возникает множество изменений питательных потребностей инфицированных клеток, которые можно зарегистрировать, ни одно из них нельзя считать универсальным её проявлением.

22. Правильный ответ - А, В. Наиболее часто эпидемические вспышки вызывают вирусы, передающиеся воздушно-капельным (например, вирус гриппа, РС-вирус) и фекально-оральным (например, пикор-на- и реовирусы) путями. Ятрогенная передача характерна для относительно ограниченной группы возбудителей (вирус гепатита В, ЦМВ и ВИЧ), хотя следует помнить о возможности заноса в организм при проведении инвазивных медицинских манипуляций и других вирусов. Заражение через микротравмы кожи наблюдают редко, исключая возбудителей, передающихся половым путём. Трансмиссивным путём (например, через укус членистоногого переносчика либо с загрязнёнными инъекционными иглами) обычно передаются возбудители природно-очаговых инфекций и некоторых вирусных гепатитов. Однако они редко вызывают эпидемические вспышки. Половым путём также передаётся ограниченное количество вирусов - ВИЧ, вирусы гепатита В и С; несмотря на высокую заболеваемость эти вирусы обычно не дают истинных эпидемических вспышек.

23. Правильный ответ - В, Г. Основные факторы, обеспечивающие невосприимчивость популяции в целом, - проведение активной иммунопрофилактики вирусных инфекций и формирование иммунной прослойки. Следует помнить, что для её организации не обязательно добиваться 100-процентной вакцинации населения; как правило, наличие 60-70% иммунных лиц в популяции прерывает естественные пути передачи возбудителя. Принимая во внимание способность возбудителей многих инфекций к изменению антигенных и некоторых биологических свойств, можно полагать, что формирование активного иммунитета после выздоровления не обеспечит значительной невосприимчивости популяции. Процент лиц, обладающих врождённой внутривидовой невосприимчивостью, в популяции крайне низок и не оказывает никакого влияния на развитие эпидемического процесса.

24. Правильный ответ - Б, В, Г, Д. К нормальной микрофлоре относят микроорганизмы, более или менее часто выделяемые из организма здорового человека; бактерии, входящие в её состав, могут быть представлены как сапрофитами, так и патогенами, например менингококками или пневмококками, выделяемыми из носоглотки 10% клинически здоровых лиц. Доминирующие микроорганизмы нельзя считать членами нормальной микрофлоры, так как их обнаружение часто связано с массивным инфицированием либо избыточной колонизацией. Как правило, вирулентность патогенных членов микробных ценозов остаётся достаточно высокой.

25. Правильный ответ - Б, В, Г, Д. Микроорганизмы не колонизируют полностью организм, существуют заведомо стерильные области. Заселение различных органов носит специфический характер: например, для ЖКТ и воздухоносных путей оно носит выраженный «этажный» характер - в верхних отделах ЖКТ микробные сообщества скудные, а дистальные отделы лёгких обычно стерильны. В целом микробные ценозы в отдельных органах представлены одинаковыми видами, но их количественные соотношения индивидуальны для каждого человека. Состав микробных сообществ не является абсолютно стабильным и изменяется в ходе жизни человека.

26. Правильный ответ - А. В ЖКТ здорового взрослого человека доминируют бактерии рода *Bacteroides*, составляющие (совместно с анаэробными бифидобактериями) 90% всех бактерий толстой кишки. Стрептококки, лактобациллы и энтеробактеры присутствуют в меньших количествах, но их выделяют у большей части лиц. Виды *Clostridium*, включая патогенные виды (например, *C. tetani*), могут встречаться в кишечнике ограниченного контингента в небольшом количестве.

27. Правильный ответ - А, Б, В, Г. Отсутствие чёткого разграничения между условным патогеном и комменсалом даёт основание полагать, что неограниченная колонизация организма любым видом бактерий, способным выживать в организме человека, может приводить к развитию патологии. Это положение также относительно, так как различные члены микробных ценозов проявляют патогенные свойства разного порядка: определённые бактерии чаще вызывают поражения, чем другие. Ведущую роль в развитии подобных поражений играет не столько

вирулентность возбудителя, сколько состояние защитных систем. Термофильные бактерии не способны колонизировать организм человека.

28. Правильный ответ - В, Е. Гаптены - небольшие молекулы, имеющие ограниченное число Аг-детерминант. Они не способны стимулировать иммунный ответ (то есть гаптены лишены иммуногенности), если только они не связаны с большей молекулой-носителем. Гаптены способны взаимодействовать с АТ, находясь либо в свободном состоянии, либо в связи с носителем.

29. Правильный ответ - В. Селективные (элективные) среды применяют для первичного посева материала или для пересева с консервирующих сред или сред обогащения. Среды готовят с учётом биохимических и энергетических потребностей микроорганизмов. Для предупреждения отмирания патогенных бактерий и подавления роста сапрофитов используют консервирующие среды. Для накопления определённой группы бактерий применяют среды обогащения, а изучение и идентификацию отдельных типов, видов и групп бактерий проводят на дифференциально-диагностических средах.

30. Правильный ответ - А, В. Большинство простых серологических реакций включает два компонента, но к ним также относят косвенные (трёхкомпонентные) реакции, в состав которых входят реагирующие системы (животные, эритроциты и т.д.), например РН. Большинство этих реакций одноэтапно и включает только один тип реакционных взаимодействий. Серологические реакции не отражают непосредственного взаимодействия Аг с АТ, а делают визуально определяемыми вторичные проявления - агглютинацию, преципитацию и т.д. Серологические реакции могут протекать не только в жидкой, но и в полужидкой среде, например в геле. Несмотря на то что 37 °С составляют температурный оптимум, многие реакции протекают и при более низких температурах.

31. Правильный ответ - В. Полусинтетические пенициллины получают путём модифицирования 6-аминопенициллановой кислоты. р-Лактамное кольцо - компонент пенициллановой кислоты. Феноксиметилпенициллин - биосинтетический пенициллин для перорального применения. Оксациллин - полусинтетический пенициллин. Этамбутол и ПАСК - препараты, применяемые в химиотерапии туберкулёза.

32. Правильный ответ - А, В, Е. IgA синтезируют плазматические клетки в виде молекул-мономеров. Эпителиальные клетки выделяют их из кровотока и с помощью особого секреторного компонента формируют молекулы-димеры. В такой форме IgA выделяется на поверхность слизистых оболочек пищеварительного тракта, воздухоносных путей, где взаимодействует с Аг. Молекула входит в состав секрета молочных, слёзных, слюнных желёз. Из всех классов Ig только IgG проникает через плацентарный барьер. Теоретически мономер IgA (сывороточная форма) способен проникать через плаценту, но его концентрация в сыворотке обычно крайне низка. Поскольку концентрации АТ в сыворотке крови невысока, он практически не участвует в цитотоксических реакциях.

33. Правильный ответ - А, В. В-лимфоциты ответственны за развитие гуморальных иммунных реакций. Из красного костного мозга В-лимфоциты мигрируют в тимуснезависимые зоны лимфоидных органов. Продолжительность жизни большинства В-лимфоцитов не превышает 10 дней, если они не стимулированы Аг. При антигенной стимуляции Т-хелперы секретируют ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5 и у-ИФН, ИЛ стимулируют пролиферацию и дифференцирование В-лимфоцитов, а у-ИФН подавляет синтез АТ, но стимулирует реакции клеточного иммунитета. В активированном В-лимфоците увеличивается количество рибосом, элементов гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гбльджи, что приводит к дифференцированию в плазматическую клетку. Плазматические клетки синтезируют Ig. Секретию Ig стимулирует ИЛ-6, выделяемый активированными Т-хелперами. Часть зрелых В-лимфоцитов после антигензависимой дифференцировки циркулирует в организме (клетки памяти) в течение многих месяцев. В-лимфоциты

памяти (долгоживущие В-лимфоциты) при повторном попадании Аг пролиферируют и дифференцируются в синтезирующие Ig плазматические клетки. К лизису инфицированных, чужеродных и опухолевых клеток В-клетки памяти не способны.

34. Правильный ответ - А, Б, В. В клеточном иммунном ответе участвует Т-киллер (ЦТЛ), реагирующий с Аг в комплексе с гликопротеинами МНС I класса на поверхности чужеродных клеток или эндогенными иммуногенами в комплексе с молекулой МНС I класса на поверхности собственных инфицированных вирусом и опухолевых клеток. Предъявленный на поверхности клетки-мишени Аг в комплексе с молекулой МНС I класса связывается с рецептором ЦТЛ. ЦТЛ распознаёт клетку-мишень и прикрепляется к ней. В цитоплазме активированного ЦТЛ присутствуют мелкие гранулы, содержащие цитолитический белок перфорин. Выделяемые Т-киллером молекулы перфорины полимеризуются в мембране клетки-мишени в присутствии Ca^{2+} . Сформированные в плазматической мембране клетки-мишени перфориновые поры пропускают воду и соли, но не молекулы белка. Специфическое действие Т-киллера проявляется только как результат тесного контакта между ним и клеткой-мишенью. Контакт возможен за счёт взаимодействия Аг на поверхности жертвы с рецепторами Т-киллера. Опсонизация (связывание Ig с бактериями) или фиксирование компонентов комплемента на поверхности трансформированных клеток стимулирует фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов, но не имеет отношения к Т-клеточной цитотоксичности.

35. Правильный ответ - А, Б, В. Материал для бактериологических исследований следует отбирать до начала антимикробной терапии или в первые сутки после её назначения. Отбирают образцы только из очагов поражения в количестве, достаточном для проведения полного объёма исследований. Из очага поражения материал забирают без травматизации прилежащих тканей. Полученный материал немедленно направляют в бактериологическую лабораторию. Некоторые материалы (например, сыворотку) можно замораживать, но не кровь или СМЖ.

36. Правильный ответ - Б, Г, Е. В бактериологической практике нативные препараты готовят для темнопольной, фазово-контрастной и поляризационной микроскопии. Микроскопию неокрашенных препаратов используют для диагностики сифилиса, кампилобактериозов, а также для определения подвижности микроорганизмов. Для обычной световой микроскопии подобные препараты особой ценности не представляют, так как в них можно обнаружить лишь некоторые патогены (например, грибы). Для люминесцентной микроскопии препараты необходимо инкубировать совместно с АТ, мечеными флюоресцеином, а для электронной - обязательно фиксировать.

37. Правильный ответ - А, Б, В, Е. Для выделения неприхотливых бактерий наиболее часто применяют мясо-пептонный и кровяной агары, среды Эндо и Плбскирева. Среду Борде-Жангу применяют для первичного выделения прихотливого возбудителя коклюша, а КУА - для выделения легионелл.

38. Правильный ответ - А, Б, В. Основными методами идентификации патогенных бактерий считают изучение морфологических и тинкториальных свойств возбудителя, определение его биохимической активности и серологическое типирование Аг. Изучение культуральных свойств не является дифференцирующим признаком, так как многие бактерии проявляют аналогичные свойства. Выявление Аг возбудителя более пригодно для диагностики самого заболевания, так как Аг могут некоторое время сохраняться в организме и после удаления возбудителя. Биологическая проба позволяет установить патогенность того или иного микроорганизма, но многие патогены могут вызывать сходные поражения, не позволяющие дифференцировать тот или иной возбудитель.

39. Правильный ответ - А, В, Д. Для стерилизации различных материалов разработаны многочисленные приёмы. Для обеззараживания жидкостей наиболее приемлемо автоклавирование - стерилизация паром под давлением (121 °С при 1,2-1,5 атм) в течение 15 мин. Также приемлемы

некоторые виды излучения, например ионизирующее, используемое для стерилизации пищевых продуктов. Фильтрация через фильтры с диаметром пор 0,2 мкм элиминирует бактерии, но не вирусы. При пастеризации погибает большинство патогенных бактерий, но споры выживают. Обработка антисептиками уничтожает многие вирусы и вегетативные формы бактерий, но не их споры. Прокаливание обеспечивает полное удаление всех микроорганизмов и их форм с термостабильных объектов.

40. Правильный ответ - Е. Часто резистентность микроорганизмов к химиопрепаратам определяют генетические факторы. Плазмиды несут гены, кодирующие резистентность к многим лекарствам, передающиеся от бактерии к бактерии и встречающиеся у множества видов. В некоторых случаях возможна их межродовая передача. Резистентность также может быть связана с мутациями генов, кодирующих функциональные свойства и структуру рецепторов (лигандов), с которыми взаимодействует препарат. К аналогичным эффектам приводит и снижение количества подобных рецепторов. Применение антимикробных агентов само по себе не вызывает генетических нарушений, но способствует селекции естественно резистентных штаммов микроорганизмов. Спонтанные мутации очень редко выступают причиной появления устойчивости к ЛС. Многие бактерии, особенно имеющие периплазматическую щель, способны модулировать поступление внутрь различных веществ, в том числе и лекарственных препаратов.

41. Правильный ответ - А, Б, В, Г. Основным дифференцирующим признаком золотистого стафилококка выступают способность ферментировать маннит в анаэробных условиях. Способность коагулировать плазму или лизировать эритроциты переменны у различных штаммов *S. aureus*. Все стафилококки каталаза-положительны; р-лактамазы продуцируют многие, но не все штаммы золотистого стафилококка. Образование пигмента также не считают стабильным признаком.

42. Правильный ответ - Д. Бактерии родов *Clostridium* и *Bacillus* представлены грамположительными-ми спорообразующими палочками и включают возбудителей различных заболеваний человека. Способность образовывать эндоспоры часто служит основанием для предварительного диагноза заболевания. Зрелые споры *Clostridium tetani* превышают размеры вегетативной клетки и располагаются терминально, придавая клетке форму «барабанной палочки» или «теннисной ракетки». Расположение эндоспор *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *Clostridium perfringens* и *C. botulinum* варьирует от центрального до субтерминального (реже терминального), поэтому их локализация не может служить дифференциально-диагностическим признаком.

43. Правильный ответ - Б, Е. Тетаноспазмин - основной токсин *Clostridium tetani* - может быть выделен из культуры, находящейся в логарифмической фазе роста. В зрелых клетках, находящихся в фазе покоя, образование токсина резко снижается, что обусловлено замедлением метаболических процессов. Синтез токсина тесно связан с процессом образования спор.

44. Правильный ответ - Г. Ботулизм - пищевая токсикоинфекция, опосредованная действием экзотоксина, проявляющего нейротоксический эффект. Возбудитель заболевания - грамположительная палочка, у которой отсутствует эндотоксин. Поскольку экзотоксин действует дистанционно после его адсорбции слизистой оболочкой кишечника, то капсула, жгутики, ферменты и факторы адгезии не играют никакой роли в патогенезе заболевания.

45. Правильные ответы - В, Г, Д, Е. Возбудителями газовой анаэробной инфекции выступают *C. perfringens*, *C. histolyticum*, *C. septicum* и *C. sordelli*. *Clostridium difficile* входит в состав микрофлоры кишечника здорового человека. Применение антибиотиков широкого спектра уничтожает или подавляет рост большинства микробов-комменсалов, что создаёт условия для чрезмерного роста *C. difficile*, устойчивых к подобным препаратам. Бактерии образуют токсины двух типов, оказывающих токсическое действие на эпителий кишечника, и вызывают развитие

псевдомембранозного колита. Развития поражений можно избежать назначением курса ванкомицина. Экзотоксин *C. tetani* вызывает столбняк.

46. Правильный ответ - Г. Наличие «серных гранул» (телец Бллингера), образованных агрегатами мицелия в экссудате или гнойном отделяемом, характерно для инфекций, вызванных *Actinomyces israelii*. Их обнаружение считают наиболее распространённым методом их лабораторной диагностики. При подкожных нокардиозах, вызванных *Nocardia asteroides*, возможно образование микроколоний в виде беловато-оранжевых гранул, легко обнаруживаемых в отделяемом из очагов поражений. Однако подобные поражения характерны для тропиков, их практически не наблюдают в странах с умеренным климатом. Прочие указанные бактерии подобными свойствами не обладают.

47. Правильный ответ - Г. Среди факторов вирулентности ведущую роль играют пили и микроворсинки *Neisseria gonorrhoeae*, обуславливающие адгезию гонококков к рецепторам эпителиальных клеток, что является пусковым механизмом инфекционного процесса, так как в противном случае эпителий относительно легко освобождается от гонококков механически и с помощью иммунных механизмов. Бактерии, лишённые пилей и микроворсинок, легко поглощаются фагоцитами и погибают. Роль подобных структур подтверждает тот факт, что штаммы *N. gonorrhoeae*, не имеющие их, но сохраняющие другие факторы патогенности (например, ферменты наружной поверхности мембраны, капсулу, способность выживать внутри клеток, устойчивость к бактерицидным факторам сыворотки), авирулентны. Токсические вещества, выделяемые бактериями, не играют существенной роли в колонизации эпителия мочеиспускательного канала.

48. Правильный ответ - Б. Способность *Neisseria meningitidis* вызывать менингококковую инфекцию прежде всего определяют антифагоцитарные свойства полисахаридов капсулы бактерии. ЛПС эндотоксина *N. meningitidis* вызывают ряд клинических симптомов (например, сыпь и петехиальные кровоизлияния). Белки наружной мембраны используют как детерминанты сероваров серогрупп В и С менингококков. Менингококки относят к внеклеточным патогенам, они быстро погибают при фагоцитозе. Ворсинки рассматривают как основной фактор инфекционности *N. gonorrhoeae*. Экзотоксинов менингококк не образует.

49. Правильный ответ - Г. Вакцина БЦЖ представляет собой аттенуированный штамм *Mycobacterium bovis* с ослабленными вирулентными свойствами. Впервые штамм был получен Кальметтом и Гереном, в настоящее время бактерии известны также как бациллы Кальметта-Герена (БЦЖ).

50. Правильный ответ - Б, В, Г, Д. Основным фактором патогенности синегнойной палочки выступает экзотоксин, блокирующий синтез белка в эукариотических клетках. Определённый вклад в патогенез поражений вносят протеолитические ферменты, эндотоксин, а также подвижность. Синегнойная палочка не имеет капсулы, но вирулентные штаммы образуют слизь, покрывающую тела бактерий и защищающий их от неблагоприятных воздействий. Несмотря на наличие большого набора факторов вирулентности синегнойную палочку следует рассматривать как оппортунистический патоген, так как инфекции редко наблюдают у лиц с нормальной резистентностью и неповреждёнными анатомическими барьерами.

51. Правильный ответ - А, Г. Рост *Vibrio cholerae* биовар *asiaticae* ингибирует полимиксин (50 мкг/мл), что используют для его внутривидовой дифференцировки (полимиксиновая проба). При типировании бактериофагами возбудитель классической холеры проявляет высокую чувствительность к бактериофагу IV группы Мукерджи. Гемолитические свойства для вибриона нехарактерны, что отличает его от *Vibrio cholerae* биовар *eltor*. Возбудители классической холеры и холеры Эль-Тор агглютинирует O1-антисыворотка, представители обоих биоваров образуют экзо- и эндотоксины.

52. Правильный ответ - Г. Мягкий шанкр (шанкроид) - венерическое заболевание, вызываемое грамотрицательной бактерией *Haemophilus ducreyi*. Основное поражение - шанкр (мягкий, болезненный, окружённый заметным отёком). *Haemophilus influenzae* биовар *aegyptius* - возбудитель конъюнктивита, обычно определяемого как синдром «розовых глаз». *Gardnerella vaginalis* вызывает неспецифические поражения мочеполовых путей. *Yersinia pseudotuberculosis* вызывает зоонозы, способные передаваться людям при контакте с заражённым материалом. *Treponema pallidum* является возбудителем сифилиса. *Chlamidia trachomatis* вызывает трахому, хламидийный уретрит и венерическую гранулёму.

54. Правильный ответ - В. Лептоспирозы человека вызывают различные серовары *Leptospira interrogans*; наиболее часто человек заболевает после контакта с объектами (наиболее часто почвой или водой), контаминированными мочой больных животных либо бессимптомных носителей (грызуны, кошки, мыши, собаки, свиньи и др.). Вероятность переноса возбудителя кровососущими членистоногими теоретически возможна и доказана экспериментально, но подтверждающие факты в медицинской практике отсутствуют. Вероятность заражения через пищевые продукты, загрязнённые мочой животных, невелика, так как лептоспиры достаточно быстро погибают в кислой среде желудка. Через укусы больного животного возбудитель не передаётся.

55. Правильный ответ - Б. Возбудитель лаймборрелиоза - *Borrelia burgdorferi*; *B. recurrentis* вызывает эпидемический (вшивый) возвратный тиф, а *B. caucasica*, *B. persica*, *B. latyschewii* и *B. hispanica* - эндемичные клещевые возвратные тифы.

56. Правильный ответ - Г. Возбудитель туберкулёза человека идентифицируют по ростовым характеристикам, морфологии колоний, наличию корд-фактора и ряду биохимических особенностей. Однако уникальная особенность микроорганизма - способность образовывать и накапливать значительные количества ниацина (никотиновой кислоты). Все микобактерии содержат в составе клеточной стенки миколо-вую кислоту и окрашиваются по Цюлю-Нильсену; способность образовывать пигменты позволяет с известным допущением разделять их на отдельные группы, но не даёт возможности для межвидовой дифференцировки. По Граму *Mycobacterium tuberculosis* не окрашивается.

57. Правильный ответ - В. Среди многочисленных кожных проб с туберкулином наибольшее распространение нашло внутрикожное введение 5 ЕД препарата (реакция Манту). При положительном результате развивается реакция ГЗТ с образованием папулы от 10 мм и более через 48-72 ч. Положительный результат не следует трактовать как свидетельство активной инфекции, так как она является аллергической пробой, указывающий на сенсибилизацию организма Аг микобактерий. Отрицательный результат не следует рассматривать как факт, указывающий на отсутствие туберкулёзного процесса, так как заболевание может протекать на фоне анергии. Туберкулиновая проба имеет больше эпидемиологическое, чем диагностическое значение, но выявляет только контингент, контактировавший с Аг возбудителя. Повторное введение туберкулина не способно вызвать конверсию отрицательной пробы в положительную.

58. Правильный ответ - Д. Токсические проявления менингококковой инфекции обуславливают эндотоксины липополисахаридной природы. ЛПС менингококка играют ведущую роль в патогенезе поражений сосудов и кровоизлияний во внутренние органы.

59. Правильный ответ - А, Б, В. В 90% случаев наличие в мазках грамположительных кокков, располагающихся цепочками, образующих зоны р-гемолиза на КА и чувствительных к бацитрацину, указывает на инфекцию *Streptococcus pyogenes*. Однако не следует исключать инфицирования и *S. agalactiae*, также образующих зоны р-гемолиза на КА и чувствительных к бацитрацину. Для дифференцировки микроорганизмов применяют САМР-тест (*S. pyogenes* даёт положительную реакцию). Большинство изолятов *S. pyogenes* резистентно к действию солей жёлчных кислот и полимиксину.

60. Правильный ответ - А, Б, В. Энтерококки входят в состав микрофлоры кишечника, что отличает их от пневмококков; они неприхотливы, растут на обычных питательных средах, а пневмококки не требуют внесения в них сыворотки или крови. Они способны расти в присутствии 6% NaCl, а поскольку их аутолитические ферменты не активируются в присутствии жёлчи, то они способны расти в присутствии 40% солей жёлчных кислот. Пневмококки чувствительны к действию солей жёлчных кислот, не обесцвечивают, в отличие от энтерококков, лакмусового молока. Оба вида бактерий каталаза-отрицательны.

61. Правильный ответ - А, Б, В, Г, Д, Е. Дифтерийный токсин, обуславливающий системные проявления заболевания, вырабатывают токсигенные штаммы *Corynebacterium diphtheriae*. Способность к его образованию обусловлена инфицированием бактерий р-фагом, несущим ген tox+. Токсин представляет собой термолабильный белок со свойствами экзотоксина. Молекула токсина состоит из компонента А, обуславливающего подавление белкового синтеза, и компонента В, ответственного за проникновение токсина в клетки. Результат первичного действия дифтерийного токсина - нарушение синтеза белка; системные проявления обусловлены нарушением функций миокарда и демиелинизацией периферических и черепных нервов.

62. Правильный ответ - А, Б, В, Е. Патогенез столбняка опосредован интоксикацией с поражением нервной системы, поэтому все профилактические и терапевтические мероприятия следует направить на нейтрализацию токсина. Основным способом вакцинопрофилактики - периодическая иммунизация столбнячным анатоксином в течение всей жизни. Первичную иммунизацию проводят детям в возрасте 5-6 мес (до 5 лет) курсом три инъекции с 30-40-суточным интервалом. При подозрении на столбняк неиммунным лицам вводят противостолбнячную сыворотку (гипериммунный Ig человека). Поскольку АТ к токсину проходят через плаценту, профилактику столбняка у новорождённых можно осуществлять иммунизацией матерей в дородовой период. Столбнячная палочка хорошо поддаётся антибиотикотерапии, однако доза токсина, обуславливающая развитие столбняка, настолько мала, что связать её химическими антидотами не представляется возможным. Поскольку основу патогенеза заболевания составляет действие экзотоксина, то вакцинация убитыми микробными телами не будет оказывать защитного действия. Важным методом предупреждения столбняка служит хирургическая обработка раны с удалением всех омертвевших участков, так как столбнячная палочка является сапрофитом, способным размножаться только на некротизированных тканях.

63. Правильный ответ - Б. Сальмонеллы - подвижные грамотрицательные споронеобразующие палочки, то есть морфологические и тинкториальные свойства аналогичны таковым у прочих энтеробактерий. Единственным исключением является отсутствие у них капсул. Грамотрицательные неподвижные споронеобразующие коккобактерии с капсулами - франциселлы. Грамположительные подвижные капсулированные спорообразующие палочки - бактерии рода *Bacillus*. Грамположительные споронеобразующие бактерии неправильной формы - актиномицеты и нокардии. К грамотрицательным подвижным споронеобразующим вибрионам относят возбудитель холеры. Грамположительными споронеобразующими кокками являются стрептококки и стафилококки.

64. Правильный ответ - А, Б, В, Г. *Bordetella pertussis* вырабатывает различные факторы вирулентности. Главное отличие бактерий вирулентной фазы I от невирулентной фазы IV обусловлено наличием микроворсинок, коклюшного токсина, термолабильного токсина и способностью проявлять аденилатцик-лазную активность. Вирулентные штаммы также продуцируют гистамин-сенсibiliзирующий фактор, повышающий восприимчивость клеток и тканей к повреждающему действию гистамина. *B. pertussis*, как и все прочие грамотрицательные бактерии, содержит липополисахаридный эндотоксин. По своим физиологическим, метаболическим и биохимическим эффектам он отличается от эндотоксина грамотрицательных кишечных бактерий. Протеолитических ферментов возбудитель коклюша не синтезирует.

65. Правильный ответ - А, Б, В, Г. Зоонозы эндемичны в популяциях животных. К возбудителям классических зоонозов относят бактерии рода *Brucella*, *Yersinia* и *Francisella*. Возбудители этих инфекций передаются человеку при соприкосновении с тканями инфицированных животных, употреблении заражённой пищи, воды или посредством переносчиков. *Brucella melitensis* (этиологический агент бруцеллёза) вызывает заболевание при употреблении непастеризованного козьего молока или сыра. *Francisella tularensis*, вызывающая туляремию, становится этиологическим фактором диссеминированных форм заболеваний животных и людей, заражающихся при кожном контакте с кровью больных животных или от переносчиков - слепней или лесных клещей. Этиологический агент чумы (грамотрицательная палочка *Yersinia pestis*) вызывает эндемические заболевания грызунов. Человек заболевает обычно после укуса инфицированной крысиной блохи. *Escherichia coli* (кишечная палочка) не вызывает зоонозов и входит в состав микробных сообществ кишечника человека и животных. *Bacillus subtilis* (сенная палочка) является непатогенной бактерией.

66. Правильный ответ - А, Б, В, Е. Представителей семейств энтеробактерий объединяют общие свойства: все они грамотрицательные палочки, ферментирующие глюкозу с образованием кислоты или кислоты и газа. S-формы бактерий содержат ЛПС, состоящий из трёх компонентов: липида А, полисахарида и О-Аг. В лабораторных условиях отделением О-Аг можно получить «шероватые» R-колонии, такие бактерии обычно авирулентны. Далеко не все энтеробактерии ферментируют лактозу и подвижны (например, шигеллы не имеют жгутиков), эти свойства служат дифференцирующими признаками родов внутри семейства. Наиболее характерной особенностью патогенных энтеробактерий (например, шигелл или сальмонелл) является способность синтезировать термолabile экзотоксины.

67. Правильный ответ - А, Б, В. Факторы патогенности холерного вибриона - нейраминидаза, обеспечивающая взаимодействие с микроворсинками, эндотоксин, сходный по структуре и активности с эндотоксинами прочих грамотрицательных бактерий, и экзотоксин (холероген), повышающий внутриклеточное содержание цАМФ и выход жидкости и электролитов в просвет кишечника. Холерные вибрионы не образуют протеолитические ферменты и нейротоксины, а также лишены капсулы. Несмотря на наличие жгутиков и высокую подвижность бактерии не инвазируют в клетки эпителия кишечника, а находятся в его просвете.

68. Правильный ответ - А, Б, В. Микроскопия неокрашенных мазков крови или образцов из шанкрозных язв обычно неэффективна, так как средняя толщина бледных трепонем не превышает 0,2 мкм, что составляет предел разрешающей способности светового микроскопа. Поскольку возбудитель плохо воспринимает анилиновые красители и имеет очень тонкую клеточную стенку, окрашивание по Граму и Цилю-Нильсену неэффективно. Бактерии также плохо окрашиваются по Романовскому-Гимзе, откуда собственно и пошло название «бледная спирохета». Адекватные результаты даёт темнопольная микроскопия, выявляющая микроорганизмы и их характерное движение. Для выявления трепонем в мазках можно воспользоваться АТ, мечеными флюоресцеинами, но это метод достаточно дорог и требует определённого времени для связывания АТ с возбудителем. Вполне удовлетворительные результаты даёт импрегнация серебром, так как краситель обволакивает поверхность трепонем, делая их более толстыми и видимыми в световой микроскоп.

69. Правильный ответ - А, Б, В, Г. Микроскопия окрашенных мазков крови или исследование в тёмном поле обычно эффективны только в первые 2 дня заболевания, так как на 2-3-и сутки болезни возбудитель исчезает из кровотока. Адекватные результаты может дать заражение молодых морских свинок с последующим исследованием брюшинного экссудата и крови павших животных; при их отсутствии можно попытаться получить гемокультуру посевом крови на питательные среды. Серологические исследования лучше проводить на 2-3-й неделе; обычно ставят РА и реакцию лизиса со стандартным набором эталонных штаммов. Для идентификации

лептоспир окраску по Цйлю-Нйльсену не применяют, так как бактерии имеют тонкую клеточную стенку и разрушаются при окрашивании.

70. Правильный ответ - А. Возможно несколько путей появления антигенных вариаций: антигенный дрейф и антигенный шифт, играющие значительную роль в эпидемическом распространении гриппа. Антигенный дрейф подразумевает небольшие изменения структуры гемагглютинина и нейраминидазы и практически не влияет на эпидемическое распространение вируса. Пандемии связаны с большими антигенными шифтами, обусловленными как рекомбинациями между штаммами, так и мутациями, приводящими к появлению новых антигенных типов. Как правило, подобные изменения - результат рекомбинаций между штаммами вируса гриппа человека и птиц.

71. Правильный ответ - В. Разработано две вакцины против бешенства, но вследствие реактогеннос-ти их используют только после заражения. Плановую иммунизацию людей не проводят. В настоящее время иммунизацию популяций диких животных не осуществляют, хотя разработка приемлемых подходов ведётся. Профилактика бешенства основана на массовой иммунизации домашних и сельскохозяйственных животных. Поскольку природным резервуаром вируса выступают сотни видов животных, то они не могут быть объектом планового уничтожения. При проведении санитарно-эпидемиологических мероприятий вводить строгие карантинные меры необходимости нет.

72. Правильный ответ - А. Для некоторых вирусных инфекций характерно наличие внутриклеточных телец-включений, состоящих из вирусных частиц или сердцевин вируса. Тельца Бабеша-Негри в нейронах - характерная особенность и маркёр бешенства, их обнаружение в ткани мозга животных и человека указывает на наличие заболевания. Отсутствие телец Бабеша-Негри не исключает факта заболевания. Инфекционный мононуклеоз, врождённую краснуху, ветряную оспу характеризуют различные цитопатичес-кие изменения, но ни одна из этих инфекций не сопровождается образованием телец-включений в нейронах.

73. Правильный ответ - А. Все три серологические формы вируса гепатита В содержат поверхностный Аг (НВsАg). Аг сердцевин (НВсАg) имеется только у полного вируса (частицы Дейна). Ранний Аг (НВеАg) ассоциирован с инфицированными клетками, его выявление в острой стадии заболевания имеет важное прогностическое значение.

74. Правильный ответ - Е. Геном ВИЧ образуют две нити +РНК, соединённые вблизи их 5'-концов. Спирализованная ДНК формирует геном паповавирусов, а линейная ДНК - герпес- и аденовирусов. Геном вирусов гриппа образует сегментированная РНК. Молекула одонитевой - РНК образует геном пикорнавирусов; молекула двухнитевой -РНК - геном парамиксовирусов.

75. Правильный ответ - А, Б, В. Основной путь заражения ВИЧ - половые гомо- и гетеросексуальные контакты. Второй по значимости фактор -использование загрязнённых шприцев. Передача с донорской кровью и её препаратами реальна, но её вероятность не слишком велика, так как кровь тестируют на содержанием ВИЧ, а кровь доноров, относящихся к группе повышенного риска, и кровь ВИЧ-положительных лиц выбраковывают. Трансмиссивный перенос возбудителя через укусы членистоногих-переносчиков допускается, но объективные данные отсутствуют.

76. Правильный ответ - А, В. Проникая в сосудистое русло, ВИЧ инфицирует активированные CD4+ Т-лимфоциты (хелперы), используя молекулу CD4 в качестве рецептора. ВИЧ также инфицирует моноциты, макрофаги и родственные клетки, экспрессирующие CD4-подобные молекулы; инфицирование возможно при фагоцитозе иммунных комплексов, содержащих ВИЧ. Заражение моноцитов и макрофагов не сопровождается цитопатическим эффектом, и клетки становятся пермиссивной системой для возбудителя. Установлена способность ВИЧ поражать клетки микроглии нервной ткани и эпителия кишечника, но значение

подобных фактов остаётся неизвестным. Эндотелиоциты, гепатоциты и нейроны резистентны к заражению.

77. Правильный ответ - А, В. В последнее время роль диагностических тестов возросла в связи со значительным увеличением количества вирусных заболеваний и появлением новых противовирусных препаратов. Именно быстрая диагностика вирусных инфекций определяет возможность достижения максимального эффекта проводимой терапии. С этой целью разрабатывают новые диагностические подходы, выявляющие вирусные Аг или нуклеиновые кислоты в материалах от пациента. Как правило, эти методы основаны на раннем выявлении размножения вируса в культурах тканей. Тем не менее, на вооружении остаются и ранее разработанные методы определения АТ в парных сыворотках, хотя они требуют затрат времени и имеют преимущественно эпидемиологическую ценность. В обычных вирусологических лабораториях определение иммунного статуса пациентов не проводят, но подобные исследования обязательны при мониторинге клинического состояния ВИЧ-инфицированных и пациентов со СПИДом. Гистологические исследования биоптатов из поражённых органов не проводят, так как повреждения, вызываемые различными вирусами, часто носят схожий характер. Заражение лабораторных животных не проводят, так как для этого необходимо либо получить культуру вируса, либо использовать материал, обязательно содержащий возбудитель в инфицирующей дозе. В условиях обычной вирусологической лаборатории создать подобные условия обычно не удаётся.

78. Правильный ответ - Г. Среди капсулированных дрожжевых грибов для человека патогенен лишь *Cryptococcus neoformans*; его обнаружение в СМЖ указывает на криптококковый менингит. Возбудитель достаточно легко выявить, приготовив влажные мазки, окрашенные тушью. Краситель не окрашивает полисахаридную капсулу, и клетки выглядят окружёнными светлым «галом» (ободком) на чёрном фоне.

79. Правильный ответ - А, Б, В, Г. Первичные поражения при поверхностных микозах (дерматофитиях) локализованы в кератинсодержащих структурах (волосах, эпидермисе, ногтях). Возбудители представлены родами *Trichophyton*, *Microsporum* и *Epidermophyton*. Поражение кожных покровов можно также наблюдать при диссеминированном кандидозе, вызванным *Candida albicans*. Аспергиллы и мукоры не способны вызывать поражения кожных покровов.

80. Правильный ответ - Г. Диморфизм - термин, определяющий способность некоторых грибов образовывать мицелий (гифальные клетки) при росте на питательных субстратах в лабораторных условиях либо в природе и дрожжевые или дрожжеподобные клетки при инвазии в ткани организма-хозяина. В некоторых случаях фенотип может представлять адаптацию к паразитизму (например, возбудители системных микозов *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides* и *Paracoccidioides*, а также *Candida* и *Sporothrix schenckii*). *Candida albicans* - не истинный диморфный гриб, так как образует дрожжевые и гифальные клетки как на питательных средах, так и при инвазии в ткани. *Aspergillus flavus*, *Microsporum canis* являются плесневыми грибами. Лишь *Cryptococcus neoformans* в тканях и на питательных средах образует дрожжевые клетки, но в половой стадии микроорганизм формирует нитчатые структуры.

81. Правильный ответ - А, Б, В, Г. Инфицирование человека *Toxoplasma gondii* может происходить несколькими путями: основной - фекально-оральный (после попадания ооцист в землю и употребления в пищу немытых овощей и фруктов). Основной хозяин паразита - кошки, поэтому нарушения режима их содержания может приводить к попаданию ооцист в организм человека через грязные руки. Нарушения режима термической обработки мяса могут приводить к инфицированию токсоплазмами. При заражении беременных токсоплазмы легко проходят через плаценту и инфицируют плод. Токсоплазмы не передаются через воду, так как быстро погибают в ней.

82. Правильный ответ - В. Заражение человека дизентерийной амёбой происходит при заглатывании цист паразита с водой. Трофозоиты паразита нестойки во внешней среде и не выживают в верхних отделах ЖКТ человека, поэтому заражение человека взрослыми особями дизентерийной амёбы невозможно.

83. Правильный ответ - В, Г. Возбудители висцеральных лейшманиозов - лейшмании группы *Leishmania donovani* подвид *donovani* и *Leishmania donovani* подвид *infantum*. Для заболевания характерны лихорадка неправильного типа, мальабсорбция и диарея. Заболевание распространено на всех континентах, исключая Австралию. Прочие виды лейшманий вызывают заболевания с другими симптомами: виды группы *L. braziliensis* подвид *braziliensis* - кожно-слизистый лейшманиоз, виды групп *L. mexicana* подвид *mexicana* и *L. tropica* подвид *tropica* - кожные лейшманиозы, *L. aethiopica* - аналогичные поражения, эндемичные в Эфиопии.

84. Правильный ответ - А, В, Д. Запасные гранулы бактерий - временные депо избытка метаболитов. В виде гранул могут запасаться полисахариды (крахмал, гликоген, гранулёза), жиры (триглицериды, сходные с жирами высших животных, запасаются у дрожжей рода *Candida*; воска - у микобактерий и нокардий; полимеры р-оксималяной кислоты - в клетках *Bacillus megaterium*), полифосфаты (например, волютин, впервые обнаруженный у *Spirillum volutans*), сера (у бактерий, окисляющих сульфид до сульфита), белки - например, протоксин (у *Bacillus thuringiensis* и родственных видов).

85. Правильный ответ - В, Г, Д, Е. Присутствие грамотрицательных палочек в количестве 10^5 или более в 1 мл мочи считают показателем бактериурии. Выявление такого количества специфично для грамотрицательных энтеробактерий. Другие бактерии, например *Staphylococcus aureus*, энтерококки или грибы (*Torulopsis glabrata* или *Candida albicans*), также способны вызывать инфекции мочеполовой системы, но в таких количествах их обычно не выявляют.

86. Правильный ответ - В. Пассивная иммунизация, то есть введение донорских АТ, приводит к развитию стойкой, но непродолжительной невосприимчивости. В противоположность этому активная иммунизация обеспечивает защиту от инфекционных агентов в течение нескольких лет. У отдельных лиц пассивная иммунизация может вызывать реакции гиперчувствительности, обусловленные ответом на чужеродный (донорский) белок и синтезом аутоиммуноглобулинов.

87. Правильный ответ - А, Б, Д. Врождённые, или конституциональные, факторы защиты эволюционно наиболее древние и многообразные, механизмы их действия весьма вариабельны, но их объединяет неспецифичность действия. Они подразделяются на механические и химические. Основными анатомическими барьерами выступают кожа и слизистые оболочки, составляющие первую линию защиты против возбудителей инфекций, а их секреты уничтожают либо ингибируют рост микроорганизмов. Если последние преодолевают поверхностные барьеры, то они сталкиваются с разнообразными конституциональными факторами второй линии неспецифических защитных механизмов. Их принято делить на гуморальные и клеточные. Гуморальными факторами являются система комплемента, лизоцим, трансферрины, жирные кислоты; клеточными - фагоцитирующие клетки. Вследствие своих морфологических и функциональных особенностей врождённые факторы постоянно пребывают в «активированном» состоянии.

88. Правильный ответ - Г. Инфекционная, или нестерильная, невосприимчивость - особая форма приобретённого иммунитета. В подобных ситуациях невосприимчивость связана не с перенесённой инфекцией, а с наличием инфекционного агента в организме. Если возбудитель элиминируется, то исчезает и невосприимчивость. Подобного рода невосприимчивость характерна для туберкулёза и, вероятно, для малярии.

89. Правильный ответ - А, Б, В. Размножение бактерий в организме человека обусловлено главным образом способностью ассимилировать необходимые вещества в тканях и конкурировать за них с клетками организма. Нередко эта способность обусловлена свойством преодолевать действие естественных защитных механизмов за счёт специальных структур (например, капсул, пилей, особо устроенной клеточной стенки) либо способности синтезировать особые продукты (например, адгезины, протеолитические ферменты). Указанные факторы облегчают выживание и рост патогенных бактерий, но абсолютным условием для эффективного размножения считают успешную конкуренцию за питательные вещества. Образование эндотоксинов не влияет на выживание бактерий в организме человека.

90. Правильный ответ - Б, В. Циркулирующие АТ к Аг ВИЧ обычно выявляют иммуноферментным методом. Встречный иммуноэлектрофорез и РТГА недостаточно чувствительны и специфичны для серодиагностики ВИЧ-инфекции. Радиоиммунный метод чувствителен и специфичен, но его применение ограничивает необходимость широкого использования радиоактивных материалов. ПЦР - чувствительный и специфичный метод, находящийся на этапе разработки и внедрения в практику.

91. Правильный ответ - А, Б, В. Из капсульных Аг изготавливают эффективные вакцины, защищающие человека от заражения *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* и *Haemophilus influenzae*. Следует помнить, что препараты эффективны у лиц со сформированной иммунной системой, но относительно малоприспособлены для вакцинации детей младше 2-летнего возраста. Полипептидная капсула *Bacillus anthracis* служит фактором вирулентности, поэтому её не используют для производства вакцин. Несмотря на то что вакцина против *Neisseria gonorrhoeae* существует, она не оказывает защитного действия, и её используют для провокации при оценке эффективности проведённого лечения.

92. Правильный ответ - Г, Д. Все указанные методы широко применяют для серодиагностики сифилиса. Реакцию фон Вассермана, VDRL-реакцию и тест на реакины плазмы относят к группе неспецифических. Реакция иммобилизации бледной спирохеты и РИФ с адсорбированной сывороткой считают специфичными тестами и постепенно вытесняют неспецифические методы. Реакцию Видала применяют для диагностики брюшного тифа.

93. Правильный ответ - А, Б, Г, Д. Диагностика гарднереллёза основана на выявлении комплекса основных и вспомогательных критериев. Первые включают наличие «ключевых» клеток, выявляемых в нативных мазках, и наличие аномальных аминов. На типичной «ключевой» эпителиальной клетке бактерии прикрепляются к её краю. Микроскопию проводят без иммерсии под большим увеличением; для гарднереллёза не типично наличие большого количества лейкоцитов в препаратах. Наличие аномальных аминов - продуктов симбиоза гарднерелл и влагалищных анаэробов в отделяемом - выявляют по наличию неприятного запаха, часто усиливающегося после половых контактов. В лабораторных условиях для определения «рыбного» запаха к выделениям добавляют каплю 10% раствора КОН (соли аномальных аминов превращаются в летучие основания со специфическим запахом). Косвенные признаки: рН выделений 5,6-6,0, практически полное отсутствие лактобацилл, отсутствие большого количества лейкоцитов во влагалищных выделениях. Общее увеличение количества бактерий в отделяемом нельзя расценивать как признак заболевания.

94. Правильный ответ - Г. Диагноз бактериемии и септицемии устанавливают при выделении этиологического агента из крови пациента после культивирования в жидких питательных средах. При исследовании серийных гемокультур успешное выделение бактерий возможно у 99% пациентов. Окрашивание мазков крови по Граму или Романовскому-Гимзе редко позволяет выявить бактерии, так как их количество обычно невелико. По этой же причине биологические пробы на лабораторных животных ставят в редких случаях. Наличие любых АТ

нельзя расценивать как признак бактериемии или септицемии, так как АТ в крови появляются при любой локализации возбудителя.

95. Правильный ответ - Д. Ятрогенными инфекциями называют заболевания, вызванные медицинскими манипуляциями с лечебной или диагностической целью. Большинство подобных инфекций возникает у пациентов в стационарных условиях, поэтому комплекс нозокомиальных (внутрибольничных) инфекций может включать и ятрогенные заболевания. Оппортунистическими инфекциями называют заболевания, вызванные возбудителями, не способными обусловить патологические реакции у лиц с нормальным иммунным статусом. Антропонозами называют инфекции, регистрируемые только у человека; обычно их развитие не связано с проведением медицинских манипуляций. Суперинфекции - инфекционные заболевания, наслаивающиеся на уже имеющийся инфекционный процесс; как правило, они возникают у пациентов с ослабленным иммунитетом. Хирургические инфекции развиваются в результате хирургических вмешательств, составляющих незначительную часть медицинских манипуляций.

96. Правильный ответ - А, Б, В, Д. Резервуар возбудителей большинства хирургических раневых инфекций - мочеполовая система, ЖКТ и воздухоносные пути. Несмотря на то что кожные покровы активно колонизируют различные бактерии, в том числе способные вызывать раневые инфекции, их не следует рассматривать как возможный резервуар, так как кожу относительно полно дезинфицируют при подготовке к операции. Органы ЦНС обычно стерильны. Микрофлора полости рта может вызывать хирургические инфекции после стоматологических манипуляций.

97. Правильный ответ - Б, Г. На развитие раневых инфекций влияют разнообразные факторы: эндогенные - состав факультативной микрофлоры и иммунный статус пациента, экзогенные - состояние окружающей среды и отношение «пациент-персонал». Наркоз - экзогенный фактор, влияющий на состояние естественных защитных сил организма, он снижает секреторную активность слизистых оболочек дыхательных путей и угнетает активность реснитчатых клеток дыхательного эпителия и вызывает временное угнетение иммунного реагирования.

98. Правильный ответ - Д. Инфекционной формой *Trichomonas vaginalis* выступает трофозоит, обычно передающийся половым путём. Трофозоит не может длительно сохраняться в окружающей среде. Паразит не способен образовывать цисты, амастиготы и мерозоиты, встречающиеся как стадии жизненного цикла у отдельных видов простейших.

99. Правильный ответ - А. Бактерии рода *Haemophilus* растут на обогащённых кровяных средах, так как нуждаются во внесении в среду ростовых факторов. Х-фактор содержится в эритроцитах в виде термостабильной группы тетрапирролов, входящих в состав гематина и гема. V-фактор - термолабильный кофермент, включающий НАД или НАДФ и являющийся составной частью витаминов группы В, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях бактериальных клеток. V-фактор присутствует в некоторых продуктах (например, в дрожжах), а также синтезируется некоторыми бактериями, например сарцина-ми, стафилококками, нейссериями и др. Следует отметить, что потребность в его присутствии испытывает незначительное количество видов, а *Haemophilus aphrophilus* не нуждается в обоих факторах.

100. Правильный ответ - А, Б. Ретровирусы уникальны по своей диплоидной генетической структуре, так как содержат две идентичные молекулы +РНК в геноме. Для инициации инфекции вирусная обратная транскриптаза образует с вирусной РНК копию в виде двухнитевой ДНК, встраивающуюся в геном клетки; с данной копии продуцируются дочерние популяции. мРНК, транскрибируемая с ДНК-копии, обуславливает синтез различных вирусных Аг, включая групповые.

ГЛАВА 42. ПРИЛОЖЕНИЯ

СОКРАЩЕНИЯ В ТЕКСТЕ

CD (произносят как «си ди», от англ. *cluster of differentiation*, кластер дифференцировки) - дифференцировочный Ag, CD-маркёр

Dim - минимальная токсическая доза (от лат. *dosis letalis minima*)

F⁻ и F⁺ - плазмидный фактор плодовитости (от англ. *fertility*, плодовитость)

Fab - фрагмент молекулы иммуноглобулина, связывающий Ag (от англ. *fragment*, фрагмент, + *antigen binding*, связывающий Ag)

Fc - кристаллизующийся фрагмент молекулы иммуноглобулина (от англ. *fragment crystallizable*)

HBcAg - сердцевинный Ag вируса гепатита В (от англ. *hepatitis B core antigen*)

HBеAg - Ag е вируса гепатита В (от англ. *hepatitis B e antigen*)

HBsAg - поверхностный Ag вируса гепатита В (от англ. *hepatitis B surface antigen*)

HBxAg - неизученный Ag вируса гепатита В

Hfr - плазмидный фактор высокой частоты рекомбинаций (от англ. *high frequency of recombinations*)

HLA - человеческий лимфоцитарный Ag (от англ. *human lymphocyte antigen*)

HTLV - Т-лимфотропные вирусы человека (от англ. *human t-lymphotropic viruses*)

H-Ag - жгутиковые Ag бактерий [от нем. *Hauch*, выдох, налёт]

Ig - иммуноглобулин(ы)

НК-клетка - естественный киллер (от англ. *natural killer*)

O-Ag - Ag клеточной поверхности бактерий [от нем. *ohne Hauch*, без налёта]

OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man* (www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/). В тексте аббревиатура OMIM обычно предшествует шестизначному цифровому коду наследственного заболевания, фенотипа, полипептида, но может быть и опущена.

PrP - прионовый белок (от англ. *prion protein*)

PrP^c - нормальный клеточный прионовый белок (от англ. *cell*, клетка)

PrP[&] - патологический прионовый белок скрепи (от англ. *scrapie*, скрепи)

TSST - токсин синдрома токсического шока (от англ. *Toxic Shock Syndrome Toxin*)

TTV - трансфузионно передающийся вирус [от англ. *transfusiontransmitted virus*]

Tгзт - CD4⁺ Т-эффektorные клетки гиперчувствительности замедленного типа

VDRL-реакция - реакция, разработанная лабораторией изучения венерических заболеваний (от англ. *Venereal Disease Research Laboratory*)

XLD-агар - ксилозо-лизино-дезоксихолатный агар

Аг - антиген, антигены

АД - артериальное давление

АДС-вакцина - адсорбированная дифтерийно-столбнячная вакцина

АДС-М-вакцина - адсорбированная дифтерийно-столбнячная вакцина с уменьшенной дозой
Аг

АДФ - аденозиндифосфат

АКДС-вакцина - адсорбированная коклюшно-диф-

терийно-столбнячная вакцина АМФ - аденозинмонофосфат АТ - антитело, антитела атм - атмосфера АТФ - аденозинтрифосфат ацетил-КоА - ацетилкоэнзим А БАВ - биологически активные вещества БГКП - бактерии группы кишечной палочки (эше-

рихии, энтерококки, протеи, сальмонеллы) БОЕ - бляшкообразующая единица БЦЖ (от *CalmetteGuerin bacillus*) - вакцина Каль-

мётта-Герёна, вакцинный штамм *Mycobacterium*

bovis пониженной вирулентности ВБИ - внутрибольничная инфекция ВИЧ - вирус иммунодефицита человека ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения ВПГ - вирус простого герпеса г - грамм г. - год гг. - года

ГЗТ - гиперчувствительность замедленного типа ГТФ - гуанозинтрифосфат греч. - греческий

ГЭБ - гематоэнцефалический барьер

ДИ - дефектный интерферирующий ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота дТТФ - дезокситимидинтрифосфат ЕД - единица

ЖКТ - желудочно-кишечный тракт

ЖСА - желточно-солевой агар

ИЛ - интерлейкин(ы)

иРНК - информационная РНК

ИФА - иммуноферментный анализ

ИФН - интерферон(ы)

КДФГ - 2-кето-3-дезоксиглюконофосфат

К-Аг - капсульный(ые) Аг

КА - кровяной агар

кг - килограмм

КОЕ - колониеобразующая единица

КУА - казеиново-угольный агар

КФ - классификация ферментов (по Enzyme Data

Bank, Release 25.0 of July 1999, < [http://](http://www.expasy.ch/)

www.expasy.ch/>) л - литр

ЛПС - липополисахарид(ы)

ЛПУ - лечебно-профилактическое учреждение

ЛС - лекарственное средство

м - метр

МАФАМ - мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы МБК - минимальная бактерицидная концентрация мг - миллиграмм

МИК - минимальная ингибирующая концентрация

мин - минута

мл - миллилитр

млн - миллион

млрд - миллиард

МПА - мясо-пептонный агар

МПБ - мясо-пептонный бульон

МПЖ - мясо-пептонная желатина

мРНК - матричная РНК

МСА - молочно-солевой агар

НАД - никотинамидадениндинуклеотид

НАД? - восстановленная форма никотинамида-

дениндинуклеотида НАДФ - никотинамидадениндинуклеотидфосфат НАДФ? - восстановленная форма никотинамида-

дениндинуклеотидфосфата нед - неделя

нм - нанометр

ОМЧ - общее микробное число

ОРВИ - острая респираторная вирусная инфекция

ПАСК - парааминосалициловая кислота

ПБА - патогенные биологические агенты

ПИР - пирролидонил-р-нафтиламид
ПЦР - полимеразная цепная реакция
РА - реакция агглютинации
РИА - радиоиммунный анализ
РИФ - реакция иммунофлюоресценции
РН - реакция нейтрализации
РНГА - реакция непрямой гемагглютинации
РНИФ - реакция непрямой иммунофлюоресценции
РНК - рибонуклеиновая кислота
РП - реакция преципитации
РПГА - реакция пассивной гемагглютинации
РС-вирус - респираторно-синцитиальный вирус
РСК - реакция связывания комплемента
РТ - ретикулярное тельце
РТГА - реакция торможения гемагглютинации
РТПГА - реакция торможения пассивной гемагглю-
тинации рРНК - рибосомная РНК с - секунда
СИБ - система индикаторных бумажек см - сантиметр
СМЖ - спинномозговая жидкость
СПИД - синдром приобретённого иммунодефицита
СПМ - санитарно-показательные микроорганизмы
сут - сутки
т - тонна
тРНК - транспортная РНК
УФ - ультрафиолет, ультрафиолетовый
ФНО - фактор некроза опухоли
цАМФ - циклический аденозинмонофосфат
ЦПМ - цитоплазматическая мембрана
ЦМВ - цитомегаловирус
ЦНС - центральная нервная система

ЦТК - цикл трикарбоновых кислот (цикл Крѐбса)

ЦТЛ - цитотоксический Т-лимфоцит

ЦТФ - цитидинтрифосфат

ч - час, часы

ША - шоколадный агар

ЭТ - элементарное тельце

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ*

IS-элемент - последовательность инсерционная

L-формы - особые форма бактерий, утративших клеточную стенку под воздействием некоторых внешних факторов; названы в честь Института Листера, где в 1934 г. был выделен штамм *Streptococcus moniliformis*, размножавшийся в виде протопластов неправильной формы

MHC-рестрикция (ограничение) - зависимость функций Т-клеток и их растворимых факторов от комплементарных взаимодействий молекул MHC классов I или II с Ag и Т-клеточным (Ag-распознающим) рецептором; так, чужеродные Ag распознаются CD4⁺ Т-клетками только в ассоциации с собственным аллельным вариантом молекулы MHC класса II, CD8⁺-клетки распознают Ag в ассоциации с собственным аллельным вариантом молекулы MHC класса I; ограничение состоит в том, что без ассоциации распознавание не происходит

SNAP-25 - ассоциированный с синапсом белок (M_r ~ 25 кД, несколько изоформ) плазматической мембраны нервных клеток, участвующий в экзоцитозе; расщепляется сероварами А и Е ботулинического токсина

Tn-элемент - см. транспозон

Absidia - род грибов семейства *Mucoraceae*; термофильные виды выживают в разлагающихся органических субстратах при температуре, превышающей 45 °С; могут вызывать зигомикозы у человека

Acanthamoeba (акантоамѐбы) - род свободножи-вущих амѐб, обитающих в грунте, канализационных стоках и воде; некоторые виды вызывают акантамебиоз - поражения кожи, мочеполового тракта, роговицы глаз и ЦНС; патогенные виды - *A. culbertsoni*, *A. castellanii*, *A. polyphaga* и *A. astronyxis*

Acinetobacter (Lingelsheimia, акинетобактеры) - род неподвижных и аэробных бактерий (семейство *Neisseriaceae*); включает грамотрицательные или вариабельные кокки, расположенные парами или в виде коротких палочек; споры не образуют. Растут на обычных средах с добавлением сыворотки; оксидаза-негативные, каталазу образуют, некоторые расщепляют углеводы, другие к ним инертны. Часто вызывают инфекции у госпитализированных больных и у пациентов с им-мунодефицитами. Типовой вид - *A. calcoaceticus*

Actinomyces (актиномицеты) - род неподвижных споронеобразующих анаэробных или факультативно анаэробных бактерий (семейство *Actinomycetaceae*); включает грамположительные палочки неправильной формы, часто образующие нити. Характерно наличие серных гранул, образующихся при истинном ветвлении при форми-

ровании колоний мицелиального типа. Патогенны для человека и/или животных; типовой вид - *A. bovis*

- *A. bovis* - вид *A.*, возбудитель актиномикоза крупного рогатого скота
- *A. israelii* - вид *A.*, основной возбудитель актиномикозов человека и иногда аналогичных инфекций крупного рогатого скота:
- *A. naeslundii* - вид *A.*, обитатель ротовой полости человека и животных; может вызывать патологические процессы
- *A. odontolyticus* - вид *A.*, обитатель ротовой полости человека; выделяют из кариозных полостей
- *A. viscosus* - вид *A.*, обитатель ротовой полости человека и животных, у последних вызывает патологию; у человека выделяют из зубных камней и прикорневых кариозных поражений

Adenoviridae (аденовирусы) - семейство вирусов, содержащих двухцепочечную ДНК, представлено более чем 80 антигенными типами; вирионы 70-90 нм диаметром, безоболочечные и резистентные к действию эфира. Капсиды состоят из 252 капсомеров. Семейство включает два рода - *Mastadenovirus* и *Adenovirus*; развиваются в ядрах инфицированных клеток и вызывают заболевания дыхательных путей и конъюнктивы

Alcaligenes - род грамотрицательных подвижных коккобацилл; широко распространены в почве и воде; некоторые виды входят в состав микробного ценоза кишечника теплокровных, некоторые вызывают развитие оппортунистических инфекций у человека, и их выделяют из крови, мочи, фекалий, гнойного отделяемого ушей, СМЖ и ран. Типовой вид - *A. faecalis*; некоторые штаммы вызывают позеленение среды, а культуры имеют сладковатый "земляничный" или "яблочный" запах

Alphavirus - род вирусов семейства *Togaviridae*, формально принадлежащий к экологической группе А арбовирусов; включает возбудителей восточного и западного лошадиных и венесуэльского энцефалитов

Amoeba - амёба. Род свободноживущих простейших, способных образовывать псевдоподии, класса *Sarcodina* (зарубежная систематика чаще использует название "*Rhizopoda*" - "корненожки"); патогенные для человека а. отнесены к родам *Entamoeba*, *Endolimax*, *Iodamoeba*, *Acanthamoeba*, *Hartmanella*, *Dientamoeba* и *Naegleria*

Arenaviridae - семейство РНК-содержащих вирусов, 13 видов; основные виды - аренавирус, вирус лимфоцитарного хориоменингита, вирус лихорадки Ласса, вирус комплекса *Takaribe*. Размеры вирионов составляют 50-300 нм; частицы покрыты оболочкой, чувствительны к действию эфира и содержат одноцепочечную сегментированную РНК; также могут включать электроно-плотные гранулы РНК (диаметром 20-30 нм), напоминающие рибосомы

Aspergillus - род грибов (класс *Ascomycetes*), включающий множество видов, часть из которых образует чёрные, коричневые или зелёные споры; отдельные виды патогенны (например, *A. fumigatus*, вырабатывающий антибиотики фумигацин и фу-мигацин, является частой причиной аспергиллёзов) о грибок лечный о леечная плесень

Babesia - род простейших (семейство *Babesiidae*), представители которого размножаются в эритроцитах хозяина, образуя пары и тетрады; вызы-

вают бабешииоз (пироплазмоз) у домашних животных; некоторые виды (обычно *Babesia bovis*) вызывают маляриеподобное заболевание у людей, особенно у спленэктомированных индивидуумов; переносчики - иксодовые или аргасовые клещи

Bacillaceae - семейство аэробных или факультативно анаэробных хемогетеротрофных спорооб-разующих, обычно подвижных грамположительных палочек; некоторые виды родов *Bacillus* и *Clostridium* патогенны для человека

Bacillus - род аэробных или факультативно анаэробных, обитающих преимущественно в почве грамположительных спорообразующих гетеротрофных бактерий семейства *Bacillaceae*; некоторые виды патогенны, некоторые вырабатывают антибиотики

- *B. amyloliquefaciens* - вид *B.*, выделяемый из почвы; проявляет высокую амилолитическую активность; продуцент субтилизина (субти-лопептидазы)

- *B. anthracis* - возбудитель сибирской язвы у человека, крупного рогатого скота, свиней, овец, кроликов, морских свинок и мышей

- *B. brevis* - вид *B.*, выделяемый из почвы, воздуха, пыли, молока и сыра; некоторые виды вырабатывают антибиотик грамицидин

- *B. cereus* - вид *B.*, вызывающий пищевые отравления, сопровождающиеся рвотой и диареей

- *B. megaterium* - сапрофитный вид *B.*, представляющий определённый научный интерес, вызванный способностью продуцировать бак-териоцин (мегаин)

- *B. piliformis* - возбудитель болезни *Тиззера* у животных

- *B. polymyxa* - вид *B.*, обитающий в почве, воде, молоке, фекалиях и на разлагающихся растительных остатках; некоторые штаммы продуцируют антибиотик полимиксин

- *B. sphaericus* - патогенный для насекомых вид *B.*; возможно инфицирование человека и животных в составе микробных ассоциаций, особенно при иммунодефиците

- *B. stearothermophilus* - патогенный для насекомых вид *B.*; применяют в качестве средства биологического воздействия на различных вредных насекомых, в первую очередь, на гусениц чешуекрылых (*Lepidoptera*). Механизм энтомоцидного действия связан со способностью образовывать белковые кристаллические структуры (гранулы) при спорообразовании, которые высвобождаются при прорастании споры и выделяют бактериальные токсины под действием пищеварительных ферментов ЖКТ гусеницы

- *B. subtilis* - вид *B.*, обитающий в почве и на разлагающихся органических остатках; некоторые штаммы образуют антибиотики субти-лин, субтенолин и бацилломиксин; типовой вид рода *Bacillus* о сенная палочка

- *B. thuringiensis* - патогенный для насекомых вид *B.*; возможно инфицирование человека и

животных в составе микробных ассоциаций; характерно наличие белковых кристаллов в цитоплазме. Механизм энтомоцидной активности аналогичен таковому у *B. stearothermophilus*

Bacteroides - род облигатных анаэробных спорообразующих грамотрицательных палочек семейства *Bacteroidaceae* (отряд *Eubacteriales*); большинство неподвижно, хемоорганотрофы; рост в культуре стимулирует внесение гемина и витамина К. Типовой вид - *Bacteroides fragilis* - наиболее многочисленный вид бактерий толстой кишки человека (до 99% всей микрофлоры). Некоторые виды патогенны для человека и животных

- *B. capillosus* - вид *B.*, выделяемый из ран, ротовой полости, фекалий человека, а также из кишечника некоторых животных

• *B. fragilis* - вид *B.*, доминирующий в микробном ценозе нижних отделов кишечника человека и животных; также выявляют в биоптатах при остром аппендиците, перитоните, абсцессах прямой кишки, эпителиальных копчиковых кистах, в инфицированных хирургических ранах и при поражениях мочеполовой системы

• *B. thetaiotaomicron* - вид *B.*, часто вызывающий развитие абдоминальных абсцессов

Balantidium - род трихостомных инфузорий-балан-тидиев (семейство *Balantidiidae*), обитающих в пищеварительном тракте позвоночных и беспозвоночных; патогенные виды - возбудители балантидиаза

• *B. coli* - вид крупных паразитических инфузорий, обнаруживаемых в слепой и толстой кишках; активно перемещаются в просвете кишечника; обычно безвредны для человека, но способны внедряться в кишечную стенку, вызывая балантидиаз

Bartonella - род микроорганизмов семейства *Bartonellaceae* (порядок *Rickettsiales*) палочко- или кокковидной формы, способны размножаться в эритроцитах и клетках ретикулоэндотелиальной системы посредством поперечного деления; патогенны для человека и обезьян, основной переносчик - москиты

• *B. bacilliformis* - вид *B.*, выделяемый из крови, эпителиальных клеток лимфатических узлов, селезёнки и печени при лихорадке *Ор-бья*, а также из крови и кожных высыпаний при синдроме *verruca peruana* (перуанской бородавки); типовой вид рода *Bartonella*

Basidiobolus - род грибов, относящихся к высшим грибам класса *Phycomycetes* (*Zygomycetes*)

Bifidobacterium - род грамположительных анаэробных бактерий семейства *Actinomycetaceae*; представителей отличает выраженный полиморфизм; свежесделанные бактерии представлены палочками, чаще имеющими V- и Y-образную форму, либо ветвящимися или утолщёнными на концах клетками. По *Граму* окрашиваются неравномерно; неподвижны и кислотонеустойчивы;

спор не образуют; основные метаболиты разложения глюкозы- уксусная и молочная кислоты. Непатогенны для человека и млекопитающих, входят в состав микробных сообществ ЖКТ; типовой вид- *B. bifidum* *Blastomyces* - род дрожжеподобных диморфных грибов

• *B. dermatitidis* - возбудитель бластомикоза; совершенную форму иногда определяют как *Ajellomyces (Emmonsiiella) dermatitidis*

Bordetella - род аэробных бактерий семейства *Brucellaceae*; включает грамтрицательных кокк-кобациллы, патогенные для дыхательных путей млекопитающих; метаболизм дыхательный, для роста нуждаются в никотиновой кислоте, цисте-ине и метионине; не требуют для роста гемина (X фактор) и коэнзима I (V фактор). Типовой вид - *B. pertussis*

• *B. bronchiseptica* - возбудитель атрофического ринита у свиней, бронхопневмоний у грызунов и собак

• *B. parapertussis* - возбудитель коклюшеподобных поражений у человека

• *B. pertussis* - возбудитель коклюша; вырабатывает токсин и вызывает гиперсекрецию и накопление густой мокроты в воздухоносных путях; типовой вид рода о палочка *Бордэ-Жангу*

Borrelia (боррелии) - род спирохет семейства *Spirochaetaceae*; млекопитающим передаются при укусах членистоногих; некоторые виды вызывают рецидивирующие лихорадочные состояния

- *B. anserina* - возбудитель спирохетозов птиц, типовой вид рода *Borrelia*
- *B. burgdorferi* - вид *B.*, вызывающий лаймо-боррелиоз у человека и боррелиоз собак, крупного рогатого скота и, возможно, лошадей. Переносчики лаймоборрелиоза человека - клещи *Ixodes dammini* (основной) и другие иксодовые клещи
- *B. caucasica* - вид, вызывающий кавказский клещевой возвратный тиф; переносчик - клещ *Ornithodoros verrucosus*
- *B. crocidurae* - вид, вызывающий возвратные лихорадки в Африке, на Ближнем Востоке и в Центральной Азии; переносчики - клещи рода *Ornithodoros*
- *B. duttonii* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф в Центральной и Южной Африке; переносчик - клещ *Ornithodoros moubata*
- *B. hermsii* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф в Канаде (Британская Колумбия) и США (штаты Калифорния, Колорадо, Айдахо, Невада, Орегон и Вашингтон); переносчик - клещ *Ornithodoros hermsi*
- *B. hispanica* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф в Испании, Португалии и Северной Африке; переносчик - клещ *Ornithodoros erraticum*
- *B. latyschewii* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф в Иране и Центральной Азии; переносчик - клещ *Ornithodoros tartakovskyi*
- *B. mazzottii* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф в Мексике, Центральной и Южной Америке; переносчик - клещ *Ornithodoros talaje*
- *B. parkeri* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф на Западе США; переносчик - клещ *Ornithodoros parkeri*
- *B. persica* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф на Среднем Востоке и в Центральной Азии; переносчик - клещ *Ornithodoros tholozani*
- *B. recurrentis* - вид, вызывающий вшиный возвратный тиф в Южной Америке, Европе, Африке и Азии; переносчики - постельные клопы *Cimex lectularius* и вши *Pediculus humanus humanus* о спирохета *Обермёйера*
- *B. turicatae* - вид, вызывающий клещевой возвратный тиф в Мексике и США (Нью-Мексико, Техас, Оклахома, Канзас); переносчик - клещ *Ornithodoros turicata*
- *B. venezuelensis* - вид, вызывающий возвратную лихорадку в Центральной и Южной Америке; переносчик - клещи *Ornithodoros rudis* и *O. venezuelensis*

Branhamella - род аэробных неподвижных споро-необразующих бактерий, включающий грамне-гативные кокки; обычно встречаются на слизистой оболочке верхних отделов дыхательных путей; типовой представитель *B. catarrhalis*, изредка вызывающий воспалительные процессы. Типовой вид - *B. (Moraxella) catarrhalis*. Выделены в подрод рода *Moraxella*

Brucella - род капсулированных неподвижных бактерий семейства *Brucellaceae*; представлены мелкими грамотрицательными палочковидными или кокковидными клетками; патогенны для человека и домашних животных, проникают в ткани; возбудители инфекций половых органов, молочных желёз, дыхательных путей и ЖКТ; типовой вид - *B. melitensis*

- *B. abortus* - вид *B.*, возбудитель инфекционных абортков коров, кобыл и овец, изнуряющей болезни цыплят и ундулирующей лихорадки человека о *Банга* палочка

- *B. canis* - возбудитель эпидидимитов, бруцеллёза и инфекционных абортков у собак; в редких случаях вызывает лёгкие формы инфекций у человека

- *B. melitensis* - мальтийская *B.*, возбудитель бруцеллёза человека, инфекционного аборта коз и изнуряющей болезни цыплят; может инфицировать коров, свиней и выделяться с молоком; типовой вид рода *B.*

- *B. suis* - вид *B.*, возбудитель инфекционного аборта свиней, бруцеллёза человека и изнуряющей болезни цыплят; может инфицировать лошадей, собак, коров, обезьян, коз и лабораторных животных

Bunyaviridae - семейство арбовирусов, насчитывающее более 200 сероваров; включает роды *Bunyavirus*, *Hantavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus* и *Uukuvirus*. Вирионы диаметром 90-100 нм,

чувствительны к действию веществ, растворяющих липиды, и детергентов; покрыты гликопептидной оболочкой; нуклеокапсид имеет спиральную симметрию и включает одноцепочечную РНК. Названы по месту выделения (Буньямве-ре, местность в Уганде)

Caliciviridae - семейство РНК-содержащих вирусов с "голым" кубическим капсидом; некоторые представители патогенны для человека, вызывают гастроэнтериты и гепатиты

Calicivirus - род вирусов семейства *Caliciviridae*, включает возбудитель гастроэнтерита человека (агент Нбрволк)

Campylobacter - род бактерий, включающий подвижные грамотрицательные спорообразующие, спирально изогнутые палочки со жгутиком на одном или обоих концах клетки; часто встречаются S-образные формы и формы в виде крыла чайки. В старых культурах образуют сферические или кокковидные формы; вызывают кишечные инфекции у человека, домашнего скота и различных птиц, а также инфекционные аборты овец и крупного рогатого скота; типовой вид - *C. fetus*

- *C. fetus* - вид *C.*, включающий несколько подвигов, вызывает инфекции у человека (подвид *fetus*) и инфекционные аборты овец и крупного рогатого скота; типовой вид рода

- *C. fetus* подвид *venerealis* - возбудитель заболевания крупного рогатого скота, передающегося при случивании; может вызывать бесплодие и инфекционные аборты

- *C. jejuni* - возбудитель самоограничивающихся острых гастроэнтеритов у человека; характерны диарея, миалгия, артралгии, головная боль и схваткообразные абдоминальные боли; входит в группу возбудителей "диарей путешественников"; резервуар - больные люди, птицы, многие домашние животные, включая свиней и собак предположительно, способен вызывать инфекционные аборты у овец. Объединяет группу сходных *C.*, вызывающих аналогичные поражения у человека (*C. coli*, *C. laridis*)

- *C. pyloridis* - см. *Helicobacter pylori*

- *C. sputorum* - вид *C.*, выделяемый из полового тракта овец и коров, а также ротовой полости человека

Candida - род повсеместно распространённых дрож-жеподобных грибов; в ЖКТ обычна *C. albicans*, входящая в состав нормальной микрофлоры; при дисбактериозах способна выступать в качестве оппортунистического патогена; патология носит локальный характер или развивается генерализованный кожный или слизисто-кожный кандидоз; возможны тяжёлые и летальные

системные поражения в виде эндокардита, септицемии и менингита. Прочие патогенные виды - *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. pseudotropicalis*

Cardiobacterium - род грамотрицательных неподвижных, факультативно анаэробных палочковидных бактерий, которые иногда способны образовывать короткие нити. В мазках располагаются

одиночно, парами, скоплениями или розетками. Комменсалы носоглотки и ЖКТ; патогенность низкая, фактически кардиобактерии способны вызывать эндокардиты лишь у пациентов с поражениями клапанного аппарата либо протезами сердечных клапанов и обширными вегетациями на них. В большинстве случаев в анамнезе отмечают тяжёлый периодонтит или стоматологические манипуляции без проведения соответствующей профилактики. Типовой вид - *C. hominis Chlamydia* - род микроорганизмов семейства *Chlamydiaceae* (порядок *Chlamydiales*); включает возбудителей болезней группы пситтакоза-лимфогранулёмы-трахомы; выделено два вида: *C. psittaci*, *C. trachomatis* (типовой вид); кокко-видные микроорганизмы, облигатные внутриклеточные паразиты; для цикла развития характерно превращение элементарного тельца в крупное инициальное тельце, делящееся дроблением; цикл завершается при образовании элементарных телец дочерними особями, выживающими внеклеточно; *устар.* гальпронии, миягаванел-лы, бедсонии

- *Cl. botulinum* - вид *Cl.*, широко распространённый в природе, возбудитель ботулизма; по структуре ботулотоксинов (являются сильными нейротоксинами) выделяют 6 основных штаммов (от А до F), Ag-различных, но проявляющих сходный токсический эффект

- *Cl. difficile* - вид *Cl.*, выделяемый из мекония новорождённых; патогенен для человека, кроликов и морских свинок; часто вызывает диарею и колит после приёма антибиотиков; этиологический агент псевдомембранозного колита и близких заболеваний, связанных с предшествующим длительным приёмом антибиотиков

- *Cl. histolyticum* - вид *Cl.*, выделяемый из ран; вызывает некротические процессы за счёт образования цитолитического экзотоксина

- *Cl. novyi* - выделено 3 типа: А, В и С; тип А - возбудитель газовой гангрены и некротического гепатита о *Cl. oedematiens* типа А

- *Cl. parobotulinum* - вид *Cl.*, продуцент сильного экзотоксина, патогенен для человека и животных; ранее его относили к типам А и В *Cl. botulinum*

- *Cl. perfringens* - вид *Cl.*, основной этиологический агент газовой гангрены (*Cl. perfringens* типа А), может вовлекаться в патогенез энтеритов, острых аппендицитов, пищевых токсикоинфекций и послеродового сепсиса; *Cl. perfringens* типа А о *Cl. welchii* о палочка газовой гангрены

- *Cl. septicum* - вид *Cl.*, этиологический агент злокачественных отёков у животных и острого аппендицита у человека; также выделяют из ран о палочка *Гона-Сакса* о *vibrion septique*

- *Cl. tetani* - вид *Cl.*, возбудитель столбняка; продуцент мощного экзотоксина, нейротоксичного для человека и животных о столбнячная палочка

- *Cl. welchii* - см. *Cl. perfringens Coccidioides* - монотипный род грибов, единственный вид которого - *C. immitis* - вызывает кок-цидиоидомикоз

Conidiobolus - род грибов, представленный 2 видами: *C. coronatus* и *C. incongruus*; выделяют у человека при базидиоболярном энтомофторакомикозе

Coronaviridae - семейство плеоморфных РНК-со-держущих вирусов среднего размера, некоторые являются возбудителями ОРВИ; отличаются от миксовирусов наличием на поверхности характерных бахромчатых ворсинок, похожих на корону; включает один род *Coronavirus*

Corynebacterium - род неподвижных, как аэробных, так и анаэробных, неравномерно окрашивающихся грамположительных кислотнеустой-

чивых палочек семейства *Corynebacteriaceae*; иногда возможно наличие гранул в цитоплазме и булавовидных вздутий, "щёлкающее" деление приводит к угловому или палисадному расположению клеток; типовой вид - *C. diphtheriae* (палочка Клёбса-Лёффлера) - возбудитель дифтерии, синтезирует мощный экзотоксин, повреждающий различные ткани

Coxiella - род фильтрующихся микроорганизмов порядка *Rickettsiales*, включающий мелкие короткие палочки или кокковидные грамотрицательные клетки; типовой вид *C. burnetii* - возбудитель Q-лихорадки человека

Cryptococcus - род дрожжеподобных грибов, размножающихся почкованием; типовой вид *C. neoformans* - возбудитель криптококкоза

Cryptosporidium - род паразитических простейших - кокцидий семейства *Cryptosporiidae* (под-порядок *Eimeriina*), инфицирующих эпителиальные клетки ЖКТ позвоночных; бурно размножается в организме человека при иммунодефицит-ных состояниях

Eikenella - род грамотрицательных, факультативно анаэробных палочковидных бактерий (иногда образуют короткие нити); неподвижны (на поверхности плотных сред могут проявлять "дёргающуюся" подвижность). Достаточно часто выделяют из микробных ассоциатов при абсцессах головы, шеи, органов брюшной полости. Реже регистрируют моноинфекции - септицемии (особенно после удаления зубов у лиц с иммунодефицитами и наркоманов), эндокардиты, пневмонии, послеоперационной инфекции и др. Типовой вид - *E. mrrrodens*

Entamoeba - род амёб, паразитирующих в толстой кишке; *E. histolytica* является единственным облигатным патогеном рода, вызывающим тропическую (амёбную) дизентерию, амёбиаз печени

Enterococcus - род бактерий семейства *Streptococcaceae*, включающий грамположительные кокки; в мазках из культур, выращенных на жидких средах, располагаются парами или короткими цепочками. Типовой вид - *E. faecalis*. Сапрофиты и паразиты; обитают в кишечнике различных позвоночных; у человека вызывают нагноения ран, бактериемии и поражения моче-выводящей системы. Ранее микроорганизмы систематизировали как стрептококки группы D (некоторые также реагируют с антисыворотками к группе Q)

Enterovirus - род вирусов семейства *Picornaviridae*, включает полиовирусы 1-3 типов, Коксаки вирусы А и В, ЕСНО-вирусы и энтеровирусы

Epidermophyton - род распространённых паразитических грибов, не способных, в отличие от не менее распространённых грибов рода *Trichophyton*, поражать волосяные фолликулы • *E. floccosum* - возбудитель паховой дермато-фитии и эпидермофитии стоп

Erysipelothrix - род бактерий семейства *Corynebacteriaceae*, паразитирующих у рыб, птиц

и млекопитающих; типовой вид - *E. rhusiopathiae*, возбудитель рожи и септицемии свиней, эризипелоида человека и септицемии мышей и других грызунов; инфекции обычны при частом контакте с рыбой

Escherichia - род аэробных или факультативно анаэробных бактерий, выделяемых из фекалий; иногда патогенны для человека, вызывают энтерит, перитонит, цистит и другие заболевания; типовой вид - *E. coli* (кишечная палочка), обычный обитатель кишечника позвоночных и человека, широко распространена в природе, часто вызывает урогенитальные инфекции и диареи у детей

Exophiala - род патогенных грибов, имеющих тёмные паутинообразные конидиофоры с одноили двуклеточными антелоконидиями; возбудители мицетомы и феогифомикоза (тёмного микоза); при мицетоме чёрные гранулы образуются в подкожных абсцессах; при феогифомикозе склеро-ции выявляют во всех поражённых тканях

Histoplasma - монотипный род диморфных паразитических грибов

- *H. capsulatum* - возбудитель гистоплазмоза млекопитающих и человека

Kingella - род неподвижных спорообразующих бактерий семейства *Neisseriaceae*, включающих грамотрицательные кокки; для роста нуждаются в повышенном содержании углекислого газа

• *K. indologenes* - вид вызывающий поражения глаз и эндокардиты (при наличии протезов сердечных клапанов) у человека

- *K. kingae* - вид вызывающий эндокардиты у человека; *устар. Moraxella kingii*

Klebsiella - род бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, включающий грамотрицательные, капсулированные одиночные, парные либо образующие короткие цепочки палочки; типовой вид *K. pneumoniae*

• *K. pneumoniae* (*Фридлэндера* палочка) - встречаются в ЖКТ человека и животных, а также в составе микробных ассоциатов при различных инфекциях

- *Klebsiella pneumoniae* подвид *ozaenae* - предположительный возбудитель озоны

Lactobacillus - род бактерий семейства *Lactobacillaceae*, содержащий плеоморфные грамположительные палочки или коккобациллы; в процессе утилизации глюкозы по крайней мере половина конечного продукта - молочная кислота; некоторые организмы являются паразитами многих теплокровных животных, включая людей, но редко патогенны; типичный представитель - *L. delbrueckii* о лактобактерии о молочнокислая бактерии

Lactococcus - род бактерий семейства *Streptococcaceae*, включающий грамположительные кокки; в мазках располагаются парами или короткими цепочками. Типовой вид - *L. lactis*. Возможно, патогенны для человека

Legionella - род грамотрицательных бактерий, типовой вид - *L. pneumophila*, возбудитель болезни легионеров

- *L. bozemanii* - вид *L.*, вызывающий пневмонию у человека

• *L. micdadei* (*pittsburgensis*) - вид *L.*, вызывающий питтсбургскую пневмонию - разновидность болезни легионеров о агент питтсбург-ской пневмонии

Leishmania - род простейших жгутиковых семейства *Trypanosomatidae*, виды которых (*L. braziliensis*, *L. donovani*, *L. tropica*) не различимы морфологически, но идентифицируются серологически, по хозяину-москиту, географии распространения и клиническим проявлениям вызываемой инфекции; названы в 1903 г. в честь *Лейшмена* (по предложению *Росса*). Отсутствие

или подавление клеточных иммунных реакций хозяина - важный фактор в индукции диффузного кожного лейшманиоза

- *L. aethiopica* - эфиопская *L.*, африканский вид, вызывающий кожный лейшманиоз; резервуар инфекции - скальные даманы (жиряки) *Procavia capensis* и *Heterohyrax brucei*; в Эфиопии и Кении - древесные даманы *Dendro-hyrax arboreus* и гигантские крысы *Cricetomys gambianus*; переносчики - москиты *Phlebotomus longpipes* и *P. pedifer*; вызывают кожный лейшманиоз 3 типов: классический азиатский лейшманиоз, лейшманиоз слизистых оболочек и кожи, диффузный лейшманиоз кожи; изъязвление запоздалое или отсутствует, заживление язвы затягивается до 3 лет

- *L. braziliensis* подвид *braziliensis*, *L. braziliensis* подвид *guyanensis*, *L. braziliensis* подвид *pana-mensis* - возбудители кожно-слизистого лейшманиоза; заболевание вариабельно по течению, эндемично для Центральной и Южной Америки; ограничивается кожей и слизистыми оболочками

- *L. donovani*

- *L. major*, *L. tropica* подвид *major* - вид *L.*, ответственный за зоонозный кожный лейшманиоз в средиземноморском регионе, Малой Азии, южной и центральной Азии; резервуар среди животных - земляные суслики *Rhombomys opimus*, а также некоторые другие грызуны; переносчики - песчаные москиты *Phlebotomus papatasi*, *P. duboscqi* и *P. salehi*

- *L. mexicana* подвид *amazonensis* - распространённая форма *L. mexicana* в бассейне Амазонки (Боливия, Бразилия, Колумбия, Эквадор и южная Венесуэла); резервуар инфекции - различные лесные грызуны; характерна дис-семинированная форма без поражения носа и гортани, редко излечивается самопроизвольно; переносчик - москит *Lutzomyia flaviscutellata*
- *L. mexicana* подвид *garnhami* - подвид *L. mexicana*, обнаруженный в западной Венесуэле; вызывает единичные или множественные поражения у людей, излечивается самопроизвольно примерно за 6 мес; вероятный переносчик - москит *Lutzomyia townsendi*

- *L. mexicana* подвид *mexicana* - подвид *L. mexicana*, известный в Мексике, Гватемале; возбудитель кожного лейшманиоза, называемого каучуковой язвой (возникает обычно у сборщиков каучука и лесорубов); переносчик - москит *Lutzomyia olmeca*

- *L. mexicana* подвид *pifanoi* - штамм *L. mexicana*, некоторыми авторами, считающими его возбудителем диффузной и диссеминированной форм лейшманиоза, рассматривается как отдельный вид; в настоящее время признаётся, что некоторые виды и подвиды *L.* вызывают сходные формы диссеминированного лейшманиоза (*L. mexicana amazonensis*, *L. aethiopica*)

- *L. mexicana* подвид *venezuelensis* - подвид *L. mexicana*, распространённый в Венесуэле; проявляется возникновением безболезненных узелковых единичных поражений, иногда протекает в виде диссеминированного кожного лейшманиоза, излечиваемого самопроизвольно; аналогичное заболевание обнаружено у лошадей

- *L. peruviana*, *L. uta* - виды *L.*, патогенные для человека в высокогорных долинах Анд (Перу и Боливия) и Кордильер (США); причина отдельной формы кожного лейшманиоза Нового Света, называемого кожно-слизистым лейшманиозом

- *L. tropica* подвид *tropica* (*L. minor*), *L. tropica* подвид *minor* - возбудитель антропонозного кожного лейшманиоза

Leptospira - род аэробных бактерий отряда *Spirochaetales*, включающий тонкие, плотно скрученные в спираль организмы; типовой вид *L. interrogans* представлен более чем 100 паразитирующими или сапрофитными серологическими вариантами

Leuconostoc - род бактерий семейства *Streptococ-caceae*, включающий грампозитивные неподвижные споронеобразующие сферические, овальные или, реже, палочковидные микроорганизмы; типовой вид - *L. mesenteroides*. Сапрофиты или условно-патогенные паразиты; способны вызывать пищевые токсикоинфекции, бактериемии, эндокардиты, пневмонии, менингиты у детей и лиц с иммунодефицитами

Listeria - род паразитических бактерий (семейство *Corynebacteriaceae*), включающий небольшие коккоподобные грамположительные палочки; присутствуют в испражнениях человека и животных, навозе; типовой вид - *L. monocytogenes*

Lyssavirus - род вирусов семейства *Rhabdoviridae*, включает группу вируса бешенства

Madurella [Madura (Индонезия), остров в Яванском море] - род грибов, включающий возбудителей мадуромикозов

Malassezia - род грибов; *M. furfur* - возбудитель разноцветного лишая

Micrococcus - род бактерий семейства *Micrococca-ceae*, включающий грамположительные кокки, располагающиеся беспорядочными массами; сап-рофиты или непатогенные паразиты; типовой вид рода - *M. luteus*

Microsporium - род патогенных грибов, возбудителей дерматомикозов

Mobiluncus - род анаэробных грамотрицательных споронеобразующих бактерий; представлен тонкими искривлёнными палочками с заострёнными концами; располагаются одиночно либо парами в виде крыла чайки. Отношение к окраске по *Гралу* переменное - могут окрашиваться и негативно, но структура клеточной стенки характерна для грамположительных бактерий. Подвижны (латеральные или субполярные жгутики); хемоорганотрофы, метаболизм ферментативный, каталаза- и индол-отрицательны. Пато-генность остаётся недостаточно изученной, но микроорганизмы часто выделяют при вагинитах, что даёт основание подозревать их участие в воспалительных процессах мочеполовой системы. Типовой вид - *M. curtisii*

Moraxella - род облигатных аэробных неподвижных грамотрицательных бактерий, представленный короткими диплобациллами или диплококк-ковидными формами; паразиты слизистых оболочек человека и животных; типовой вид *M. lacunata* - возбудитель конъюнктивита у человека; в настоящее время включает представителей рода *Branhamella*

Morbillivirus - род вирусов семейства *Paramyxo-viridae*, включающий возбудителей кори, чумы собак и рогатого скота

Mortierella - род грибов класса *Phycomycetes* (*Zy-gomycetes*) семейства *Mucoraceae*; широко распространён в природе, иногда вызывает зигоми-коз у человека

Mucor - род грибов класса *Phycomycetes* (семейство *Mucoraceae*), некоторые виды - возбудители мукомикозов (фикомикозов) человека

Mycobacterium - род аэробных неподвижных грам-положительных палочковидных бактерий семейст-

ва *Mycobacteriaceae*; включает паразитические и сапрофитные виды; типовой вид - *M. tuberculosis*

- *M. avium-intracellulare* - вид *M.*, возбудитель диссеминированных инфекций у лиц с иммунодефицитами

- *M. bovis* - вид *M.*, возбудитель туберкулёза крупного рогатого скота и человека

- *M. fortuitum* - вид *M.*, возбудитель гнойных воспалений и абсцессов
- *M. gordonae* - вид возбудитель спорадических поражений кожных покровов после травм
- *M. kansasii* - вид *M.*, возбудитель туберку-лёзоподобных лёгочных заболеваний и инфекций других органов
- *M. leprae* - вид *M.*, возбудитель проказы» Хансена палочка
- *M. marinum* (*M. balnei*) - вид *M.*, возбудитель бассейновой гранулёмы
- *M. scrofulaceum* - вид *M.*, частый возбудитель цервикального аденита у женщин и детей
- *M. tuberculosis*- вид *M.*, возбудитель туберкулёза человека » Коха палочка
- *M. ulcerans* - вид *M.*, возбудитель язвенных поражений кожных покровов у человека
- *M. xenopi* - вид *M.*, возбудитель спорадических поражений кожных покровов после травм

Mycoplasma - род аэробных или факультативно анаэробных грамотрицательных, не имеющих истинной клеточной стенки, но обладающих трёхслойной клеточной мембраной бактерий семейства *Mycoplasmataceae*; некоторые виды патогенны для человека; типовой вид - *M. mycoides*

- *M. hominis*- вид *M.*, выделяемый из мочеполового тракта и прямой кишки человека
- *M. mycoides* - вид *M.*, включающий 2 подвида: *M. mycoides* подвид *mycoides* и *M. mycoides* подвид *capri* - возбудителей плевропневмонии коз и крупного рогатого скота; *M. mycoides* - типовой вид рода *M.*
- *M. pneumoniae* - вид вызывающий первичную атипичную пневмонию человека » агент *Итона*

Naegleria - род свободноживущих амёб, выделяемых из грунта, канализационных стоков и воды

- *N. fowleri* - возбудитель первичного менин-гоэнцефалита человека; инфицирование обычно происходит в бассейнах (хлорирование воды не оказывает влияния на жизнедеятельность паразита)

Neisseria - род аэробных или факультативно анаэробных грамотрицательных диплококков с выпрямленными смежными краями (семейство *Neisseriaceae*); типовой вид *N. gonorrhoeae*

- *N. gonorrhoeae* - вид вызывающий гонорею и другие инфекции у человека » гонококк
- *N. meningitidis* - вид *N.*, возбудитель менин-гококкового менингита; разделён на группы А, В, С и D по специфичности капсульных полисахаридов » менингококк

Nocardia - род аэробных неподвижных актиноми-цет семейства *Actinomycetaceae*, занимающих

промежуточное положение между бактериями и грибами, большая часть - сапрофиты; могут вызывать инфекции человека и животных; типовой вид - *N. farcinica*

- *N. asteroides* - вид возбудитель нокарди-оза и, возможно, мицетомы у человека
- *N. farcinica* - вид *N.*, очень близок к *N. aste-roides*, иногда вызывает системный нокарди-оз человека

- *N. mediterranei* - средиземноморская *N.*, продуцент рифамицина
- *N. orientalis* - восточная *N.*, продуцент ван-комицина
- *N. otitidis-caviarum* (*N. caviae*) - вид *N.*, очень близок к *N.asteroides*, возбудитель мицетомы человека

Oncovirinae - подсемейство вирусов семейства *Retroviridae*, образовано РНК-содержащими опухолевыми вирусами, имеющими РНК-зависимые ДНК-полимеразы (обратные транскриптазы), способные интегрироваться в ДНК клеток хозяев, нарушая функции клеточного генома » онкорнавирусы

Ophthalmia neonatorum - см. бленнорея

Orbivirus - род вирусов позвоночных (семейство *Reoviridae*), способных размножаться в организме насекомых, включает патогенных для человека возбудителей клещевой лихорадки Колорадо и аргентинской геморрагической лихорадки; отличается антигенными признаками от других групп вирусов и характеризуется относительно большими кольцеобразными капсомерами

Orthomyxoviridae - семейство вирусов, образованное 3 группами вирусов гриппа типов А, В и С; выделен один род *Influenzavirus*, представленный вирусами типов А и В; предполагают, что вирус гриппа типа С относится к отдельному роду

Orthopoxvirus - род вирусов семейства *Poxviridae*, включающий возбудителей обыкновенной оспы, коровьей оспы, эктромиелии, оспы обезьян и кроликов

Papovaviridae - семейство мелких, Аг-разнородных вирусов, включает вирусы родов *Papillomavirus* и *Polyomavirus*, реплицирующиеся в ядрах заражённых клеток; большинство - факультативные онкогены

Paracoccidioides - монотипный род диморфных патогенных грибов; *P. brasiliensis* - возбудитель паракокцидиоидомикоза; растёт в виде больших сферических клеток, несущих одну или несколько почек, иногда покрывающих всю поверхность организма » *Blastomyces brasiliensis*

Paramyxoviridae - семейство РНК-содержащих вирусов, морфологически сходных с вирусом гриппа; включает 3 рода: *Paramyxovirus*, *Morbil-livirus* и *Pneumovirus*; все представители способны индуцировать клеточное слияние и образовывать эозинофильные цитоплазматические включения

Paramyxovirus - род вирусов семейства *Paramyxoviridae*, включающий возбудители болезни

Ньюкасл, эпидемического паротита, парагриппа 1-5 типов; все представители рода обладают ге-магглютинирующей и гемадсорбционной активностями

Parvoviridae - семейство мелких вирусов, содержащих однонитевую ДНК; репликация и сборка вирионов происходит в клеточном ядре; выделяют 3 рода: *Parvovirus*, *Densovirus* и род, включающий ассоциирующиеся с тканями миндалин сателлитные вирусы (неофициально называемые *Adenosatellovirus*)

Parvovirus - род вирусов семейства *Parvoviridae*, типичный вид - вирус крыс Килхэм; представители рода автономно реплицируются в любых чувствительных клетках; род не содержит патогенные для человека виды; ряд авторов относит к роду и возбудитель острого гастроэнтерита человека (агент Норволк)

Pasteurella - род мелких аэробных или факультативно анаэробных неподвижных грамотрицательных палочек семейства *Brucellaceae*; паразиты животных и человека; типовой вид - *P. multocida*; ранее в род включали возбудителей чумы и туляремии человека, отнесённых в настоящее время к родам *Yersinia* и *Francisella*

- *P. multocida* - вид *P.*, возбудитель холеры диких птиц и геморрагической септицемии у теплокровных; типовой вид рода *P.*

- *P. pestis* - см. *Yersinia pestis*

- *P. pseudotuberculosis* - см. *Yersinia pseudotuberculosis*

- *P. tularensis* - см. *Francisella tularensis* *Peptococcus* - род неподвижных грамположитель-

ных анаэробных кокков. Облигатные паразиты слизистых оболочек человека; способны вызывать гнойные поражения органов дыхания, кишечника, мочеполовой системы, костей и суставов. Типовой вид - *P. niger*

Peptostreptococcus - род неподвижных грамположительных анаэробных кокков и коккобацилл. Облигатные паразиты слизистых оболочек человека и млекопитающих; способны вызывать гнойные поражения органов дыхания, кишечника, мочеполовой системы, костей и суставов; типовой вид - *P. anaerobius*

Phialophora - род грибов, 4 вида которого являются возбудителями хромомикоза: *P. verrucosa*, *P. pedrosoi*, *P. compacta* (в настоящее время отнесены к роду *Fonsecaea*), *P. dermatitidis*; другой вид - *P. jeanselmei*, является возбудителем мицетомы (в настоящее время отнесён к роду *Exophiala*)

Picornaviridae - семейство очень мелких вирусов, не имеющих капсида, с сердцевинной из одноцепочечной РНК; включает полиовирусы, вирусы Коксаки и ЕСНО-вирусы

pityriasis versicolor - разноцветный (отрубевидный) лишай, поверхностный микоз; характерно высыпание рыжевато-коричневых или коричневых отрубевидных бляшек на коже туловища, часто кажущихся белыми на фоне гиперпигментиро-

ванной кожи, подвергнувшейся воздействию УФ-облучения; возбудитель - *Malassezia furfur* *Plasmodium* - род семейства *Plasmodiidae* (отряд *Haemosporina*, подкласс *Coccidia*); паразиты крови позвоночных, содержат факторы, вызывающие малярию; неполовой цикл проходит в печени и эритроцитах позвоночных, половой цикл - в комарах

- *P. falciparum* - вид *P.*, возбудитель трёхдневной злокачественной малярии

- *P. malariae* - вид *P.*, возбудитель четырёхдневной малярии

- *P. ovale* - вид *P.*, возбудитель относительно редкой формы малярии; она напоминает инфекцию *P. vivax* в ранней стадии, но приводит к изменению клеточной мембраны эритроцитов с образованием бахромчатого контура; эритроциты часто принимают овальную форму

- *P. vivax* - вид *P.*, основного возбудителя малярии у человека

Plesiomonas - род подвижных факультативно анаэробных грамотрицательных бактерий семейства *Vibrionaceae*. Выделяют от рыб, других гидробионтов и различных млекопитающих, а также при диареях и оппортунистических поражениях у человека. Единственный (типовой) вид - *P. shigelloides*

Pneumocystis carinii - организм, систематически находящийся между грибами и простейшими; часто наблюдают в виде скоплений внутри круглых цистоподобных структур с выраженной стенкой; возбудитель пневмоцистоза » пневмоцисты

Pneumovirus - род вирусов семейства *Paramyxoviridae*; включает РС-вирус, патогенный для человека

Porphyromonas - род пигментообразующих неподвижных споронеобразующих грамотрицательных палочковидных бактерий, близких к бактероидам. Представлены короткими палочками; при росте на КА образует коричнево-чёрные колонии. В настоящее время систематизировано 3 вида - *P. asaccharolytica* (типовой вид), *P. endo-dontalis* и *P. gingivalis*, выделенные из ротовой полости млекопитающих

Poxviridae - семейство вирусов с большим ДНК-содержащим комплексом, имеют аффинитет к кожным тканям; патогенны для человека и животных; реплицируются в цитоплазме заражённых клеток; выделяют 6 родов: *Orthopoxvirus*, *Avipoxvirus*, *Capripoxvirus*, *Leporipoxvirus*, *Parapoxvirus* и *Entomopoxvirus*

Prevotella - род полиморфных неподвижных споронеобразующих грамотрицательных палочковидных бактерий, близких к бактероидам. Хемоорганотрофы, облигатные анаэробы, проявляют умеренную сахаролитическую активность, некоторые виды вызывают поражения у человека. Основные продукты ферментации углеводов - сукцинаты и ацетаты. Типовой вид - *Prevotella melaninogenica*

- *P. bivia* - вид *P.*, выделяемый при инфекциях брюшной полости и мочеполовой системы

- *P. disiens* - вид *P.*, выделяемый из ротовой полости, а также при бактериальных поражениях брюшной полости и мочеполовой системы

- *P. melaninogenica* - вид *P.*, выделяемый из ротовой полости, фекалий, мягких тканей, дыхательных путей, мочеполовой системы, кишечника; обычно патогенен лишь в составе микробных ассоциаций

- *P. oralis* - вид *P.*, выделяемый из ротовой полости; может вызывать поражения ротовой полости, верхних отделов дыхательных путей и мочеполовой системы; обычно патогенен лишь в составе микробных ассоциаций

- *P. oris* - вид *P.*, выделяемый из десневых карманов, крови, биологических жидкостей, а также при общих инфекциях, абсцессах лица, шеи, области грудной клетки и при раневой инфекции

Propionibacterium - род грамположительных бактерий-сапрофитов семейства *Propionibacteriaceae*; обитает в молочных продуктах, на коже и в кишечнике; может быть патогенным, типовой вид - *P. freudenreichii*

Proteus 1) *уsmap.* род класса *Sarcodina*, в настоящее время классифицируется как *Amoeba*; 2) род подвижных грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, обитающих в фекальных и разлагающихся органических массах; типовой вид - *P. vulgaris*

- *P. vulgaris* - вид *P.*, выявляемый в гниющих массах, а также абсцессах; некоторые штаммы агглютинируются типовыми сыворотками, имеющими значение в диагностике риккетсиозов

Providencia - род подвижных споронеобразующих аэробных или факультативно анаэробных грамотрицательных палочек-перитрихов семейства *Enterobacteriaceae*; не разлагают

мочевину, не образуют сульфидов; синтезируют индол и культивируются на цитратной среде *Сйммонса*; не декарбоксилируют лизин, аргинин и орнитин; их выявляют в образцах, полученных из внекишечных источников, обычно при инфекциях мочевого тракта; иногда могут выделяться при небольших вспышках или спорадических случаях диарейных инфекций; типовой вид - *P. alcalifaciens*

• *P. alcalifaciens* - вид *P.*, выявляемый в кишечных микробных ценозах, обычно при инфекциях мочеполового тракта; могут выделяться при спорадических случаях и локальных вспышках диарейных инфекций

• *P. stuartii* - вид *P.*, выделяемый при инфекциях мочеполовой системы и при спорадических случаях или локальных вспышках диарейных инфекций

Pseudoallescheria boydii (устар. *Allescheria* и *Petriellidium boydii*) - возбудитель мицетомы

Pseudomonas - род подвижных грамотрицательных строго аэробных бактерий семейства *Pseudomonadaceae*, распространённых в почве, пресной и морской воде; некоторые виды патогенны для растений, другие иногда патогенны

для животных; типовой вид - *P. aeruginosa*, возбудитель синегнойной инфекции

Pulex irritans - блоха человеческая; вид кровососущих насекомых отряда *Aphaniptera*; эктопаразит человека и собаки, может переходить на других животных; переносчик возбудителя чумы, промежуточный хозяин некоторых гельминтов животных, встречающихся у человека (тыкво-видный цепень, крысиный цепень, диروفиларии)

Reoviridae (Respiratory Enteric Orphan + viridae) - семейство вирусов, содержащих двухцепочечную фрагментированную, устойчивую к эфирам РНК; выделено 6 родов: *реовирусы*, *орбивирусы*, *рота-вирусы* и *вирусы цитоплазматического полигид-роза*, а также 2 группы растительных реовирусов

Reovirus - род вирусов семейства *Reoviridae*, разделённых на 3 Аг-разнородных группы по наличию комплементфиксирующего Аг; выделены от детей, страдающих умеренной лихорадкой и иногда диареей, а также не имеющих внешних проявлений инфекции; хозяева - позвоночные, но вирус не способен реплицироваться в их клетках » *Orthoreovirus*

Retroviridae - семейство вирусов, напоминающих ортомиксовирусы по форме и размерам, но более сложно устроенных; обладают РНК-зависимыми ДНК-полимеразами (обратные транскриптазы) и образуют 3 подсемейства: *Oncovirinae* (РНК-содержащие опухолевые вирусы), *Spumavirinae* ("пенящие" вирусы) и *Lentivirinae* (медленные вирусы, вирусы висна и мэди)

Rhabdoviridae - рабдовирусы; семейство палочко-или пулевидных РНК-содержащие вирусов позвоночных, насекомых и растений, включает вирус бешенства; выделено 2 рода: *Vesiculovirus* и *Lyssavirus*

Rhinosporidium seeberi - дрожжеподобный неклассифицированный гриб; возбудитель риноспориоза

Rhinovirus - род кислотнеустойчивых вирусов семейства *Picornaviridae*, включает возбудителей острых респираторных инфекций человека и ящура крупного рогатого скота; выделено более 100 Аг-типов, классифицируемых как М-штаммы (культивируемые на клетках почек макак резусов) и Н-штаммы (растущие только в культурах клеток человека)

Rhizopodea (Rhizopoda) - корненожки. Класс простейших, включающий паразитических амёб человека, имеющих псевдоподии различной формы, но без аксиальных филаментов

Rickettsia - род грамотрицательных бактерий (семейство *Rickettsiaceae*), облигатных внутриклеточных паразитов; обычно обнаруживают в цитоплазме клеток у вшей, блох и клещей; патогенные виды поражают человека и других животных; типовой вид - *R. prowazekii*

- *R. akari* - вид *R.*, возбудитель везикулёзно-го риккетсиоза человека

- *R. australis* - вид *R.*, возбудитель пятнистой лихорадки (клещевой риккетсиоз), в сыворотке

пациента содержатся АТ, перекрёстно реагирующие с *R. rickettsii*, *R. prowazekii* и другими *R.*

- *R. conorii (R. conori)* - вид *R.*, возбудитель марсельской лихорадки человека

- *R. prowazekii* - вид *R.*, возбудитель сыпного тифа

- *R. rickettsii* - вид *R.*, возбудитель пятнистой лихорадки Скалистых Гор, южноафриканской клещевой лихорадки, экзантематозного тифа Сан-Паулу (Бразилия), лихорадки Тобия (Колумбия), пятнистой лихорадки Минас Жераис (Бразилия) и мексиканской пятнистой лихорадки

- *R. tsutsugamushi* - вид *R.*, возбудитель болезни цуцугамуши и кустарникового тифа » акамуши » лихорадка кедани » лихорадка речная японская » лихорадка клещевая индийская » лихорадка клещевая суматранская » лихорадка Пескадорских островов » тиф джунглей

risus sardonicus, risus caninus - собачий оскал, сардоническая улыбка; подобие оскала, вызванное спазмом лицевых мышц, возникающее чаще при столбняке » собачий спазм » сардоническая гримаса » сардонический смех

Rochalimaea - род бактерий семейства *Rickettsiaceae*, близок роду *Rickettsia* по морфологии, окрашиванию красителями, способу передачи хозяину; типовой вид *R. quintana* - возбудитель волынской (окопной) лихорадки

Rotavirus - род (или группа) вирусов семейства *Reoviridae*; включает возбудителей диареи человека (предположительно, способны вызывать болезнь *Крона*) » вирус гастроэнтерита типа В

Rubivirus - род вирусов семейства *Togaviridae*, включает возбудителя краснухи » вирус краснухи

Salmonella - род аэробных и факультативноанаэробных грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*; патогенны для людей и животных, типовой вид - *S. choleraesuis*

- *S. choleraesuis* - вид встречается у свиней, иногда вызывает острые пищевые токсикоинфекции и лихорадку кишечного генеза у людей

- *S. enterica* - серовар *S. choleraesuis*, возбудитель пищевых токсикоинфекций у людей - » *Гёртнера* палочка

- *S. hirschfeldii* - серовар *S. choleraesuis*, возбудитель паратифа С, характеризующегося лихорадкой септического типа, частым развитием артрита, различных абсцессов и холецистита » *Хйршфельдта* палочка

- *S. paratyphi A* - серовар *S. choleraesuis*, возбудитель паратифа А, характеризующегося острым началом, выраженным ознобом и обильной сыпью » *Брибна-Кайзера* палочка

• *S. schotmulleri* - серовар *S. choleraesuis*, возбудитель паратифа В, характеризующегося особенно острым началом и обильной сыпью, иногда розеолезно-папулезно-петехиальной - » Шоттмюллера палочка

• *S. typhi* - серовар *S. choleraesuis*, возбудитель брюшного тифа; выделяется от больных, из заражённой воды и пищевых продуктов » Эбер-та-Гаффки палочка » тифозная палочка

• *S. typhimurium* - серовар *S. choleraesuis*, вызывающий пищевые отравления у людей » - палочка мышинного тифа » Бреслау палочка

Sarcocystis - род паразитических простейших, относящихся к классу споровиков; вместе с родами *Eimeria*, *Isospora* и *Toxoplasma* отнесены к семейству *Sarcocystidae*, в составе подотряда *Eimeriina* подкласса *Coccidia* класса *Sporozoea* типа *Apicomplexa*

• *S. hominis* - вид *S.*, известный как возбудитель инфекции 2 видов: коров как промежуточных хозяев, являющихся источником тканей, поражённых цистами, и человека, как конечного хозяина, в котором паразит присутствует в виде гамогоний и спорогоний, обнаруживаемых в клетках слизистой оболочки тонкой кишки; рогатый скот заражается от человека через фекалии, содержащие спо-роцисты *S. hominis*; жизненный цикл и умеренное течение болезни определяются свойствами *S. hominis*, болезнь достаточно широко распространена в Европе, северной и западной Африке, Индонезии и Южной Америке

• *S. suis* - вид *S.*, поражающий свиней - промежуточных хозяев, являющихся источником инфицированных цистами тканей, заразных для человека - конечного хозяина; у человека присутствуют в виде гамогоний и спорогоний, обнаруживаемых в клетках слизистой оболочки тонкой кишки; рогатый скот инфицируется через фекалии человека, содержащие спороцисты *S. hominis*

Sarcodina - саркодовые. Надкласс простейших (подтип *Sarcomastigophora*), обладающих псевдоподиями для передвижения

Serratia - род подвижных (перитрихи) факультативно анаэробных палочек. Типовой вид - *S. marcescens*. Бактерии распространены повсеместно в окружающей среде; их выделяют из почвы, воды, воздуха, растений, различных предметов, испражнений насекомых и грызунов

• *S. marcescens* вызывает госпитальные бактериемии, пневмонии и инфекции мочевыводящих путей, хирургических ран и гнойничковые поражения кожи

Shigella - род грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, паразиты ЖКТ приматов и человека, могут вызывать дизентерию: типовой вид рода - *S. dysenteriae*

• *S. boydii* - вид *S.*, редко встречающийся возбудитель бактериальной дизентерии

• *S. dysenteriae* - вид *S.*, возбудитель дизентерии, типовой вид рода *S.* » Григбрюева-Шйга-Крузе палочка

• *S. flexneri* - вид *S.*, обычный возбудитель эпидемий дизентерии и гастроэнтерита у детей » Флекснера палочка

• *S. sonnei* - вид *S.*, возбудитель лёгкой формы дизентерии и летней диареи детей » Збн-не палочка

Spirochaeta - род подвижных грамотрицательных свободноживущих, спирально закрученных па-

лочек порядка *Spirochaetales*; некоторые представители имеют заостренный или несущий жгутик конец тела; типовой вид - *S. plicatilis Sporothrix* - род диморфных несовершенных грибов, включает вид *S. schenckii*, возбудителя спо-ротрихоза

Spumavirus - род плохо изученных вирусов, вызывающих вакуолизацию ("вспенивание") поражённых клеток; патогенны для млекопитающих и приматов; подобно прочим ретровирусам содержат РНК-зависимую ДНК-полимеразу (обратную транскриптазу); члены подсемейства *Spumavirinae* (семейство *Retroviridae*) » «пенящие» вирусы

Staphylococcus - род грамположительных бактерий семейства *Micrococcaceae*, образующих характерные гроздья; обитают на коже, в кожных железах, на поверхности слизистых оболочек теплокровных, а также на различных пищевых продуктах; типовой вид - *S. aureus* (золотистый стафилококк, вызывающий фурункулёз, пиемию, остеомиелит, нагноение ран и пищевые отравления)

Streptobacillus - род грамотрицательных бактерий семейства *Bacteroidaceae*, патогенных для грызунов и прочих млекопитающих; типовой вид - *S. moniliformis*, этиологический агент хэйверхил-лской лихорадки и лихорадки укуса крыс

Streptococcus (стрептококки) - род грамположительных бактерий семейства *Streptococcaceae*; включает сферические или овоидные организмы, образующие пары или цепочки; некоторые виды патогенны; типовой вид - *S. pyogenes* » диплококк [синоним применим только в отношении *P. pneumoniae* (пневмококк), относимого ранее к роду *Diplococcus*]

- *S. mutans* - вид *S.*, связываемый с развитием кариозных поражений зубов
- *S. pneumoniae* - возбудитель долевой пневмонии, менингита, синуситов и прочих инфекций » *устар. Diplococcus pneumoniae* » пневмококк
- *S. pyogenes* - вид *S.*, вызывающий образование гнойных поражений и септицемий; типовой вид рода *S.*
- *S. viridans* - зеленеющий *S.* (термин употребляется не только в отношении определённого вида, но и группы α -стрептококков)

Togaviridae - семейство вирусов, включающее ар-бовирусы Аг-групп А и В и составляющее роды *Alphavirus*, *Flavivirus*, а также *Rubivirus* и *Pestivirus*

Toxoplasma gondii - вид простейших; внутриклеточные паразиты, не имеющие специфического хозяина, широко распространены среди позвоночных; начальный этап цикла размножения (приводящий к образованию ооцист) осуществляется исключительно среди различных кошачьих; пролиферативная стадия и образование тканевых цист осуществляются в других животных, инфицирующихся от кошек ооцистами; употребление заражённого мяса или трансплацентарная передача приводит к инфицированию *in utero*

Treponema - род анаэробных бактерий (отряд *Spirochaetales*), включает туго закрученные, образующие правильные или неправильные спирали клетки, не имеющие чётко выраженных протоплазматических структур; некоторые виды - патогены и паразиты человека и животных; типовой вид - *T. pallidum*

- *T. carateum* - вид *T.*, возбудитель пинты
- *T. pallidum* подвид *endemicum* - вид *T.*, возбудитель беджеля
- *T. pallidum* подвид *pallidum* - бледная трепонема, вид *T.*, возбудитель сифилиса человека

- *T. pallidum* подвид *pertenue* - вид *T.*, возбудитель фрамбезии

- *T. vincentii* - вид *T.*, возбудитель (в симбиозе с *F. necrophorum*) некротической ангины Суманов-ско-го-Венсана-Плаута » спирохета Венсана

Trichomonas - род паразитических простейших жгутиковых семейства *Trichomonadidae*, возбудителей трихомоноза (трихомониоза)

- *T. hominis* - комменсал толстой кишки; в больших количествах выделяют при диспептических расстройствах, очевидно играет определённую роль в осложнениях патологий толстой кишки у детей младшего возраста

- *T. tenax* - комменсал ротовой полости; обычно выделяют из зубных камней и кариозных дефектов зубов » *T. elongata*

- *T. vaginalis* - мочеполовая *T.*, выделяют из влагалища и мочеиспускательного канала женщин, мочеиспускательного канала и предстательной железы мужчин (единственные природные хозяева), возбудитель различных три-хомонадных поражений мочеполовой системы

Trichophyton - род патогенных грибов, возбудителей дерматофитозов человека и животных; виды могут быть антропофильными, зоофильными и геофильными; поражают волосы, кожу и ногти; определено от 20 до 30 видов, но возможны их вариации; выделяют 2 группы видов, характеризующиеся по их росту в волосах: 1) *endothrix*- виды, прорастающие из кожи в волосяные фолликулы, проникающие в волос и растущие в нём; образуют ряды артроспор в виде септированных гиф; не прорастают за пределы кутикулы волоса; 2) *ectothrix*- виды могут быть 2 типов: а) с большими спорами и б) с малыми спорами; в обоих случаях гриб растёт в волосяном фолликуле, окружает волосяной стержень, проникает в него, но продолжает расти как внутри, так и вокруг волосяного стержня

- *T. concentricum* - антропофильный вид *T.*, возбудитель черепицеобразного лишая

- *T. mentagrophytes* - зоофильный вид *T.*, с мелкими спорами, типа *ectothrix*, возбудитель микозов волос, кожи и ногтей; *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* - возбудитель эпидермофитии стоп человека

- *T. rubrum* - антропофильный вид *T.*, типа *endothrix*, возбудитель хронической руброфитии ногтей

- *T. schoenleinii* - антропофильный вид *T.*, типа *endothrix*, возбудитель фавуса

- *T. tonsurans* - антропофильный вид *T.*, типа *endothrix*, возбудитель эпидемического дерматофитоза

- *T. violaceum* - антропофильный вид *T.*, типа *endothrix*, возбудитель фавуса волосистой части головы

Trichosporon - род несовершенных грибов, членов микробного ценоза кишечника человека; *T. beige-lii* - возбудитель белой пьёдры (трихомикоза)

Trypanosoma - род жгутиковых семейства *Trypanosomatidae*, паразитов крови и тканей позвоночных; имеют промежуточных хозяев - кровососущих беспозвоночных (пиявки, клещи и насекомые), патогенные виды вызывают трипаносомоз у человека

- *T. brucei* подвид *brucei* - вид *T.*, возбудитель наганы - болезни травоядных в Западной Африке; природный резервуар - антилопы; переносится мухой цеце *Glossina morsitans*

• *T. brucei* подвида *gambiense* - подвида *T.*, возбудитель гамбийского, или хронического, трипаносомоза (западноафриканская сонная болезнь); переносится разновидностями мухи цеце, особенно *Glossinapalpalis* » *T. gambiense* » *T. hominis* » *T. ugandense*

• *T. brucei* подвида *rhodesiense* - подвида *T.*, возбудитель родезийского, или острого, трипаносомоза (восточноафриканская сонная болезнь); переносится мухой цеце *Glossina morsitans*; хозяином-резервуаром могут быть различные дикие животные » *T. rhodesiense*

• *T. cruzi* - вид *T.*, возбудитель южно-американского трипаносомоза » болезнь *Ша'гаса-Круза*

• *T. equiperdum* - возбудитель случной болезни («*dourine*»), повсеместно распространённой инфекции лошадей, передающейся половым путём

• *T. evansi* - вид *T.*, возбудитель сурры - болезни травоядных в азиатских странах и Индии; переносчик неизвестен, возможно, кровососущие мухи рода *Tabanus* (конские мухи); для лошадей смертельна. Сходное заболевание - *Mal de Caderas* - вызывает *T. evansi* подвида *equinum* в Южной Америке

Ureaplasma - род неподвижных грамотрицательных бактерий семейства *Mycoplasmataceae*; ранее микроорганизмы были известны под названием T-микоплазм; для роста нуждаются в мочевины и холестерине; выделяются у мужчин, страдающих негонококковыми уретритами и простатитами, у женщин - при инфекциях мочеполовой системы и нарушениях репродукции; типовой вид - *U. urealyticum*

Veillonella - род грамотрицательных бактерий семейства *Veillonellaceae*, условных патогенов ротовой полости, кишечного и дыхательного тракта человека и животных; типовой вид - *V. parvula*

Vibrio - род грамотрицательных бактерий семейства *Vibrionaceae*; некоторые представители - сапрофиты, обитающие в почве, либо в пресной

или морской воде, другие - паразиты и патогены; типовой вид - *V. cholerae*

• *V. alginolyticus* - вид *V.*, возбудитель раневых инфекций и заболеваний ушей, также может быть источником бактериемии у иммунологически скомпрометированных пациентов и лиц с тяжёлыми ожоговыми поражениями

• *V. cholerae* - вид *V.*, возбудитель холеры, образует растворимый экзотоксин (холероген), повышающий проницаемость эпителия кишечника; типовой вид рода *V.* » холерная запятая » *V. cholerae asiaticae*

• *V. fluvialis* - вид, схожий с некоторыми штаммами бактерий рода *Aeromonas*, возбудитель диарей у человека

• *V. furnissii* - аэрогенный вид *V.*, сходный с *V. fluvialis* (возбудитель диарейных инфекций и вспышек гастроэнтерита)

• *V. metschnikovii* - вид *V.*, сходный с холерным вибрионом; патогенен для кур и голубей

• *V. mimicus* - не разлагающий сахарозу вид *V.*, сходный с *V. cholerae*, выделен из каловых масс при диареях и инфекциях ушей человека

• *V. parahaemolyticus* - вид *V.*; может инфицировать съедобных моллюсков и вызывать гастроэнтериты человека

• *V. vulnificus* - вид *V.*, способный вызывать септицемию у пациентов с хроническими инфекциями, особенно с поражениями печени; может обуславливать раневые инфекции, часто наблюдаемые у людей, занимающихся обработкой моллюсков

Yersinia (иерсинии) - род грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*; включает подвижные и неподвижные палочки (неподвижны при 37 °С, 2 вида подвижны при температуре ниже 30 °С); спор и капсул не образуют, паразиты человека и животных; типовой вид - *Y. pestis*

• *Y. enterocolitica* - вид *Y.*, возбудитель иерси-ниоза у человека; выделяют из фекалий и лимфатических узлов больных и здоровых животных и человека, с предметов и продуктов, загрязнённых фекалиями, а также из трупов крупного рогатого скота, кроликов, зайцев, собак, морских свинок, обезьян, лошадей, свиней и овец

• *Y. pestis* - вид *Y.*, возбудитель чумы; передаётся человеку от крыс восточной крысиной блохой *Xenopsylla cheopis* » чумная палочка

• *Y. pseudotuberculosis* - вид *Y.*, возбудитель псевдотуберкулёза грызунов (редко человека) и иногда острого мезентериального лимфаденита » *Pasteurella pseudotuberculosis*

абортин - экстракт 15-20-суточной культуры *Brucella abortus bovis*; применяют для постановки кожных проб при диагностике бруцеллёза

абсцесс - 1. Ограниченное скопление гноя, возникающее при острой или хронической очаговой инфекции и приводящее к тканевой деструкции в очаге (нередко с перифокальным отёком) » гнойник 2. Полость, возникающая вслед-

ствие некротических процессов

• амёбный а. - содержащий амёбы участок тканевого некроза (в печени или другом органе) с жидким некротическим детритом (возникает обычно вследствие перенесённой амёбной дизентерии) » тропический а.

• газовый а. - а., содержащий газ, образовавшийся в результате жизнедеятельности *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* и других газообразующих микроорганизмов » газовый гангренозный абсцесс

автоклав - аппарат для стерилизации, действующим фактором которого является нагретый водяной пар под повышенным давлением » паровой стерилизатор

автоклавирувание - метод стерилизации при 121 °С при 1,2-1,5 атм

агаммаглобулинемия - отсутствие или резкое снижение уровня у-глобулинов сыворотки крови » гипогаммаглобулинемия

• Брутона а. - а., связанная с X-хромосомой; развивается у мальчиков вследствие дефекта гена *AGMXI*, отсутствуют зрелые В-лимфоциты и Ig всех изотипов; характерны постоянные инфекции (в особенности опасны бактериальные пневмонии и менингиты), необходимо постоянное введение антибиотиков и заместительное введение АТ

агар (малайск.) - смесь полисахаридов, получаемых из красных морских водорослей семейства *Rhodophyceae* (обычно рода *Gelidium*, в РФ - из водорослей *Ahnfeltia plicata*), после расплавления и охлаждения образует плотный гель; как основу питательных сред используют в микробиологии (также при гель-фильтрации, электрофорезе и аффинной хроматографии в биохимии и иммунологии) » агар-агар

- SS-a. - МПА, содержащий соли жёлчных кислот, лактозу, нейтральный красный и цитрат железа; применяют как селективную среду для выделения видов *Salmonella* и *Shigella*

- TCBS-a. - тиосульфат-цитрат-бромтимол-са-харозный а., высокоселективная среда для видов *Vibrio*; *V. cholerae* ферментирует сахарозу и образует жёлтые колонии; способна несколько ингибировать рост вибрионов

- "V" (*vaginalis*) а. - а. для выращивания гар-днерелл; в качестве основы содержит агар *Columbia* (Difco), протеозный пептон ? 3 (Difco), глюкозу и 5% человеческой крови, консервированной цитратом

- XLD-a. - а., включающий дрожжевой экстракт, лизин, ксилозу, лактозу и цитрат железа; используют как селективно-дифференци-ровочную среду для шигелл и сальмонелл

- *асцит-а.* - плотная среда, состоящая из питательного агара и стерильной асцитической жидкости; применяют для культивирования гонококков и менингококков

- *Борде-Жангу а.* - картофельно-глицериново-кровяной а., предложенный авторами (1906)

для культивирования бактерий рода *Bordetella*; его компоненты инактивируют продукты жизнедеятельности бактерий, тормозящих их рост

- *висмут-сульфитный а.* - строгоселективная и дифференциальная среда для выделения сальмонелл; бриллиантовый зелёный и сульфит висмута, входящие в состав среды, подавляют рост грамположительной флоры и некоторых энтеробактерий (в том числе шигелл). Сальмонеллы образуют H₂S из Fe₂SO₄, формируя тёмные колонии (иногда с металлическим блеском) и вызывая почернение первоначально зеленоватой среды под колониями

- *дезоксихолатный цитратный а.* - а., содержащий мясной перевар, пептон, лактозу, цитрат Na, цитрат аммонийного железа и нейтральный красный

- *дрожжевой а.* - плотная питательная среда для выращивания паразитических грибов, включающая дрожжевой экстракт; способствует спорообразованию и ингибирует вегетативный рост грибов

- *жёлчно-солевой а.* - а., содержащий 2% пептона, 0,5% жёлчных солей, 1% лактозы и индикатор нейтральный красный

- *картофельно-декстрозный а.* - а., дополненный водным экстрактом картофеля; плотная питательная среда для выращивания паразитических грибов; способствует быстрому появлению конидий и прочих спорулятивных форм, облегчающих идентификацию

- *Клйглера а.* - дифференциально-диагностическая среда для выявления бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, ферментирующих глюкозу и лактозу, а также образующих H₂S. Включает глюкозу, лактозу, феноловый красный и цитрат железа. Бактерии, ферментирующие глюкозу, закисляют среду, что приводит к её пожелтению; виды, инертные к лактозе, дают пожелтение только в глубине среды; виды, образующие H₂S, дают почернение среды (за счёт образования сульфита железа)

- *кровяной а.* - смесь охлаждённого до 50 °С МПА и цитратной или дефибринированной крови (обычно 5-10%); широко используют для культивирования патогенных микроорганизмов

- *Левинталя кровяной а.* - плотная питательная среда для выделения палочки *Пфайффера*, некоторых кокков и других бактерий, состоящая из МПА и дефибринированной крови лошади или кролика

- Маклёда а. - а. для выращивания гонококков; МПА с добавлением 20% кроличьей крови
 - *Мюллера-Хинтона* а. - плотная питательная среда, включающая мясной экстракт, пептон и крахмал. Широко применяют как основу различных сред для выращивания микроорганизмов и для определения их чувствительности к антибиотикам
 - *мясо-пептонный* а. (МПА) - плотная или полужидкая питательная среда для культивирования микробов, состоящая из МПБ и агара (0,5-2%); служит основой многих питательных сред
 - *Омелянского* а. - а. с индигокармином для определения редуцирующей активности бактерий; при положительном результате а. обесцвечивается
 - *питательный* а. - плотная или полужидкая питательная среда, содержащая 0,3-5% агара
 - *рисовый* а. - твёрдая питательная среда, стимулирующая образование спор *Candida albicans* и других грибов; включает рис, ман-нит, серин, сульфат натрия и агар
 - *с асцитической жидкостью* а. - МПА, дополненный на 15-20% стерильной асцитной жидкостью
 - *с фенилаланином* а. - используют для диф-ференцировки видов *Proteus* и *Providencia* от различных *Enterobacteriaceae*; включает дрожжевой экстракт, NaCl, NaHPO₄, L- и DL-фенилаланин. Бактерии, синтезирующие фени-лаланин дезаминазу, расщепляют субстрат до бесцветной фенилпирувиноградной кислоты. Для её выявления добавляют тест-реактив с FeCl₃, взаимодействующий с кислотой и окрашивающий среду в зелёный цвет
 - *с эозином и метиленовым синим* а. - селективная среда для грамотрицательных палочек, т.к. метиленовый синий подавляет рост грам-положительных кокков. Изолированные колонии лактоза-ферментирующих бактерий окрашены в тёмно-пурпурный или чёрный цвет, некоторые штаммы (например, колонии кишечной палочки) имеют характерный тёмно-зелёный металлический блеск
 - *Сабуро пробный* а. - плотная питательная среда для выращивания паразитических грибов; включает 1% пептона, 3-4% мальтозы или глюкозы (можно заменять на декстрозу либо сахарозу) и 1,5-1,8% агара. Пробный модифицированный а. *Сабуро* (модификация *Эммонса*) содержит меньшие количества глюкозы, что способствует лучшему образованию пигментов грибами
 - *Сабуро сохранения* а. - плотная питательная среда для выращивания паразитических грибов; состав аналогичен пробному а., но не содержит сахаров, что препятствует проявлению плеоморфизма; применяют при выращивании музейных культур
 - *Сймонса цитратный* а. - а. для выявления бактерий, способных использовать цитрат как единственный источник углерода; включает агар, цитрат Na и индикатор бромтимоловый синий. Вегетирующие бактерии окрашивают среду в ярко-синий цвет
 - *сывороточный* а. - МПА, дополненный 10% лошадиной сыворотки
 - *трёхсахарно-железный* а. - плотная среда для дифференцировки бактерий по способности ферментировать углеводы и образовывать
- H₂S; включает МПА, глюкозу, лактозу, дрожжевой экстракт, сахарозу, Na₂S₂O₃, FeSO₄, NaCl и феноловый красный

- *Чанека* а. - твёрдая питательная среда для выращивания паразитических грибов; смесь а. и питательного бульона *Чанека*; применяют для культивирования грибов и идентификации видов *Aspergillus* и *Penicillium* » *Чанека-Докса* а.

- *шоколадный* а. - МПА, дополненный прогретой при 75 °С цитратной или дефибринированной кровью (обычно 5-10%)

агглютинация - процесс, при котором взвешенные бактерии, клетки или другие частицы сопоставимого размера слипаются с образованием скоплений

- *бактериогенная* а. - агрегация эритроцитов под воздействием бактерий или продуктов их жизнедеятельности

- *групповая* а. - а. АТ, специфичными к минорным групповым Аг, общим для различных видов бактерий, каждый из которых обладает собственным специфическим (мажорным) Аг -» перекрёстная а.

- *иммунная* а.- а., вызванная АТ (агглютининами), специфичными для присутствующих микроорганизмов, клеток или Аг » иммуно-агглютинация

- *кислотная* а. - а. различных микроорганизмов в присутствии высоких концентраций H^+

- *пассивная* а. - а. различных корпускулярных частиц, покрытых Аг после взаимодействия с АТ, специфичным к адсорбированному Аг

- *спонтанная* а. - неспецифическая агглютинация микроорганизмов или клеток, обусловленная дефицитом полярных группировок в среде

- *холодовая* а. - а. эритроцитов собственной сывороткой или любой другой сывороткой после охлаждения крови ниже температуры тела

агглютинин 1. АТ, вызывающее агрегацию или агглютинацию бактерий или иных клеток, индуцирующих синтез а. или содержащих иммунологически сходные Аг 2. Вещество, способствующее агглютинации органических частиц и не являющееся специфическим агглютинирующим АТ

аденинарабинозид (ара-А; видарабин; 9-р-араби-нофуранозиладенин) - противовирусный препарат, применяют против инфекций, вызванных герпес-и альфагерпесвирусами

аденовирус (А-Ф-К вирус) - любой в. семейства *Adenoviridae*. Известно более 40 типов, патогенных для человека и вызывающих поражения дыхательного тракта, конъюнктивит, гастроэнтерит, геморрагический цистит и тяжёлые поражения новорождённых » *устар.* аденоидо-фарингеально-конъюнктивальный вирус

азалиды - класс антибиотиков широкого спектра действия; по структуре близки к макролидам; сочетают низкую токсичность, высокую активность с благоприятными фармакокинетическими свойствами; наиболее известный препарат - азитромицин

акантамебиоз - инфекция, вызываемая простейшими рода *Acanthamoeba*, проявляющаяся некротическими поражениями кожи и внутренних органов; возможны молниеносные менингоэнцефалиты, часто с летальным исходом

актиномикоз - хроническое инфекционное заболевание человека и крупного рогатого скота, вызываемое *Actinomyces bovis* (у животных) и *A. israelii*, *Arachnia propionica* у человека; характерно развитие хронических деструктивных процессов и гранулём; у человека обычны

поражения шейно-лицевой области, грудной и брюшной полостей; для скота характерны поражения нижней челюсти » болезнь лучисто-грибковая

актиномикома - гранулёма, вызываемая актино-мицетами » гранулёма актиномикотическая

актиномицины - общее название группы антибиотиков, продуцируемых микроорганизмами рода *Streptomyces* (прежнее название *Actino-mycetes*), активны в отношении грамположительных бактерий, микобактерий, грибов; обладают противоопухолевым действием

анатоксин - токсин, утративший токсичность, но сохранивший свою антигенность в результате какого-либо воздействия » токсбид

анафилатоксин - комплекс БАВ, образующихся при анафилактической реакции; является непосредственной причиной реакций, развивающихся при шоке; результат взаимодействия *in vivo* специфических аллергена и АТ

анаэроб - микроорганизм, живущий без свободного кислорода

- *облигатный а.* - организм, способный существовать только в отсутствии свободного кислорода » строгий а.

- *факультативный а.* - организм, способный жить как в отсутствии, так и в присутствии свободного кислорода в незначительных концентрациях

ангина

- Воспаление зева любой этиологии (в том числе при тонзиллите)

- *Симандвского-Плаута-Венсана а.* - язвенно-некротическое поражение миндалин и гортани, вызванное *Treponema vincentii* и *Fusobacterium nucleatum (plauti)*; обычно сочетается с язвенно-некротическим гингивитом » а. язвенно-плёнчатая

ангиоматоз - множественные ангиомы » гемангиоматоз

- *бациллярный а.* - заболевание, выявляемое у пациентов с иммунодефицитами, вызываемое *Bartonella (Rochalimaea) henselae*; характерны лихорадка, образование кожных гранулём и развитие в некоторых случаях печёночной пурпуры; биопсии выявляют скопления микроорганизмов в стенках кровеносных сосудов и инфильтрацию их нейтрофилами

антибиотики - природные вещества, продуцируемые организмами для ингибирования или уничтожения других организмов; продуцентами являются бактерии, актиномицеты, грибы и лишайники, а также высшие растения и животные

- *антипротозойные а.* - мономицин, трихомицин

- *полиеновые а.* - метаболиты различных видов *Streptomyces*; нистатин и амфотерицин В применяют в терапии микозов; механизм действия - фунгицидный, реализуется связыванием с эргостеролом цитоплазматической мембраны с последующим выходом низкомолекулярных соединений из клетки

- *противогрибковые а.* - нистатин, леворин, амфотерицин В, амфоглюкамин, гризеофульвин

- *противоопухолевые а.* (и иммунодепрессан-ты) - рубромицин, актиномицины

- *противотуберкулёзные а.* - стрептомицин, ри-фамицин, циклосерил, флоримицин (виомицин)

- *узкого спектра действия а.* - препараты, проявляющие активность в основном против грамположительных микробов, особенно кокков (спектр охватывает и грамотрицательные кокки - менингококки и гонококки), некоторых бактерий (коринебактерий и др.) и бацилл (клостридии)

- *широкого спектра действия а.* - препараты, активные против грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов

антиген (Аг) - вещество, индуцирующее состояние чувствительности и/или резистентности к инфекциям или токсинам при контакте с иммунной системой после латентного периода; несёт признаки генетически чужеродной информации и вызывает в организме развитие специфических иммунологических реакций » иммуноген

- А-Аг - один из маркёров острого гепатита

- Н-Аг - 1.(нем. - *Nauch* - дыхание; образующий матовую поверхность, схожую с таковой при выдохе на холодное стекло; термин введён *Феликсом* для обозначения Аг жгутиков подвижных микроорганизмов) жгутиковый Аг подвижных микроорганизмов, характеризующихся сплошным ростом мелких колоний на твёрдых питательных средах. 2. Аг, кодируемый Н-2 комплексом генов мышей, служит для распознавания чужеродных Аг

- *НВАг* - поверхностный Аг вируса гепатита В

- *Ia-Аг* (immune region associated) - продукты главного комплекса гистосовместимости (МНС) II класса у мышей, кодируются генами региона I (субрегионов I-A, I-E, I-J, I-C). Экспрессированы на Аг-представляющих клетках, В-лимфоцитах, активированных Т-лимфоцитах. Комплексы Ia с фрагментами процессированного Аг распознаются рецепторами Т-клеток

- *холодовое АТ* - АТ, агглютинирующее на холоде (оптимум реакции находится при 18 °С и ниже)

- *цитофильное АТ* - АТ, аффинитет которого к определённым типам клеток не связан с аффинитетом к Аг клеточной поверхности, а обусловлен наличием на мембране клетки рецептора для Fc-фрагмента тяжёлой цепи Ig » цитотропное АТ » анафилактическое АТ

антитоксин - АТ, образующиеся в ответ на антигенные токсичные вещества биологического происхождения (например, на бактериальные экзотоксины, фитотоксины, зоотоксины) и содержащиеся или в цельной сыворотке, или в глобулиновой фракции сыворотки животных (обычно лошадей), иммунизированных специфическим анатоксином

- *бивалентный против газовой гангрены а.- а.*, специфичный к токсинам *Clostridium perfringens* и *C. septicum*

- *ботулинистический а.- а.*, специфичный к токсину того или иного штамма бактерий *Clostridium botulinum*

- *газовой гангрены а. - а.*, специфичный к токсину одного или нескольких видов бактерий рода *Clostridium*, вызывающих газовую гангрену и токсемию

- *дизентерийный а. - а.*, специфичный к ней-ротоксину *Shigella dysenteriae*

- *дифтерийный а.* - а., специфичный к токсину *Corynebacterium diphtheriae*

- *скарлатинозный а.* - а., специфичный к эритрогенному токсину штаммов р-гемолитических стрептококков группы А1

- *стафилококковый а.* - препарат из нативной сыворотки, содержащей токсиннейтрализующие глобулины или их производные, специфически нейтрализующие свойства а-токсина *Staphylococcus aureus*

- *столбнячный а.* - а., специфичный к токсину *Clostridium tetani*

- *столбнячный и газовой гангрены а.* - раствор антитоксических веществ, получаемых от животных, иммунизированных против токсинов *Clostridium tetani*, *C. perfringens* и *C. septicum*

антитрипсин (а₁) - гликопротеин, ингибитор про-теазы сыворотки крови человека; синтезируется в печени, генетически полиморфен, известно более 20 аллелей

арбовирусы - гетерогенная группа РНК-содержащих вирусов, ранее разделяемая на подгруппы на основе строения вирионов; циркуляция значительной части связана с членистоногими, являющимися их переносчиками; более 75 видов могут инфицировать человека, но лишь 45 вызывают заболевания; патология представлена 3 основными клиническими синдромами: лихорадки недифференцированного типа (системные лихорадочные состояния), геморрагические лихорадки и энцефалиты. В настоящее время подобное разделение признано устаревшим, и арбовирусы разделены на тога-, бунья- и аренавирусы

артроконидия - вегетативная спора грибов; образуется при фрагментации гифального тяжа

аскоспора - грибная спора, образующаяся в специализированных структурах - асках

атопия - немедленная аллергическая реакция на фоне семейной предрасположенности; вызывается разнообразными аллергенами (пыльца, пищевые продукты, яд насекомых, пенициллин и др.); опосредована, как правило, АТ IgE класса. К атопическим заболеваниям относят бронхиальную астму, поллиноз, крапивницу, анафилактический шок

ауксотроф - микроорганизм, утративший в результате мутации способность к самостоятельному синтезу какого-либо метаболита; может существовать только в средах, куда этот метаболит привнесён

аутотроф - микроорганизм, использующий в качестве источника органических элементов только неорганические вещества; двуокись углерода служит единственным источником углерода

аутоτροφья - способность к утилизации в качестве источника органических элементов только неорганические вещества

- *азотная а.* - способность утилизировать нитраты или фиксировать азот

- *серная а.* - способность утилизировать сульфаты

- *углеродная а.* - способность утилизировать СО₂ из атмосферного воздуха

аффинность 1. Способность атомов или их групп взаимодействовать, образуя прочное соединение 2. Избирательное окрашивание ткани красителем » сродство

ацикловир [ациклогуанозин, 9-(2-гидроксиэтокси-метил)-гуанин] - ациклический нуклеозидный аналог гуанозина с высокой избирательностью к инфицированным вирусом клеткам; структура напоминает молекулу гуанозина, лишённую углеводного цикла; применяют при инфекциях, вызванных ВПГ

аэроб 1. Организм, живущий в присутствии свободного кислорода 2. Организм, использующий кислород в качестве окончательного акцептора электронов в окислительно-восстановительных реакциях

- *облигатный а.* - организм, не способный существовать при отсутствии свободного кислорода » строгий а.

- *факультативный а.* - организм, способный существовать определенное время при отсутствии свободного кислорода

Аюрведа ("Знание жизни") - древнейший литературный памятник храмовой медицины Индии; приложение к религиозным книгам - ведам, составленным до возникновения буддизма (III-IX вв. до н.э.); известно 3 редакции, принадлежащие врачам *Атрёйе*, *Чара'ке* и *Сушруте* (наиболее полно сохранившаяся)

бабешоиз (бабесиоз) - редкое маляриеподобное заболевание у людей, особенно у спленэктомии-рованных, вызываемое *Babesia bovis*; переносчики - иксодовые или аргасовые клещи

базидиоспора - грибная спора, образующаяся посредством отшнуровывания от базидия - концевой клетки мицелия

бактериемия - циркуляция живых бактерий в кровотоке, обычно не сопровождающаяся их размножением

бактериофаг - бактериальный вирус, обнаруживаемый во всех группах бактерий; содержит РНК или ДНК, связь с бактерией-хозяином специфична; в случае умеренного фага может быть генетически близким и носит название вида, группы или штамма бактерий, к которому он специфичен. Объединены в семейства, и для них предложены рабочие названия: *Corticoviridae*, *Cystoviridae*, *Inoviridae*, *Leviviridae*, *Microviridae*, *Myoviridae*, *Plasmaviridae*, *Podoviridae*, *Styloviridae*, *Tectiviridae* » фаг » вирус бактериальный

- *вегетативный б.* - разновидность б. (без белковой оболочки), нуклеиновая кислота которого беспрепятственно репродуцируется внутри бактерии независимо от размножения бактерии

- *вирулентный б.* - б., вызывающий лизис инфицированных им бактерий; может существовать только как вегетативный или зрелый б. Вызывает репродуктивную форму инфекции

- *дефектный б.* - мутантный умеренный б., в геноме которого отсутствуют компоненты, необходимые для полной контагиозности вируса, в результате чего б. способен только реплицироваться. Неспособен к выполнению функций вируса в результате нехватки части генома (например, при замене части гена генами инфицированной бактерии)

- *зрелый б.* - полноценный б., способный к инфицированию бактерий

- *умеренный б.* - б., геном которого интегрирован и реплицируется с геномом бактерии-хозяина; способен существовать в ней в форме профага

бактериоциновар - штамм бактерий, чувствительный к действию бактериоцина; обычно применяют для типирования последних

бактериоциногеновар - штамм бактерий, продуцирующий бактериоцины

бактериоциногены - плазмиды бактериоцино-генные

бактериоцины - белки, продуцируемые некоторыми бактериями, содержащими бактериоцино-генные плазмиды; оказывают бактерицидный эффект на микроорганизмы аналогичного либо генетически близкого вида

бактериурия - наличие бактерий в моче » ба-циллурия

балантидиаз - протозойная инфекция толстой кишки, вызванная инфузорией *Balantidium coli*, характеризующаяся диареей с изъязвлениями кишечной стенки (часто протекает бессимптомно) » инфузорная дизентерия

бациллоносительство - инфекции бессимптомные

бацитрацины - полипептидные антибиотики, обладающие антибактериальным действием; первично выделены из культуры *Bacillus subtilis*; активны в отношении гемолитического стрептококка, стафилококка, некоторых грамположительных аэробных палочек; применяют местно

- *Брѣды б.* - лейшманиоз кожно-слизистый

- *Брилля-Цинссера б.* - эндогенная инфекция, сопровождающаяся "носительством" возбудителя у лиц, ранее болевших эпидемическим сыпным тифом » *Брилля б.* » сыпной спорадический тиф

- *Буссѣ-Бушке б.* - криптококкоз

- *Васильева-Вейля б.* - инфекция, вызванная лептоспирой *L. interrogans* серовар *icterohaemorrhagiae*; характерны лихорадка, желтуха, мышечные боли, гиперемия конъюнктивы и альбуминурия » лептоспироз желтушный » лептоспироз иктерогеморрагический

- *Вернера-Хйсса б.* - окопная лихорадка

- *Вѣрнике-Посады б.* - кокцидиоидомикоз

- *Дарлинга б.* - гистоплазмоз

- *Джилкрайста б.* - бластомикоз

- *долины реки Сан-Хоакйн б.* - кокцидиоидо-микоз

- *Карридна б.* - бартонеллез

- *Кашина-Бѣка б.* - форма генерализованного остеоартроза, эндемичного для некоторых районов Азии; вероятно, развивается при употреблении зерна, инфицированного грибом *Fusarium sporotrichiella* » *уровская б.* » остео-артроз деформирующий эндемический

- «*кошачьих царапин*» б. - инфекционное заболевание, возникающее после кошачьего укуса или царапин; возбудители - ассоциация бактерий *Rochalimaea henselae* и *Afipia felis* (роль последнего вида сомнительна). Характерны медленно заживающие повреждения, регионарный лимфаденит, лихорадочное состояние » лихорадка от кошачьих царапин -» лимфоретикулёз инокуляционный доброкачественный » лимфаденит доброкачественный вирусный » лимфоретикулёз доброкачественный » *Молларѣ* гранулѣма » фегиноз

- *Крѣйтцфельдта-Якоба б.* - спастический псевдосклероз с кортикоstriоспинальной дегенерацией; форма спонгиозной энцефалопатии, вызываемая прионами; характеризуется слабоумием, миоклониями, атаксией и другими неврологическими проявлениями (быстро приводит к коме и смерти) » дегенерация кор-тикоstriоспинальная

• *лаймская б.* [Луте, город в штате Коннектикут (США), где во второй половине 70-х гг. впервые зарегистрирована б.] - воспалительное заболевание, вызываемое спирохетой *Borrelia burgdorferi*, переносчики - иксодо-вые клещи; заболеваемость намного выше в летние месяцы; характерна хроническая мигрирующая эритема, предшествующая и/или наблюдающаяся одновременно с недомогани-

ем, лихорадкой, утомляемостью, головной болью, ригидностью затылочных мышц; неврологические и кардиологические проявления, артриты могут возникать через недели или месяцы после начала заболевания » лаймский артрит » лаймборрелиоз

• *легионеров б.* - острая инфекционная б., принявшая эпидемическую форму во время Съезда Американского Легиона в Филадельфии (1976); возбудитель - *Legionella pneumophila*; продромы напоминают острую респираторную инфекцию; быстрый подъём температуры тела, тяжёлая пневмония со значительным количеством негнойной мокроты, спутанное сознание, поражения печени и канальцев почек » легионеллёз

• *любителей роз б.* - споротрихоз

• *Лютца-Спенддре-Алмёйды б.* - паракокци-диоидомикоз

• *Марбург б.* (Marburg, город в Германии, куда б. была занесена с обезьянами, привезёнными в исследовательский центр из Африки) - вирусная инфекция, характерна тяжело протекающая лихорадка с диареей, кожными высыпаниями, внутрисосудистым свёртыванием крови. Встречается в Восточной Африке, описаны случаи в ФРГ и Югославии » лихорадка геморрагическая церкопитековая » болезнь зелёных мартышек

• *Мокдла б.* - смертельное неврологическое заболевание людей и кошек в Африке; возбудитель - вирус Мокола рода *Lyssavirus*, родственник вирусу бешенства; впервые выделен от землероек-белозубок рода *Crocidura* в Нигерии

• *новорождённых б.* - возникает при заглатывании спор с последующим развитием вегетативных форм в возрасте от 3 до 20 нед; характеризуется генерализованной гипотонией и амиотрофией

• *раневой б.* - б., иногда возникающий при инфицировании раны *Clostridium botulinum*

бруцеллёз - инфекционное заболевание, вызываемое микроорганизмами рода *Brucella*, характерны лихорадка, повышенное потоотделение, слабость, боли; передаётся человеку при прямом контакте с больным животным или при употреблении в пищу инфицированного мяса, молока или сыра » ундулирующая лихорадка » средиземноморская лихорадка » мальтийская лихорадка

• *крупного рогатого скота б.* - инфекция, вызываемая *Brucella abortus*; характерны инфекционные аборт коров, а также орхиты и эпи-дидимиты у быков; бактерии способны локализоваться в вымени и инфицировать молоко » болезнь *Банга*

бруцеллин - нуклеопротеиновый экстракт культуры бруцелл, свободный от липидов; применяют для постановки кожных проб при диагностике бруцеллёза

вирилизис - комплементзависимое разрушение структуры вирусных оболочек АТ; обусловлено необратимыми изменениями структуры поверхностных гликопротеинов; реализуется в отношении вирусов со сложной морфологической структурой

виropёксис - частный случай рецепторного эндо-цитоза; включает инвагинацию клеточной стенки с рецепторами, на которых адсорбируются вирусы

виpоцётторы - растворимые продукты, образующиеся при репликации вирусов, гомологичные некоторым гуморальным факторам неспецифической защиты, например ИФН и а-фактору некроза опухолей, и блокирующие их активность

виpулентность - степень патогенности; способность данного микроорганизма вызывать заболевание у определённого хозяина. Понятие включает также степень инфекционности, инвазивности и токсигенности (токсичности) возбудителя

вирус - специальный термин, определяющий микроорганизмы, способные (за некоторым исключением) проходить через бактериальные фильтры; в отличие от бактерий, не способны к росту или воспроизводству вне живых клеток; классификация зависит от особенностей вирионов и способов передачи, многообразия хозяев, симптоматологии и других факторов

- *ВК* в. - полиомавирус семейства *Papovaviridae*, вызывает обычно субклинические поражения у пациентов с иммунодефицитами; распространён повсеместно (назван по инициалам пациента, от которого был впервые изолирован)

- *СОЕ-в.* - «сиротский» энтеровирус, серологически идентичный штамму А-21 вируса *Коксаки*; вызывает заболевания верхних дыхательных путей, в настоящее время отнесён к роду *Enterovirus* семейства *Picornaviridae*

- *ЕСНО-вв.* - вв. семейства *Picornaviridae*; включают кишечные «сиротские» вв. - энтеровирусы, выделенные у людей, а также у животных; термин «сиротский» предполагает отсутствие (при выделении в.) прямой связи с болезнью, а также возбудителей лихорадок и асептического менингита; некоторые серо-вары, по-видимому, вызывают слабовыраженные респираторные заболевания

- *НА-1 и НА-2 гемадсорбирующие вв.* - парагриппа вв

- *ЖС* в. - полиомавирус семейства *Papovaviri-*

dae, вызывает обычно субклинические поражения у пациентов с иммунодефицитами; также способен вызывать прогрессирующую множественную лейкоэнцефалопатию у пациен-

- *гемадсорбирующий типа 3 в.* - парагриппа типа 3 в.

- *гемадсорбирующий типа 2 в.* - парагриппа типа 2 в.

- *гепатита А в.* - возбудитель вирусного гепатита А » инфекционного гепатита в.

- *гепатита В в.* - возбудитель вирусного гепатита В » сывороточного гепатита в.

- *гепатита С в.* - тогавирус, вызывающий гепатит С » "не А, не В" гепатита в.

- *гепатита D в.* - дефектный вирус, способный вызвать обострение хронической инфекции, вызванной вирусом гепатита В, либо острые поражения при совместной инфекции с вирусом гепатита *гепатита Е в.* - кали-цивирус, эпидемиологически близкий к вирусу гепатита А; вызывает поражения, напоминающие клинику "не А, не В" гепатита

- *германской кори в.* - краснухи в.

- *герпеса в.* - 1. В. простого герпеса (ВПГ); вирус рода *Herpesvirus* (семейство *Herpetoviridae*) представлен 2 типами: ВПГ 1-го типа - возбудитель простого герпеса человека, вызывающий *herpes labialis et nasalis*, особенно у детей, и герпетическую лихорадку, в основном

на наружной поверхности губ и ноздрей; вызывает также герпетиформную экзему и герпетический гингивостоматит, кератоконъюнктивит и менингоэнцефалит; ВПГ 2-го типа - возбудитель герпеса половых органов и герпеса новорождённых

• *герпеса 8 типа* в. - вероятный возбудитель саркомы *Kaposi*. 2. Устаревшее название любого вируса рода *Herpesvirus*, отнесённого сейчас к семейству *Herpetoviridae* - см. герпес-вирус

• *инфекционного гепатита* в. - см. гепатита А в.

• *калифорнийского энцефалита* в.- в. серологической группы рода *Bunyavirus*, вызывающего энцефалит; экологическая группа ар-бовирусов; антигенная группа «Калифорния»; возбудитель болезни группы комариных энцефалитов

• *Коксаки* в.- в. рода энтеровирусов семейства пикорнавирусов; известны в. *Коксаки А*, включающие более 24 сероваров, и в. *Коксаки В*, включающие 6 сероваров; возбудители группы болезней человека с разнообразной симптоматикой

• *колорадской клещевой лихорадки* в.- в. рода *Orbivirus* (родовая принадлежность окончательно не определена), возбудитель колорадской клещевой лихорадки, переносчик - клещ *Dermacentor andersoni*

• *кори* в. - РНК-содержащий в. рода *Morbil-livirus*, возбудитель кори у человека

• *краснухи* в. - РНК-содержащий в. рода *Rubivirus*, возбудитель краснухи » *германской кори* в. » *rubeola* в.

• *круп-ассоциированный* в.- см. парагриппа 2 типа в.

• *ксенотропные* вв. - ретровирусы (онкорна-вирусы), не вызывающие заболевание у природного хозяина и размножающиеся только в клеточной культуре тканей, полученных от различных видов животных

• *Ласса* в. - аренавирус экологической группы арбовирусов, вызывающий геморрагическую лихорадку Ласса

• *лимфоцитарного хориоменингита* (ЛХМ) в.- РНК-содержащий в. семейства *Arenaviridae*, возбудитель лимфоцитарного хориоменингита; инфекция может протекать бессимптомно, но иногда возникают гриппоподобные заболевания, менингит, реже менингоэнцефаломиелит

• *лихорадки долины Рифт* в.- в. рода *Phle-bovirus* (семейство *Bunyaviridae*); возбудитель тяжёлых лихорадок, особенно у пастухов и ветеринаров (после контакта с больными животными) в Центральной и Южной Африке; возможно ингаляционное заражение

• *Марбург* в. - РНК-содержащий в., вызывающий болезнь Марбург, отнесён к роду фило-вирусов » церкопитековой геморрагической лихорадки в.

• *маскирдванный* в.- в., обычно находящийся в латентном состоянии, но иногда активирующийся либо выявляемый специальными методами » псевдовирус

• *Мачупо* в. - арбовирус антигенного комплекса Такарибе рода *Arenavirus*; природный резервуар составляют грызуны,

- «одетый» в. - в., нуклеокапсид которого окружён мембраноподобной оболочкой
- *омской геморрагической лихорадки* в.- в. рода *Flavivirus*, возбудитель эндемичной геморрагической лихорадки
- *онкогенные РНК-содержащие* вв. - вв. подсемейства *Oncovirinae*
- *онкогенный* в. - представитель 1 из 2 групп вв., индуцирующих опухоли: РНК-содержащие онкогенные вв. (онкорнавирусы) или ДНК-содержащие вирусы (патогенность для человека не установлена) » опухолеродный в.
- *О'ньонг-О'ньонг* в. - в. рода *Alphavirus* (семейство *Togaviridae*), возбудитель лихорадки О'ньонг-О'ньонг в Кении, Уганде и Конго
- *Орибдка* в. - в. группы С рода *Bunyavirus*, возбудитель буньявирусного энцефалита
- *оспы коровьей* вв. - поксвирусы рода *Ortho-poxvirus*, используемые для иммунизации против оспы; серологически сходны с в. натуральной оспы
- *оспы натуральной* в. - поксвирус рода *Ortho-poxvirus*, возбудитель натуральной оспы» оспы человека в.
- *папиллдомы* вв. - папилломы человека в.
- *папиллдомы человека* в. (ВПЧ) - ДНК-содержащий, кубический в. (55 нм в диаметре) рода *Papillomavirus*; некоторые виды способствуют появлению у людей бородавок на коже и половых органах, в том числе обычных бородавок и остроконечных кондилом; другие виды вызывают внутриэпителиальный рак шейки матки и карциномы аногенитальной области и гортани » инфекционной папилломы в.» бородавок человека в.
- *парагриппа* вв. - вв. рода *Paramyxovirus*, выделяют 5 типов: в. парагриппа 1 типа; в. парагриппа 2 типа; в. псевдокрупа, возбудитель острого ларинготрахеита или крупа, а также малых респираторных инфекций; в. парагриппа 3 типа; в. гемадсорбции 1 типа, кроме фарингитов, бронхитов и пневмоний вызывает спорадические респираторные инфекции; в. гемадсорбции 2 типа, возбудитель острого ларинготрахеита
- *паротита* в.- в. рода *Paramyxovirus*, возбудитель паротита, передаваемого с инфицированным секретом слюнных желёз » эпидемического паротита в. » свинки в.
- *пёнящие* (обезьян) вв. - ретровирусы (подсемейство *Sputavirinae*) приматов и других млекопитающих; вызывающие вакуолизацию («вспенивание») поражённых клеток в виде кружева; патогенность для человека не установлена
- *Повассан* в.- в. рода *Flavivirus* (семейство *Flaviviridae*), возбудитель клещевых энцефалитов Повассан и менингоэнцефалитов у детей; (Powassan - город в Канаде, где впервые был изолирован возбудитель)
- *полиомиелита* в. - пикорнавирус рода *Enterovirus*, возбудитель полиомиелита; выявлены серологические типы 1, 2, и 3; тип 1 вызывает в основном паралитический полиомиелит и инициирует заболевания эпидемического характера » полиовирус
- *помощник* в.- в., репродукция которого способствует превращению дефектного вируса в контагиозный в

• *простудный* в. - любой из многочисленных вв., являющихся этиологическим фактором общепростудных заболеваний; являются в основном риновирусами, но могут быть также аденовирусами, вирусами *Коксаки*, ЕСНО-вирусами и вв. парагриппа

• *Рауса саркомы-ассоциированный* (РСАВ) в.- вирус лейкоза (лейкосаркомы комплекс), при фенотипическом смешении с дефектным (не-инфицирующим) штаммом в. саркомы *Рауса* вызывает появление вирулентного в. с Аг оболочкой в. РСАВ

• *реки Росс* (Росс Ривер) в. - в., размножающийся в комарах и вызывающий инфекционный полиартрит, отнесён к роду *Alphavirus* семейства *Togaviridae*

• *респираторно-синцитиальный* в. - РНК-со-держачий в. рода *Pneumovirus*, возбудитель респираторных инфекций у взрослых, бронхита и бронхопневмонии у детей

• *РНК-содержащие* вв. - группа вв., геном которых представлен нитью РНК, комплементарной мРНК; имеют также РНК-полимеразу, необходимую для синтеза мРНК; большая группа вв. животных, включающих семейства *Picornaviridae*, *Reoviridae*, *Togaviridae*, *Bunyaviridae*, *Arenaviridae*, *Paramyxoviridae*, *Retroviridae*, *Coronaviridae*, *Orthomyxoviridae* и *Rhabdoviridae*

• *саркомы Рауса* в. - возбудитель лейкозо-саркомного комплекса птиц » в. саркомы кур

• *Сйндбис* в. - типовой вид рода *Alphavirus*, возбудитель лихорадки Сйндбис; эндемичен в дельте Нила, встречается в юго-восточной Азии; относительно патогенности для человека в естественных условиях точных данных нет

• «*сиротские*» вв. - вв., подобные кишечным «сиротским» вирусам, не вызывающие изначально заболевание, но позднее способные проявить патогенность; термин подчёркивает неопределённое отношение к какому-либо конкретному заболеванию

• «*сиротские*» *кишечные* вв. - энтеровирусы, выделенные у людей и животных; термин «сиротский» предполагает отсутствие (при выделении в.) прямой связи с болезнью; многие представители - патогены

• *СПИДа* в. - см. иммунодефицита человека в.

• *Спандвёни* в. - арбовирус рода *Flavivirus*, возбудитель москитной лихорадки в Африке

• *сывороточного гепатита* в.- см. гепатита В в.

• *Такарибе* в. - аренавирус одноимённого антигенного комплекса, природный резервуар - летучие мыши, переносчики - москиты; первоначально изолирован на островах Тринидад и Тобаго

• *Тайня* в. - патогенный для человека арбо-вирус калифорнийской группы семейства *Bunyaviridae*, выделен в центральной Европе

• *уличный* в. - вирулентный в. бешенства домашних животных, заражённых после укусов или царапин другого животного » бешенства дикий в. » бешенства собак в. » бешенства уличный в.

• *фиксированный* (бешенства) в.- в. бешенства с выраженной вирулентностью в отношении кроликов, достигаемой многократным пассированием

• *Хунйн* в. - арбовирус антигенного комплекса Такарибе рода *Arenavirus*, возбудитель аргентинской геморрагической лихорадки

- *цитомегалии* в.- см. цитомегаловирус
 - *цитопатогенный* в.- в., размножение которого ведёт к дегенеративным изменениям клеток хозяина
 - *Эбдла* в. - возбудитель геморрагической лихорадки Эбола (Ebola - река в Нигерии)
 - *экотропный* в. - онкорнавирус, не вызывающий болезнь у природного хозяина, но воспроизводящиеся в культуре клеток тех видов, к которым принадлежит хозяин
 - *энтеровирусы* - вв., относящиеся к роду *Enterovirus* » кишечный в.
 - *энцефалита* *весенне-летнего* в.- см. энцефалита *клещевого* в. » русского дальневосточного энцефалитав. » таёжного энцефалита в
 - *энцефалита* *клещевого* в. - арбовирус рода *Flavivirus*, имеющий центральноевропейский и восточный подтипы, вызывающий 2 разновидности энцефалита; переносчики - клещи рода *Ixodes* » *весенне-летнего* энцефалита в. » дальневосточного (русского) энцефалита в.
 - *энцефалита* *русского осеннего* в.- см. энцефалита японского В в.
 - *энцефалита* *Сент-Луис* в. - арбовирусы группы В, инфекции обычно протекают бессимптомно, но иногда возникают энцефалиты; отнесён к Аг-комплексу вируса японского энцефалита рода *Flavivirus* семейства *Togaviridae*; выделен в США, Панаме и на острове Тринидад от птиц и многих видов москитов, особенно рода *Psorophora*
 - *энцефалита* *японского В* в. - в. рода *Flavi-virus* (группа арбовирусов В); для человека обычно не патогенен, иногда вызывает лихорадку и, редко, энцефалит; природным резервуар - дикие птицы, переносчики - различные комары
 - *эпидемического гастроэнтерита* в. - неклассифицированный в., являющийся причиной эпидемического небактериального гастроэнтерита » гасторэнтерита типа А в.
 - *эпидемического кератоконъюнктивита* в.- аденовирус 8-го типа, вызывающий эпидемический кератоконъюнктивит; возбудитель бассейнового конъюнктивита
 - *эпидемического паротита* в.- см. паротита в.
 - *эпидемической плевродинии* в.- в. рода *Enterovirus*, возбудитель эпидемической плевродинии » борнхольмской болезни в.
 - *Эпстайна-Барр* в. - в. рода *Herpesvirus*, обнаруживаемый в клеточных культурах лимфомы *Бёркитта*; выявлено наличие АТ к в. при инфекционном мононуклеозе » *Бёркит-талимфомы* в.
- включений тельца - характерные структуры в ядре и/или цитоплазме клеток, инфицированных фильтрующимися вирусами или хламидиями; чаще встречаются в нервных, эпителиальных, эндотелиальных клетках; хорошо выявляются окраской метиленовым синим и эозином по *Манну* или по *Романовскому-Тимзе*; также иногда наблюдают при некоторых дегенеративных процессах и свинцовых отравлениях
- *Арагао* тт. в. - элементарные тт. вируса *varicella-zoster*, представлены округлыми образованиями размером 210-250 мкм; выявляют в отделяемом везикул
 - *Бабеша-Нёгри* тт. в. - эозинофильные, с неровным краем включения в клетках *аммонова* рога гиппокампа при бешенстве

- *Бабеша-Эрнста* тт. в. - внутриклеточные включения, присутствующие у многих видов бактерий и проявляющие высокое сродство к

ядерным красителям » метакроматические зёрна » волютиновые зёрна

- *Тварнёри* тт. в. - цитоплазматические ацидофильные тт. в. в эпителиальных клетках, выявляемые при ветряной и коровьей оспе; включают агрегаты телец *Пашёна* или вирусных частиц

- *Коудри типа А* тт. в. - каплевидные скопления ацидофильного материала внутри ядра, окружённые светлым «halo»; характерно расположение хроматина по периметру ядерной мембраны

- *Коудри типа В* тт. в. - каплевидные скопления ацидофильного материала внутри ядра, окружённые светлым «halo»; на ранних стадиях развития прочие изменения ядра нехарактерны

- *Пашёна* тт. в. - вирусные частицы, обнаруживаемые в ороговевающих клетках кожи при ветряной и коровьей оспе

- *цитоплазматические* тт. в. - могут быть: 1. ацидофильными, относительно большими, сферическими или овоидными, иногда зернистыми (при натуральной или коровьей оспе, бешенстве и контагиозном моллюске); 2. ба-зофильными, относительно большими, образованные комплексом из вирусного и клеточного материалов (при трахоме, пситтакозе и венерической лимфогранулёме)

- *безжелтушный вирусный г.* - относительно умеренный г. не сопровождающийся желтухой

- *персистирующий хронический г.* - доброкачественный хронический г.; возникает при вирусных гг. А и В или как осложнение болезней кишечника

- *сывороточный г.* - см. В г.

герпес - высыпание группы пузырьков на эрите-матозном фоне

- *беременных г.* - встречается при поздней беременности; редкие полиморфные буллёзные высыпания, более часто на конечностях, с появлением пемфигоида или герпетиформно-го дерматита; повторяется при каждой последующей беременности

- *генитальный г.* - поражения полового члена мужчин или шейки матки, промежности, влагилица или вульвы женщин, вызванные ВПГ 2-го типа

- *новорождённых г.* - инфекция новорождённых, возникающая при прохождении через инфицированные вирусом герпеса 2 типа родовые пути

- *опоясывающий г. (herpes zoster)* - опоясывающий лишай, инфекция, характеризующаяся высыпанием групп пузырьков на одной стороне тела по ходу нерва; возникает вследствие воспаления ганглия и дорсальных нервных корешков в результате активации латентного вируса; самоизлечивающаяся, но может сопровождаться сильными болями

- *простой г. (herpes simplex)* - различные инфекции, вызываемые ВПГ 1-го и 2-го типов; инфекция 1-го типа проявляется высыпанием одной или более групп пузырьков по краю красной каймы губ, на щеках и на крыльях

носа; 2-го типа - аналогичными поражениями на половых органах; оба типа обычно рецидивируют и возникают вновь при любых фебрильных заболеваниях или определённых физиологических состояниях » лихорадка вол-дырная » простудная болячка

герпесвирус - любой вирус, принадлежащий семейству *Herpetoviridae*

гетеротроф - микроорганизм, использующий органические вещества в качестве источника углерода и энергии

гиардибз - паразитарная инфекция, вызванная *Giardia lamblia* » лямблиоз

гипнозбит - спорозоит *P. vivax* и *P. ovale*, не участвующий в эритроцитарной шизогонии; гг. аккумулируются в гепатоцитах, образуя «дремлющие» очаги, дающие отдалённые рецидивы

гистоплазмоз - микоз, вызываемый *Histoplasma capsulatum*; начинается с пневмонии, напоминающей клинически первичный лёгочный туберкулёз, в дальнейшем возникают очаги в лёгких или генерализованное поражение ретикулоэндотелиальной системы; лихорадка, истощение, сплено-мегалия, лейкопения» *Дарлинга болезнь*» *Дарлинга* цитомикоз

гифа - разветвлённые микроскопические клеточные нити, составляющие вегетативные и плодовые тела грибов; поперечные гифы составляют мицелий, видимую часть колонии
• *ценоцитная* г. - г., не имеющая перегородок и потому многоядерная; характерна для низших грибов (фикомицетов)

гнотобионт - организм, микрофлора которого представлена одним или небольшим количеством идентифицированных микроорганизмов

голозойный способ питания - с.п. посредством захвата твёрдых пищевых частиц внутрь тела организма (термин применяют преимущественно к простейшим)

голофитный способ питания - с.п. без захвата твёрдых пищевых частиц посредством транспорта растворённых веществ через поверхностные структуры клетки; противопоставляется го-лозойному способу питания (например, характерен для бактерий и некоторых фотосинтезирующих простейших)

гонореи - катаральное воспаление слизистой оболочки половых органов, инфекция передаётся при половом акте; возбудитель - *Neisseria gonorrhoeae*; вовлекаются половые пути, особенно маточные трубы; может произойти распространение на брюшину, с кровотоком - в другие структуры» специфический уретрит

грамицидины - полипептидные антибиотики, продуцируемые *Bacillus brevis*; ограниченно используются как бактериостатики против грам-положительных кокков и бацилл

гранулёма - очаг продуктивного воспаления, характеризующийся скоплением макрофагов, эпителиоидных клеток, лимфоцитов, иногда гигантских клеток, плазматических клеток и фиброб-

ластов; гг. образуются при хронических инфекциях, инвазиях, введении адьювантов; цитологический состав г. варьирует в зависимости от этиологии

• *паховая* г. - специфическая г., классифицируемая как венерическое заболевание, возбудитель - *Calymmatobacterium (Donovania) granulomatis* (палочка *Арагао-Вианны*); характерны язвенные гранулематозные поражения паховой области и половых органов » г. венерическая » *болезнь венерическая пятая* » *Брока* венерическая г. » тропическая язвенная г. » донованоз

грибы - отдел растительных организмов, не имеющих корней, стволов и листьев, лишённых хлорофилла или других пигментов, опосредующих фотосинтез; размножение половое или бесполое (спорообразование), по типу питания делятся на паразитов и сапрофитов

гумма - инфекционная гранулёма, характерная для третичного сифилиса (встречается нечасто); может быть единичной больших размеров или множественной, диффузно разбросанной

небольших размеров; характеризуется следующими частями: а) неправильная центральная часть, плотная, иногда гиалинизированная, с зоной коагуляционного некроза; б) средняя зона из эпителиоидных клеток; в) периферическая зона из фибробластов и нескольких капилляров, инфильтрирована лимфоцитами и плазматическими клетками » гуммозный сифилид » узловатый сифилид

дезинфектант - агент, уничтожающий болезнетворные организмы и/или подавляющий их активность; обычно используют для обработки помещений, материалов и инструментария

дезинфекции - уничтожение возбудителей инфекционных болезней в окружающей среде » обеззараживание

дейтеромицеты - несовершенные грибы (*Fungi imperfecti*); условно выделенный класс грибов, т.к. половая (совершенная) стадия размножения у них отсутствует. Их систематическое положение не вполне ясно, классификация основана на формах спороношения или других внешних признаках и служит только практическим целям

дёнге - эпидемическая тропическая и субтропическая инфекция, возбудители - вирусы д. (4 типов), переносчики - комары рода *Aedes*; по тяжести различают 4 стадии болезни: I - лихорадка и её общие симптомы; II - симптомы I стадии и кровоточивость кожи, дёсен, слизистой пищеварительного тракта; III - симптомы II стадии с общей возбуждённостью и сосудистой недостаточностью; IV - симптомы III стадии с развитием шока » лихорадка д. классическая » л. «жирафов» » л. костоломная » л. суставная » геморрагическая лихорадка д.

дерматит

аллергический контактный - клиническое проявление кожной реакции ГЗТ (эритема, отёк и везикулы), возникающее при повтор-

ных соприкосновениях кожи со специфическим аллергеном

дерматомикоз - дерматофития

дерматофит - любой возбудитель микоза кожи и её придатков » дерматомицет

• *антропофильные* дд. - паразиты человека, передача инфекционного агента происходит в результате контакта с больным

• *геофильные* дд. - почвенные сапрофиты; заражение возможно после контакта чувствительного организма с инфицированной землёй

• *зоофильные* дд. - паразиты большинства домашних животных (кошек, собак, рогатого скота), являющихся источником заражения людей

дерматофитии - микоз кожи и её придатков, характерны эритема, мелкие папулы, трещинки и шелушение » дерматомикоз » эпидермофития

• *черноточечная, волосистой части головы* д. - микоз, вызванный инфекцией *Trichophyton tonsurans*; наблюдают у взрослых как хроническую инфекцию, сопровождающуюся выпадением волос с последующим заполнением фолликулов тёмными конидиями

детергент - чистящий или моющий агент » поверхностно-активное вещество

• *катионные* дд. - поверхностно-активные вещества, содержащие алкильные группировки, реагирующие с липидами клеточной стенки, что приводит к деструктуризации цитоплазматической мембраны микроорганизмов

дефензины - группа антимикробных катионных белков с низким молекулярным весом

диаминопиримидины - синтетические пирими-диновые производные; в медицинской практике применяют триметоприм и пириметамин как антибактериальные препараты широкого спектра действия; механизм действия связан с ингибированием синтеза ДНК, опосредованным нарушениями фолиевой кислоты

диареи - учащённое опорожнение кишечника, при котором фекальные массы имеют жидкую консистенцию » понос

- *путешественников д.* - расстройство кишечника, характеризующееся внезапным началом, спорадически возникающее у путешествующих людей (обычно в течение первой недели поездки), наиболее часто вызывается *Escherichia coli* и *Campylobacter jejuni*

диданозин (дидезоксиинозин; ddI) - противовирусный препарат; близкий аналог зальцитабина, проявляющий меньшую токсичность

диморфизм - способность некоторых грибов в зависимости от условий давать мицелиальный (гифальный) или дрожжеподобный рост; в некоторых случаях феномен может представлять собой адаптацию к паразитизму (например, возбудители системных микозов *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides* и *Paracoccidioides*, а также *Candida* и *Sporothrix schenckii*)

дифтерии - специфическое инфекционное заболевание, вызываемое *Corynebacterium diphtheriae* и его токсином, отличающееся воспалением с формированием фибринозного экссудата в виде плёнок в гортани, носовой полости и иногда в трахеобронхиальном дереве; токсин вызывает дегенерацию периферических нервов, сердечной мышцы и других тканей

дифтероид 1. Локальная инфекция, сходная с дифтерией, вызываемая отличными от *Corynebacterium diphtheriae* микроорганизмами » псевдодифтерия 2. Микроорганизмы, имеющие сходство с *Corynebacterium diphtheriae*

ДНК-гираза - фермент, катализирующий реакцию спирализации молекулы ДНК

донованоз - инфекция, вызванная *Calymmatobacterium granulomatis*, которого можно выявить в цитоплазме макрофагов (тельца *Донована*)» гранулёма паховая

единица блишкообразующая (БОЕ) - зона массовой гибели клеток (бляшка) в монослое чувствительных клеток заражённой клеточной культуры в области инокуляции; используют для выражения дозы или степени цитопатогенности вируса

зальцитабин (дидезоксицитидин; ddC) - противовирусный препарат; механизм действия аналогичен эффекту зидовудина; применяют у ВИЧ-инфицированных при наличии резистентности к последнему

зёрна

- *Джёмса з.* - сравнительно крупные круглые однородные красные или красно-жёлтые конгломераты (при окраске по *Романовскому-Тимзе*), появление которых характерно для эритроцитов, поражённых *P. ovale* » *Джёмса* гранулы

- *Муха з.* - кислотонеустойчивые гранулярные формы *Mycobacterium tuberculosis*; не окрашиваются по *Циллю-Нильсену*, но достаточно хорошо по *Траму*; часто выявляют в гранулёмах при туберкулёзе кожи

• *Шюффнера* з. - мелкие круглые однородные красные или красно-жёлтые точки (при окраске по *Романовскому-Тимзе*), появление которых характерно для эритроцитов, поражённых *Plasmodium vivax* » *Шюффнера* гранулы

зигомикоз - микозы, вызываемые представителями различных родов класса *Zygomycetes* (*Absidia, Mortierella, Mucor, Rhizopus*); иногда инфекционными агентами являются представители родов *Entomophthora, Conidiobolus, Basidiobolus* » *phycomycosis* (фикомикоз) » мукоромикоз

зигоспора - спора, образующаяся половым путём (после слияния родительских клеток с кари-огамией и последующим мейозом)

зидовудин (азидотимидин; АЗТ) - противовирусный препарат, блокирует обратную транскриптазу ВИЧ; структура соединения напоминает тимидин

иерсиниоз - инфекция, вызываемая *Yersinia enterocolitica*, сопровождающаяся диареей, энтеритом, псевдоаппендицитом, илеитом, узловатой эритемой, иногда септицемией или острым артритом

• *псевдотуберкулёзный* и. - инфекция, вызываемая *Yersinia pseudotuberculosis*, проявляется симптомами псевдотуберкулёза грызунов (редко человека) и острого брыжеечного лимфаденита с признаками псевдоаппендицита

имидазола производные - класс химических соединений, вызывающих нарушение структуры цитоплазматической мембраны грибковых клеток и выход молекул различного размера наружу. Предположительно препараты нарушают некоторые этапы синтеза эргостерола; проявляют широкий спектр фунгицидной активности, а также подавляют жизнедеятельность некоторых бактерий и простейших

иммуноглобулины (Ig) - класс структурно связанных белков, содержащих 2 вида парных полипептидных цепей: лёгкие (L), с низкой молекулярной массой, цепи к или Х; тяжёлые (H) цепи (у, j, или а, реже е и 5), все 4 цепи связа-

ны вместе дисульфидными связями; на основании структурных и антигенных признаков H-цепей Ig разделяют на несколько классов; все классы гомогенны и легко поддаются анализу аминокислотной последовательности; большое количество возможных комбинаций L- и H-цепей создаёт многообразие АТ каждого индивидуума (в % указано относительное содержание Ig в нормальной человеческой сыворотке)

• IgA (10S по размеру, 15%)

• IgD (менее 0,1%)

• IgE (менее 0,01%)

• IgG (7S и 80%)

• IgM (19S, пентамер базисной единицы, 5S и 10%) иммунодефициты - состояния, развивающиеся

при нарушении иммунных механизмов; различают 1) первичный и. (дефект самой иммунной системы); 2) вторичный и. (связан с развитием другого заболевания); 3) специфический и. (вызванный избирательным поражением либо В-лимфоцитов, либо Т-лимфоцитов, либо тех и других); 4) неспецифический и. (вызванный сбоем механизмов неспецифического иммунитета). Следует отметить достаточно редкую встречаемость врождённой иммунопатологии и широкую распространённость приобретённых иммунодефицитов (например, около 90% всех вирусных инфекций сопровождается транзиторной иммунодепрессией или модуляцией иммунных реакций

на гетерологичные Аг) » иммунологический дефицит » дефицит иммунитета » иммунный дефицит » иммунологическая недостаточность

- *вариабельный неклассифицируемый* и.-и. неизвестной этиологии, встречающийся в любом возрасте у лиц обоего пола; общее количество Ig обычно меньше 300 мг%, количество В-лимфоцитов часто в пределах нормы, при этом в лимфоидной ткани отсутствуют плазматические клетки; клеточный и. (Т-лимфоцитарный), как правило, не изменён; сопровождается частыми гнойными инфекциями, иногда развиваются аутоиммунные заболевания

- *клеточный, с нарушенным синтезом Ig* и.- нечётко выраженная группа спорадических заболеваний неизвестной причины, сочетающихся с повторными бактериальными, грибковыми, протозойными и вирусными инфекциями; наблюдаются гипоплазия вилочковой железы, угнетение клеточного (Т-лимфоцитарного) и гуморального (В-лимфоцитарного) иммунитета, хотя содержание Ig может быть в пределах нормы» тимусная алимплоплазия *незелофского* типа » *Незелофа* синдром

- *комбинированный* и. - и., связанный с поражением как В-лимфоцитов, так и Т-лимфоцитов

- *тяжёлый комбинированный* и. (SCID - *от* severe combined immunodeficiency) - состояние, характеризующееся как гуморальными (отсутствуют АТ), так и клеточными дефектами; алимплоплазия или алимпфопения (от-

носится как к В-лимфоцитам, так и к Т-лимфоцитам). Безусловная подверженность бактериальным, грибковым, протозойным, вирусным инфекциям; введение живых вакцин должно быть исключено; смерть наступает к концу первого года жизни (жизнь поддерживает трансплантация костного мозга) иммуноферментный анализ (ИФА) - конкурентный анализ *in vitro*, при котором индикаторной системой являются фермент и его субстрат; при положительных тестах образуется легко определяемое и, как правило, окрашиваемое вещество. Выделяют гомогенный и гетерогенный варианты метода; первым идентифицируют низкомолекулярные вещества (гаптены) за счёт ингибирования фермента после связывания гаптена (восстанавливается в результате реакции АТ-полный Аг) либо за счёт потери активности фермента в ходе реакции Аг-АТ. Чаще применяют гетерогенный метод с фиксацией Аг или АТ на твёрдой фазе (полистирольные планшеты) и удалением непрореагировавших компонентов реакции многократным отмыванием. Иначе метод известен как твердофазный ИФА импетиго - контактная поверхностная пиодермия, вызываемая стафилококками и стрептококками » *i. contagiosa* » *i. vulgaris*

- *буллёзное новорождённых* и. - обширные дис-семированные буллёзные высыпания, появляющиеся вскоре после рождения при инфицировании стафилококком, иногда стрептококком » пузырчатка новорождённых эпидемическая » пемфигоид новорождённых

- *герпетическое* и. - редкая форма пиодермии (например, у беременных); высыпание мелких, тесно связанных пузырьков, сопровождающееся тяжёлой общей симптоматикой

- *бессимптомная* и. » *бациллоносительство*

- *внутрибольничная* и. - клинически распознаваемое инфекционное заболевание, возникающее у больного во время стационарного лечения или у сотрудников больницы

- *воздушно-капельная* и. - и., развившаяся при вдыхании капелек или частиц слюны, мокроты, содержащих возбудитель

- *вторичная* и. » суперинфекция

- *госпитальная* и. - внутрибольничная инфекция

- *оппортунистическая* и. - заболевание, вызванное микроорганизмом, способным поражать лишь индивидуум с ослабленным иммунитетом

- *паразитарная* и. - инфицирование различными паразитами (например, шистосомами), обычно сопровождающаяся эозинофилией с экспрессированием на поверхности эозинофилов рецепторов к Ig E

- *перекрёстная* и. - и., развивающаяся в результате взаимного обмена возбудителями ии.

- *смешанная* и. » микст

- *эндогенная* и.

и., часто вызванная условно-патогенной микрофлорой или другим агентом, бессимптомно присутствующим в организме » аутоинфекция » аутогенная и. • *ятрогенная* и. - инфекционное заболевание, возникающее в результате проведения различных медицинских манипуляций испанка - вторая пандемия гриппозной инфекции в 1918-1919 гг.; первично зарегистрирована в Испании, позднее охватила практически всё население Земли; характеризовалась развитием исключительно тяжёлых геморрагических пневмоний с рекордным показателем смертности (в некоторых странах до 1% от всех случаев) 5-йодо-2'-деоксиуридин (ИДУ) - противовирусный препарат группы галогенизированных производных дезоксиуридина; фосфорилируется как клеточной, так и вирусоспецифической тимидин киназой, т.е. активная форма образуется в заражённых и интактных клетках; обычно применяют наружно для лечения герпетических кератитов. Механизм действия связан с замещением тимидина в вирусной ДНК йодохинол - препарат, назначаемый при носительстве *Entamoeba histolytica* и инфекциях, вызванных *Dientamoeba fragilis* кала-азар - висцеральный лейшманиоз

кампилобактериоз - любая инфекция, вызванная микроаэрофильными бактериями рода *Campylobacter*

капнофил - микроаэрофильный микроорганизм, нуждающийся в высоких концентрациях CO₂

капсид - оболочка вириона; бывает одно- и двухслойной; образована протеинами или их комбинацией с липидами

капсомер - субъединицы капсида, скомпонованные по 2 основным типам симметрии: икосаэдральной или спиральной

кинетопласт - органоид цитоплазмы простейших, вырабатывающий энергию для движения жгутиков; расположен у основания жгутика

кислота

- *дигидроптероевая* к. - промежуточный продукт синтеза фолиевой кислоты, образующийся из 6-гидроксиметилптерина и p-аминобензойной кислоты; реакция ингибируется сульфаниламидами

- *дигидрофолиевая (7,8-дигидрофолиевая)* к. - промежуточное вещество между фолиевой и 5,6,7,8-тетрагидрофолиевой кислотами

- *тетрагидрофолиевые* кк. - активные коэнзимные формы фолиевой кислоты » коэнзим F

кислотоустойчивые (кислото-спиртоустойчивые) бактерии- б., не обесцвечивающиеся при обработке кислым спиртовым раствором (например, 3% раствором HCl в этаноле) после окрашивания

кишечная палочка - см. *Escherichia coli*

клетка

• Л-кк. - кк., обычно макрофаги или моноциты, осуществляющие кооперативное взаимодействие с Т- и В-лимфоцитами

• В-к. - В-лимфоцит

• Г-к. - Т-лимфоцит

• *Virхова* к. - «пенистые» гистиоциты, выявляемые при проказе » лепрозные кк

• *дендритная* к. - *Лангерханса* к.

• «ключевые» кк.» сIue-кк.

• *Лангерханса* к. - дендритная (отростчатая) к. эпидермиса, способная к представлению Ag; несёт мембранные Fc- и C3-рецепторы

• *Музера* к. - к., содержащая риккетсии в форме телец включений; обычно выявляют в экссудате (и в ткани) *tunica vaginalis* при эндемическом сыпном тифе, вызванном *Rickettsia typhi*

конидия - вегетативная спора грибов

конканавалин А (КонА) - фитомитоген из бобов канавалии мечевидной (*Canavalia gladiata*); реагирует с глюко- и маннопиранозидами, агглютинирует рецепторы мембран животных клеток; как и другие фитогемагглютинины, КонА оказывает более сильное митогенное действие на Т-, чем на В-лимфоциты

конъюгация 1. Объединение мужской и женской гамет многоклеточных организмов или временный контакт 2 микроорганизмов, в процессе которого происходит обмен генетическим материалом. 2. Присоединение глюкуроновой или серной кислоты к определённым токсичным метаболитам (преимущественно в печени), приводящее к их обезвреживанию и экскреции. 3. Попарное соединение хромосом (например, гомологичных хромосом в мейозе) » к. дистанционная » к. контактная » к. прерывистая

корь - острая экзантематозная вирусная инфекция; характерны лихорадка и другие системные нарушения, катаральное воспаление слизистой оболочки дыхательных путей и генерализованная красная пятнисто-папулярная сыпь, сопровождающаяся отрубевидным шелушением » *rubeola*

• *атипичная* к.- довольно тяжёлая инфекция с необычными клиническими проявлениями, обычно у лиц со сниженным поствакцинальным иммунитетом; характеризуется высокой температурой тела, укороченным продромальным периодом, атипичной сыпью и пневмонией

кофермент - вещество, необходимое для выполнения ферментом его функции или усиливающее его действие; молекулы. меньшего размера, чем молекулы ферментов, отделяются от них при диализе, относительно термостабильны и часто легко отщепляются от белковой части фермента

• к. А (Ко-А) - к., содержащий пантотеновую кислоту, аденозин-3'-фосфат, 5'-пирофосфат и 2-аминоэтанэтиол; участвует в переносе ациль-ных групп

- к. Q (убихинон) - хиноны с изопреноид-ной боковой цепью, осуществляют перенос электронов от флавопротеидов к цитохрому

краснуха - острое экзантематозное заболевание, характерны увеличение лимфатических узлов, невысокая температура тела или общая реакция; опасное заболевание, поскольку вызывает нарушения развития плода при инфицировании во время первых месяцев внутриутробного развития; возбудитель - вирус краснухи (род *Rubivirus*) » германская корь » трёхдневная корь » эпидемическая розеола » третья (детская) болезнь

криптококкоз - остро, подостро или хронически текущий микоз, возбудитель - *Cryptococcus neoformans*, возможны генерализованные, лёгочные, менингеальные проявления » *Буссе-Бушке* болезнь » *Буссе-Бушке* бластомикоз » европейский бластомикоз

криптоспоридиоз - инфекция, вызванная представителями рода *Cryptosporidium*; характерны хронические диареи

куру - прогрессирующая летальная форма губчатой (спонгиозной) энцефалопатии, эндемичной для некоторых меланезийских племён и папуасов Новой Гвинеи. Передача инфекционного агента (приона) происходила при ритуальном каннибализме (так называемая медленная вирусная инфекция)

кЭП - (буквально шапочка, колпачок); нуклеотид-ная структура на 5'-окончаниях мРНК многих эукариотических клеток и некоторых вирусов; состоит из 7-метилгуанозина, взаимодействующего через 5'-гидроксильную группу трифосфат-ной группировки с 5'-гидроксильной группой нуклеозида

лаймоборрелиоз - болезнь *ла'мская*

ламивудин (2'-дезоксидезокси-3'-тиоцитидин; ЗТС) - противовирусный препарат; аналог зидовудина, возможно, проявляет с ним синергидное действие, т.к. комбинированное применение обуславливает лучший клинический эффект у ВИЧ-позитивных пациентов и больных со СПИДом

- *Старого Света* л. - кожный л.

лектин - белок, осуществляющий агглютинацию, преципитацию и другие феномены, но не являющийся АТ

лепра 1. Название, даваемое в древности различным кожным заболеваниям, особенно хроническим и заразным; вероятно, к ним относили псориаз и лейкодермию. 2. Хроническая гранулематозная инфекция, вызываемая палочкой *Хансена* (*Mycobacterium leprae*); болезнь встречается в 2 основных видах: лепроматозной и туберкулоидной» *Хансена* болезнь » проказа » гансениаз (*устар.*)

- *гистоидная* л. - разновидность лепроматоз-ной л. с патологическими изменениями, напоминающими дерматофиброму или нейрофиброму

- *кожная* л. - туберкулоидная л.

- *ле^оматозная* л. -л., при которой узелковые кожные патологические образования инфильтрированы, имеют неправильные очертания и бактериопозитивны, но лепроминовая проба отрицательна » л. бугорковая » лепро-матоз полярный

- *пятнистая* л. - туберкулоидная л., при которой патологические образования имеют небольшие размеры, сухие, без волос, похожи на эритему на светлой коже, а на смуглой коже слабо пигментированы или медного цвета

• *туберкулоидная л.* - форма л., при которой лепроминовая проба резко положительна; лепромы эритематозны, с резко очерченными краями » кожная л.

лепрозная анестезия - форма лепры, поражающая преимущественно нервы, с характерной гиперестезией и последующей анестезией и параличом, изъязвлениями и различными трофическими нарушениями, часто заканчивающимися гангреной и увечьями

лепрома - отдельный очаг гранулематозного воспаления, вызванного циркулирующей *Mycobacterium leprae* » лепрозный бугорок » гранулёма лепро-матозная

лепромин - экстракт тканей, инфицированных *Mycobacterium leprae*; используется для кожных проб с целью определения стадии лепры» Аг *Мицуды*

лептоспироз - инфекция, вызванная бактериями рода *Leptospira*

• *австралийский л.* - безжелтушный л., вызванный *Leptospira interrogans* серовар *australis* » австралийская семидневная лихорадка

• *безжелтушный л.* - умеренно протекающее заболевание; сопровождается головной болью и миалгией; типичны гиперемия склер и лица, конъюнктивиты. В ряде случаев появляется розоватая сыпь (чаще на туловище и конечностях), носящая либо эфемерный характер, либо сохраняющаяся до 10 сут, с последующим шелушением

• *желтушный л.* - болезнь *Васильева-Вейля*

• *помона л.*- безжелтушный л., вызванный *Leptospira interrogans* серовар *pomona* » болезнь свинопасов » болезнь *Бушэ-Гзэля* » лихорадка ДВ-«В» » свиной лептоспироз

• *собачий л.* - безжелтушный л., вызванный *Leptospira interrogans* серовар *canicola* » штутгартская болезнь » каникулёз

лизогения - способность различных штаммов бактерий, содержащих бактериофаги, лизировать другие штаммы бактерий, не разрушаясь при этом (сосуществование геномов бактерии и умеренного фага в виде единой хромосомы, в которой ДНК фага включена в ДНК хромосомы бактерии; передаётся по наследству дочерним клеткам с возможностью высвобождения фагового генома, развития и размножения фага с последующим лизисом бактерии)

лизоформ

лизоцим [КФ 3.2.1.17]- фермент (гидролаза), разрушающий клеточные стенки у некоторых бактерий » мурамидаза

лимфокины - цитокины, синтезируемые лимфоцитами

лимфоциты

• В-лимфоциты» В-клетки

• Т-лимфоциты» Т-клетки

листериоз - зооноз, у человека инфекция характеризуется полиморфным течением, преимущественно в виде ангинозно-септической и нервной форм; возбудитель - *L. monocytogenes* » лис-тереллёз » гранулематоз новорождённых » болезнь реки Тигр

• *волынская л.* - окопная л.

• *геморрагическая л.* Встречается в 20-40% инфекций, вызванных арбовирусами группы геморрагических лл.; клиническая картина практически не отличима от таковой при недифференцированных лл., вызванных другими арбовирусами или вирусами других таксономических групп; сопровождается высокой температурой тела, обширными петехиями, кровотечениями из ЖКТ и других органов, гипотонией и шоком; поражение почек может быть тяжёлым, особенно при эпидемической геморрагической л., могут появляться неврологические признаки, особенно в случаях ар-гентинско-боливийского типа; этиологический фактор (вирус) представлен различными таксономическими группами: альфавирусы, фла-вивирусы, буньявирусы и аренавирусы; некоторые типы переносятся клещами, другие - москитами, третьи - зоонозы

• *геморрагическая эпидемическая л.* - геморрагическая л. с почечным синдромом; характеризуется острым началом с головной болью, ознобом и высокой температурой тела, повышенным потоотделением, жаждой, светобоязнью, насморком, кашлем, болями в мышцах, суставах, животе с тошнотой и рвотой; эта фаза длится от 3 до 6 дней, затем происходят капиллярные кровоизлияния, отёки, олигурия и шок. Возбудители арбовирусы (буньявирусы) рода *Hantavirus*; природный резервуар - различные грызуны » *геморрагическая л. с почечным синдромом (ГЛПС)* » дальневосточная л. » корейская л. » маньчжурская геморрагическая л.

• *двухфазная молочная л.* - энцефалит русский весенне-летний (западный подтип)

• *Джермистон л.* - инфекционная болезнь из группы тропических вирусных комариных лл.,

вызываемая одноимённым арбовирусом антигенной группы Буньямвера; характеризуется внезапным началом, высокой л., головной болью, болями в пояснице; отличается коротким доброкачественным течением

• *дум-дум л.* - см. висцеральный лейшманиоз

• *жёлтая л.* - тропический вирусный гепатит, возбудитель - вирус жёлтой л., представлена городской формой (переносчик - комар *Aedes aegypti*) и сельской, джунглевой, или лесной, формой, передающейся от древесных млекопитающих (обычно приматов) различными москитами рода *Naemagogus*; клинически характеризуется высокой температурой тела, редким пульсом, альбуминурией, желтухой, опуханием лица и кровоизлияниями, особенно рвотой с примесью крови

• *Западного Нила л.* - острая инфекционная болезнь из группы тропических вирусных комариных лл., характеризуется умеренной л., менингеальными явлениями, лимфаденитом, кратковременным и доброкачественным течением; встречается в Восточной Африке, на Ближнем Востоке и в Индии » энцефалит Западного Нила

• *Зика л.* - острая инфекционная болезнь обезьян, иногда передаётся человеку через комаров и характеризуется л. с доброкачественным течением; эндемична для Уганды

• *Илеша л.* - инфекционная болезнь, вызываемая одноимённым буньявирусом; характеризуется высокой л. с головной болью

• *Ильеус л.* - инфекционная болезнь из группы тропических комариных вирусных энцефалитов; характеризуется л. и энцефалитом; может протекать бессимптомно; встречается в Южной и Центральной Америке

• *ипрская л.* - окопная л.

• *колорадская клещевая л.* (*Coloгаslo* - река в США и Мексике) - инфекция, вызванная вирусом колорадской л.; передаётся человеку *Dermacentor andersoni*; симптомы л. умеренны, без сыпи » л. Колорадо

• *Ласса (геморрагическая) л.* (Lassa - город в Нигерии, где впервые зарегистрирована инфекция) - высоколетальная эпидемическая геморрагическая л., возбудитель - вирус Ласса; характерны высокая температура тела, головная боль, боли в горле, мышцах, животе, кожная сыпь с геморрагиями, рвота и диарея; природный резервуар - многососковая крыса *Mastomys natalensis*, не менее распространена передача инфекции от человека человеку

• *нефотохромогенные м.* - согласно классификации *Раньона*, включают виды, видимый рост которых проявляется уже через 5-10 сут; обычно образуют кремовые, иногда полупрозрачные гладкие S-колонии, хорошо эмульгирующиеся в воде (также могут образовывать SR- и R-формы). При старении культур колонии некоторых штаммов могут приобретать жёлто-оранжевую окраску (пигментация не зависит от экспозиции на свету)

• *скотохромогенные м.* - согласно классификации *Раньона*, переменные кислотоустойчивые палочки, чаще образующие плоские или с острой верхушкой S-колонии; у пигменто-образующих штаммов колонии окрашены в жёлто-оранжевые тона независимо от культивирования на свету или в темноте (на свету окраска более интенсивна)

• *фотохромогенные м.* - согласно классификации *Раньона*, кислотоустойчивые палочки; при культивировании обычно образуют жёлто-оранжевый пигмент; колонии вырастают в течение 2 нед при 37 °С (в течение 3 нед при комнатной температуре). При культивировании на свету пигментообразующие штаммы дают более интенсивное оранжево-красное окрашивание колоний

микотоксикоз - интоксикация, вызванная поступлением в организм токсинов различных плесневых грибов, обсеменяющих пищевые продукты; *иногда термин некорректно используют для обозначения отравлений, вызванных употреблением в пищу ядовитых грибов*

микроаэрофил - аэробный микроорганизм, нуждающийся в меньших концентрациях кислорода, чем его содержание в воздухе

микробный планктон - совокупность микроорганизмов (бактерии, вирусы, грибы, водоросли), постоянно обитающих в пресных и солёных водах

микробное число - количественный показатель бактериальной загрязнённости окружающей среды; представляет собой количество выросших на МПА колоний, приходящихся на 1 мл жидкости, 1 г твёрдого вещества или 1 см² поверхности исследуемого объекта или субстрата

микрокамеры с плотными средами - устройства для исследования живых микроорганизмов. Одна из лучших - Ш-образная камера *МА. Пёшкова*; её основное преимущество обусловлено возможностью полоски агара, содержащего бактерии, граничить с воздушными полостями микрокамеры, обеспечивающими нормальное развитие аэробов

минимальная бактерицидная концентрация (МБК) - наименьшая концентрация препарата, проявляющая бактерицидный эффект в отношении тест-культуры *in vitro*

минимальная ингибирующая концентрация (МИК) - наименьшая концентрация препарата, тормозящая рост тест-культуры *in vitro*

мицелий - скопление гиф, образующих грибную колонию

мицетизм - отравление, вызванное употреблением в пищу ядовитых грибов

мицетома 1. Хроническая инфекция, обычно поражающая стопы; характерны локализованные поражения с отёками и множественные абсцессы со свищами; экссудат содержит гранулы (жёлтые, белые, красные, коричневые или чёрные в зависимости от этиологического агента). Возбудители: в тропиках - *Pseudoallescheria boydii* (*устар. Allescheria* и *Petriellidium*

boydii), *Ma-durella grisea* и *M. mycetomi*; в прочих регионах - различные виды *Nocardia* » мадурская стопа » мадуromикоз 2. Любая опухоль, вызванная гифальными грибами

мокрецы (*Ceratopogonidae*, *Heleidae*) - семейство мелких двукрылых насекомых, преимагинальные стадии которых развиваются в стоячих водах, гниющей лесной подстилке и т.п.; кровососущие м. - механические переносчики туляремии и, возможно, чумы, специфические переносчики акантохейлонематоза, дипеталонематоза, мансо-неллэза и онхоцеркоза животных; входят в состав гнуса

молекула адгезии - одна из макромолекул межклеточного вещества, принимающая участие в реализации множества процессов: морфогенети-ческих движений, регенерации, злокачественного роста и др.; имеется несколько семейств м. а. - интегрин, селектины, адгезионные Ig и др.

- *гематоксилин-эозином о.* - основной метод окрашивания при гистологическом исследовании тканей; ядра окрашиваются в тёмно-синий цвет гематоксилином, а цитоплазма в розовый цвет эозином

- *метенаминовым серебряным по Гбмори о.* - включает предварительную обработку гистологических препаратов хромовой кислотой с последующим нанесением красителя; применяют в диагностике микозов (клетки грибов тёмно-серые или чёрные)

- *периодной кислотой и реактивом Шйффа (PAS-окраска) по МакМанусу о.* - применяют в диагностике микозов; первоначально на мазок наносят периодную кислоту, взаимодействующую с 1,2-гликольными группами полисахаридов клеточных стенок грибов и окисляющую их до альдегидов; последние реагируют с сульфитом лейкофуксина реактива *Шйффа*; клетки окрашиваются в насыщенно-розовый или красный цвет

- *по Альберту-Лейбурну о.* - о. смесью толу-идинового синего, метилового зелёного, ледяной уксусной кислоты и этанола, применяемой для окраски *Corynebacterium diphtheriae* и выявляющей метахроматические гранулы; в настоящее время чаще используют модификацию *Лейбурна*, включающую использование 2 растворов: первый - толуидиновый синий, малахитовый зелёный, этанол (95°), ледяная уксусная кислота, дистиллят; второй - кристаллический йод, йодид калия, дистиллят. О. производят поочерёдно

- *по Граму о.* - метод дифференциальной о. бактерий, при котором грамположительные клетки окрашиваются в фиолетовый цвет, а гра-мотрицательные - в розовый; включает окраску мазка карболовым генциановым фиолетовым и йодным раствором *Люгбля* с последующим обесцвечиванием этанолом; грамположи-тельные бактерии удерживают краситель, а грамотрицательные нуждаются в дополнительном докрасивании фуксином или сафранином; метод используют при систематике бактерий

- *по Грйдли о.* - применяют в диагностике микозов; метод включает предварительную обработку препаратов хроматом лейкофуксина с последующим нанесением фуксинового альдегида и метанилового жёлтого (клетки грибов розово-пурпурные на жёлтом фоне)

- *по Кастанёде о.* - метод о. риккетсий, включает применение 1% водного раствора азура-II с добавлением 0,5% формалина и 1% сафранина; перед о. к 20 мл фосфатного буфера (рН 7,4-7,6) добавляют 1 мл формалина и 20 капель раствора азура и наносят на нефиксированные мазки крови; через 3-4 мин мазки промывают и докрасивают сафранином (несколько секунд). Вместо азура можно использовать 1% раствор метилового синего

- *по Киньону о.* - модификация о. по *Циллю-Нильсену*; включает применение 1% НС1 для подкисления этанола, используемого для обесцвечивания перед докрасиванием метило-вым

синим; применяют для о. микобактерий; модифицированный метод - для о. актиномицет и видов *Brucella*

- *по Левадѣти* о. - метод выявления возбудителей сифилиса в гистологических препаратах, заключающийся в их пропитывании раствором нитрата серебра и последующем восстановлении серебра смесью пирогалловой

кислоты с раствором формальдегида; бледные трепонемы окрашиваются в чёрный цвет на светло-жёлтом фоне

- *по Лѣффлеру* о. 1. О. жгутиков бактерий путём последовательного применения протравы (танина) и красителя. 2. О. дифтерийных бактерий метиленовым синим *Лѣффлера*

- *по Маккиавелло* о. - дифференцировочная о. фуксином и метиленовым синим; используют 0,25% щелочной раствор основного фуксина (в буфере или подщелоченной воде, рН 7,2-7,4), 0,5% раствор лимонной кислоты и 1% раствор метиленового синего. Препарат быстро фиксируют над пламенем, окрашивают фуксином (через фильтровальную бумагу), дифференцируют в растворе лимонной кислоты и после промывки докрашивают метиленовым синим (10 с)

пастеризация - метод уничтожения микроорганизмов быстрым нагреванием до температуры не выше 100 °С с последующим медленным ступенчатым остыванием; не является стерилизующим методом, т.к. не все микроорганизмы чувствительны к подобным воздействиям

- *быстрая* п. - метод уничтожения микроорганизмов посредством инкубации материала при 71,7 °С в течение 15 с с последующим быстрым охлаждением

- *медленная* п. - метод уничтожения микроорганизмов посредством более длительной экспозиции (30 мин) при 60 °С

патогенность - способность вызывать заболевание » болезнетворность

пенициллины - класс антибиотиков, первые из внедрѣнных в практическую медицину антибио-

тиков. Механизм действия бактерицидный, основан на способности вызывать дефекты синтеза муреинового компонента бактериальной оболочки, делающие клетку чувствительной к любому изменению осмотического давления с последующим её лизисом. При некоторых условиях бактерия может выживать, образуя L-формы с дефектной клеточной стенкой

- *полусинтетические* п. - продукты синтеза на основе природного соединения б-аминопенициллановой кислоты (продукта распада пенициллина под действием пенициллиназы); малотоксичны, легко проникают в ткани и жидкости, некоторые можно принимать внутрь. Основные побочные эффекты при приѣме - аллергические реакции

- *природные* п. продуцируют грибы рода *Penicil-lium*; препараты проявляют бактерицидное действие, направленное против грамположительных и ограниченного количества грамотрицательных микроорганизмов

пентамидин - препарат для лечения пневмоцистозов; альтернативен триметопримсульфаметоксазолу, препарат второго ряда для лечения лейшманиозов и африканских трипаносомозов; являясь диамидином, препарат взаимодействует с А-Т-регионами ДНК, а также нарушает синтез рибосомальной РНК

пёплог - липопрогеинолал (самая внешняя) оболочка вириона; организована двойным слоем липидов и специфичных вирусных протеинов; образование происходит на поздних этапах реп-ликативного цикла, обычно при отпочковывании дочерних популяций

пептидогликан - органическое соединение, содержащее аминокислоты или пептиды, связанные с сахарами с преобладанием последних » муреин

пептоны - 1. Продукты неполного гидролиза белков, представляющие собой смесь пептидов и аминокислот. 2. Продукты неполного ферментативного гидролиза богатых белком субстратов, используемые в бактериологических питательных средах в качестве основного источника азота » бактопептоны

• *Мартёна п.* - продукт ферментативного гидролиза (в присутствии соляной кислоты) измельчённых свежих свиных желудков; используют для изготовления питательных сред

перевар *Файлдса* - пептический гидролизат (перевар) крови, вносимый в питательную среду для культивирования гемоглобинофильных бактерий

перфорин - главный цитотоксический белок Т-лимфоцита (имеется также в цитоплазматических гранулах нейтрофилов, тучных клеток, натуральных киллеров); функционально и по аминокислотной последовательности напоминает С9 компонент комплемента: подобно С9 перфорин встраивается в мембрану клетки-мишени и полимеризуется, формируя трансмембранные каналы. Через каналы, образованным перфорином, клетка-мишень теряет необходимые ионы и низ-

комолекулярные метаболиты, насыщается водой, набухает и лизируется (осмотический шок)

пёстрый ряд - набор дифференциально-диагностических сред, используемый для определения биохимической активности бактерий. Обычно это пептонная вода, содержащая индикатор *Андрале*, сахара или многоатомные спирты; ферментативное расщепление приводит к сдвигу рН и изменению окраски среды. Учитывают различия бактерий в способности ферментировать различные углеводы и способность сбраживать их с образованием кислоты и газа. Для этого в среды вносят поплавки, облегчающие обнаружение газообразования. Обычный набор включает среды с глюкозой, лактозой, маннитом, сахарозой, мальтозой; иногда он может быть дополнен лакмусовым молоком, дульцитом и мочевиной » цветной ряд

полимиксины - антибиотики класса катионных детергентов; продукты метаболизма *Bacillus polymyxa*; механизм активности бактерицидный, реализуется в нарушении осмотической резистентности цитоплазматической мембраны. Спектр антимикробного действия включает грамотрицательную микрофлору. Препараты токсичны, и в медицинской практике применяют лишь полимиксины В и Е (колистин) наружно

полиомиелит - воспаление серого вещества спинного мозга

• *острый п. (передних рогов спинного мозга)*- инфекционная болезнь (вызывают полиовирусы) в виде воспаления передних рогов спинного мозга; характерны лихорадка, боли, желудочно-кишечные расстройства, вялые параличи с атрофией разных групп мышц » *Хай-не-Мёдина болезнь (устар.)* » п. эпидемический острый » паралич детский эпидемический » паралич эпидемический » паралич детский спинальный » паралич детский спинальный атрофический острый

• *острый бульбарный п.* - острая инфекционная болезнь, вызываемая полиовирусами и поражающая нейроны продолговатого мозга

последовательность инсерционная »IS-элемент

ППД - см. туберкулин Коха новый

праймер - небольшая молекула (может быть небольшим полимером), запускающая синтез молекул большего размера

представление Ag - известно 3 класса Ag-пред-ставляющих молекул, ограничивающих Т-клеточ-ные ответы на микробные Ag: 1) CD1 молекулы представляют уникальные липидные и гликоли-

пидные микробные Ag; 2) МНС молекулы II класса представляют пептиды, полученные в результате протеолиза экстраклеточных патогенов; 3) МНС I класса и подобные им молекулы представляют пептиды, полученные в результате про-теолиза внутриклеточных патогенов. Связывание антигенных детерминант с перечисленными молекулами происходит в различных компартмен-тах Ag-представляющей клетки (например, CD1⁺ тканевого макрофага) преципитация - РП или процесс формирования преципитата

преципитин - преципитирующее АТ; АТ, при соответствующих условиях связывающее специфический растворимый Ag и осаждающее его

преципитиноген 1. Ag, стимулирующий образование специфического преципитина при введении в организм животного. 2. Преципитирующий-ся растворимый Ag

примахин - препарат для элиминации гипнозои-тов *Plasmodium vivax* из печени; предположительно препарат нарушает процессы митохонд-риального окисления, разрушая убихинон, выполняющего роль носителя электронов в дыхательном цикле

прион - инфекционный агент (Pr^{Sc}) так называемых прионовых болезней; белок Pr^C кодируется в нормальном геноме, вероятно (в том числе при мутации гена Pr^C и в присутствии Pr^{Sc}) возможна конформация Pr^C в Pr^{Sc}, устойчивого к действию протеаз; Pr^{Sc} выделен из инфекционного начала скрэпи, куру, болезни *Кройтцфельда-Якоба*, синдрома *Гёрстманна-Штраусслера-Шайнкера*, губчатой энцефалопатии коров, из р-амилоида мозга; п., возможно, необходим для синаптической передачи; в литературе ещё можно встретить трактовку вышеназванных нейро-дегенеративных болезней как так называемых «медленных» вирусных инфекций

проба

- *Банга* кольцевая проба - см. реакция агглютинации с молоком коров на бруцеллёр

- *Бюрнэ* п. - аллергическая кожная проба на бруцеллёр; бывает положительной у 70-85% пациентов к концу 1 мес заболевания. В качестве Ag используют бруцеллин (мелитин, абортин) - протеиновый экстракт культуры бруцелл

- *лепромйновая* п. - тест на проказу; применяют внутрикожное введение лепромина (Ag *Дхармёндры* или *Мишуды*) с проявлением реакции ГЗТ; проба выявляет стадию лепры (например, положительная реакция ГЗТ через 48 ч - реакция *Фернандеса* или между 24 нед - реакция *Мишуды*; помогают в дифференциальной диагностике туберкулоидной лепры от лепроматозной формы, при которой ГЗТ не развивается); тест не является диагностическим т.к. на него могут реагировать здоровые неинфицированные лица; проба коррелирует с активностью факторов резистентности организма пациента и имеет су-

• *неактивный р.* - гомеостатический механизм регуляции репрессибельных ферментных систем: р. не способен связываться с геном-оператором до тех пор, пока не соединится с молекулой корепрессора, после чего р. останавливает синтез ферментов

ретикулоэндотелиальная система (*устар.*) - система клеток ретикулоэндотелия; в настоящее время обозначают как систему мононуклеарных фагоцитов » система макрофагов » ретикулоэн-дотелиальный аппарат

рибонуклеиновая кислота (РНК) - макромолекула, состоящая из остатков рибонуклеозидов, соединённых фосфатом в направлении от 3'-гид-роксиды одного остатка к 5'-гидроксила следующего, присутствует во всех клетках как в растворённом состоянии, так и в виде агрегатов, а также во многих вирусах

• *гетерогенная РНК* - ядерная РНК с большим разбросом молекулярной массы, никогда не покидающая ядра, по-видимому, является предшественником мРНК

• *матричная РНК (мРНК)* - РНК, в точности отражающая нуклеотидную последовательность генетически активной ДНК и представляющая собой матрицу, по которой в цитоплазме синтезируется аминокислотная последовательность белка, первичная информация о которой закодирована в ДНК

• *растворимая РНК* - транспортная РНК, растворимая в растворах солей

• *рибосомальная РНК (рРНК)* - РНК, входящая в состав рибосом и полирибосом

• *транспортная РНК (тРНК)* - низкомолекулярная РНК, присутствующая в клетке по

крайней мере в виде 20 различных молекул, каждая из которых способна связываться с одной из аминокислот; соединяясь своими антикодонами с определёнными участками (кодонами) на мРНК и неся на другом конце аминокислоту, участвуют в образовании молекул белков с определённой аминокислотной последовательностью, а именно той, которая закодирована последовательностью нуклеотидов в хромосомной ДНК

• *ядерная РНК* - РНК, находящаяся в ядре клеток, может быть связана с ДНК или с ядерными структурами

риккетсиоз - общее название острых инфекционных болезней, вызываемых риккетсиями, передающимися преимущественно трансмиссивным, а также воздушно-пылевым и алиментарным путями

• *Q-р.* - Q-лихорадка

• *Бернётта р.* - Q-лихорадка

• *везикулёзный осповидный р.* - природно-оча-говый клещевой р., вызываемый *Rickettsia akari*, переносчик - клещ *Liponnysoides sanguineus*; характерны папулы, возникающие на коже туловища, превращающиеся в глубоко сидящие везикулы, при засыхании образуют чёрный струп; симптоматика развивается через неделю после появления папул и проявляется лихорадкой, ознобом, головной болью, болью в спине, гипергидрозом и локальным лимфаденитом » лихорадка ботанического сада Кью » везикулёзный осповидный рик-кетсиоз » лихорадка пятнистая кью-гардена-» оспа риккетсиозная русская

• *клещевой р.* - общее название р., возбудители которых переносятся клещами

• *клещевой австралийский р.* - клещевой р., вызываемый *Rickettsia australis*; характеризуется первичным аффектом с регионарным лимфаденитом, лихорадкой,

распространённой папулёзно-везикулёзной сыпью » тиф клещевой Квинсленда » тиф сыпной клещевой северного Квинсленда

- *клещевой американский* р. - лихорадка *Скалистых Гор* пятнистая
- *клещевой африканский* р. - лихорадка южноафриканская клещевая

• *клещевой североазиатский* р. - р., вызываемый *Rickettsia sibirica*, переносится иксодовыми клещами; характеризуется лихорадкой, первичным аффектом, розеолёзно-папулёзной сыпью, постепенно распространяющейся по телу » лихорадка клещевая североазиатская » р. клещевой сибирский » тиф клещевой сибирский » тиф сыпной клещевой » тиф сыпной клещевой североазиатский

• *Вассерманна* с. - с. для культивирования *Mycobacterium leprae*; включает нутрозу и сыворотку крови свиньи

- *Вейнберга* с. 1) полужидкая питательная с., применяемая для культивирования патоген-

ных анаэробов, представляющая собой МПБ, содержащий 1% агара и 0,2% глюкозы; 2) жидкая питательная с. для выращивания палочки ботулизма и получения токсинов возбудителей анаэробной инфекции, представляющая собой смесь водного экстракта сердечной мышцы быка и пептона из желудка и печени свиньи (с. обогащения Vf); 3) общее название группы углеводных питательных с. для определения сахаролитических свойств анаэробных микроорганизмов

• *Вейнберга-Тоя* с. - модификация питательной с. *Вейнберга*, предназначенная для получения ботулинического токсина

• *Виньяля-Вейона* с. - плотная питательная с. для культивирования анаэробных микроорганизмов, содержащая *мартёновский* бульон, агар и глюкозу

• *Тельбера* с. - плотная питательная среда для культивирования микобактерий туберкулёза, основными ингредиентами которой являются куриные яйца, снятое коровье молоко, картофельный отвар, пептон, глицерин, соли и малахитовая зелень

• *ТКИ* с. - раствор *Хэнкса* с добавлением сыворотки; применяют для стимуляции капсулообразования *Bacillus anthracis*

• *Тона* с. - плотная яично-глицериновая питательная с. для культивирования микобактерий туберкулёза

• *Дригальского-Конради* с. - плотная питательная с. для дифференцирования патогенных кишечных бактерий от кишечной палочки, содержащая лактозу, кристаллический фиолетовый и

индикатор (лакмус); колонии патогенных бактерий сохраняют сине-фиолетовый цвет среды, колонии кишечной палочки окрашиваются в красный цвет

- *Дорсет* (также *Дорсе*) яичная с. - с. для выращивания *Neisseria meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis* и других микроорганизмов; содержит агар, раствор хлорида натрия, белок и желток четырёх свежих яиц

- *Емельяновой* с. - кровяной рыбно-дрожжевой агар с добавлением глюкозы и цистина; используют при культивировании *Francisella tularensis*

- *Кауфманна* с. - жидкая селективная дифференциально-диагностическая питательная с. для выделения патогенных кишечных бактерий, представляющая собой среду *Мюллера*, к которой добавлены жёлчь и бриллиантовый зелёный

- *КДС-1* с. - с., содержащая МПА, гидролизат казеина, дрожжевой лизат, сыворотку крупного рогатого скота и кровь человека; применяют для культивирования гарднерелл

- *Киллиана* с. - жидкая селективная питательная с. для патогенных кишечных бактерий, состоящая из МПБ и бриллиантового зелёного

- *Кинга* с. - МПА, дополненный глицерином, K_2SO_4 , $MgCl_2$; применяют для определения пигментообразования у видов *Pseudomonas*

- *Кйтта-Тароцци* с. - с. для культивирования анаэробных бактерий; включает МПБ и экстрактивные продукты печени; обычно дополняют кусочками вываренной печени (для связывания свободного кислорода)

- *Клауберга-II* с. (модифицированная) - с. для культивирования и выделения *Corynebacterium diphtheriae*; включает МПА (100 мл), дополненный глицеринизированной кровью (10 мл), лаковой кровью (48 мл), 2% K_2TeO_3 (3 мл) » теллурит-глицеролат-кровяной агар

- *Кларка* с. - жидкая дифференциально-диагностическая питательная с. для определения у микроорганизмов интенсивности кислотооб-разования при расщеплении глюкозы и способности продуцировать ацетилметилкарби-нол; содержит пептон, глюкозу, гидрофосфат калия и индикатор

- *Клауберга-III* с. - плотная питательная с. для выделения дифтерийных палочек, содержащая теллурит калия, цистин, дефибринированную кровь, глицерин и индикатор - водный голубой краситель

- *Клйглера-Робертсона* с. (1922) - с. для культивирования боррелий и трепонем; включает лошадиную сыворотку, физиологический раствор и свежую кровь

- на способность к *H₂S*-образованию т. - т. на способность расщеплять цистеин и метионин с высвобождением серы. Для лучшей индикации в среду вносят дополнительный источник серы (обычно тиосульфат Na). В качестве индикаторов наиболее часто используют цитрат или сульфат железа либо ацетат свинца (является наиболее чувствительным). Высвобождающаяся сера взаимодействует с водородом и образует H_2S ; последний реагирует с железом, свинцом или висмутом с образованием чёрного нерастворимого преципитата из сульфитов. Наиболее часто индикаторы используют в виде импрегнированных полосок фильтровальной бумаги, помещаемых над

столбиком агара *Клиглера*. Более чувствительна сульфидо-индоловая среда, поскольку она полужидкая (облегчает диффузию реагентов), содержит в качестве индикатора пептонизированное железо и лишена углеводов, ингибирующих образование H_2S

- *на уреазную активность* т. - т. на способность бактерий гидролизовать мочевины до аммиака и CO_2 ; производят посев на сильно забуференную среду *Стюарта* (используют для идентификации протеев) или менее забуференный агар *Кристенсена* с мочевиной (используют для идентификации большей части бактерий). Вносят густую культуру, инкубируют 1 ч при $37\text{ }^\circ\text{C}$ и осматривают через 15, 30, 60 мин и через 4 и 24 ч. Образующийся аммиак окрашивает среду в жёлто-красный цвет

- *на утилизацию цитрата* т. - т. для выявления бактерий, способных использовать цитрат как единственный источник углерода. Проводят на агаре *Симмонса* или бульоне *Козера*, включающим цитрат натрия и индикатор бромтимоловый синий. Vegetирующие бактерии окрашивают ранее зеленоватую среду в ярко-синий цвет

- *на фенилаланин (триптофан) дезаминазную активность* т. - т. на наличие у энтеробактерий фермента фенилаланин дезаминазы, способного дезаминировать фенилаланин в фенилпиروиноградную кислоту; дифференцирует бактерии родов *Proteus*, *Morganella* и *Providencia* (дают положительную реакцию) от прочих грамотрицательных бактерий. В агар с фенилаланином вносят густую тест-культуру, инкубируют 18 ч при $37\text{ }^\circ\text{C}$ и вносят 0,5 мл $FeCl_3$; при положительной реакции среда окрашивается в коричнево-зелёный цвет

- *на ферментацию глюкозы энтеробактерия-ми* т. - т. на ферментацию углеводов и образование кислых метаболитов в анаэробных и факультативных условиях. Проводят на скошенных столбиках агара *Клиглера* и сахаро-железного агара; определяют ферментацию глюкозы, лактозы и сахарозы (на железо-сахарном агаре) и образование H_2S . Посев производят уколом в глубину. Виды, ферментирующие глюкозу и лактозу, вызывают пожелтение среды; виды, инертные к лактозе, дают пожелтение только в глубине среды; виды ферментирующие глюкозу с образованием кислоты и газа, вызывают образование пузырей и трещин в толще среды; виды, образующие H_2S , дают почернение среды (за счёт образования сульфита железа). Если внесённые грамотрицательные бактерии не вызывают пожелтения среды или придают ей более интенсивное окрашивание (за счёт защелачивания), то их считают неферментирующим и не относящимися к семейству *Enterobacteriaceae*

- *ниациновый* т. - т. на способность микроорганизмов синтезировать никотиновую кислоту

(ниацин). При внесении в культуру 1 мл 5% раствора хлорамина Б и 1 мл 1% раствора цианида калия среда может приобретать канареечно-жёлтый цвет (положительный результат). Обычно применяют для дифференцировки *Mycobacterium tuberculosis* от прочих микобактерий, т.к. она синтезирует значительные количества ниацина (4-17 мкг/мг) » *Конно* т.

- *нитратазный* т. - т. для выявления нитратазы; к 1 мл мочи добавляют 1 мл реактива *Грисса*; при значительном обсеменении после 3-4-часовой инкубации при $37\text{ }^\circ\text{C}$ наблюдают красное окрашивание

- *оксидазный* т. - т. на цитохром оксидазу, участвующую в электронном транспорте и метаболизме нитратов у некоторых бактерий. Наносят оксидазный реагент (тетраметил-р-фенилендиамин дигидрохлорид) на поверхность подозрительной колонии; в положительном случае цвет колонии становится сине-фиолетовым. Для постановки теста используют среды, не содержащие красители. Более удобным является нанесение инокулята на фильтровальную бумагу, пропитанную несколькими каплями реактива. Следует помнить, что манипуляции необходимо проводить платиновой петлёй либо деревянной палочкой, т.к. следовые количества железа на

поверхности прокалённых стальных или хромовых петель могут дать ложноположительную реакцию

- *шигалоподобный* 1 т. - т., вырабатываемый эн-терогеморрагическими кишечными палочками» веротоксин 1

- *шигалоподобный* 2 т. - цитотоксин, вырабатываемый энтерогеморрагическими кишечными палочками » веротоксин 2

токсоплазмоз - заболевание, обусловленное наличием или реакцией на инфекцию *Toxoplasma gondii*; проявления многообразны, основные - хориоретинит и увеит, при пренатальных инфекциях возможны значительные поражения головного мозга и глаз или смертельный исход; может развиваться острая форма заболевания, особенно у лиц с иммунодефицитами, приводящая к генерализации инфекции

трансдукция 1. Опосредуемый бактериофагом перенос генетического материала (с последующей фенотипической экспрессией) от одной бактерии другой. 2. Перенос сигнала в пределах структуры (например, от комплекса мембранного рецептора с лигандом до комплекса ДНК с модифицированным активатором транскрипции)

- *абортивная* т. -т., при которой генетический фрагмент бактерии-донора не интегрируется в геном бактерии-реципиента; при последующем делении реципиента генетический фрагмент передаётся лишь одной из дочерних клеток

- *полная* т. - т., при которой перенесённый генетический фрагмент полностью интегрируется в геном бактерии-реципиента

транскриптаза - ДНК-зависимая РНК-полимераза

- *обратная* т. - РНК-зависимая ДНК-полиме-раза ретровирусов

транскрипция - первый этап реализации генетической информации в клетке, в процессе которого происходит биосинтез молекул иРНК на матрице ДНК; включает перенос генетического кода от одного типа нуклеиновой кислоты к другой. Наиболее часто термин используют в контексте процесса синтеза последовательностей мРНК (обусловлен РНК-полимеразой) на матрице комплементарной ДНК

- *обратная* т. - процесс обратной т. (от ДНК к РНК); обычно реализуется под действием вирусной обратной транскриптазы

трансляция - процесс, вовлекающий матричную, транспортную РНК и рибосомы в синтез белка из аминокислот; специфичность синтеза контролируется аминокислотными последовательностями мРНК; второй этап реализации генетической информации в клетке

транспозаза - фермент, необходимый для перегруппировки (транспозиции) сегментов ДНК

транспозон - участок ДНК, повторяющийся как последовательно включённый в каждом конце молекулярной цепочки; может самостоятельно мигрировать из одной бактериальной плазмиды в другую внутри бактерии, а также в бактериальную хромосому или бактериофаг » Тп-элемент

трансформация 1. Замена одного вида ткани другой (например, хрящевой ткани костной). 2. Перенос генетической информации посредством передачи между бактериями «голых» фрагментов внутриклеточной ДНК, выделенных донорскими клетками и поглощаемых клетками-реципиентами

трахома - хроническое контагиозное воспалительное заболевание, проявляющееся гипертрофией конъюнктивы; возбудители - различные серо-вары *Chlamydia trachomatis* » инфекционный гранулярный конъюнктивит » гранулярная офтальмия » египетская офтальмия (под этим устаревшим названием существует несколько отдельных инфекций)

трипаносомоз - заболевание, вызванное трипа-носомами

- *африканский т.* - гамбийский т.
- *гамбийский т.* (Gambia - река и страна в Африке) - т., вызванный *Trypanosoma gambien-*

se, передаётся человеку мухами цеце, преимущественно *Glossina palpalis*; характерны эритематозные пятна на коже и локальные отёки, невралгии, судороги, тремор и парестезии, увеличение лимфатических узлов, селезёнки и печени, истощение и вечерние подъёмы температуры тела; на поздних стадиях (после проникновения трипаносом в ЦНС) возникает летаргия с полубессознательным состоянием, на терминальном этапе переходящая в кому » хронический т. » хроническая сонная болезнь » африканская сонная болезнь

5-фторцитозин (5-ФЦ) - неприродное пирими-диновое производное, первично синтезированное как противоопухолевый агент. Препарат проявляет фунгистатическую активность и применяется в терапии системных дрожжевых микозов

фуксин - любой из красных триарилметановых красителей, используемых в гистологии и бактериологии

• *кислый ф.* - смесь натриевых солей би- и три-сульфоновой кислоты розанилина и парарозанилина; используют как индикаторный краситель при окраске цитоплазмы и коллагена

• *основной ф.* - смесь хлоридов розанилина и парарозанилина, используемых в гистологии для окраски клеточных ядер, муцина, эластичных тканей, фуксинофильных гранул и туберкулёзных бацилл; в гистохимии - как основной компонент реактива *Шиффа*

• *Пфайффера ф.* - раствор ф. *Цйля* (1 мл) в дистилляте (9 мл)

• *Цйля карболовый ф.* - раствор основного фуксина (1 г) и кристаллической карболовой кислоты (5 г) в 96° этаноле (10 мг)

фумарат редуктаза - фермент, катализирующий восстановление фумаровой кислоты и малата (не действует на малеиновую кислоту), важная часть ЦТК

фунгемиа - наличие грибов в кровотоке; генерализованная грибковая инфекция

хемотаксис - движение организмов, клеток (в том числе крови) по градиенту концентрации химических стимулов (различают положительный и отрицательный хемотаксис) » хемотропизм

хинакрин гидрохлорид - препарат, применяемый для лечения гиардиоза; связывает обе цепочки молекулы ДНК, препятствуя её транскрипции

хингхаосу (артемизинин) - терпеновый лактон, используемый для лечения малярии; экстрагируют из полыни (*Artemisia*); известны многочисленные производные (например, артетер, артеметр, артефлен, артезунат), проявляющие аналогичную активность. Молекулы соединений содержат эн-допероксидные мостики, взаимодействующие с Fe^{2+} в инфицированных эритроцитах, что приводит к образованию токсичных радикалов, окисляющих тиолы мембранных белков паразита

хинолоны - антибактериальные препараты широкого спектра действия; механизм активности опосредован ингибированием топоизомеразы, что

препятствует спирализации молекулы ДНК; эффективны при инфекциях, вызванных видами *Pseudomonas Proteus*; основное клиническое достоинство - возможность приёма внутрь; наиболее известный препарат - налидиксовая кислота (невиграмон)

хламидоконидии - покоящаяся спора, располагается на конце или внутри гифы

хлорамфеникол - d-(-)-mreo-2,2-дихлоро-N-[p-гид-рокси-а(гидрокси-метил)-p-нитроэтоксифенил]-ацета-мид, природный антибиотик широкого спектра действия; один из немногих химиопрепаратов, подавляющих грамотрицательные анаэробы. Механизм действия бактериостатический, опосредован взаимодействием с 50S-субъединицей рибосомы с последующим ингибированием активности пептидил трансферазы (локализована в 50S-субъединице), ответственной за образование пептидных связей

хлорохин - препарат для лечения неосложнённых случаев малярии; предположительно реализует своё действие в отношении плазмодиев, а также бабезий, ингибированием выведения феррипрото-порфирина и нейтрализацией рН лизосом

хлорохины (аминохинолины) - группа препаратов, применяемых в терапии малярии и некоторых других протозойных инфекций; наиболее известны делагил и плаквинил. Механизм действия основан на способности взаимодействовать с ДНК и блокировать реакции матричного синтеза

холероген - термолабильный белковый экзотоксин *Vibrio cholerae*; вызывает повышение уровня внутриклеточного цАМФ и способствует выходу жидкости и электролитов из клеток *либеркюновых* желёз в просвет кишечника. Не способен реализовать своё действие на других клетках

хорея *Си'денхэма* - острое токсическое или инфекционное заболевание нервной системы, обычно связанное с острой ревматической лихорадкой; появляется в молодом возрасте и характеризуется произвольными беспорядочными отрывистыми движениями мышц лица, шеи и конечностей, которые проходят во время сна » х. малая » х. ревматическая » болезнь английская (*устар.*) » пляска святого *Virta*

• *герпетический* э. - наиболее распространённый вирусный э., вызываемый ВПГ 1-го типа; возможен в любых возрастных группах; основные очаги поражения расположены в височных и лобных долях; патоморфологически выявляют тяжёлые геморрагические и некротические изменения, в нейронах и клетках глиии - эозинофильные тельца включений » острый телец включений э.

• *дальневосточный (русский)* э. - русский весенне-летний э. (восточный подтип)

• *Даусона* э. - панэнцефалит подострый скле-розирующий

• *долины Мюррëя* э. - тяжёлый высоколетальный э., эндемичный для долины реки Мюррëй в Австралии; наиболее тяжело протекает у детей; характерны головная боль, лихорадка, потеря сознания, судороги, ригидность затылочных мышц; возбудитель - вирус рода *Fla-vivirus* » болезнь австралийская X

• *Ильëус* э. -э., вызываемый вирусом Ильëус (род *Flavivirus*); эндемичен для восточной Бразилии и других областей Центральной и Южной Америки; переносчики - москиты

• *калифорнийский* э. - буньявирусный э.

• *клещевой э.* (восточный подтип) - тяжёлый э., возбудитель - флавивирус семейства *Togaviridae*, переносчики - клещи *Ixodesper-sulcatus* и *Ixodes ricinus*

• *клещевой э.* (центральноевропейский подтип) - клещевой менингоэнцефалит (возбудитель - вирус семейства *Flaviviridae*, во многом сходный с возбудителем дальневосточного э.), переносчик - клещ *Ixodes ricinus*, возможно инфицирование через сырое молоко » центральноевропейская клещевая лихорадка » двухволновой менингоэнцефалит » двухфазная молочная лихорадка » русский весенне-летний э. (западный подтип)

• *коксакивирусный э.* - наиболее часто наблюдают у детей; характерны поражения серого вещества продолговатого и спинного мозга; возбудитель - вирус Коксаки В

• *Мёнго э.* - эндемичный для африканских стран э., вызываемый штаммом Мёнго вируса энцефаломиокардита (семейство *Picornaviridae*)

• *острый телец включений э.* - герпетический э.

• *Повассан э.* - острый э., наиболее часто наблюдаемый у детей; клиническая картина варьирует от лихорадки до проявлений э.; возбудитель - одноимённый вирус семейства *Flaviviridae*, переносчики - иксодовые клещи; наиболее часто регистрируют в Канаде

• *подострый телец включений э.* - панэнце-фалит подострый склерозирующий

• *русский осенний э.* - японский В э.

• *русский весенне-летний э.* (восточный подтип) - клещевой э., возбудитель - вирус семейства *Flaviviridae* » дальневосточный э.

• *русский весенне-летний э.* (западный подтип) - клещевой э. (центральноевропейский подтип)

• *шотландский клещевой э.* - инфекционная болезнь из группы клещевых вирусных энцефалитов, вызываемая арбовирусом группы В; характеризуется у человека двухволновой лихорадкой с мозжечковым синдромом в первой фазе болезни и с проявлениями менингоэнцефалита во второй фазе; встречается главным образом в Великобритании » энцефалит овец шотландский » энцефаломиелит овец шотландский

• *эпидемический э.* - вирусные ээ., заболеваемость которыми приобретает эпидемический характер, например японский э. В, э. Сент-Луис и летаргический э.

• *японский В э.* - эпидемический э.; зарегистрирован в Японии, Сибири и других регионах Азии; возбудитель - вирус японского э. В рода *Flavivirus*; переносчики - москиты; иногда инфекция протекает бессимптомно » русский осенний э.

энцефаломиелит - острое воспаление головного и спинного мозга

• *zoster-э.* - э., вызванный вирусом опоясывающего лишая (семейство *Herpesviridae*)

• *острый диссеминированный э.* - острое поражение ЦНС; характерны очаги демиелинизации в головном и спинном мозге; наиболее часто возникает как осложнение инфекционных по-стэкзантематозных патологий и вакцинаций

• *острый некротизирующий э.* - молниеносный геморрагический э. с явлениями демиелинизации; развивается после респираторных инфекций, характерны головная боль, высокая температура и ригидность мышц шеи и спины

• *поствакцинальный э.* - тяжёлый э., развивающийся после иммунопрофилактики бешенства
» *поствакцинальный энцефалит*

• *типа В герпетический э.* - часто летальное поражение, развивающееся после заражения человеком обычно невирулентным вирусом герпеса обезьян

эргостерин - 7,22-дидегидрохолестерол; один из главных провитаминов D₂; УФ-облучение превращает его в люмистерол, тахистерол и витамин D₂; основной стероид цитоплазмы грибковых клеток » эргостерол

эризипеллоид - специфический, обычно самостоятельно прекращающийся целлюлит кистей, выз-

ванный *Erysipelothrix rhusiopathiae* (возбудитель рожи свиней); проявляется в виде тёмной эритемы, поддерживается постоянным контактом с рыбой и сельскохозяйственными животными » э. *Розенбаха* » ползучая эритема *Бёйкера* эритема (*гр. erythema* - краснота) - ограниченная гиперемия кожи

• *инфекционная э. (e. infectiosum)* - инфекционное заболевание средней тяжести, проявляющееся эритематозными, пятнисто-папулёзными высыпаниями, иногда сопровождающимися лихорадкой » *пятая болезнь*

• *экссудативная многоформная э.* - дерматоз, характеризующийся рецидивирующим (обычно весной и осенью) появлением на разгибательных поверхностях конечностей и слизистых оболочках полиморфной сетки в виде эритемы (энантемы), папул, иногда везикул и пузырей, расположенных кольцами; обострения сопровождаются лихорадкой и артралгией

эритразма - сыпь в виде красновато-коричневых пятен преимущественно в подмышечной и паховой областях, вызывается *Corynebacterium minutissimum*

эрихиоз - лейкоцитарный риккетсиоз различных животных; возбудитель - риккетсии рода *Ehrlichia*; вызывают спорадические поражения человека; для человека характерны (особенно при инфекции *E. sennetsu*) симптомы, аналогичные таковым при пятнистой лихорадке *Скалистых Гор*

эспундия - разновидность американского лейш-маниоза, возбудитель - *Leishmania braziliensis*; характерны поражения слизистых оболочек, особенно полости носа и рта, приводящие к грубым деструктивным изменениям » *Брёды болезнь* » злокачественный кожно-слизистый лейшманиоз Нового Света

эфлорнитин - препарат для химиотерапии африканских трипаносомозов; ингибирует активность орнитин декарбоксилазы, участвующей в синтезе полиаминов, приводя к дестабилизации молекулы ДНК и нарушениям её репликации

эхинококковый пузырь - личиночная стадия *Echinococcus granulosus*; имеет двухслойную оболочку, заполнена прозрачной бесцветной жидкостью, содержит эхинококковый «песок» (скопления зародышей-сколексов) и часто много дочерних пузырей

эхинококкоз - заболевание человека, вызванное инвазией личинок *Echinococcus granulosus*; чаще наблюдают образование гидатидных пузырей в лёгких и печени

ящур - высококонтагиозная инфекция, имеющая важное значение для ветеринарии; заболевание вызывает эпидемии крупного рогатого скота, свиней, коз и овец, а также диких парнокопытных; также отмечают спорадические заболевания у человека. Возбудитель -

пикорнавирус рода *Aphthovirus*; характерны лихорадка и везикулёзные высыпания на слизистой оболочке языка и губ » афтозная лихорадка » эпизоотический стоматит